



Djalma Pereira Nunes Filho

**EFEITOS DO PRP ASSOCIADO
OU NÃO AO OSSO AUTÓGENO
PARTICULADO NO REPARO DE
CAVIDADES ÓSSEAS EM CÃES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Unesp, para obtenção do grau de “Mestre em Odontologia” – Área de Concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Tetuo Okamoto

ARAÇATUBA – SP

- 2003 -

DEDICATÓRIA

Dedicatória

À minha esposa **Denise** e aos meus filhos
Marina, Felipe e **Vítor**, pela paciência,
compreensão e carinho.

Aos meus **Pais**, por nos dar a oportunidade
de vê-los com um brilho nos olhos à cada
conquista de seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento Especial

Ao Prof. Dr. [Tetuo Okamoto](#), por sua
colaboração e orientação.

Ao Prof. Dr. [Paulo Sérgio Perri de
Carvalho](#), pelo hábil desempenho de
liderança na formação pessoal e
profissional.

À amiga e colega Dra. [Mariliza Comar
Astolphi de Carvalho](#), pelo auxílio na
realização desse objetivo.

Ao meu amigo [Fernando Luppino](#), pelo companheirismo nos estudos e
dedicada amizade.

Agradecimentos

Às amigas **Andréa Morales** e **Rosana Guerra**, pelos extensos artigos traduzidos a contento.

Aos colegas de turma da Pós-Graduação: **Oscar Mosele, Fernando Pastor** e **Fernando Cosso**, pelo convívio, troca de experiências e o surgimento de uma nova amizade.

Às futuras Dras. **Ana Paula Bassi, Daniela Pozzoni, Vanessa Mendes** e **Laura Guimarães**, pela oportunidade de trabalharmos juntos.

Aos amigos **Filisteus** e **José Fernandes**, por compartilhar suas alegrias.

Às **Bibliotecárias**, pelo atendimento e orientação com um sorriso sempre presente.

À **Dirce, Bernadete e Gilmar**, pela eficiência com que realizam suas funções na Disciplina de Cirurgia do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp.

Às **Funcionárias** da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, pelo bom andamento burocrático.

Aos **Servidores Técnico-Administrativos** do Centro de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária de Botucatu – Unesp, por dispor de suas instalações e animais para esta pesquisa.

Agradecimentos

À Brasil Implants System, representada pelo C.D. **Ariel Lenharo**, pelo suporte de equipamentos.

Ao dedicado trabalho de digitação da **Sylvia Helena Guimarães**, mesmo em horários não usuais.

Aos irmãos **Luís Fernando e Marcelo**, pelas rápidas soluções às constantes consultas sobre “o que devo fazer?” quanto ao tão necessário uso do computador.

À minha Secretária **Fátima**, pela tradução do espanhol e controle da agenda profissional.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.	11
LISTA DE ABREVIATURAS.	16
1 INTRODUÇÃO.	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.	21
2.1 HISTOFISIOLOGIA ÓSSEA.	22
2.1.1 A ESTRUTURA ÓSSEA.	22
2.1.2 COMPONENTES CELULARES DA ESTRUTURA ÓSSEA.	25
2.1.2.1 CÉLULAS OSTEOGENITORAS.	25
2.1.2.2 OSTEOBLASTOS.	25
2.1.2.3 OSTEOCITOS.	26
2.1.2.4 OSTEOCLASTOS.	26
2.2 HISTOFISIOLOGIA SANGÜÍNEA.	28
2.2.1 O SANGUE.	28
2.2.2 COMPONENTES DO SANGUE.	29
2.2.2.1 PLAQUETAS.	29
a) Biologia das Plaquetas.	30
b) Contagem de Plaquetas.	31
c) Teste de Agregação Plaquetária.	31

- continua -

SUMÁRIO

2.2.2.2 COMPONENTES MOLECULARES DAS PLAQUETAS.	31
a) Fatores de Crescimento.	31
b) Fatores de Crescimento Recombinantes.	32
c) Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF).	33
d) Fator Beta de Crescimento Transformante (TGF- β).	34
e) Fator de Crescimento Epidermal (EGF).	35
f) Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF).	35
g) Fatores de Crescimento Similares à Insulina (IGFs).	36
h) Fibronectina e Vitronectina.	37
i) Fibrina.	37
2.3 A BIOLOGIA DA INCORPORAÇÃO DO ENXERTO ÓSSEO.	38
2.3.1 DIFERENÇAS ENTRE OS PROCESSOS DE INCORPORAÇÃO DO ENXERTO CORTICAL E TRABECULAR AUTÓGENO.	38
2.3.2 ATUAÇÃO DOS FATORES DE CRESCIMENTO NO PROCESSO DE REGENERAÇÃO DO OSSO.	42
2.4 PROCESSO DE REMODELAÇÃO DO OSSO.	45
2.5 ENXERTOS ÓSSEOS E BMP.	47
2.6 UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.	51
2.6.1 TERMINOLOGIA.	52
2.6.2 SEGURANÇA DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.	52
2.6.3 INDICAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.	53
2.6.4 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO PRP.	53

SUMÁRIO

- continua -

2.7 TRABALHOS EXPERIMENTAIS COM OS FATORES DE CRESCIMENTO, PRP E BIOMATERIAIS ASSOCIADOS.	57
2.8 TRABALHOS CLÍNICOS COM O PRP E BIOMATERIAIS ASSOCIADOS.	59
3 PROPOSIÇÃO.	69
4 MATERIAL E MÉTODO.	71
4.1 TÉCNICA PARA OBTENÇÃO DO PRP E PREPARO DO APG.	73
4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.	75
5 RESULTADO.	79
5.1 GRUPO CONTROLE.	80
5.2 GRUPO PRP.	86
5.3 GRUPO OSSO PARTICULADO COM PRP	92
6 DISCUSSÃO.	101
7 CONCLUSÃO.	107
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	109
Resumo.	124
Abstract.	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Centrífuga utilizada para separação das fases branca e vermelha do sangue.	73
Figura 2 -	Separação dos elementos sangüíneos em três camadas: superior (cor clara - fibrinogênio); intermediária (cor alaranjada - PRP) e inferior (cor vermelha - hemácias).	74
Figura 3 -	Gel autógeno de PRP mantido a uma temperatura de 37°C.	74
Figura 4 -	Preparo da cavidade logo acima da base do osso mandibular.	76
Figura 5 -	Cavidades preparadas uniformemente, verificando-se à esquerda preenchimento por coágulo sangüíneo (Grupo controle).	76
Figura 6 -	Gel autógeno de PRP.	76
Figura 7 -	Osso autógeno particulado associado ao gel autógeno de PRP. Consistência de “massa de vidraceiro”.	76
Figura 8 -	Cavidades preenchidas: A - coágulo; B - gel autógeno de PRP e C - osso particulado associado ao gel autógeno de PRP.	77
Figura 9 -	Recobrimento das três cavidades com uma membrana óssea cortical bovina.	77
Figura 10 -	Sutura contínua do plano externo com fio de nylon 5.0.	77
Figura 11 -	Tecido ósseo pré-existente e tecido ósseo neoformado. H.E. 25X. Aumento do original.	81

- continua -

LISTA DE FIGURAS

= continuação =

- Figura 12 - Tecido ósseo neoformado (ON) apresentando espaços inter-trabeculares amplos caracterizando tecido em fase de maturação. H.E. 25X. Aumento do original. 81
- Figura 13 - Porção central da loja cirúrgica preenchido por tecido conjuntivo (TC) e rico em fibras colágenas. H.E. 25X. Aumento do original. 82
- Figura 14 - Reparação da cavidade ocorrendo de forma centrípeta (das laterais para o centro) (setas). H.E. 25X. Aumento do original. 82
- Figura 15 - Imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente (OR), caracterizada por tecido ósseo maduro, espaços inter-trabeculares reduzidos com formação concêntrica. Porção central mostrando coágulo sangüíneo (CS) remanescente e fibras colágenas (FC). H.E. 25X. Aumento do original. 84
- Figura 16 - Corte transversal aprofundado observando tecido ósseo neoformado (TON) preenchendo totalmente a cavidade. H.E. 25X. Aumento do original. 84
- Figura 17 - Defeito ósseo com a presença de tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas. H.E. 25X. Aumento do original. 85
- Figura 18 - 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. 85

- continua -

LISTA DE FIGURAS

= continuação =

- Figura 19 - Presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação. H.E.160X. Aumento do original. 86
- Figura 20 - Preenchimento do centro da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF) e tecido ósseo neoformado (TON) nas paredes laterais da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original. 87
- Figura 21 - Visualização de tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original. 87
- Figura 22 - 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. 88
- Figura 23 - Presença de osteócitos (setas) e espaços medulares amplos (EM). H.E. 25X. Aumento do original. 88
- Figura 24 - 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. 89
- Figura 25 - Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido ósseo neoformado (TON) no seu interior com espaços medulares menores que o corte anterior por se tratar de corte mais profunda. H.E. 25X. Aumento do original. 90
- Figura 26 - Mesmo corte que o da figura anterior em maior aumento. H.E. 63X. Aumento do original. 90

- continua -

LISTA DE FIGURAS

= continuação =

- Figura 27 - Presença de tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade e tecido ósseo neoformado (TON). H.E. 25X. Aumento do original. 91
- Figura 28 - Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original. 91
- Figura 29 - Tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade em cortes mais profundos. H.E. 25X. Aumento do original. 92
- Figura 30 - Corte longitudinal mostrando o preenchimento da cavidade por tecido ósseo neoformado (TON). H.E. 25X. Aumento do original. 93
- Figura 31 - Tecido ósseo neoformado (TON) com a presença de amplos espaços medulares (EM) dentotando tecido ósseo em processo de maturação. H.E. 25X. Aumento do original. 93
- Figura 32 - Corte longitudinal realizado mais próximo ao centro da cavidade com os mesmos aspectos da Figura 31. Limite da cavidade (setas). Aumento do original. 94
- Figura 33 - Preenchimento parcial da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo neoformado (TON) observado somente em um dos espécimes. H.E. 25X. Aumento do original. 94
- Figura 34 - Cavidade preenchida por tecido ósseo neoformado (TON) mostrando em sua superfície, fragmento ósseo sendo expulso da cavidade (setas). H.E. 25X. Aumento do original. 95

- continua -

LISTA DE FIGURAS

= continuação =

Figura 35 -	Mesmo corte da figura anterior em aumento de 63X, mostrando expulsão do fragmento ósseo (seta) e presença de tecido conjuntivo (TC) na superfície da entrada da cavidade.	95
Figura 36 -	Tecido ósseo neoformado (TON) com espaços medulares (EM) no interior da massa óssea. H.E. 25X. Aumento do original.	97
Figura 37 -	Corte longitudinal mostrando os limites da cavidade (setas) entre osso remanescente (OR) e tecido ósseo neoformado (TON). H.E. 25X. Aumento do original.	97
Figura 38 -	Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 25X. Aumento do original.	98
Figura 39 -	Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 25X. Aumento do original.	98
Figura 40 -	Corte transversal mostrando os limites nítidos da cavidade (setas) com a presença de uma pequena cavidade com tecido conjuntivo (TC) em seu interior. H.E. 25X. Aumento do original.	99
Figura 41 -	Corte transversal mostrando a presença de uma cavidade com uma pequena quantidade de tecido conjuntivo (TC) em seu interior. H.E. 25X. Aumento do original.	99
Figura 42 -	Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.	100
Figura 43 -	Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.	100

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Difosfato de Adenosina
APG	Gel Autógeno de Plaquetas
BMP	Proteína Morfogenética do Osso
CAPSS	Compact Advanced Platelet Sequestration System
EDTA	Etano-Di-Tricloro Acid
EGF	Fator de Crescimento Epidermal
FGF	Fator de Crescimento
HE	Hematoxilina e Eosina
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IGF	Fator de Crescimento Similar à Insulina
mg	miligramas
ml	mililitros
mmHg	milímetros de mercúrio
µm	micrometros
PC	Concentrado de Plaquetas
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PMRP	Plasma Muito Rico em Plaquetas
PPP	Platelet Poor Plasma
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
TGF-β	Fator Beta de Crescimento Transformante
TON	Tecido Ósseo Neoformado
UI	Unidade Internacional

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A implantodontia tem assumido um papel relevante nas soluções protéticas de pacientes que se apresentam cada vez mais exigentes dentro dos conceitos funcionais e estéticos. Os implantes endósseos osseointegráveis foram indicados inicialmente com o objetivo de restabelecer a função mastigatória de pacientes desdentados totais. No entanto, tem se observado que, com o contínuo avanço das pesquisas na área de biomateriais e da melhor compreensão das reações fisiológicas dos tecidos diante dos efeitos causados pela biomecânica dos trabalhos protéticos instalados sobre essas fixações, os implantodontistas passaram a indicá-los nas mais diversas situações clínicas. Portanto, cada vez mais, a reparação dos defeitos e das atresias do rebordo alveolar, tem se tornado um procedimento necessário e rotineiro para os vários tipos de edentulismo (Breine & Branemark, 1980) para preencher os requisitos básicos de suporte ósseo adequado na utilização dos implantes (Lekholm & Zarb, 1985).

Os defeitos ósseos ocorrem em decorrência de uma ampla variedade de situações clínicas (traumatismo, infecções, pseudo-artrose congênita e recessão tumoral) e sua reconstrução, para dar integridade mecânica ao esqueleto, é um passo necessário na reabilitação.

O padrão atual para as reconstruções ósseas, os enxertos ósseos autógenos, funciona bem em muitas circunstâncias. Entretanto, a utilização desse tipo de enxerto combinado com alternativas disponíveis de biomateriais de preenchimento, não resolve todos os casos das deficiências ósseas. Outros métodos utilizam a implantação de osso liofilizado, mineralizado ou não, e vários enxertos alógenos disponíveis comercialmente. A maioria desses materiais funciona como estruturas passivas e é questionável a qualidade óssea formada na sua presença.

No final dos anos 80, os pesquisadores procuraram investigar a possibilidade da utilização de mediadores químicos na modulação do processo de reparo dos enxertos ósseos. A evolução biotecnológica permitiu identificar, isolar e propiciar os testes quanto a sua capacidade de iniciar o crescimento ósseo. Dessa forma, diversos trabalhos “in vitro” e “in vivo” se seguiram comprovando, de maneira positiva, a possibilidade de utilização desses mediadores químicos em procedimentos cirúrgicos com segurança biológica.

Assim sendo, as observações nos trabalhos descritos sobre a utilização desses mediadores concentrados, o plasma rico em plaquetas, em forma de gel nas cirurgias orofaciais e oronasais no auxílio da hemostasia e, além disso, da observação da melhora e da aceleração do processo cicatricial (Matras, 1985; Whitman et al., 1997) estimularam os pesquisadores a desenvolverem uma técnica na qual uma

combinação com osso autógeno esponjoso e cortical (Marx et al., 1998; Marx & Garg, 1999; Marx & Garg, 1999; Rosenberg & Torosian, 2000; Sonnleitner et al., 2000; Lozada et al., 2001) ou com uma matriz óssea sintética (Kassolis et al., 2000; Obarrio et al., 2000; Lozada et al., 2001; Shanaman et al., 2001) fosse possível.

Os trabalhos descritos têm demonstrado que o uso da técnica do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) pode representar uma estratégia disponível para modular e acelerar o processo de reparo, fornecendo uma matriz osteocondutiva natural, além do aumento da velocidade e densidade na formação óssea (Marx et al., 1998).

Assim, as inúmeras biotecnologias visam melhorar as condições do tecido ósseo para que seja instalado o implante e que este tenha previsibilidade de sucesso. Estes biomateriais podem ser utilizados isolada ou associadamente em defeitos ósseos ou até mesmo alvéolos dentários. No entanto, ainda são necessárias pesquisas biológicas que venham contribuir para a compreensão dos efeitos dos biomateriais em cavidades ósseas nessas condições.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTOFISIOLOGIA ÓSSEA

2.1.1 A ESTRUTURA ÓSSEA

O osso maduro existe como osso compacto ou como osso trabecular. O osso compacto é também chamado osso cortical e o osso trabecular, osso esponjoso. O osso compacto é distinguido do trabecular pela orientação espacial de seus elementos minerais e inorgânicos e por sua localização característica no esqueleto. O osso compacto compreende a “casca” tubular externa dos ossos longos e a superfície externa dos ossos pequenos e planos. Ele é muito mais denso do que o trabecular e consiste de unidades cilíndricas paralelas chamadas ósteons (ou sistema haversiano). A orientação dos ósteons determina, em uma grande extensão, a direcionalidade de suas propriedades mecânicas (Gibson, 1985). Esse osso compacto recebe mais de 80% do seu suprimento sanguíneo arterial e efetua 100% de seu retorno venoso pelo periósteo (Roberts et al., 1987). O osso trabecular é compreendido de um arranjo de lâminas e varetas de tecido ósseo e forma uma esponja alveolada aberta (Gibson, 1985). A orientação laminar e hastes otimiza a resistência ao estresse usual que ocorre em locais isolados.

A vascularização do osso cortical tem importantes ramificações fisiológicas. A difusão através do osso é eficiente

em apenas 1 a 100 μm . A distância crítica de transporte para manter os osteócitos com vitalidade é cerca de 100 μm , nos mamíferos (Ham, 1996). A fim de manter a vitalidade interna dos osteócitos, o suprimento vascular do osso compacto é organizado nos canais haversianos (alinhados ao longo do longo eixo do osso) e canais de Volkman (alinhados perpendicularmente ao longo eixo do osso). Apesar de a cadeia de canais de Harvers e Volkman proporcionarem uma circulação colateral dentro da compacta óssea, ela é altamente tortuosa e facilmente comprometida por trauma cirúrgico e inflamação pós-operatória.

A estrutura mineralizada do osso é revestida por envoltórios de perióstio e de endóstio. Todos esses envoltórios englobam dois fatores importantes: potencial osteogênico e vascularização abundante. O perióstio é a estrutura que cobre o osso cortical, com exceção das superfícies articulares, tendão e inserções ligamentares. Uma parte do suprimento arterial e todo o retorno venoso ocorrem através do perióstio. Portanto, uma descorticação mínima, consistente com os princípios cirúrgicos básicos de acesso e controle dos tecidos moles, é uma importante consideração na implantodontia (Roberts & Gareto, 2000). As células do endóstio pertencem ao estroma da medula óssea ou são derivadas de osteoblastos latentes, os quais também constituem a fonte principal das células basais nos canais corticais (Schenk, 1996).

A estrutura óssea é um composto altamente ordenado de matriz orgânica e mineral inorgânico. A porção orgânica é composta de 95% de colágeno (tipo I, III e V), 1% de proteoglicanas (ácido hialurônico, condroitin-sulfato, querato-sulfato) e 4% de proteínas osteomorfogenéticas. Os 5% restantes – porção inorgânica – é composta por 85% de fosfato de cálcio, água, citratos e fluoretos. A matriz óssea é constituída principalmente por um conjunto de fibras colágenas embebidas na matriz. Esta última é um gel viscoso e complexo de glicoproteína/proteína. A matriz também contém numerosos fatores orgânicos (citocinas, fatores de crescimento) que ajudam a controlar a ativação celular e mineralização. Durante a mineralização, pequenos cristais de hidroxiapatita são densamente acondicionados em uma série ordenada, de acordo com a orientação das fibras colágenas (Roberts et al., 1987).

2.1.2 COMPONENTES CELULARES DA ESTRUTURA ÓSSEA

2.1.2.1 CÉLULAS OSTEOPROGENITORAS

As células osteoprogenitoras ocupam amplamente o tecido ósseo e desempenham suas funções através de atividades mitóticas, em condições normais (Heath, 2000). Entretanto, quando o fluxo das células osteoprogenitoras é insuficiente, os fibroblastos tornam-se mitoticamente competentes, isto é, podem multiplicar-se para compensar essa solicitação (Marx & Garg, 1999). As células osteoprogenitoras estão localizadas em geral nas vizinhanças dos vasos sangüíneos perto de uma superfície óssea (Schenk, 1996).

2.1.2.2 OSTEOLASTOS

Têm como função produzir constituintes matriciais do tecido ósseo. São os promotores da osteogênese. Estão localizados em duas áreas próximas às superfícies ósseas onde depositam a matriz óssea. Logo, eles são chamados de osteoblastos endósseos ou osteoblastos periósseos. Nos procedimentos de enxerto ósseo autógeno em bloco os osteoblastos endosteais e células tronco da medula sobrevivem de 3 a 5 dias por causa de sua posição superficial e de sua capacidade para absorver nutrientes a partir dos tecidos do leito receptor por via de difusão simples.

2.1.2.3 OSTEÓCITOS

São células estrategicamente localizadas no interior da matriz óssea, responsáveis pela mobilização dos sais minerais no tecido ósseo por meio de dois mecanismos: a ionização e a subsequente saída dos sais para o interior dos vasos sanguíneos e a entrada de sais para a matriz. Os osteócitos são incorporados no interior da matriz óssea à medida que esta vai sendo depositada pelos osteoblastos. No entanto, essas células mantêm-se em contato por meio de prolongamentos celulares permeando a matriz e transportando nutrientes e sais minerais. Os osteócitos atuam na ionização da hidroxiapatita e mantêm a calcemia corporal em 10 mg% (Schenk, 1996). Os osteócitos, por outro lado, no interior das trabéculas ósseas perdem sua nutrição, devido sua incrustação na porção mineral servir como uma barreira nutricional (Marx & Garg, 1999).

2.1.2.4 OSTEOLASTOS

São monócitos espiralados que histologicamente apresentam as células gigantes multinucleadas com um número de 3 a 30 núcleos (Bonucci, 1981) responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo e se formam à liberação do hormônio paratireóideo. Ao contrário dos osteoblastos, os osteoclastos não se originam das células mesenquimais, mas sim do sistema hematopoiético. Os osteoclastos de reabsorção ativa movem-se e aderem-se à superfície óssea e aí produzem

depressões lacunares (lacunas de Howship). As pegadas de seu trajeto podem ser freqüentemente seguidas. Os períodos de locomoção não estão associados com a reabsorção. Quando a célula deixa de mover-se, ela geralmente inicia a reabsorção óssea. O osteoclasto ativo é uma célula altamente polarizada (Mundy, 1999). A borda franzida é a área especializada da membrana celular osteoclástica que existe adjacente à superfície óssea. Alguns pesquisadores têm sugerido que a superfície do osso está preparada para a reabsorção pela ação da colagenase. Dados mais recentes demonstram que a ligação do osteoclasto à superfície óssea é um requisito fundamental para que a reabsorção do tecido ósseo possa ocorrer. Esse processo de ligação envolve proteínas ligadas à membrana celular chamadas de integrinas (Davies et al., 1999). O desaparecimento dos osteoclastos do local da reabsorção óssea pode ser tão importante quanto sua formação para o controle da reabsorção. Hughes et al. (1996) sugeriram que os osteoclastos passam por apoptoses na conclusão da fase de reabsorção do processo de remodelação óssea.

2.2 HISTOFISIOLOGIA SANGÜÍNEA

2.2.1 O SANGUE

As substâncias necessárias para a manutenção da vitalidade dos tecidos do corpo humano bem como do reparo dos mesmos, são transportados no sistema circulatório em meio ao sangue. O equilíbrio das concentrações fisiológicas dos componentes sangüíneos é um dos fatores imprescindíveis no efetivo papel que cada um deles irá desempenhar.

Desde 1990, a ciência médica tem reconhecido vários componentes no sangue que são parte do processo natural de reparo e se adicionou aos tecidos feridos ou locais cirúrgicos como um concentrado que tem o potencial para acelerar o reparo (Kawamura & Urist, 1988). Esses componentes específicos no sangue inclui o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator beta de crescimento transformante (TGF- β), fator de crescimento similar à insulina (IGF-I), fator de crescimento epidermal, fibronectina e vitronectina que são moléculas de adesão celular encontrada no plasma e na própria fibrina.

2.2.2 COMPONENTES DO SANGUE

2.2.2.1 PLAQUETAS

São os componentes corpusculares menores do sangue humano (2 a 4 μm de diâmetro e com forma discóide) e o seu valor fisiológico médio normal em um indivíduo sadio varia de 150.000 a 300.000/ mm^3 de sangue. São fragmentos não nucleados dos megacariócitos derivados da medula óssea que circulam no sangue por 9 a 11 dias (Harker & Finch, 1969). A atividade mitogênica foi identificada nos grânulos-alfa das plaquetas por Witte et al. (1978) e confirmada sucessivamente por Kaplan et al. (1979a; 1979b) e, ainda, por Gerrard et al. (1980).

Após milhões de anos de evolução, as plaquetas disputam um papel principal como iniciadores da hemostasia e reparo de feridas em humanos. Em conexão com a regeneração óssea, Caplan (2000), mostrou que as células tronco-mesenquimais e células regenerativas do reparo ósseo, ocorrem em pequenas quantidades quando comparado às células funcionais e estruturais. Isso tem propiciado aos organismos a vantagem evolucionária da sobrevivência por conservação de energia, por meio da qual a população de células tronco, que são capazes de reparar, ser mantida em baixos números nos estados sem lesões. Ela é única em resposta à lesão e única no local da lesão nos quais os fatores de crescimento, provenientes das plaquetas, provêm o local com um número aumentado desses fatores na indução do

crescimento vascular direto e na diferenciação de células específicas para o reparo (Marx, 1999).

a) *Biologia das Plaquetas* - as plaquetas não possuem núcleos para sua duplicação e a sua vida média e influência direta de seus fatores de crescimento no local da injúria é menor do que 5 dias (Mustoe et al., 1989). Antes desse entendimento de seu papel no reparo da ferida elas eram tidas como contribuintes para o processo hemostático (coagulação), onde se aderem para formar um “plug” plaquetário num vaso injuriado e liberar vários iniciadores da cascata de coagulação. Sabemos agora que elas liberam também ativamente os fatores de crescimento envolvidos com a iniciação do reparo da ferida. As plaquetas liberam vários fatores de crescimento logo após sua degranulação: fator de crescimento transformante (Assoian et al., 1989), fator de crescimento derivado de plaquetas (Kaplan et al., 1979) e fator de crescimento epidermal (Cohen, 1962). Esses fatores de crescimento, também chamados “citocinas” são proteínas com aproximadamente 25.000 Daltons de peso molecular e estocada em seus grânulos alfa. A membrana celular das plaquetas é “ativada” para liberar esses grânulos alfa que liberam esses fatores de crescimento via extrusão ativa através da membrana celular (Marx & Garg, 1999).

b) Contagem de Plaquetas - normalmente, as plaquetas são avaliadas em lâminas coradas pelo Leishman, ao mesmo tempo em que se faz a contagem diferencial dos leucócitos, e que possibilita observação de função (aglutinação) e morfologia, além de permitir a exclusão de outras síndromes hemorrágicas (leucemia aguda, anemia aplástica). Quando se trata de trabalhos científicos, há a necessidade de técnica mais precisa, utilizando-se câmaras de contagem e microscópio com contraste de fase (Weibrich et al, 2001).

c) Teste de Agregação Plaquetária - obtida pela adição de substâncias agregantes ao plasma rico em plaquetas. Atualmente este teste é realizado em agregômetros que fornecem gráficos da reação de agregação plaquetária. Utiliza-se com maior freqüência a trombina e o difosfato de adenosina (ADP) como substância agregante e mais raramente o colágeno, adrenalina, fibrinogênio, etc.

2.2.2.2 COMPONENTES MOLECULARES DAS PLAQUETAS

a) Fatores de Crescimento – são proteínas solúveis produzidas por uma grande variedade de células e seus nomes derivam da fonte de onde se originam. A sinalização aos fatores de crescimento encontra-se mediada

por receptores de membrana específicos situados na superfície das células sobre os quais atuam promovendo uma proliferação ou inibição em diferentes situações garantindo então uma especificidade de ação frente a cada situação (Joyce et al., 1991). Quando liberadas pela degranulação plaquetária ou ativamente secretadas por macrófagos, elas atuam como fatores de crescimento paracrine, ou seja, fatores de crescimento secretados por uma célula exercendo seu efeito em uma segunda célula adjacente, afetando principalmente fibroblastos, células tronco medulares, e os pré-osteoblastos. Contudo, cada uma dessas células alvo tem a capacidade de sintetizar e secretar suas próprias proteínas TGF- β para atuar sobre as células adjacentes numa versão paracrine ou para atuar sobre elas mesmas como um fator de crescimento autócrino, ou seja, um fator de crescimento que é secretado por uma célula e atua sobre sua própria membrana celular para continuar sua atividade (Graves et al., 1989). O número total de fatores de crescimento que são capazes de efetuar as funções de proliferação, diferenciação e secreção de células relacionadas ao osso é desconhecido, porém seu número está continuamente sendo expandido como resultado de novas técnicas avançadas de pesquisa em bioquímica das proteínas e da biologia molecular (Lind, 1998).

b) Fatores de Crescimento Recombinantes – o

PRP também modula e sobrerregula uma das funções dos

fatores de crescimento na presença de um segundo ou terceiro fator. É essa característica específica que separa os fatores de crescimento do plasma rico em plaquetas dos fatores de crescimento recombinantes, que são os únicos fatores de crescimento que apenas focalizam-se num único caminho da regeneração. Os fatores de crescimento recombinantes, por essa razão, podem não ser tão funcionais na ferida em virtude da limitação dos níveis das taxas não elevadas de fatores de crescimento reguladores simultâneos (Marx, 1999).

c) Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF) – é a sentinela evolucionária do fator de crescimento que inicia primeiramente todo o reparo da ferida (Ross et al., 1986). É uma glicoproteína que existe em três formas diméricas: PDGF-aa, PDGF-bb e PDGF-ab. Segundo Singh et al. (1986) e Bowen-Pope et al. (1984), existe aproximadamente 0.06 ng de PDGF por 10^6 plaquetas humanas (aproximadamente 1.200 moléculas por plaqueta). O PDGF representa aproximadamente 50% da atividade mitogênica derivada das plaquetas do soro humano, como pesquisado em células gliais (Heldin et al., 1981). As funções principais do fator de crescimento derivado de plaquetas são: estimular a duplicação celular (mitogênese) de células tronco viáveis do reparo - células osteoprogenitoras e estimular a duplicação celular de células endoteliais (angiogênese), permitindo o brotamento de novos capilares dentro da ferida -

uma parte fundamental do reparo (Lind,1998). Além disso, o PDGF parece promover a migração de células viáveis do reparo perivascular no interior da ferida e modular os efeitos de outros fatores de crescimento, demonstrando o seu potencial para atuar como um fator paracrine ou autocrino para as células ósseas (Graves et al.,1989).

d) Fator Beta de Crescimento Transformante (TGF- β) – a “super-família” dos TGF- β s são aproximadamente 47 e inclui todos os fatores de crescimento morfogenéticos específicos do osso das 13 conhecidas Proteínas Morfogenéticas do Osso (BMPs). O tipo de TGF- β encontrado nas plaquetas é o TGF- β_1 e TGF- β_2 , que são os mais genéricos fatores de crescimento do tecido conjuntivo envolvido com a formação tanto da matriz óssea e da cartilagem como da matriz da lâmina basal (Burt, 1998). O Fator beta 1 e 2 de crescimento transformante, também por volta de 25.000 Daltons de peso molecular, são ativamente liberados em resposta aos efeitos de traumas ou cirurgias (Sporn et al., 1986). As células que são ativadas pelo TGF- β_1 ou TGF- β_2 incluem os fibroblastos, células endoteliais, células osteoprogenitoras, células condroprogenitoras e células tronco mesenquimais (Burt, 1992). Se um fibroblasto é “ativado” ele sofre divisão celular e produz colágeno. Uma célula endotelial será estimulada para produzir novos capilares. Uma célula osteoprogenitora irá diferenciar-se na produção de matriz óssea. Células

condroprogenitoras irão diferenciar-se e produzir a matriz de cartilagem. Uma célula tronco mesenquimal será estimulada para mitose assim como prover a maior população de células necessárias para o reparo da ferida (Beck et al., 1993).

e) Fator de Crescimento Epidermal (EGF) –

descoberto por Cohen, em 1962, foi o primeiro fator de crescimento descrito quando o autor realizou suas pesquisas na estimulação da erupção de incisivos e da abertura das pálpebras em animais recém nascidos isolando uma proteína das glândulas submandibulares desses animais. O fator de crescimento epidermal estimula a regeneração da epiderme e é encontrado nas plaquetas, monócitos, glândulas salivares, glândulas duodenais, rins, urina e leite materno. O EGF promove o reparo da ferida por estimular a divisão de queratinócitos e fibroblastos dermais e também acentuar a produção e efeitos de outros fatores de crescimento (Rudkin & Miller, 1996).

f) Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF)

– o estabelecimento da existência do fator de crescimento de fibroblasto se deu em 1974 por Gospodarowicz, em suas pesquisas com extratos de cérebro e hipófise de bovinos. Atualmente, os FGFs são representados por um grupo de proteínas similares que são potentes mitógenos para células derivadas do ectoderma e mesoderma. As estruturas e funções

do fator de crescimento de fibroblastos ácido (aFGF) e do fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF), o primeiro fator de crescimento a ser purificado, tem sido bem caracterizado. Ambos estimulam a migração e proliferação de células endoteliais (Rudkin & Miller, 1996).

g) Fatores de Crescimento Similares à Insulina (IGFs) – suas denominações originais foram somatomedina-C e fator de crescimento esquelético (Mohan & Baylink, 1991). Os IGFs produzidos pelas células não apenas agem como regulador autocrino e paracrino, mas também tornam-se incorporados no interior da matriz óssea e podem ser liberados mais tarde durante processos de reabsorção (Linkhart et al., 1996). O IGF-I e IGF-II são os mais abundantes fatores de crescimento estocados na matriz óssea (Mohan & Baylink 1991; Dequeker, 1994). Além de serem produzidos acima de seus níveis normais pelos osteoblastos para estocagem no osso, os osteoclastos podem secretar uma quantidade elevada de IGFs durante a reabsorção. Juntamente com outros fatores de crescimento contribuem para o processo de desenvolvimento ósseo, crescimento e reparo por estimular a proliferação e diferenciação dos precursores dos osteoblastos (Linkhart et al., 1996).

h) Fibronectina e Vitronectina – Ambas são proteínas chamadas de moléculas de adesão celular. Participam da proliferação celular e migração particularmente visto no reparo da cartilagem e osso. Essas proteínas movem-se via um processo de endocitose no qual elas fixam-se na porção da membrana celular no interior de vesículas. Essas vesículas são transportadas pelo citoplasma para sua porção frontal onde são re-incorporadas para o interior da superfície da membrana celular fornecendo, portanto, um apoio ou aderência para as células quando a estas for solicitado um deslocamento (Marx & Garg, 2002).

i) Fibrina – da mesma forma que a fibronectina e a vitronectina, a fibrina é derivada do plasma e contribui para a mobilidade celular na ferida. O papel da fibrina, que é uma proteína de cadeias cruzadas derivada a partir do fibrinogênio no plasma, não é apenas para servir como um arcabouço ou superfície para a migração celular, mas para aprisionar plaquetas. Inicialmente, a sua utilização se deu como um sistema de selante que tem sido utilizado com sucesso promovendo o reparo em diferentes situações clínicas (Matras, 1985). A formação de fibrina do processo do PRP serve como uma cola e une, ao mesmo tempo, as diferentes partes de trabéculas e tecido medular soltas ajudando, dessa forma, o cirurgião a esculpir o enxerto. A rede de fibrina age como um arcabouço para a osteocondução por todo o enxerto depois

que os fatores de crescimento no interior das plaquetas iniciam a osteogênese (Marx, 1999).

2.3 A BIOLOGIA DA INCORPORAÇÃO DO ENXERTO ÓSSEO

O padrão clínico para os enxertos ósseos é o enxerto ósseo trabecular autógeno. Os enxertos alógenos e corticais autógenos incorporam pelos mesmos meios esquemáticos que os enxertos trabeculares autógenos, porém, eles têm algumas diferenças importantes.

2.3.1 DIFERENÇAS ENTRE OS PROCESSOS DE INCORPORAÇÃO DO ENXERTO CORTICAL E TRABECULAR AUTÓGENO

O enxerto invariavelmente trará danos aos vasos locais e deixa sangramento do osso trabecular hospedeiro no leito receptor. Isso ativa a cascata da coagulação e uma rede de fibrina forma-se. O coágulo organiza-se dentro de um tecido conjuntivo e atrai células inflamatórias e novos vasos sangüíneos. Os elementos do enxerto sofrem necrose. Existe controvérsia se os elementos celulares vivem e contribuem para a osteogênese, porém sua contribuição, se presente, é

provavelmente pequena comparado às do tecido hospedeiro (Burchardt, 1987).

O enxerto trabecular inicia a revascularização após algumas horas do ato cirúrgico e se completa geralmente em duas semanas. Novo tecido de granulação move-se através dos poros da rede trabecular e ocupa o enxerto. Os osteoblastos, as células formadoras de osso, aparecem com o tecido vascular. As células osteoprogenitoras dão origem aos osteoblastos. Existem outras células que podem dar origem aos osteoblastos (Burchardt & Enneking, 1978), tais como: células endoteliais, monócitos circulantes, células do sistema retículo-endotelial e fibroblastos. Segue a invasão do enxerto pela neovascularização, seguida pelo aparecimento de células formadoras de osso na região. Essa invasão vascular dessa forma trouxe osteoblastos que depositaram osteóide sobre as faixas de cartilagem. O enxerto trabecular tem uma estrutura de espaços abertos que permitem a deposição de novo osso diretamente sobre as trabéculas necróticas. As trabéculas transplantadas não perdem sua resistência mecânica quando perdem sua vitalidade. Por essa razão, um enxerto trabecular passa por um aumento inicial na resistência mecânica enquanto o novo osso é depositado nas trabéculas necróticas existentes. Então, assim como as trabéculas necróticas são remodeladas mais tarde, a resistência do enxerto incorporado diminui próximo àquela do osso trabecular normal. Essa

seqüência é uma das três diferenças entre a incorporação dos enxertos corticais e trabeculares (Yaszemski et al., 1996).

Essas diferenças têm implicações para o tratamento clínico de pacientes após os enxertos de osso cortical e trabecular. As diferenças repousam na taxa de revascularização, resposta osteoclástica versus osteoblástica e a integralidade do reparo. Elas devem ser consideradas quando planeja-se a utilização de um determinado material e o planejamento cirúrgico para repor osso (Yaszemski et al., 1996).

A seqüência de incorporação do enxerto é similar para os enxertos corticais e trabeculares durante as duas primeiras semanas. A formação do hematoma e sua organização no interior do coágulo de fibrina são idênticos nos casos trabecular e cortical. O enxerto ósseo trabecular é revascularizado muito mais rapidamente do que o enxerto de osso cortical. A revascularização do enxerto trabecular ocorre por meio dos espaços medulares. O mesmo processo no osso cortical deve ocorrer por meio dos canais haversianos existentes. A porosidade que este sistema haversiano (ósteons) confere ao osso cortical é baixa comparada à porosidade do osso trabecular. A invaginação de novos vasos sangüíneos através dos canais haversianos leva muito mais tempo do que a invaginação de novos vasos através dos poros abertos do osso trabecular (Prolo & Rodrigo, 1985). Os enxertos corticais autógenos requerem dois meses para revascularizar

comparado às duas semanas para os enxertos trabeculares (Prolo & Rodrigo, 1985).

A segunda diferença entre os processos de incorporação dos enxertos corticais e trabeculares repousa na seqüência da nova substituição óssea para o enxerto necrótico. Nós mencionamos acima que a resposta hospedeira para um enxerto trabecular é osteoblástica. Isto é, o enxerto trabecular tem nova forma de tecido ósseo em suas trabéculas necróticas sem prévia reabsorção daquelas trabéculas. Nos enxertos corticais os osteoclastos, agem anteriormente aos osteoblastos para dar origem a novo tecido ósseo. A importância dessa diferença é que os transplantes corticais, freqüentemente utilizados para tratar grandes defeitos ósseos, passam por uma fase de resistência mecânica diminuída. Isso ocorre entre aproximadamente seis semanas e seis meses pós-transplante quando a fase de reabsorção inicial (osteoclástica) tem ocorrido por fora à fase aposicional (osteoblástica) de incorporação do enxerto cortical (Burchardt & Enneking, 1978). Os transplantes corticais podem perder 50% de sua resistência em seis meses e essa perda é revertida por volta de 1 a 2 anos (Prolo & Rodrigo, 1985).

A terceira diferença entre os dois processos é a integralidade do reparo. As trabéculas transplantadas do enxerto trabecular são completamente reabsorvidas durante o remodelamento e toda a região reparada torna-se um osso lamelar remodelado. Os enxertos corticais permanecem uma

mistura de osso necrótico e osso viável por anos, e podem nunca sofrer transformação por completo em um novo osso (Burchardt, 1987). O osso necrótico residual num enxerto cortical pode ser 50-90% do enxerto original muitos anos após o enxerto (Prolo & Rodrigo, 1985). O significado é que, embora o enxerto necrótico mantenha sua resistência, a região do espaço que ele ocupa não pode sofrer remodelamento completo e, portanto, pode não conter satisfatoriamente um osso orientado para suas necessidades mecânicas.

2.3.2 ATUAÇÃO DOS FATORES DE CRESCIMENTO NO PROCESSO DE REGENERAÇÃO DO OSSO

A extensão da cicatrização e da atividade de regeneração óssea é acompanhada por dois mecanismos. No primeiro mecanismo, no interior do enxerto, as plaquetas aprisionadas no coágulo degranulam-se em questão de horas da colocação do enxerto, liberando PDGF, TGF- β_1 e TGF- β_2 . Esses fatores dão início ao processo de regeneração. O PDGF une-se às células endoteliais para iniciar a invaginação dos capilares, enquanto o TGF- β_1 e o TGF- β_2 unem-se aos osteoblastos endosteais e células tronco mesenquimais da medula para iniciar as mitoses para aumentar sua quantidade assim como estimular a produção de osteóide. Esse processo continua pelos três primeiros dias da colocação do enxerto, tempo em que os capilares já são vistos entrando no enxerto.

Entretanto, nesse momento, as plaquetas degranulam-se e não serão mais, por longo tempo, uma fonte primária de fatores de crescimento para direcionar o processo de reparo ósseo (Marx et al., 1998).

O segundo mecanismo, e o mais dominante, parece ser a quimiotaxia e ativação dos macrófagos que substituem as plaquetas como fonte primária dos fatores de crescimento após o terceiro dia (Pierce et al., 1992; Mustoe et al., 1989).

Os macrófagos são inicialmente atraídos ao enxerto como monócitos circulantes das células teciduais livres pelas ações do PDGF e pelo inerente gradiente de oxigênio entre o espaço morto do enxerto e o tecido normal adjacente que está acima de 20 mmHg (Knighton et al., 1981; 1984). A hipóxia no enxerto de 05 a 10 mmHg de tensão de oxigênio, comparado à normóxia dos tecidos adjacentes, que é 45 a 55 mmHg de tensão de oxigênio, cria um diferencial de oxigênio de 30 a 40 mm/Hg para o qual o macrófago é programado responder. Assim, os macrófagos, que são muito prolíficos e eficientes sintetizadores do fator de crescimento, dirigem a regeneração óssea remanescente do enxerto e reparo. Essencialmente, os macrófagos secretam as mesmas proteínas PDGF e TGF- β , mas também secreta fator de crescimento fibroblástico básico e fatores de crescimento endoteliais vasculares, entre outros (Knighton et al., 1981). Assim, as propriedades inerentes da ferida (particularmente o gradiente de oxigênio, PDGF e TGF- β) inicia a angiogênese antecipadamente a partir de capilares

do ambiente e mitogêneses de células osteocompetentes transferidas (Marx, 1999).

A revascularização completa do enxerto ocorre por volta de 4 semanas. Nessa fase, os osteoblastos endosteais já têm depositado osteóide sobre as trabéculas ósseas originais e as células tronco da medula aumentam drasticamente em número e iniciam a diferenciação em osteoblastos. Como os capilares revascularizaram o enxerto, eles efetivamente reduzem a diferença do gradiente de oxigênio, criando assim um mecanismo interruptor para os macrófagos prevenindo uma angiogênese excessiva (Knighton et al., 1984).

A efetiva maturação de um enxerto a partir de um osso lamelar desorganizado em um osso maduro com sistemas haversianos envolve o terceiro e último grupo de fatores de crescimento neste modelo, o qual não faz parte desse estudo e não está contido no PRP. Trata-se da Proteína Morfogênica do Osso (BMP). Como a matriz óssea é formada e então mineralizada pelos osteoblastos, a BMP é colocada para o interior da matriz óssea (Delmas & Malaval, 1993). Essa proteína insolúvel em ácido é então liberada pela reabsorção osteoclástica da remodelação do osso normal, a qual progride numa razão de 0,7% ao dia em osso normal mas pode ocorrer mais rapidamente de 5% a 8% ao dia da maturação de um enxerto ósseo (Dequeker, 1994). A liberação de BMP conecta a reabsorção óssea à formação de osso novo pela ação de células tronco adjacentes por aumentarem seus números e

diferencia-las em osteoblastos funcionais que secretam ativamente matriz óssea. Então, o ciclo do enxerto a partir de um transplante celular que é colocado dentro de um meio bioquímico complexo progride para um osso funcional maturo que se auto mantém por meio do ciclo normal de reabsorção e remodelação.

2.4 PROCESSO DE REMODELAÇÃO DO OSSO

A remodelação óssea é o mecanismo pelo qual o osso renova-se e permanece estruturalmente ativo em suas funções. O esqueleto adulto está normalmente em estado dinâmico, sendo continuamente destruído e reformado pelas ações coordenadas dos osteoclastos e osteoblastos sobre a superfície trabecular e do sistema haversiano. Esta modificação ou remodelação do osso ocorre em pontos específicos e em porções discretas por todo o esqueleto. A remodelação que ocorre em cada porção (chamada de unidade de remodelação óssea de Frost, quem primeiro descreveu esta seqüência quase 30 anos atrás, é “geograficamente” e cronologicamente separada de outras porções de remodelação. Isto sugere que a ativação da seqüência dos eventos celulares responsáveis pela remodelação é controlada localmente, mais provavelmente pelos fatores autocrines ou paracrines produzidos no microambiente ósseo (Frost, 1999). A seqüência é sempre a mesma – reabsorção óssea osteoclástica seguida pela

formação óssea osteoblástica para reparar o defeito. A fase reabsorvível do processo de remodelação tem sido estimada em 10 dias. Esse período é seguido pelo reparo do defeito por um conjunto de osteoblastos atraídos ao local da reabsorção e então presumivelmente agem formando novo osso. Esta parte do processo leva aproximadamente três meses e o novo osso, assim formado, é chamado unidade estrutural óssea – BSU (Frost, 1999).

O osso realiza várias funções. Primeiro, ele é o reservatório primário de cálcio no corpo e troca esse mineral rapidamente com o ambiente fluído extracelular. Segundo, a medula hematopoiética que está localizada no osso trabecular fornece as células do corpo, dos tecidos e dos órgãos com suas células sangüíneas vermelhas carreadoras de nutrientes e células sangüíneas brancas que combatem a infecção. A terceira função do osso é o seu papel mecânico em suportar os tecidos e em prover locais de inserção dos músculos que efetuam os movimentos do corpo e locomoção.

O processo biológico que se inicia com a transplantação óssea e resulta em osso estruturalmente e mecanicamente normal utiliza uma única propriedade, a regeneração. Quando traumatizado, não se repara como uma cicatriz fibrosa como faz virtualmente todos os outros tecidos. A resposta ao trauma é para regenerar o tecido ósseo e assim remodelar aquele novo osso formado em direção ao local do *stress*. Essa regeneração é compreendida como uma reposição

de componentes dissipados ou perdidos no organismo por elementos igualmente ou altamente organizados.

No entanto, esse potencial para restaurar sua estrutura original completamente e suas propriedades mecânicas tem certas limitações. A incorporação do transplante, crescimento fisiológico e todo reparo da fratura resultam na formação de novo osso que pode então remodelar para otimizar sua função mecânica em sua localização particular no esqueleto. Esse deve ser o objetivo ideal da estratégia da engenharia de tecidos para obter-se osso humano.

O biomaterial ideal ou elaborar um biomaterial deve prover resistência mecânica temporária para a região a ser reconstruída, permitir ou induzir a região para reconstituir-se com novo osso, desintegrar-se de forma controlada em moléculas não tóxicas que o corpo possa metabolizar ou excretar e assim permitir o processo usual para otimizar as propriedades mecânicas do osso recém formado ao longo da linha do campo de pressão.

2.5 ENXERTOS ÓSSEOS

Existem várias referências na literatura que registram as primeiras tentativas de enxerto ósseo.

Lane & Sandhu (1987) citam uma referência de um cirurgião holandês, Job van Meek'ren, em 1668.

Senn (1889) implantou osso alógeno descalcificado, tratado com ácido hidrocloreídrico, no interior de cavidades de osteomielites crônicas com o objetivo de promover antissepsia dentro delas.

Barth (1898) afirmou que o osso transplantado, medular e periósteo morto são substituídos por novo osso a partir da superfície do tecido sem reabsorção prévia do enxerto transplantado.

Phemister (1914) descreveu o processo de novo osso formar-se a partir de elementos presentes no osso e utilizou a estrutura do osso mineralizado morto como um arcabouço por sobre o qual cresceria.

Levander (1930) injetou extrato de osso no interior de músculos e observou a formação de novo osso em local heterotópico. Foram aproximadamente 3 décadas a partir de sua publicação até a demonstração por Urist (1965) de que, um extrato de matriz óssea desmineralizada poderia induzir invasão de células mesenquimais indiferenciadas a partir do hospedeiro para tornarem-se osteoblastos e formar novo osso em um local heterotópico. Através de uma série de experimentos demonstraram, ainda, que um componente da matriz óssea desmineralizada que eles chamaram de proteína morfogenética do osso (BMP) era a responsável por esta indução.

O trilha histórico da transplantação óssea tem conduzido-nos para esse ponto: a regeneração bem sucedida

do osso requer células que produzirá osteóide (matriz óssea), em apropriado arcabouço sobre o qual novo osso pode crescer, e moléculas bioativas para direcionar o processo. O hospedeiro deve, claro, proporcionar provisões vasculares e nutrientes. Planejar o transplante deve geralmente conceder algumas propriedades mecânicas para a região reconstruída e esse pode ser aproximado pelas propriedades mecânicas do osso a ser substituído. As exatas exigências mecânicas são ditadas pela anatomia, carga funcional e circunstâncias clínicas de uma reconstrução em particular. A tecnologia agora existe para direcionar cada um dos componentes necessários na regeneração óssea separadamente (Hollinger, 1993). A evolução do transplante ósseo está agora entrando numa era onde novas combinações de constituintes necessários e igualmente processos modernos para liberá-los estão passando por experimentações.

Durante a década de 80 o ponto principal do conhecimento da cicatrização era o papel da oxigenação dos tecidos. De fato, a oxigenação dos tecidos aumentando a capacidade fagocitária e bactericida das células imunes hospedeiras e auxiliando o colágeno tão bem quanto outra proteína sintética, permanece uma necessidade fundamental. Hoje, entretanto, os pontos principais de uma base de expansão dos conhecimentos são a identificação, entendimento e uso dos fatores de crescimento. A transição entre esses dois períodos foi a descoberta de que o oxigênio,

em geral, e o gradiente de oxigênio especificamente, tem seus efeitos direto na estimulação de macrófagos de vários outros fatores de crescimento e angiogênicos que auxiliam a cicatrização e resistência a infecções (Knighton et al., 1984).

Os enxertos de osso autógeno cortical e medular são os dois tipos de enxertos ósseos utilizados com mais frequência, onde cada um deles apresenta vantagens e desvantagens baseado nas diferenças da própria arquitetura. Baseado nessas observações, Merckx et al. (1999) avaliaram o reparo ósseo em seio maxilar de cabras holandesas enxertando-os com osso cortical e medular autógenos retirados por meio de trefinas da calvária. Na análise histológica nos períodos de 3, 6, 12 e 24 semanas observaram que inicialmente os enxertos medulares apresentaram uma revascularização mais rápida do que os enxertos corticais e que os dois modelos mostraram sua aceitação e incorporação ao leito receptor.

Tem sido proposto que os enxertos ósseos autógenos particulados devam ser preferidos aos blocos nos procedimentos de enxerto ósseo. Apesar de estudos descreverem a influência dos diferentes tamanhos de partículas no reparo ósseo em modelos de estudo animal e humano não foram conclusivos em determinar qual tamanho de partícula deveria ser indicada na região craniomaxilofacial. Pallessen et al. (2002) investigaram a influência do tamanho das partículas de enxertos ósseos autógenos em 45 defeitos ósseos

bicorticais em crânios de 15 coelhos. Observaram que o volume total do novo osso formado nos defeitos preenchidos com partículas pequenas ($0,5 \text{ mm}^3 - 2 \text{ mm}^3$) foi maior e mais maturo quando comparado aos defeitos com partículas maiores (10 mm^3) após o período de 2 e 4 semanas. Além disso, observaram que a reabsorção das partículas pequenas foi mais pronunciado, evidenciando um nível maior de substituição comparado ao grupo de cavidades preenchidas com partículas maiores. Concluíram que os estágios iniciais da regeneração óssea foram influenciados pelo tamanho das partículas ósseas do enxerto autógeno mostrando que as partículas de $0,5 \text{ mm}^3$ a 2 mm^3 poderiam ser escolhidas para os procedimentos de enxerto ósseo.

2.6 UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

O PRP é uma fonte facilmente acessível de fatores de crescimento para auxiliar o reparo dos tecidos mole e ósseo. É obtido a partir de métodos de concentrados autógenos de plaquetas para a adição em feridas cirúrgicas ou enxertos e para outras injúrias no sentido de acelerar ou auxiliar o reparo (Marx et al., 1998).

Um coágulo sanguíneo natural contém 95% de células sanguíneas vermelhas, 5% de plaquetas e menos do que 1% de células brancas juntamente com numerosos fios de

fibrina. Um coágulo sanguíneo de PRP, por outro lado, contém 4 % de células vermelhas, 95% de plaquetas e 1% de células brancas (Marx & Garg, 2002).

2.6.1 TERMINOLOGIA

O Plasma Rico em Plaquetas é o termo cientificamente correto para a concentração de plaquetas autógenas. Outros termos, tais como: Concentrado de Plaquetas (PC), Gel de Plaquetas Autógenas (APG) e Plasma Muito Rico em Plaquetas (PMRP), têm sido aplicados ao mesmo material biológico e, no entanto, não são os termos corretos. São aceitáveis somente para o uso clínico (Marx & Garg, 2002).

2.6.2 SEGURANÇA DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

Devido ser autógeno, o PRP evita os riscos de doenças transmissíveis, tais como: HIV, Hepatites B, C ou D e outras patologias de origem sanguínea. Por ser usado topicamente na cobertura de uma ferida e na forma de um coágulo ele nunca retorna à circulação do indivíduo (Marx & Garg, 2002).

2.6.3 INDICAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

A diversidade celular do PRP permite que seja utilizado em diversas situações de reparo da perda óssea alveolar, tais como; enxerto de seio maxilar (Rosenberg & Torosian, 2000; Sonleitner et al., 2000; Lozada et al., 2001; Froum et al., 2002), enxerto para aumento localizado de altura ou largura (particulado ou em bloco) do rebordo alveolar (Marx et al., 1998; Marx et al., 1999; Shanaman et al., 2001; e em pequenos defeitos como as fenestrações pós implantodônticas (Petrungaro, 2002), defeitos ósseos periodontais (Lynch, 1999; Shanaman et al., 2001; Lekovic et al., 2002), deiscências do tecido ósseo e do tecido mole (Petrungaro, 2001), cirurgias periodontais estéticas (Petrungaro, 2001), implantes imediatos (Petrungaro, 2002) e alvéolos após exodontias (Anitua, 1999) e cirurgias cosméticas (Man et al., 2001).

2.6.4 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO PRP

O seu processamento envolve fundamentalmente a retirada e concentração de plaquetas e, conseqüentemente os fatores de crescimento que eles contêm. A estratégia mais simplificada do método é ampliar e acelerar os efeitos dos fatores de crescimento contidos nas plaquetas.

O PRP é obtido a partir de sangue autógeno por meio de um processo que utiliza o princípio da separação celular por

centrifugação diferencial no qual se retira sangue do doador, separam-se as substâncias desejadas, no caso as plaquetas, e o restante dos elementos sangüíneos é devolvido ao paciente (Marx et al., 1998). Essa técnica permite que o PRP seja produzido numa concentração de 300% acima dos níveis sangüíneos normais. A execução técnica desses procedimentos tem sofrido grande incremento nos últimos anos, graças ao surgimento de equipamentos cada vez mais sofisticados e automatizados. Os equipamentos mais utilizados para essa finalidade são o separador celular de densidade gradiente Eletromedics 500/Medtronic (Marx et al., 1998), o Medtronic Sequestra 1000 (Whitman et al., 1997), o Compact Advanced Platelet Sequestration System-CAPSS (Lynch, 1999) e o Heitich Universal 32/Tuttigen (Sonnleitner et al., 2000).

A seqüência do processo é basicamente a seguinte: punção venosa, retirada do sangue e separação celular.

Quando o procedimento é realizado em hospital ou banco de sangue, ainda no período pré-operatório, instala-se um cateter em veia central por onde o separador celular retira o sangue em média de 50 ml por minuto (Marx et al., 1998). O volume de sangue extraído varia, em geral, de 400 a 500ml (Whitman et al., 1997; Marx et al., 1998) e fica acondicionado em uma bolsa coletora rotulada e contendo anticoagulante (Ravel, 1997). Se a retirada for no próprio consultório, volumes menores são utilizados - 10 a 20 ml (Anitua, 1999) ou de 70 a

150 ml (Lynch, 1999; Sonnleitner et al., 2000) – e armazenados em tubos de ensaio, para em seguida sofrerem centrifugação.

A separação dos elementos do sangue retirado é feita por centrifugação a partir do mais denso para o menos denso. Basicamente dois protocolos para separação de hemocomponentes podem ser aplicados: convencional e simplificado.

O processo convencional é realizado em equipamentos de centrifugação de grande porte, típico dos centros de hemoterapia (Ravel, 1997), (Vengelen, 1996), como se segue:

- Obtenção do plasma pobre em plaquetas (PPP). O PPP é plasma acelular, obtido por centrifugação à velocidade de 5.400 a 5.600 rpm. Tal velocidade permite a separação por densidade do plasma pobre em plaquetas dos eritrócitos e da crosta de coágulo, que contém as plaquetas e os leucócitos. O volume desse componente, que deve retornar ao paciente é de aproximadamente 200 ml (Marx et al., 1998);
- obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) após a obtenção do PPP a velocidade de centrifugação é reduzida para 2.400 rpm, permitindo a separação da crosta de coágulo, suspensa no plasma (cerca de 30 ml), do acúmulo das células vermelhas do sangue (Whitman et al., 1997). A redução da velocidade de centrifugação possibilita a coleta de aproximadamente 70 ml de PRP (Marx et al., 1998), cuja

coloração é alaranjada. Ao final observa-se um conglomerado de células vermelhas do sangue com aproximadamente 180 ml de volume, as quais devem retornar ao paciente. O processo simplificado é executado em minicentrífugas preconizadas para uso em ambiente ambulatorial ou em consultórios odontológicos (Anitua, 1999; Sonnleitner et al., 2000);

- 10 a 20 ml de sangue total coletados são distribuídos em tubos de ensaio de 5 ml, contendo solução de citrato trissódico a 10% como anticoagulante. Os tubos são centrifugados a 160 G por seis minutos à temperatura ambiente, resultando em três componentes básicos: células vermelhas do sangue (fundo do tubo); plasma rico em plaquetas (meio do tubo) e plasma pobre em plaquetas (topo do tubo);
- em seguida faz-se a coleta do plasma incluindo 1 a 2 mm da porção superior das células vermelhas do sangue. Na zona de transição na fase vermelha, a proporção de linfócitos é alta. Esta é de interesse, porque os linfócitos também liberam fatores de crescimento (Matras, 1985) e deve ser usada na mistura por esta razão. O volume de cerca de 1,2 ml por tubo é associado a 50 µl de cloreto de cálcio a 10% e após 5 a 10 minutos o gel é formado (Anitua, 1999).

Rossi Júnior et al. (2001) apresentaram um protocolo de obtenção de PRP, coletando sangue de 4 cães da raça beagle, e utilizando-se de uma centrífuga convencional a 750

r.p.m., por 10 minutos, onde puderam concluir que a concentração obtida era semelhante a protocolos estabelecidos por outros centros de estudos além de ser um método seguro.

2.7 TRABALHOS EXPERIMENTAIS COM OS FATORES DE CRESCIMENTO, PRP E BIOMATERIAIS ASSOCIADOS

Lynch et al. (1991) estudaram implantes de pressão em 8 cães beagle utilizando uma combinação de PDGF-bb/IGF-I simultaneamente à colocação dos implantes e sugeriram que essa combinação estimulava a regeneração óssea em torno dos mesmos.

A constatação científica de que a utilização dos fatores de crescimento poderia estimular a diferenciação de células progenitoras motivou o desenvolvimento de novas pesquisas.

Becker et al. (1992) estudaram o princípio da osteopromoção em torno de 24 implantes instalados em 4 cães logo após a extração com o uso de membranas ePTFE sozinhas, combinadas com DFDB ou com a combinação PDGF-bb/IGF-I 18 semanas após a instalação. Os resultados demonstraram, clinicamente, que as membranas de ePTFE sozinhas ou as membranas de ePTFE com PDGF-bb/IGF-I foram efetivas igualmente em promover crescimento ósseo ao redor dos implantes. A avaliação histológica demonstrou que os

locais tratados com as membranas associado ao uso do PDGF-bb/IGF-I mostravam densidade óssea mais alto comparado aos outros dois locais que receberam apenas a membrana e membrana associada com DFDB.

Rutheford et al. (1993) relataram ter obtido a regeneração periodontal e crescimento ósseo alveolar vertical em áreas interdentais após uma única aplicação de PDGF associado com a dexametasona e matriz colágena.

Hock & Canalis (1994) investigaram os efeitos do PDGF sobre a formação óssea “in vitro” e confirmaram que este fator de crescimento estimula a síntese de DNA em culturas de calvárias de ratos em estágio de feto, além disso, determinaram que nesse modelo, bem como em culturas de células osteoblásticas isoladas, o PDGF-bb foi mais potente que o PDGF-aa.

Slater et al. (1995) avaliaram a participação das plaquetas na estimulação da atividade osteogênica sobre células ósseas retiradas da extremidade de ossos longos de fetos humanos, estimados estarem na 17^a à 20^a semanas de gestação. Os autores concluíram que a adição de plaquetas humanas a essa cultura estimulou a proliferação de osteoblastos.

Lind (1998) analisou em sua tese, a ação de vários fatores de crescimento (PDGF, TGF- β , BMP e IGF-I) sobre a cicatrização óssea em estudos “in vitro” e “in vivo”, sobre as células osteoblásticas, em osteotomias e na fixação de

implantes ortopédicos. Nos estudos “in vitro”, os fatores de crescimento exibiram efeitos quimiotáticos sobre os osteoblastos humanos e a associação dos diferentes fatores de crescimento não tiveram efeitos na síntese de colágeno. Nos resultados “in vivo”, observou que aplicações contínuas de 1 a 10 μg de TGF- β natural em uma osteotomia de tíbia laminada em coelhos aumentaram a união mecânica e formação de calo ósseo em 6 semanas e que a remodelação do osso cortical diafisiário não foi afetada pela aplicação de fator de crescimento local.

Kim et al. (2001) avaliaram os efeitos da concentração de plaquetas na formação óssea com o osso mineral bovino (BioOss), em defeitos ósseos de tamanho crítico, preparados em calvária de coelhos. A formação óssea foi avaliada por meio das imagens de raio-x e tomografia computadorizada após serem digitalizadas. Em todos os parâmetros testados, uma maior densidade óssea foi obtida nos enxertos que foram combinados com o concentrado de plaquetas.

2.8 TRABALHOS CLÍNICOS COM O PRP E BIOMATERIAIS ASSOCIADOS

Tayapongsak et al. (1994) introduziram a idéia da utilização de um adesivo de fibrina autógena para facilitar a instalação e o reparo dos enxertos ósseos. Mostraram uma

diminuição em 50% do tempo para incorporação e remodelação do enxerto com a adição dessa fibrina adesiva ao osso medular particulado na maioria das cirurgias de reconstrução mandibular. Identificaram consolidações ósseas radiográficas precoces em 33 casos. Atribuíram isso à osteocondução aumentada das células osteocompetentes no enxerto por meio da capacidade da fibrina, além da notável adesividade das partículas ósseas medulares durante a colocação do enxerto.

Rudkin & Miller (1996) realizaram uma revisão da literatura das terapias com fatores de crescimento. Consideraram que a reconstrução cirúrgica de defeitos estéticos e funcionais são freqüentemente comprometidos pelas limitações de tecidos doadores e complicações de reparo. Considerando, ainda, que isso pode potencialmente ser contornado pela terapia com fatores de crescimento.

Linkhart et al. (1996) realizaram uma revisão de literatura de pesquisas clínicas e básicas que foram importantes para os objetivos, a longo prazo, de se usar os polipeptídeos de fatores de crescimento na promoção do reparo de fraturas, incorporação óssea sobre a superfície dos implantes e, ainda, no aumento da formação óssea em osteoporoses. Os autores concluíram que, ao se definir os mecanismos dos efeitos implícitos dos fatores de crescimento sobre a formação óssea e, conseqüentemente, justificar e otimizar o uso terapêutico dos fatores de crescimento “in vivo”,

esses fatores poderão tornar-se agentes terapêuticos em potencial.

Whitman et al. (1997) descreveram a técnica de utilização do gel de plaquetas como uma alternativa autógena para a cola de fibrina com aplicações em cirurgia oral e maxilofacial apresentando como vantagens a segurança contra infecções e o maior suporte para a cicatrização de lesões devido a presença das plaquetas e dos fatores de crescimento. Isso foi usado em conjunção com procedimentos, tais como cirurgia ablativa da região maxilofacial, reconstrução mandibular, reparo cirúrgico da perda alveolar associados a fístulas oroantral/oronasal e procedimentos adjuntos eleitos para a colocação de implantes osseointegrados. Os autores relataram, ainda, que encontraram melhores hemostasias utilizando esta técnica em 21 cavidades de crista íliaca após remoção de blocos ósseos, observando que não houve formação de seromas e hematomas.

A aplicação do PRP em conjunto com os procedimentos de enxertos ósseos tem sido ampliada e discutida com aparente sucesso. Nos enxertos de seio maxilar, com ou sem instalação imediata de implantes, desempenha um papel importante devido ao complexo ambiente bioquímico que se estabelece nessa situação clínica (Jensen, 1999; Reddi, 1997). A intenção do procedimento não é somente preencher a cavidade sinusal, mas criar adequada quantidade de osso

viável subjacente à crista óssea reabsorvida para a obtenção de um tratamento reabilitador previsível.

Marx et al. (1998) relataram 88 reconstruções, com osso retirado do íliaco, de defeitos de 5 cm ou mais em mandíbulas provenientes de extirpações de tumores benignos e malignos sem radioterapia. Encontraram regeneração e densidade óssea significativa com uma taxa de maturação aumentada em 44 defeitos ósseos maiores nos períodos de 2, 4 e 6 meses usando o gel de plaquetas combinado com enxertos ósseos autógenos quando comparado aos outros 44 casos de enxertos ósseos autógenos isoladamente sem a adição do PRP.

Anitua (1999), utilizando o PRP no preenchimento imediato de alvéolos dentais com o coágulo rico em PRP em 20 pacientes, observou que as biópsias dessas áreas realizadas até 16 semanas mostraram osso maturo e compacto com trabéculas bem organizadas e morfologia normal. Observou ainda, que a epitelação em 100% dos casos foi completa e significativamente melhor do que em áreas não tratadas com PRP.

Marx (1999) relata que o PRP representa uma vantagem sobre as técnicas padrões de enxertos por oferecer aos clínicos o acesso aos fatores de crescimento com uma tecnologia simples e viável. Relata, ainda, o aumento da taxa de consolidação clínica do enxerto, e os enxertos de PRP produzem um osso mais denso e maturo do que os enxertos

sem PRP. É seguro dizer que, ainda, segundo este autor, o PRP não está completamente conhecido e não tem sido totalmente utilizado. É uma tecnologia em fase inicial de pesquisa sendo necessário identificar os fatores de crescimento remanescentes nas plaquetas e explorar as interações entre esses fatores de crescimento e com suas interações celulares.

Marx (1999) relatou que não havia nenhuma reabsorção excessiva nas reconstruções mandibulares nas quais utilizou-se da técnica de aumento da osteogênese pelo uso do PRP. Em continuidade, comentou que a reabsorção acentuada parece estar relacionada mais pela contração e deficiência do tecido mole.

Marx (2000) afirmou que a bioquímica dos tecidos receptores e dos enxertos são compatíveis, mas a adição do PRP estimula uma consolidação e mineralização do enxerto na metade do tempo com 15 a 30 % de ganho efetivo na densidade óssea.

Sonnleitner et al. (2000) relataram uma técnica para produzir PRP e PC (Plasma Concentrado) em enxertos ósseos intraoral promovendo uma centrifugação dupla em combinação com uma fibrina adesiva Tisseel. Essa técnica levou a uma produção de PRP numa concentração 300% acima do nível sanguíneo normal. Nesse trabalho, a quantidade e a qualidade mensurada mostrou que: os enxertos de osso autógeno tratados com PRP maturam entre 2 a 3 vezes mais rápido do

que os enxertos não tratados com PRP; são 1,6 a 2,6 mais radiopacos e; são 70% mais maturo do que sem tratamento.

Obarrio et al. (2000), realizaram terapia periodontal em cinco pacientes com gel de plaquetas combinado ao DFDBA e o uso de membrana de colágeno nos casos onde os resultados eram menos previsíveis. A impressão clínica dos autores foi que essa técnica melhorou significativamente o reparo das cirurgias periodontais com redução na profundidade da bolsa e nova formação óssea confirmada e evidenciada por meio de radiografias periapicais e reentradas cirúrgicas, respectivamente. Ressaltam que estudos de controle com análise histomorfométrica devam ser realizados para demonstrar a regeneração periodontal.

Kassolis et al. (2000) publicaram os resultados em 15 pacientes (10 mulheres, 5 homens). Catorze enxertos sinusais e três aumentos de cristas maxilares usando PRP com osso seco congelado alógeno (LifeNet). O plasma rico em plaquetas foi extraído uma hora antes da cirurgia. A análise do PRP indicou um aumento de 3 a 10 vezes na concentração plaquetária em relação aos níveis séricos pré-cirúrgicos. Cinco meses depois foi realizada a reentrada para a coleta dos espécimes. Os cortes histológicos confirmaram a presença de osso vital em aposição às partículas residuais de FDBA e nenhuma evidência de infiltrado de células inflamatórias ou necrose foi observada.

Carlson (2000) comentou, em sua revisão de literatura, sobre o uso do PRP e da proteína morfogenética do osso recombinante (rhBMP-2). Relatou que as reconstruções do esqueleto facial estão apoiadas nos dados teóricos e clínicos de estudos realizados em animais e humanos que representam perspectivas otimistas para o século 21. Apesar de o uso do PRP em conjunção com enxertos autógenos do complexo maxilofacial aumentar a já impressionante previsibilidade desta técnica, é possível que o melhoramento do uso clínico do rhBMP-2 possa um dia eliminar a necessidade de uma área doadora para remoção de osso.

Rosenberg & Torosian (2000) revisaram a função dos fatores de crescimento em terapias regenerativas recentes e demonstraram um procedimento clínico que pode ser usado para a coleta do PRP e que pode estimular a atividade dos fatores de crescimento como um meio para aumentar a velocidade do período de reparo. Relataram, ainda, que no momento o resultado desse procedimento parecia favorável, no entanto, estudos longitudinais seriam necessários para determinar a eficácia de tais técnicas.

Lozada et al. (2001) realizaram um estudo clínico dividido em duas partes. Descreveram, nessa primeira parte, a utilização do PRP nos procedimentos cirúrgicos de enxertos em seio de maxilas de 12 pacientes parcialmente e totalmente desdentados. Esses pacientes seriam submetidos ao tratamento com implantes, no entanto, possuíam menos de

5mm de altura óssea desde a crista do rebordo alveolar até o assoalho do seio maxilar. Foram divididos em 4 grupos de 3 pacientes em cada um deles. Utilizaram a técnica de processamento do PRP descrita por Marx et al. (1998). O espaço antral foi preenchido com uma mistura de PRP/osso autógeno particulado, PRP/material alógeno, PRP/material alógeno/xenógeno e, PRP/material xenógeno e esquematizados dessa forma em quatro grupos de tratamento.

Shanaman et al. (2001) avaliaram o potencial do PRP na combinação com osso alógeno em regeneração óssea nos defeitos do rebordo alveolar com perda horizontal e vertical prévio à colocação de implantes orais em 3 pacientes. O aumento resultou em ganho clínico e radiográfico tanto no sentido vertical como horizontal dos defeitos ósseos. A avaliação histológica revelou presença de partículas alógenas residuais envolvidas pelo tecido conjuntivo tão bem quanto de novo osso formado dentro das áreas enxertadas. Concluindo os autores que a adição do PRP não pareceu melhorar a qualidade ou a quantidade na formação de novo osso superior àquelas relatadas em estudos de regeneração óssea guiada sem a utilização do PRP.

Petrungaro (2001), numa tentativa de aumentar o sucesso dos procedimentos de enxerto de tecido conjuntivo, assim como, do uso de barreiras de tecido de regeneração tecidual para promover a cobertura radicular, incorporou o uso de PRP/PPP no protocolo cirúrgico em 3 casos clínicos

apresentados. O autor observou uma cicatrização mais rápida e com menos dor, edema e sangramento pós-operatório, além de os pacientes retornarem a suas atividades diárias normais num curto período de tempo.

Petrungaro (2002) realizou a técnica imediata de instalação de implantes no interior de alvéolos frescos, associado ao uso de PRP misturado com osso cortical desmineralizado, no preenchimento dos espaços presentes entre o implante e a cavidade alveolar. Foram confeccionadas coroas protéticas provisórias em acrílico imediatamente à instalação dos implantes. O autor observou, após 5 meses, a preservação dos contornos ósseo e gengival.

Froum et al. (2002) testaram a eficácia do plasma rico em plaquetas associado ao osso bovino anorgânico (BioOss, Osteohealth) que continha um mínimo ou mesmo nenhum osso autógeno. Foram aplicados em 3 casos de preenchimento bilateral de seio maxilar. A análise histomorfométrica indicou que a adição do PRP ao biomaterial não fizeram uma diferença significativa nem na produção de osso vital nem mesmo na interface do osso com os implantes testes (2.0 mm x 10 mm – 3i Implant Innovations).

A efetividade clínica de duas técnicas regenerativas para defeitos periodontais intra-ósseos em humanos foi comparada por Lekovic et al. (2002), em 21 pacientes, utilizando numa delas a combinação de PRP/osso bovino poroso/GTR e, em outra, a combinação apenas do PRP ao

osso bovino poroso. Após 6 meses, um exame clínico dos defeitos tratados revelou uma redução da profundidade à sondagem e ganho de inserção clínica significativos. Os resultados também sugeriram que a GTR não adicionou benefício clínico ao grupo do PRP/osso bovino poroso.

A utilização da técnica de distração osteogênica foi utilizada por Robiony et al., em 2002, na avaliação de um novo método de restaurar mandíbulas severamente atróficas de cinco pacientes utilizando uma mistura de osso autógeno removido de crista ilíaca combinado com o concentrado de PRP durante a distração osteogênica. Os autores obtiveram a altura desejada com uma considerável regeneração óssea possibilitando a colocação dos implantes no tempo planejado em todos os casos.

3 PROPOSIÇÃO

3 proposiÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o efeito do PRP associado ou não ao osso autógeno particulado no reparo de cavidades ósseas de mandíbulas de cães.

4 MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados 4 cães sem raça definida, adultos machos do mesmo porte e peso variando de 10 a 12 Kg, cedidos pelo Setor de Biotério da Faculdade de Medicina do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Foram mantidos com dieta padrão a base de ração sólida (Ração Ativada Productor, Anderson Clayton S.A.) *ad libidum* antes e durante a experimentação, exceto no período pré-operatório de 3 dias quando foram administrados leite e ração moída. Todos os animais foram submetidos a exames clínicos rotineiros, adotados pela Faculdade de Medicina Veterinária, antes dos procedimentos experimentais, incluindo a contagem de plaquetas para que os mesmos tivessem níveis semelhantes.

Antes de cada ato cirúrgico os animais foram pré-anestesiados com 1 ml de Rompun (Bayer do Brasil S/A), via intramuscular e, em seguida, anestesiados com Pentobarbital Sódico* através de administração endovenosa na concentração de 33 mg/Kg e mantida venólise permeável com soro de Ringer lactato de sódio (Sanobiol). Durante o ato cirúrgico, os animais foram contidos por seus membros à mesa cirúrgica em posição de decúbito dorso-horizontal (DDH). Como a área de atuação

* Tionenbutal, Abbott

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

4.1 TÉCNICA PARA OBTENÇÃO DO PRP E PREPARO DO APG

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

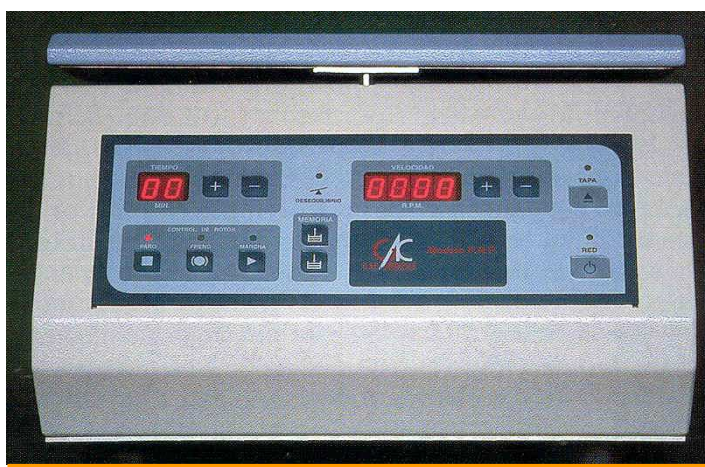


FIGURA 1 Centrifuga utilizada para separação das fases branca e vermelha do sangue.

Por se tratar de cães com peso entre 10 a 12 Kg, foi coletado 20 ml de sangue total autógeno através de um catéter venoso periférico. O sangue coletado foi colocado em tubos para hemograma contendo 3,8% de citrato de sódio (anti-

* Lever Industrial

coagulante). A seguir realizou-se uma centrifugação com uma velocidade de 1200 rpm por 8 a 10 minutos até a separação dos elementos sangüíneos em três camadas, que permanecerão distintas de acordo com suas diferenças de densidade (Figura 2). A camada mais superior, 40 a 45% do volume, de cor mais clara, representa o fibrinogênio - considerado plasma pobre em plaquetas (PPP). Na camada intermediária de cor mais amarelada (30 a 35%), considerado um plasma médio em plaquetas. A camada mais inferior (15 a 20%) e, conseqüentemente, a mais densa de cor alaranjada considerado plasma rico em plaquetas (PRP). A pipetagem realizada de cada fração e o total obtido em microlitros foi dividido por 25 e o resultado obtido indicou a quantidade em microlitros de cloreto de cálcio a 10% a ser adicionado para a formação do gel autógeno de PRP. Este gel foi mantido, até o momento de sua utilização, a uma temperatura de 37°C (Figura 3).

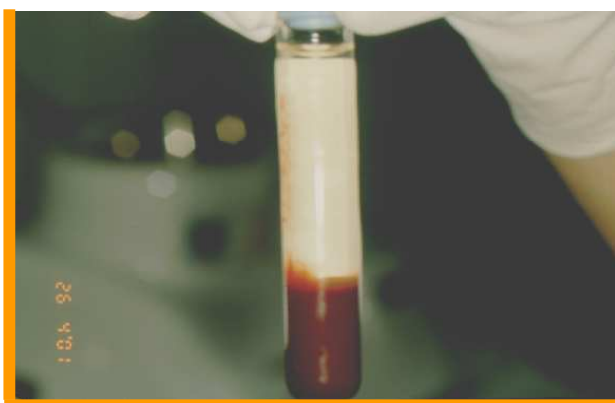


FIGURA 2 Separação dos elementos sangüíneos em três camadas: superior (cor clara - fibrinogênio); intermediária (cor alaranjada - PRP) e inferior (cor vermelha - hemácias).



FIGURA 3 Gel autógeno de PRP mantido a uma temperatura de 37°C.

4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após o preparo inicial, foi realizado o ato cirúrgico. Foram observados todos os princípios fundamentais de técnica cirúrgica. Inicialmente, foi realizada incisão retilínea com lâmina de bisturi número 15 sobre a base mandibular com aproximadamente 5 cm de extensão. Procedeu-se à hemostasia, dissecação e divulsão por planos até o periósteo, expondo dessa forma, a região a ser trabalhada. Com o campo cirúrgico visualmente exposto (Figura 4), iniciou-se a confecção das cavidades ósseas, padronizadas pela utilização de brocas do tipo trefina de Ø5mm.* Cada perfuração foi realizada sob abundante irrigação com solução fisiológica.**

Foram realizadas três cavidades para cada hemimandíbula (Figura 5), perfazendo um total de 24 cavidades para os 4 animais e preparadas cada um delas a uma distância aproximada de 0,5 cm. Os blocos ósseos obtidos a partir do preparo dessa cavidade foram triturados em particulador ósseo.***

As cavidades foram divididas em três grupos:

GRUPO I - Coágulo. Utilizado como grupo controle.

GRUPO II - Gel de Plasma Rico em Plaquetas (Figura 6).

GRUPO III - Plasma Rico em Plaquetas associado ao osso autógeno particulado (Figura 7).

* 3i (Implant Innovations Inc.) – Flórida/EUA.

** Mesquita, White

*** Neodent Implante Osseointegrável

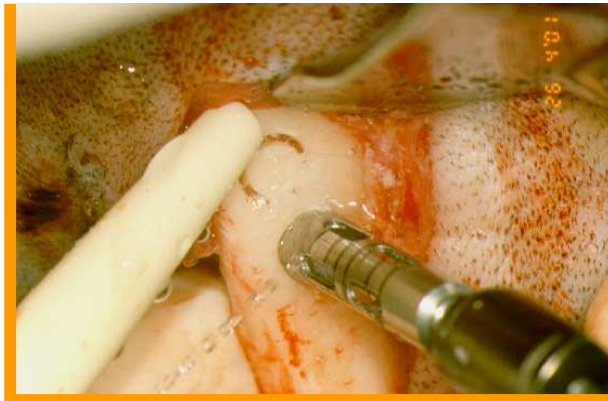


FIGURA 4 Preparo da cavidade logo acima da base do osso mandibular.



FIGURA 5 Cavidades preparadas uniformemente, verificando-se à esquerda preenchimento por coágulo sanguíneo (Grupo controle).



FIGURA 6 Gel autógeno de PRP.



FIGURA 7 Osso autógeno particulado associado ao gel autógeno de PRP. Consistência de "massa de vidraceiro".

Concluído o preenchimento das cavidades com seus respectivos materiais (Figura 8), estas foram recobertas por uma membrana óssea cortical bovina* (Figura 9). A sutura das feridas, recobrendo-se as cavidades por planos, foram realizadas com suturas interrompidas, utilizando-se Poliglactina 910 4.0** para o plano interno e Nylon 5.0** para a porção da pele (Figura 10).

* Neodent Implante Osseointegrável

** Polivicryl Ethicon

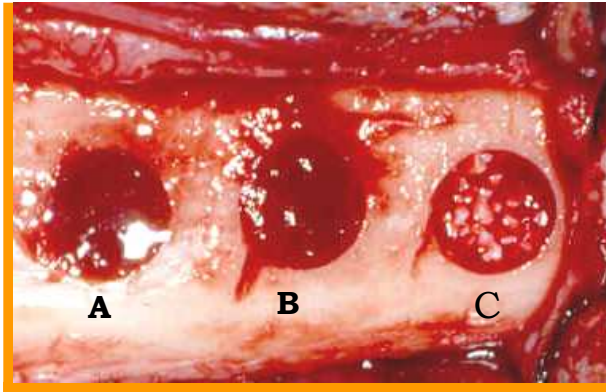


FIGURA 8 Cavidades preenchidas: A – coágulo; B – gel autólogo de PRP e C – osso particulado associado ao gel autólogo de PRP.



FIGURA 9 Recobrimento das três cavidades com uma membrana óssea cortical bovina.



FIGURA 10 Sutura contínua do plano externo com fio de nylon 5.0.

Os animais, no período pós-operatório, foram medicados com Penicilina G Benzatina 600.000 UI* injetável intramuscular, Diclofenaco Sódico** 75mg injetável, intramuscular, na dosagem de uma ampola a cada 12 horas por 2 dias, além de Dipirona*** 2cc intramuscular a cada 6 horas por 5 dias. Foram mantidas a alimentação pastosa, hipercalórica e hiperprotéica devido aos procedimentos realizados na cavidade bucal durante a primeira semana.

* Baytril - Bayer

** Voltaren – Ciba-Geigy

*** Dipirona - Hoechst

Os animais foram sacrificados aos 120 dias pós-operatórios com overdose de KCl a 10% após anestesia do animal com pentobarbital a 30 mg/Kg. As peças de interesse para os estudos histológicos foram removidos da mandíbula e fixadas em solução aquosa de formaldeído a 10% durante 24 horas, lavadas por mais 24 horas e descalcificadas em solução de EDTA a 20%, por um período de 60 dias.

Após a descalcificação, as peças receberam cortes em dois sentidos: 50% do Grupo (2 animais) com cortes longitudinais e, na mesma proporção (2 animais), com cortes transversais.

Cortes semi-seriados com 6 micrometros de espessura, montando-se à lâmina, sendo corados com hematoxilina e eosina para avaliação histológica.

5 RESULTADO

5 RESULTADO

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

5.1 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 inter-trabeculares amplos caracterizando tecido em fase de maturação (Figuras 11 e 12).

Em alguns espécimes, 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 é preenchido 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 13 e 14). O tecido ósseo segue o mesmo padrão reparacional em todas as espécimes.



FIGURA 11 Tecido ósseo pré-existente e tecido ósseo neoformado. H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 12 Tecido ósseo neoformado (TON) apresentando espaços inter-trabeculares amplos caracterizando tecido em fase de maturação. H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 13 | Porção central da loja cirúrgica preenchido por tecido conjuntivo (TC) e rico em fibras colágenas. H.E. 25X. Aumento do original.

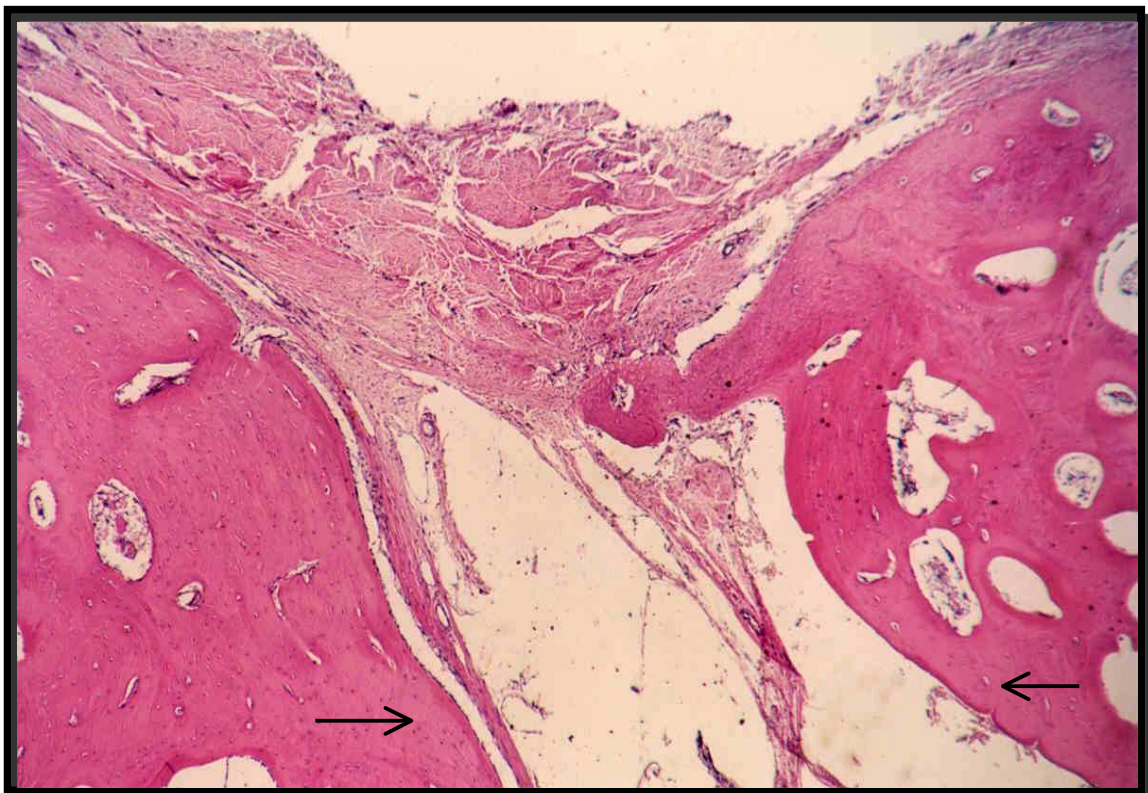


FIGURA 14 | Reparação da cavidade ocorrendo de forma centrípeta (das laterais para o centro) (setas). H.E. 25X. Aumento do original.

- **Corte transversal:** nos espécimes que mostram reparação total nos cortes longitudinais, nos cortes transversais apresentam-se de forma semelhante. A presença de tecido conjuntivo na região central do corte observado nos cortes transversais apresentam, na região superficial, imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente das paredes desta loja. Esta parede óssea é caracterizado por tecido ósseo maduro, com espaços intertrabeculares reduzidos com formação concêntrica, mostrando na porção central, coágulo sangüíneo remanescente e fibras colágenas (Figura 15). À medida que os cortes transversais são aprofundados, é possível observar tecido ósseo neoformado preenchendo totalmente a cavidade (Figura 16). 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 17).

No espécime que ocorre a persistência do defeito ósseo mais amplo, o corte transversal detecta uma maior cavidade ao centro com tecido conjuntivo rico em fibras colágenas e rede de fibrina (Figura 18). Em maior aumento, é possível observar a presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação (Figura 19).

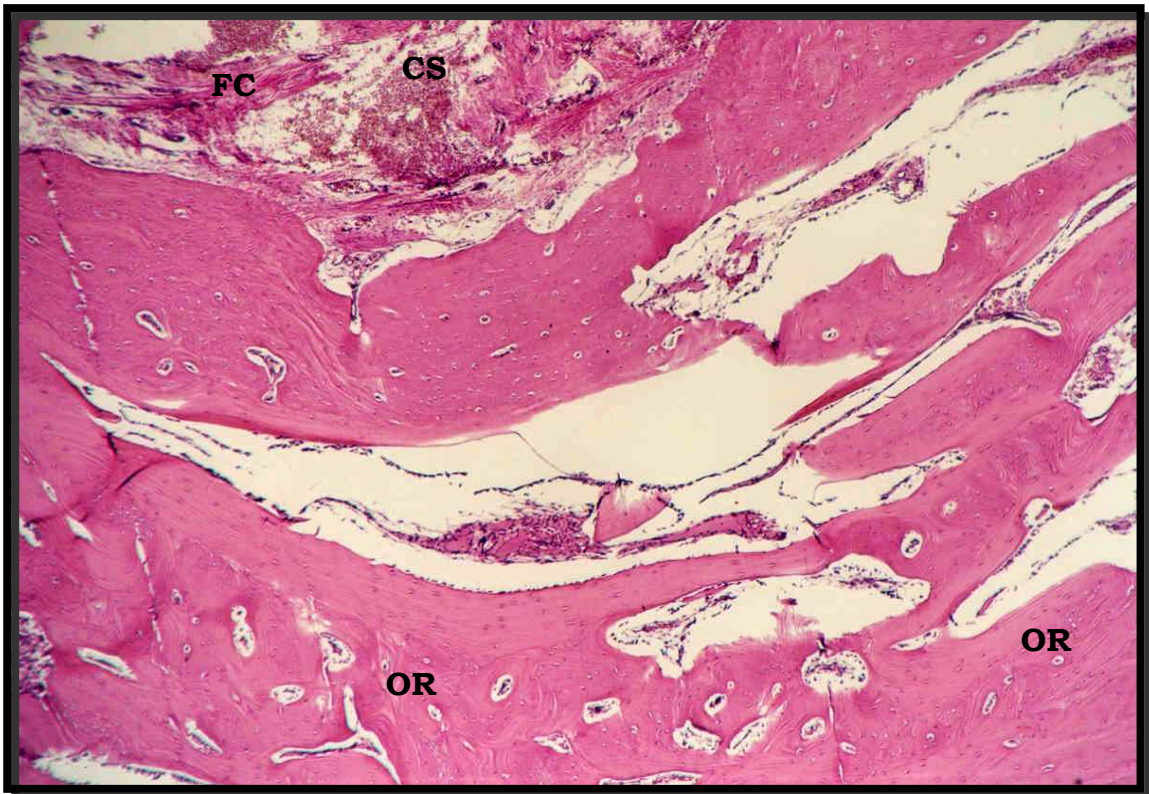


FIGURA 15 Imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente (OR), caracterizada por tecido ósseo maduro, espaços inter-trabeculares reduzidos com formação concêntrica. Porção central mostrando coágulo sangüíneo (CS) remanescente e fibras colágenas (FC). H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 16 Corte transversal aprofundado observando tecido ósseo neoformado (TON) preenchendo totalmente a cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

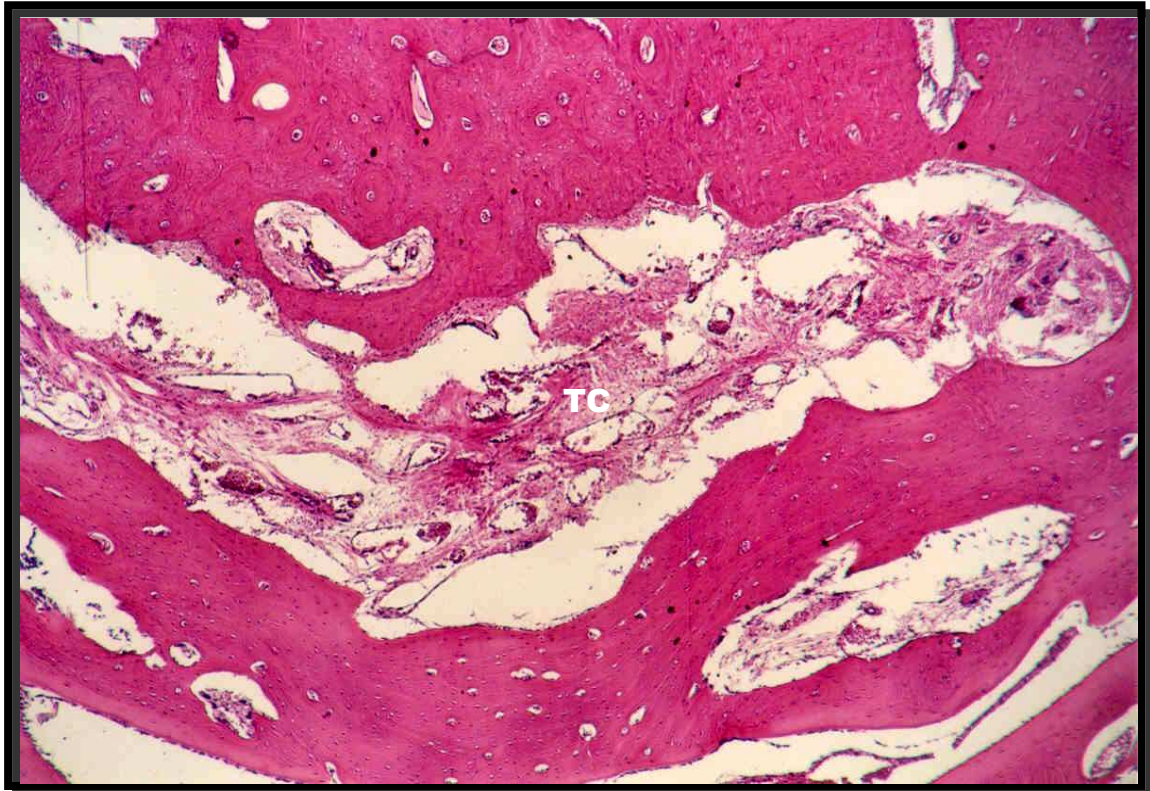


FIGURA 17 Defeito ósseo com a presença de tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas. H.E. 25X. Aumento do original.

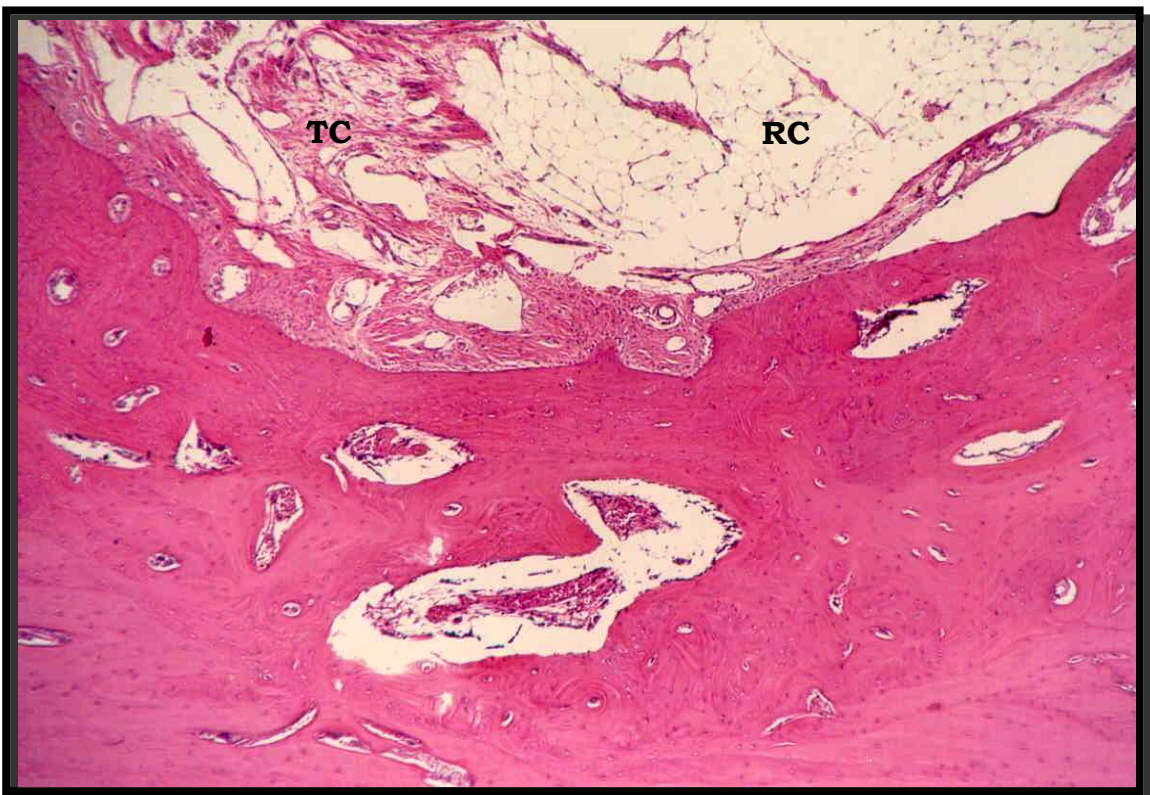


FIGURA 18 Corte transversal em defeito ósseo mais amplo mostrando uma maior cavidade ao centro com tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.

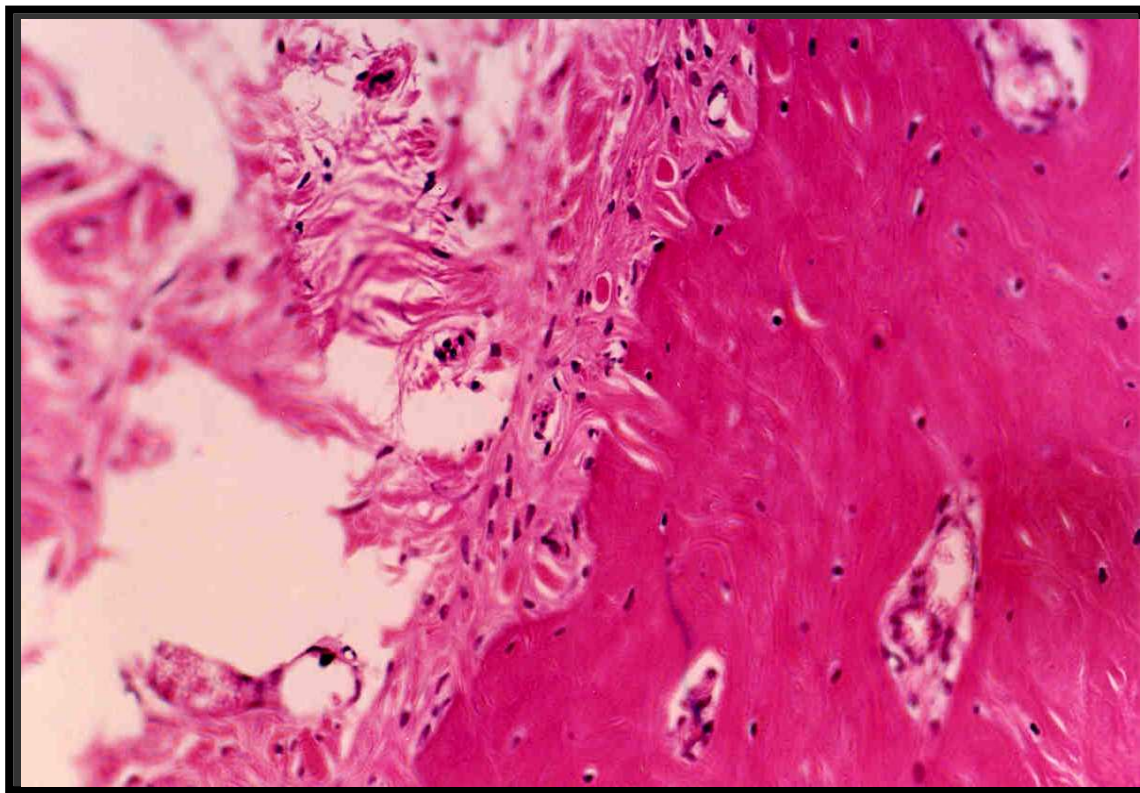


FIGURA 19 Presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação. H.E.160X. Aumento do original.

5.2 GRUPO PRP

- **Cortes longitudinais:** em todos os espécimes 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 20 a 22). 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 (Figura 23).

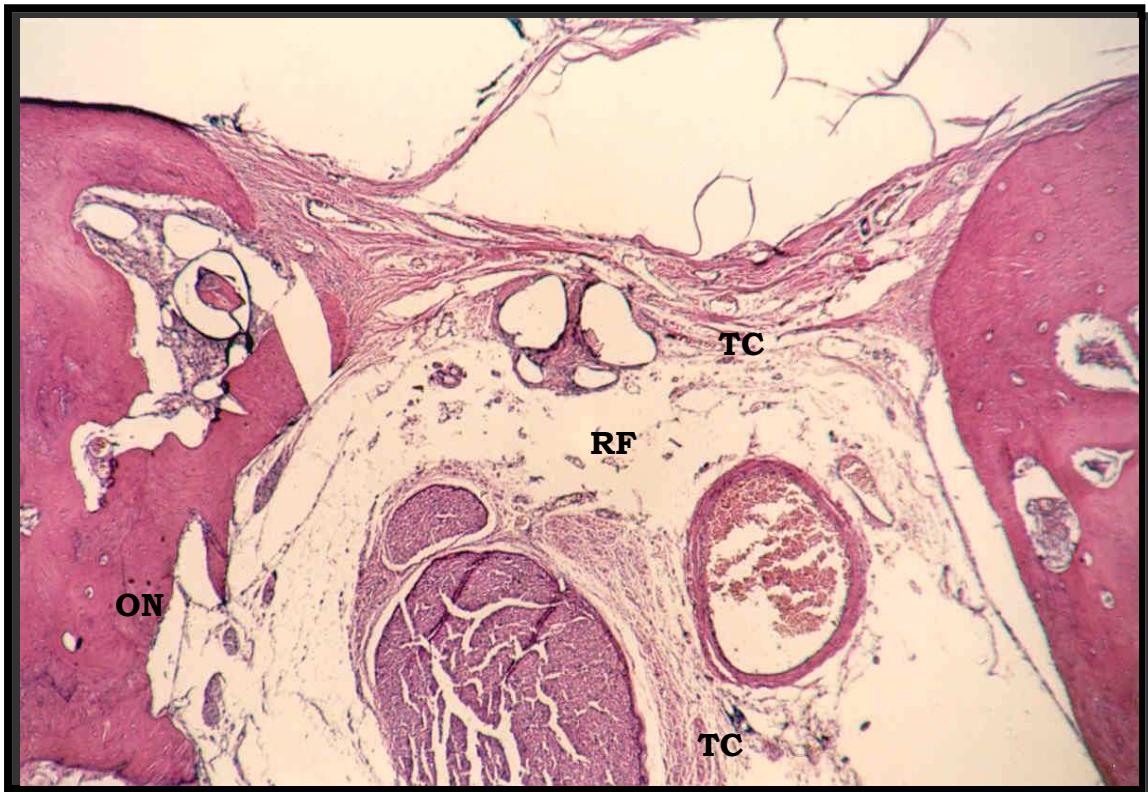


FIGURA 20 Preenchimento do centro da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF) e formação óssea (ON) nas paredes laterais da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

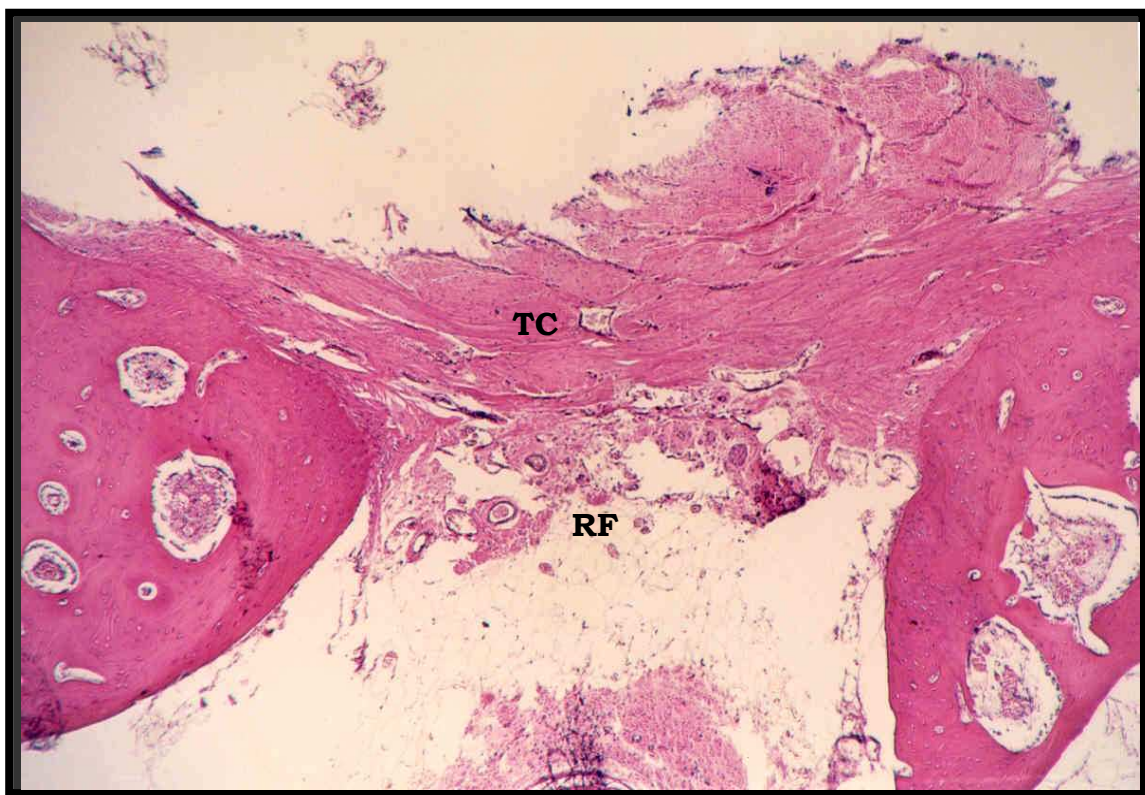


FIGURA 21 Visualização de tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.

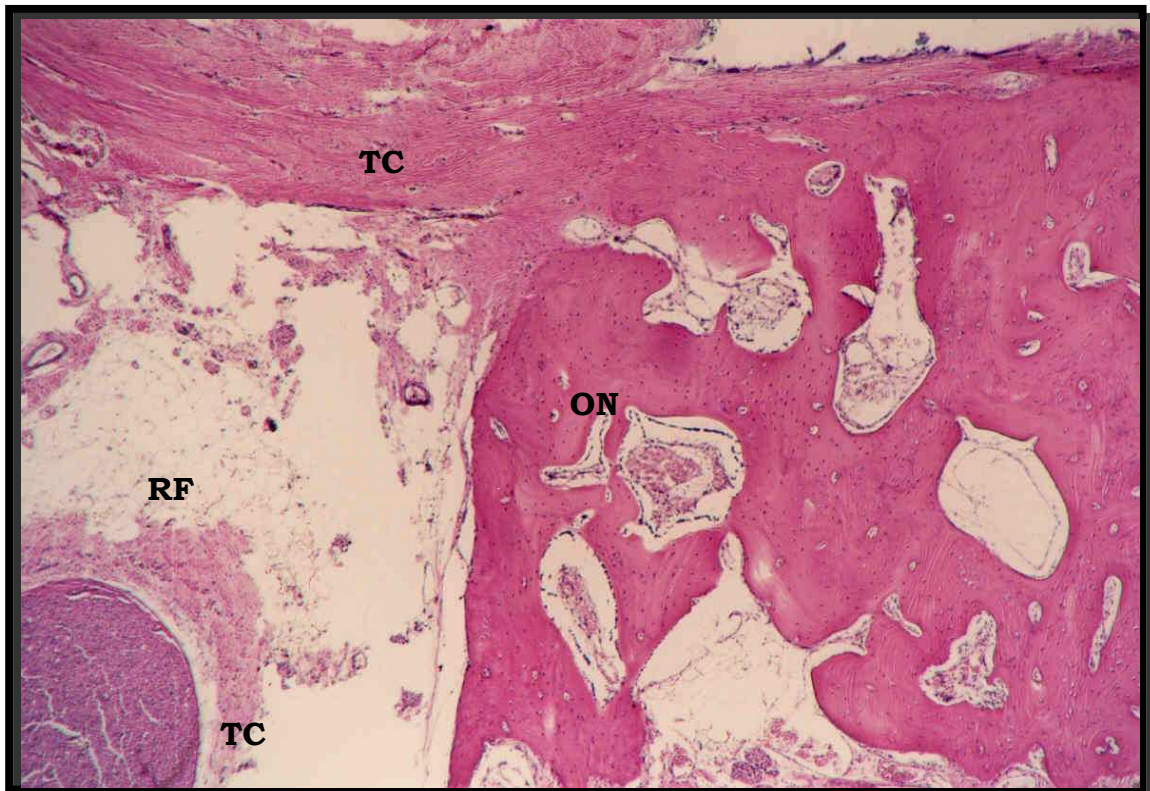


FIGURA 22 Neoformação óssea (ON) nas laterais da cavidade e preenchimento central com tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 23 Presença de osteócitos (setas) e espaços medulares amplos (EM). H.E. 25X. Aumento do original.

- **Cortes transversais:** os cortes transversais demonstram 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 24 a 26). No centro da cavidade, no entanto, visualiza-se a presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea em todos os grupos (Figura 27) e nas diversas profundidades de cortes (Figuras 28 e 29).



FIGURA 24 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.

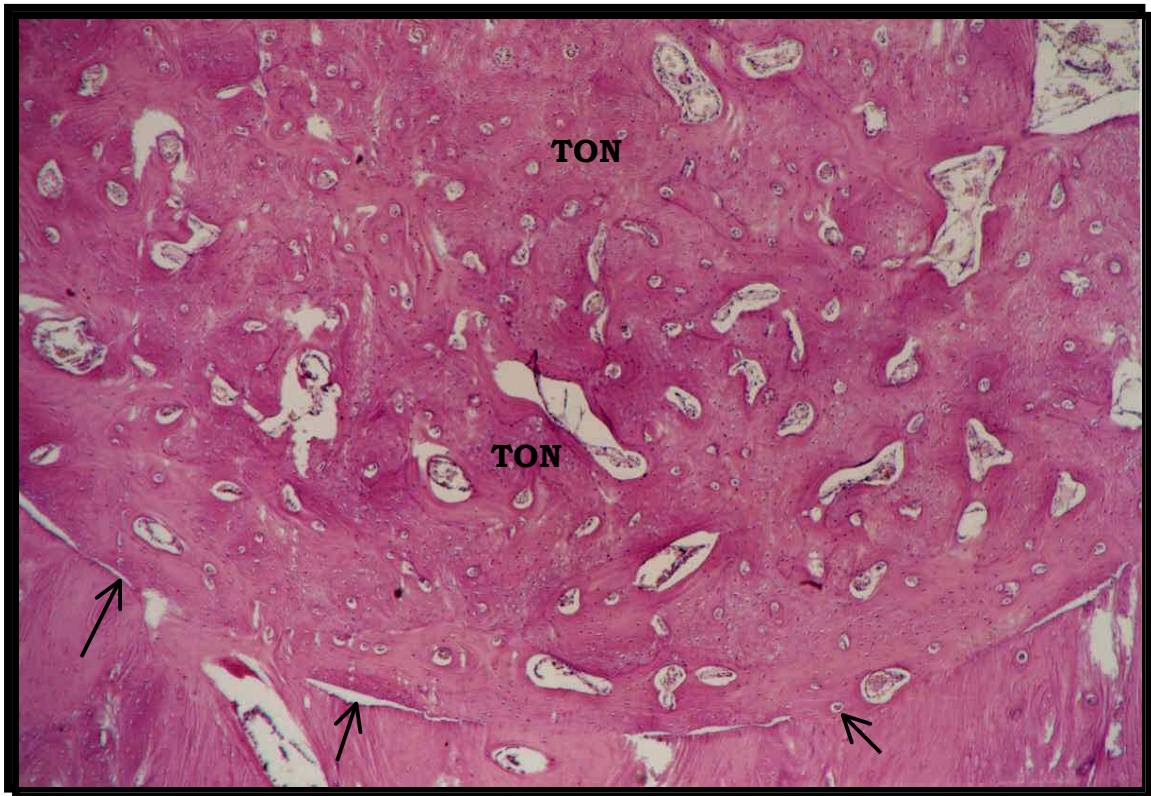


FIGURA 25 Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido neoformado (TON) no seu interior com espaços medulares menores que o corte anterior por se tratar de corte mais profunda. H.E. 25X. Aumento do original.

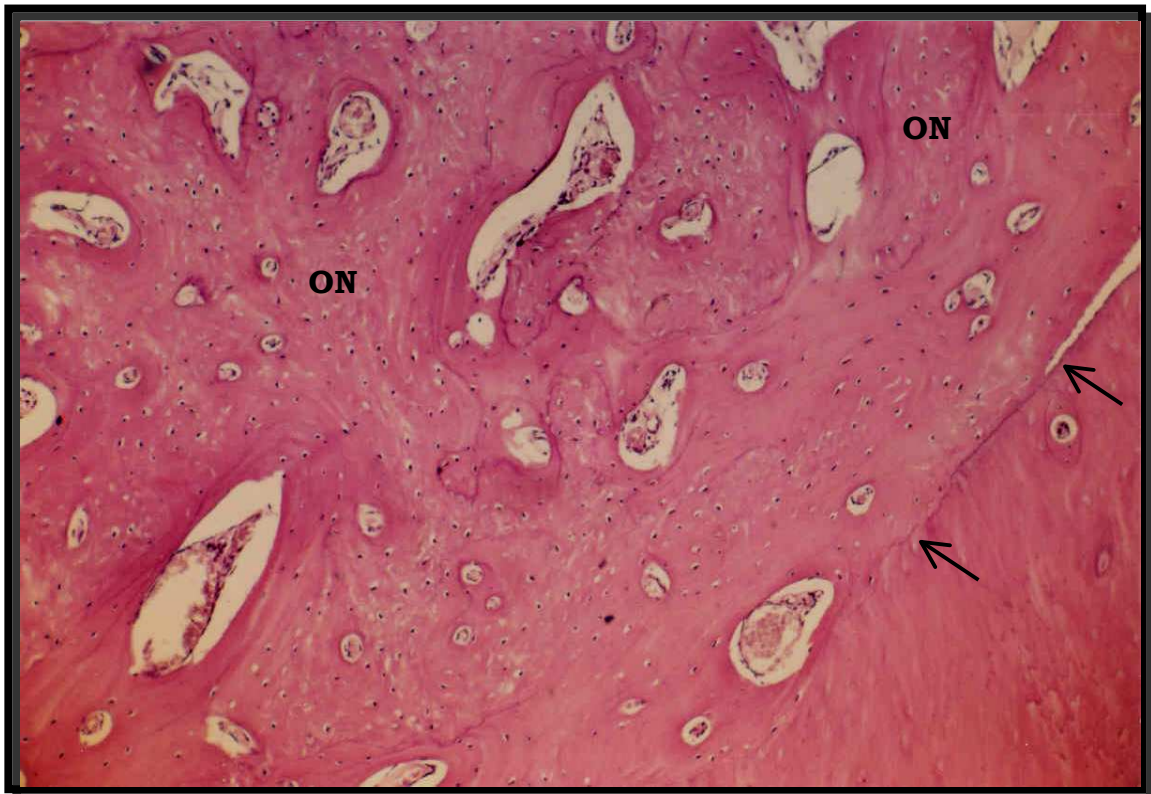


FIGURA 26 Mesmo corte que o da figura anterior em maior aumento. H.E. 63X. Aumento do original.

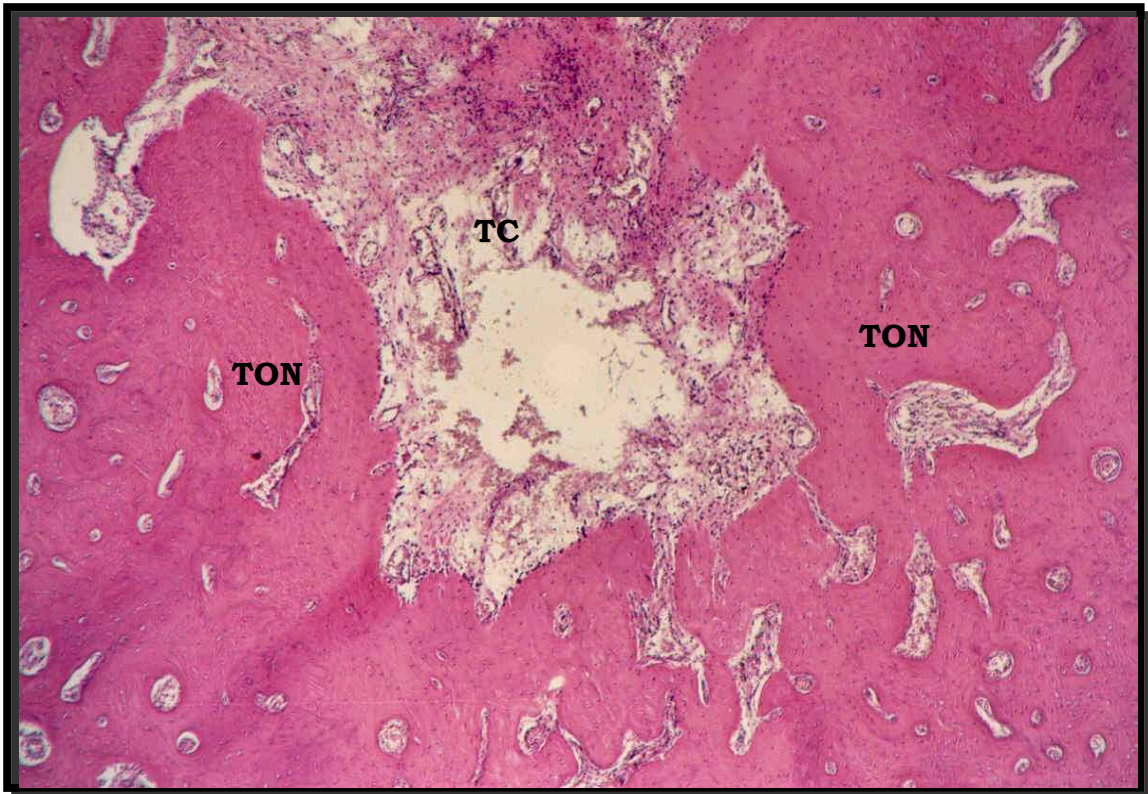


FIGURA 27 Presença de tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade e osso neoformado (TON). H.E. 25X. Aumento do original.

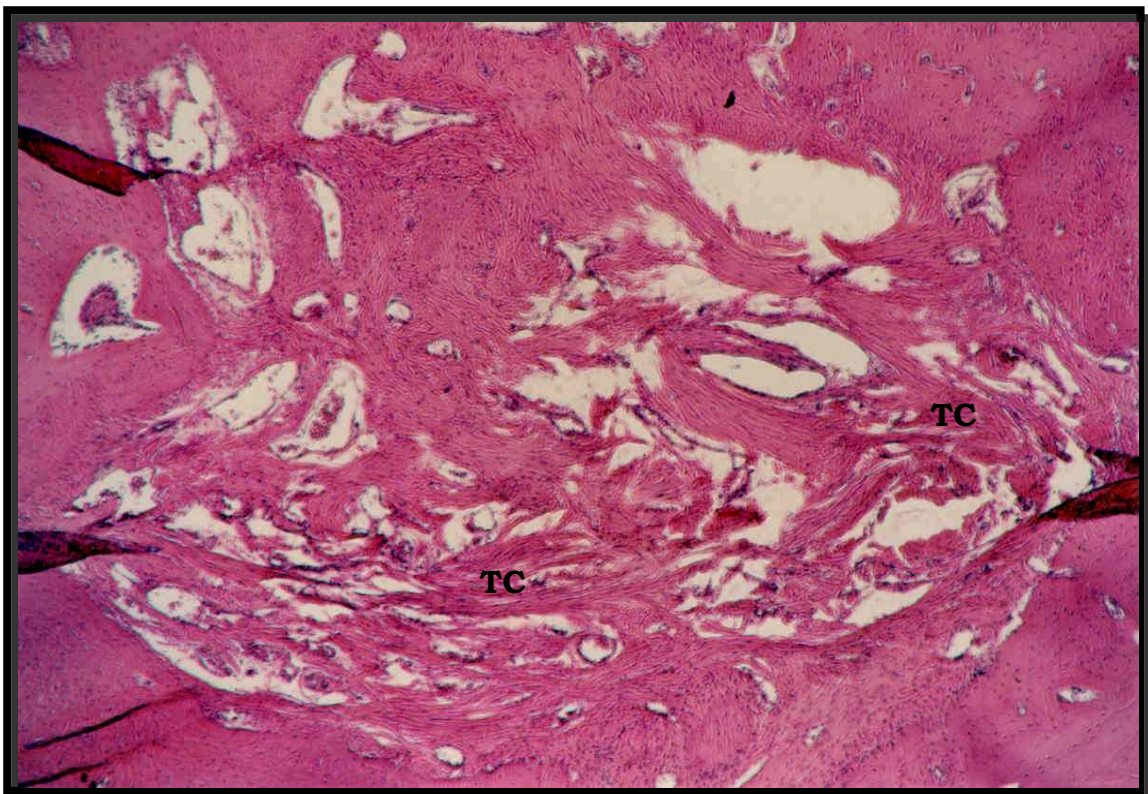


FIGURA 28 Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

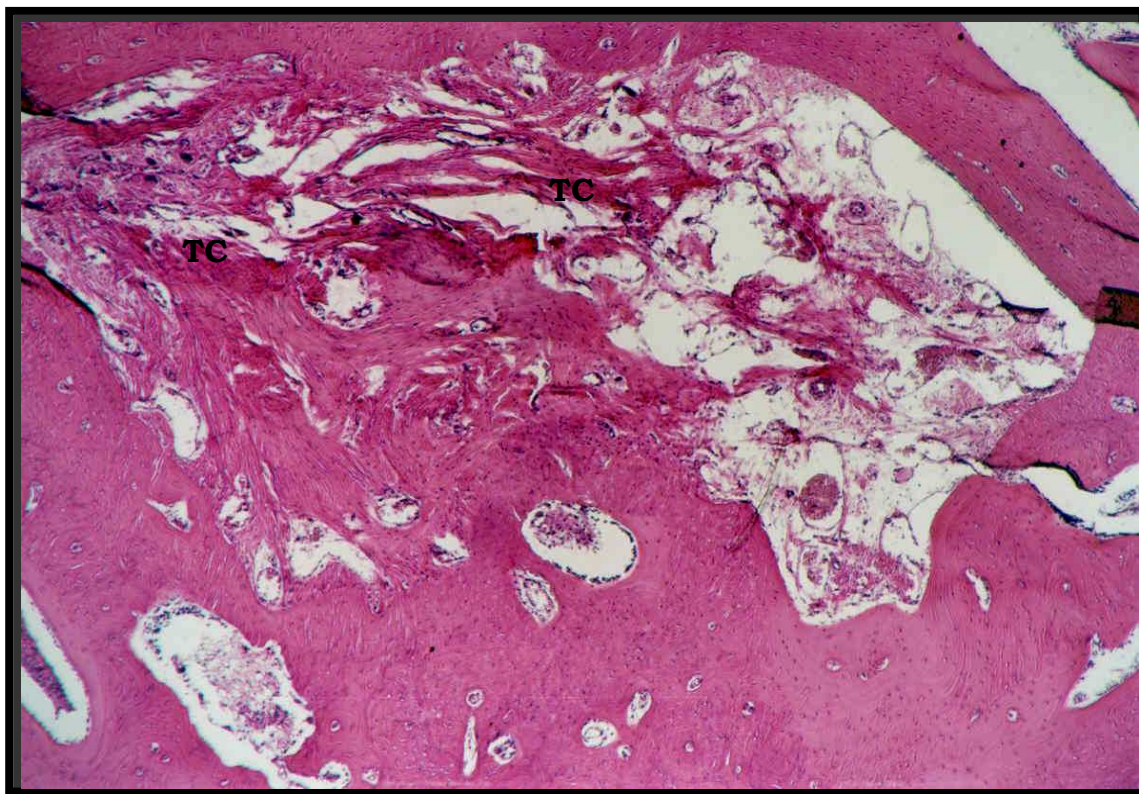


FIGURA 29 Tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade em cortes mais profundos. H.E. 25X. Aumento do original.

5.3 GRUPO OSSO PARTICULADO COM PRP

- **Cortes longitudinais:** praticamente em todos os cortes longitudinais, é possível observar a cavidade totalmente preenchida por tecido ósseo neoformado (Figuras 30 a 32). Somente um espécime mostra tecido conjuntivo em pequena quantidade se interpondo na área central do corte (Figura 33). Em um dos espécimes, também é observado fragmento de osso particulado sendo expulso da cavidade e envolvido por tecido conjuntivo rico em fibras colágenas (Figuras 34 e 35).

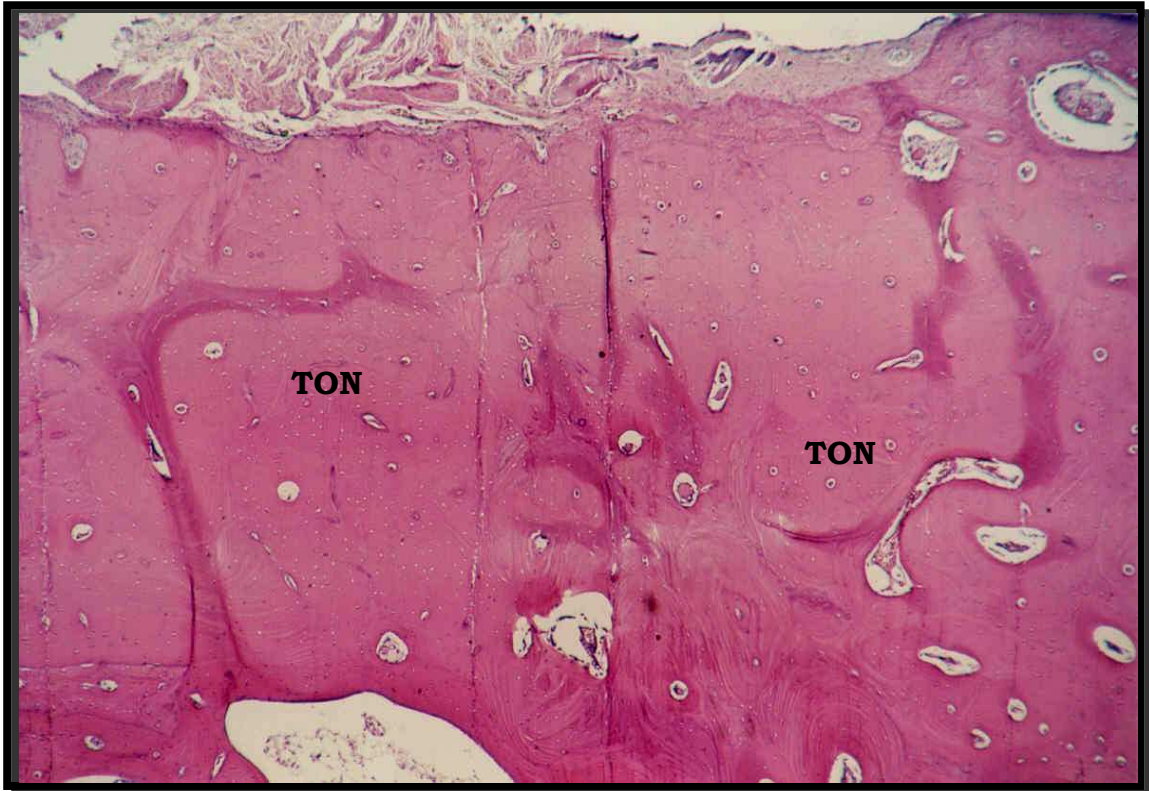


FIGURA 30 Corte longitudinal mostrando o preenchimento da cavidade por tecido neoforado (TON). H.E. 25X. Aumento do original.

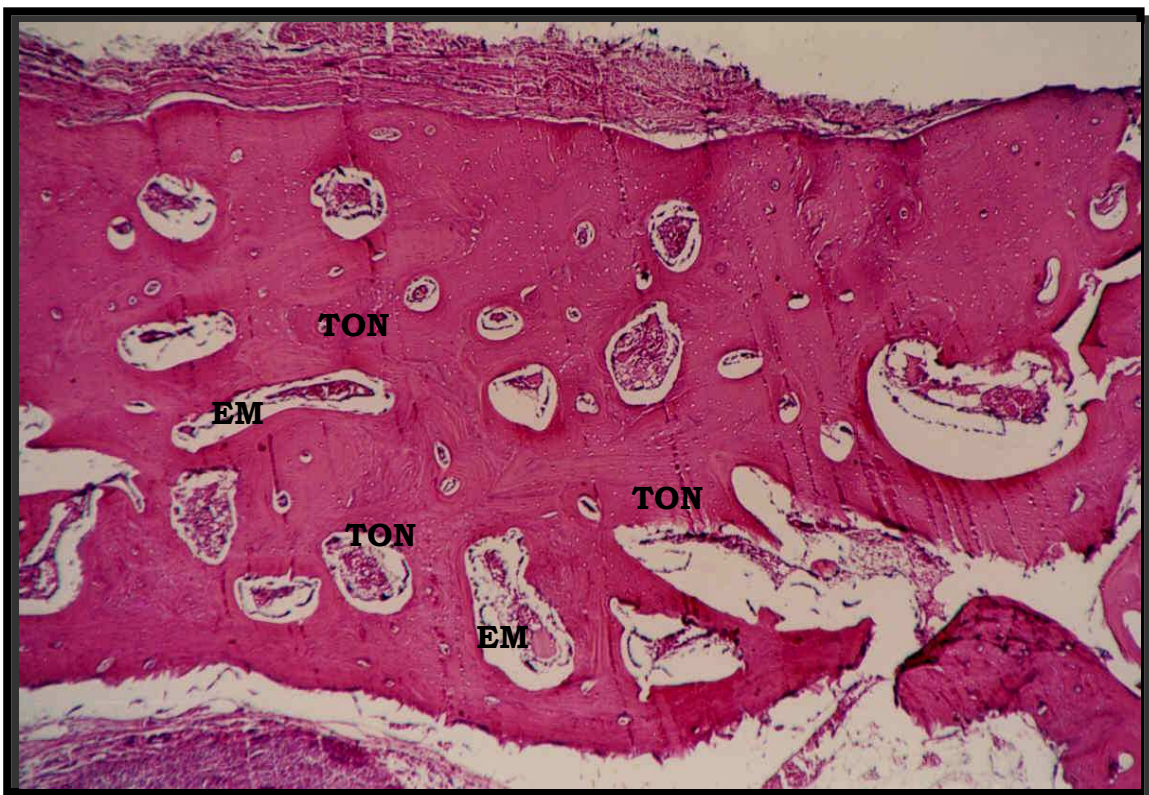


FIGURA 31 Tecido ósseo neoforado (TON) com a presença de amplos espaços medulares (EM) denotando tecido ósseo em processo de maturação. H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 32 Corte longitudinal realizado mais próximo ao centro da cavidade com os mesmos aspectos da Fig. 31. Limite da cavidade (setas). Aumento do original.

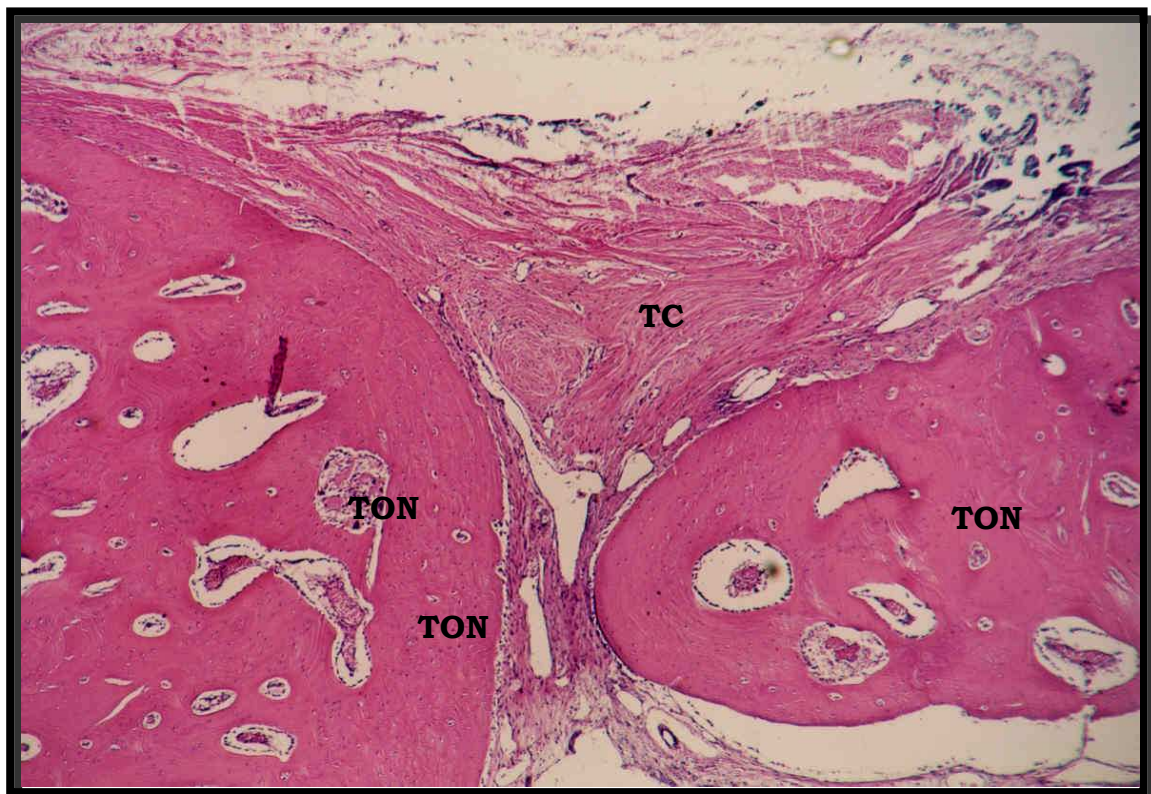


FIGURA 33 Preenchimento parcial da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo neoformado (TON) observado somente em um dos espécimes. H.E. 25X. Aumento do original.

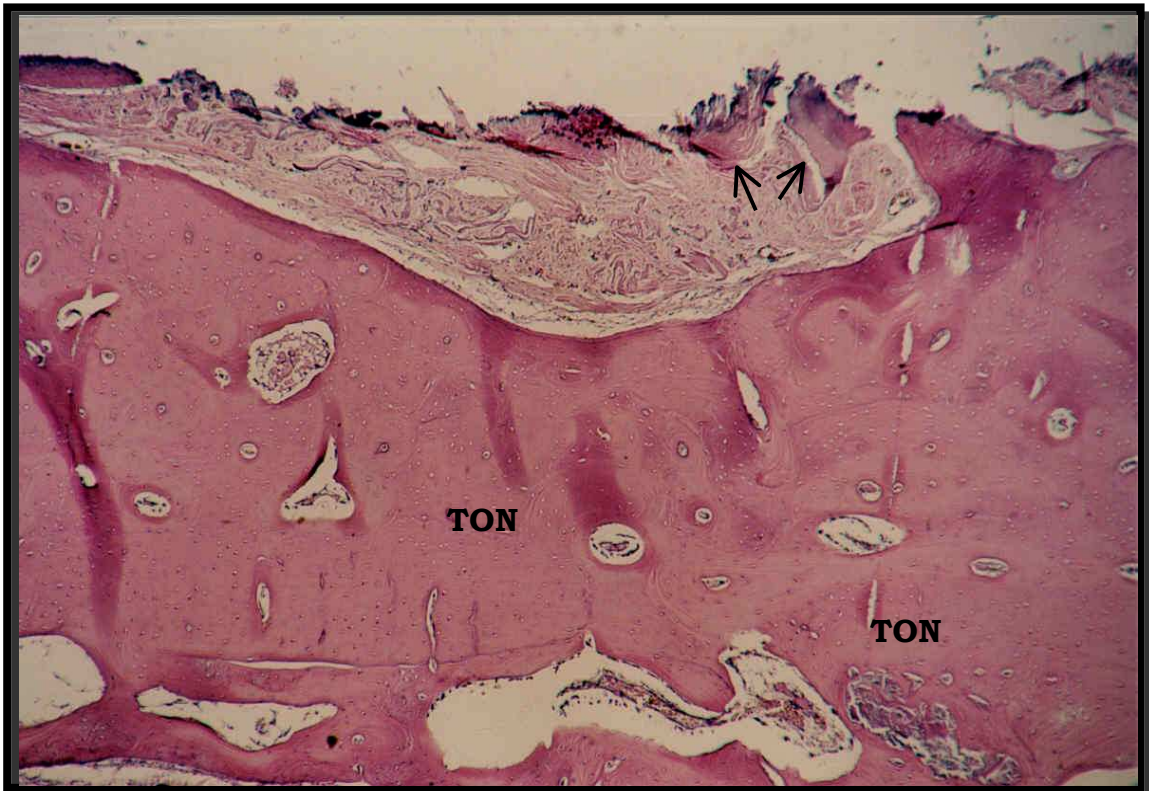


FIGURA 34 Cavidade preenchida por tecido ósseo neoformado (TON) mostrando em sua superfície, fragmento ósseo sendo expulso da cavidade (setas). H.E. 25X. Aumento do original.

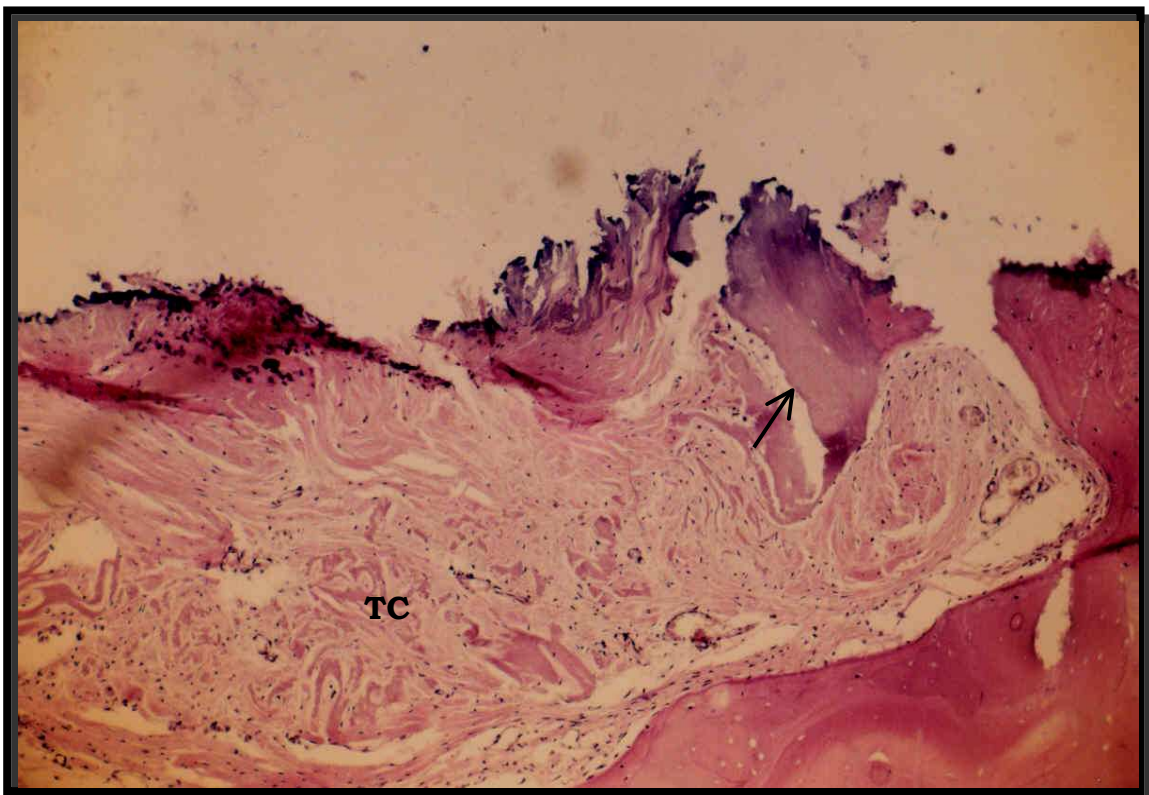


FIGURA 35 Mesmo corte da figura anterior em aumento de 63X, mostrando expulsão do fragmento ósseo (seta) e presença de tecido conjuntivo (TC) na superfície da entrada da cavidade. Aumento do original.

O tecido ósseo neoformado apresenta-se com espaços medulares amplos e em maior quantidade do que nos grupos do PRP e controle (Figuras 36 e 37). Nota-se também fragmentos ósseos incorporados ao tecido ósseo com aspecto sugestivo de reabsorção parcial, no entanto sem a presença de osteoclastos (Figuras 38 e 39).

- **Cortes transversais:** os cortes transversais confirmam o que é observado nos cortes longitudinais sendo possível detectar os limites nítidos da cavidade reparada e o tecido conjuntivo, em pequena quantidade, ao centro (Figuras 40 e 41).

O tecido ósseo neoformado apresenta-se com espaços medulares e é possível observar em alguns cortes fragmentos do osso particulado com aspecto de reabsorção parcial e praticamente em contato com o tecido ósseo neoformado (Figuras 42 e 43).



FIGURA 36 Tecido ósseo neoformado (TON) com espaços medulares (EM) no interior da massa óssea. H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 37 Corte longitudinal mostrando os limites da cavidade (setas) entre osso remanescente (OR) e tecido ósseo neoformado (ON). H.E. 25X. Aumento do original.

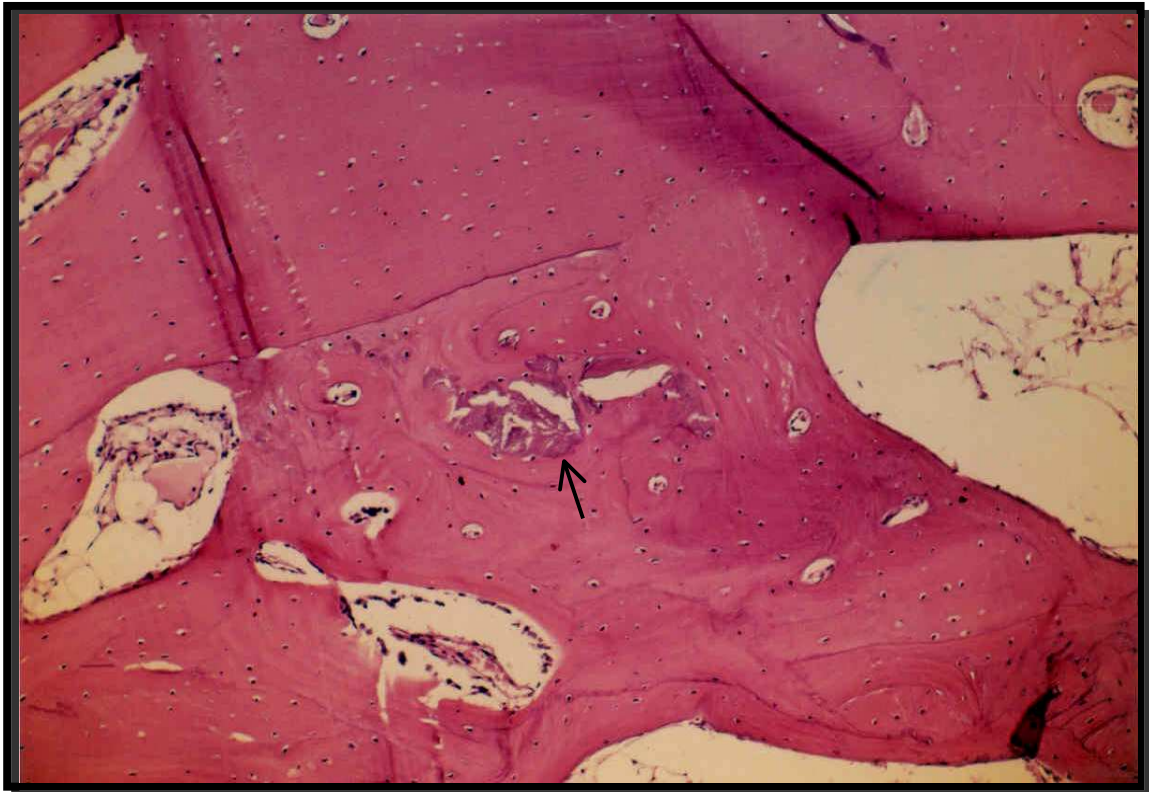


FIGURA 38 | Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.

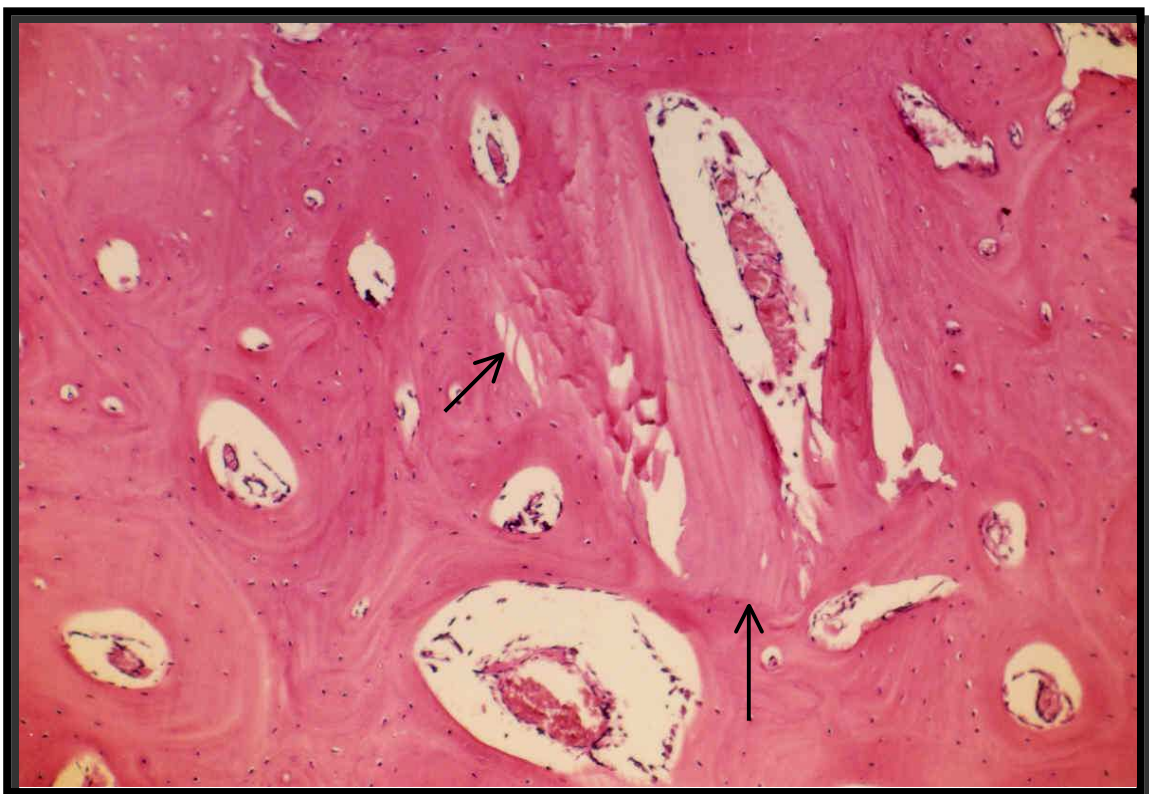


FIGURA 39 | Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.

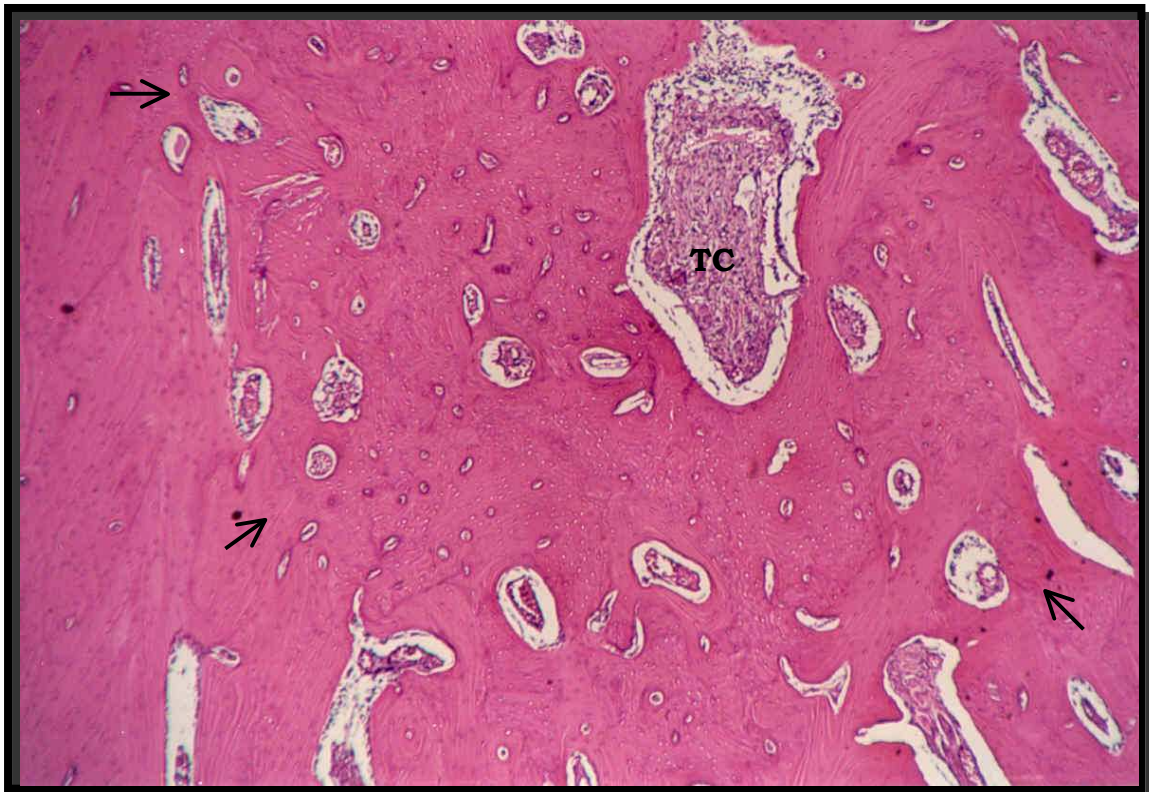


FIGURA 40 Corte transversal mostrando os limites nítidos da cavidade (setas) com a presença de uma pequena cavidade com tecido conjuntivo (TC) em seu interior. H.E. 25X. Aumento do original.



FIGURA 41 Corte transversal mostrando a presença de uma cavidade com uma pequena quantidade de tecido conjuntivo (TC) em seu interior. H.E. 25X. Aumento do original.

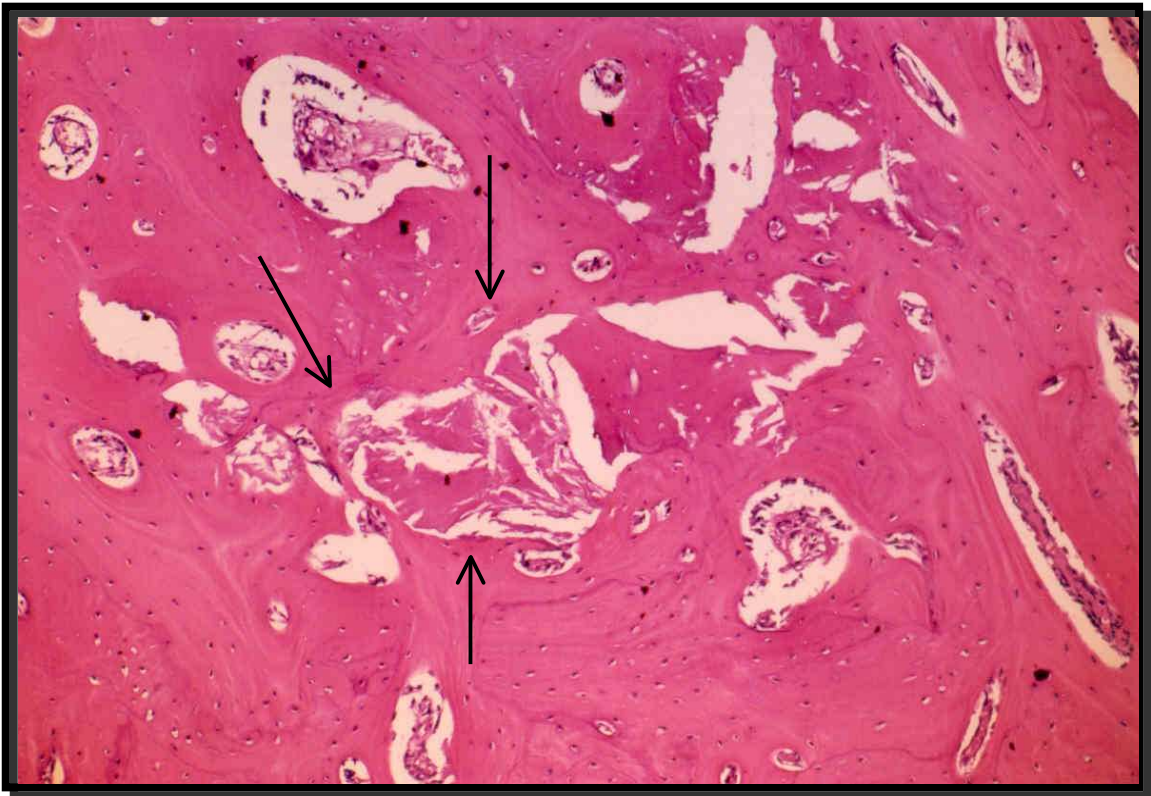


FIGURA 42 | Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.

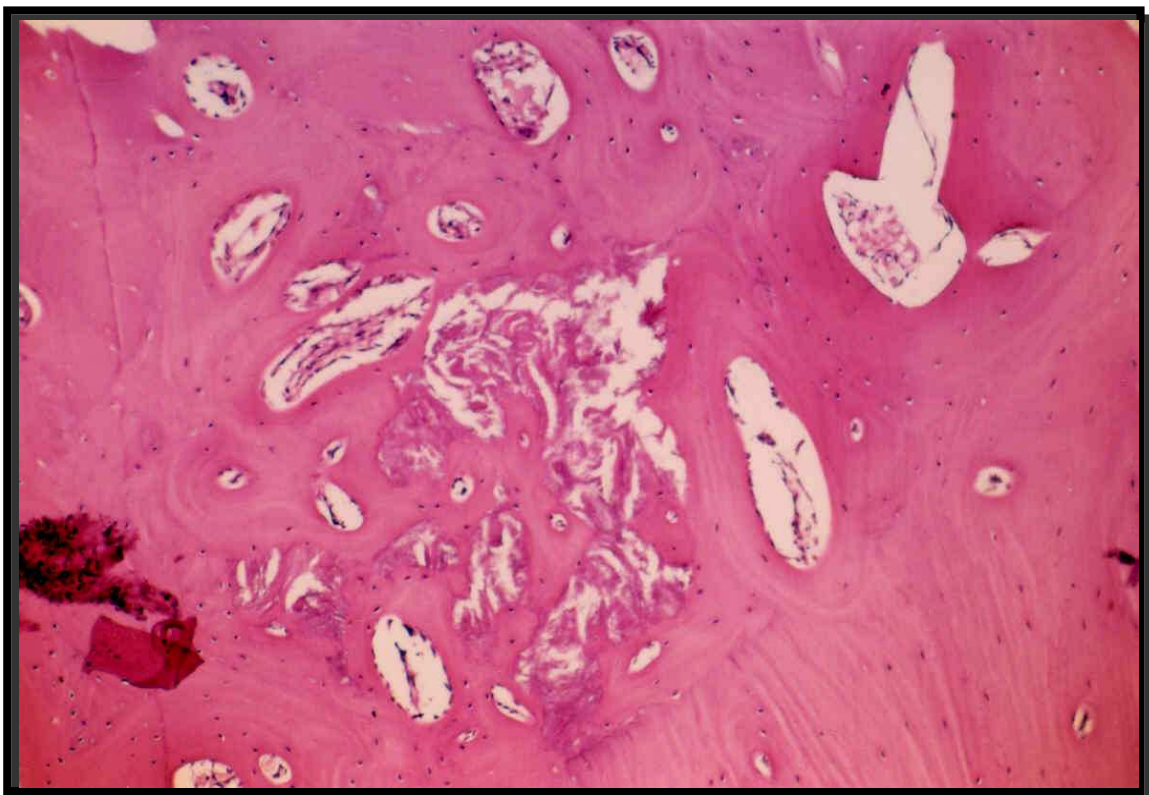


FIGURA 43 | Incorporação do osso autógeno particulado. H.E. 63X. Aumento do original.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos houve uma crescente busca de soluções para melhorar a qualidade e a quantidade ósseas com a finalidade de se instalar implantes que tenham previsibilidade de sucesso.

Assim os enxertos ósseos autógenos, em bloco (Carvalho et al., 2000) ou particulado (Merkx et al., 1999; Pallesen et al., 2002), tem sido avaliados histologicamente para uma melhor compreensão do mecanismo de ação e incorporação destes enxertos ao leito receptor.

No entanto, apesar da comprovação em pesquisa experimental pelos autores acima citados, uma série de trabalhos experimentais e clínicos tem demonstrado que a associação do plasma rico em plaquetas (P.R.P.) pode auxiliar ou acelerar o reparo ósseo (Marx et al., 1998) e, segundo Anitua (1999), por ser autógeno, não provocaria reação imunológica e nem transmissão de enfermidades.

Com este direcionamento, Anitua (1999) indica o PRP para ser usado em alvéolos pós-exodônticos e Marx et al. (1998), Marx (1999), Shanaman et al. (2001) e Robiony et al. (2002) para associar o PRP aos enxertos ósseos autógenos particulado ou em bloco, inclusive para auxiliar no preenchimento do seio maxilar em associação a osso autógeno

(Rosenberg & Torosian, 2000) e a diversos biomateriais (Kim et al., 2001; Lozada et al., 2001).

Os autores relatam que qualquer um dos biomateriais usados em associação com o PRP (do osso autógeno aos materiais heterógenos) apresentam resultados radiográficos sugestivos de maior densidade radiográfica (Kim et al., 2001); que o tecido ósseo apresenta-se mais denso e mais maturo do que quando não se utiliza PRP (Marx, 1999; Marx, 2000; Sonnleitner et al., 2000); como também repara-se mais rapidamente (Tayapongsak et al., 1994; Sonnleitner et al., 2000).

A causa principal pela qual o PRP contribui com o reparo dos enxertos, acelerando o processo e produzindo osso mais denso, prende-se aos fatores de crescimento presentes nas plaquetas e que, após sua degranulação, que acontece em questão de horas, libera o PDGF, $TGF\beta_1$ e $TGF\beta_2$ (Marx et al., 1998).

Cada um destes fatores atuam em fases distintas do reparo ósseo. O PDGF atua nas células endoteliais enquanto que o $TGF\beta_1$ e $TGF\beta_2$ atuam nos osteoblastos e células tronco mesenquimais para iniciar a fase de diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas a se transformarem em osteoblastos. Este processo de ação do PRP continua por 3 dias aproximadamente (Marx et al., 1998).

O outro mecanismo de ação acontece após os 3 dias por uma ação quimiotáxica e de ação dos macrófagos que

vai atuar no espaço morto entre o enxerto e o leito receptor liberando fatores de crescimento que também vão contribuir para a reparação óssea (Pierce et al., 1992; Mustoe et al., 1989).

A revascularização do enxerto acontece por volta das 4 semanas (Knighton et al., 1984) e a efetiva maturação do enxerto vai ocorrer pela ação da Proteína Óssea Morfogenética (BMP) que não está contida no PRP (Delmas & Malaval, 1993).

Assim, sugere-se que os efeitos biológicos narrados nos trabalhos experimentais e clínicos sejam devido a estes mecanismos de ação.

Quando o profissional depara-se com casos clínicos que apresentam defeitos ósseos ou mesmo alvéolos pós-exodônticos, o melhor material para ser utilizado é o osso autógeno particulado.

Os resultados encontrados por Merckx et al. (1999) demonstram que os enxertos medulares particulados revascularizam mais rapidamente do que os corticais, mas ambos integram-se ao leito receptor. No entanto, segundo Pallesen et al. (2002), é importante observar que o tamanho da partícula de osso autógeno deve ser de 0,5 a 2 mm³ de volume. Nesta dimensão, elas são reabsorvidas mais facilmente e há maior quantidade de osso neoformado.

Quando se associa o PRP ao osso autógeno particulado, os resultados, segundo Jensen (1999), Reddi (1997), Marx (1999), Marx (2000) e Sonnleitner et al. (2000),

são melhores quanto a densidade óssea observada clínica e radiograficamente.

Os resultados obtidos neste trabalho, quando se utilizou o PRP sozinho no reparo, não foram promissores pois, em todos os grupos, não houve neoformação óssea completa à semelhança do grupo controle e nem na qualidade óssea do osso neoformado junto as paredes laterais da cavidade.

Este fato pode ser decorrente da hemorragia ter expulsado o gel de plaqueta colocado no interior da cavidade e o mesmo acontecendo com o grupo controle já que, os resultados apresentados por Anitua (1999) evidenciam em alvéolos humanos, após 16 semanas, osso maduro e compacto com trabéculas bem organizadas e morfologia normal. Cabe comentar que em alvéolos humanos saudáveis, provavelmente, após este período (aproximadamente 112 dias), haveria reparo semelhante mesmo sem PRP visto que o reparo normal acontece por volta dos 64 dias (Carvalho & Okamoto, 1987).

Já no grupo onde foi colocado o PRP associado ao osso autógeno particulado, o resultado foi significativamente melhor do que nos grupos controle e do PRP. Neste grupo, houve neoformação óssea completa em praticamente todos os espécimes. Deve-se salientar que as condições experimentais foram as mesmas.

A razão da permanência da associação do PRP e osso autógeno particulado no interior da cavidade deve-se, provavelmente, devido a formação de um aglutinado mais

consistente e que a hemorragia não deslocou. Este dado pode ser comprovado pela presença de osso particulado incorporado totalmente ao osso neoformado.

Os resultados deste trabalho confirmaram os resultados de Pallesen et al. (2002) que afirmaram que as partículas de osso autógeno são reabsorvidas mais facilmente e, conseqüentemente, há maior quantidade de osso neoformado. A característica histológica contida nas figuras do capítulo de resultados (grupo osso autógeno associado ao PRP) sugere reabsorção das partículas ósseas pela perda da morfologia óssea.

Assim, sugere-se que o osso autógeno associado ao PRP é viável de ser utilizado em condições clínicas devido a somatória de ação osteoindutiva do osso autógeno e do PRP que deve acelerar o reparo conforme as observações clínicas de Tayapongsak et al. (1994) e Sonnleitner et al. (2000) estimulando a consolidação e mineralização do enxerto. No entanto, novos trabalhos experimentais deverão ser realizados para avaliar a qualidade do osso neoformado nos diversos períodos pós-operatórios com o objetivo de se determinar a melhor época para se instalar os implantes.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais do presente trabalho foi possível concluir que:

- PRP colocado isoladamente na cavidade não promove o reparo ósseo;
- PRP associado ao osso autógeno particulado promove o reparo ósseo completo das cavidades.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS★

- ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implantes. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.14, n.4, p.529-35, 1999.
- ASSOIAN, R. K., GROTENDORST, G. R., MULLER, D. R., SPORN, M. D. Celular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets. apud GRAVES, D. T., OPRAN, A. J., DELGADO, R., VALENTE, A. J., MUNDY, G., PICHE, J. The potencial role of platelet-derived growth factor as an autocrine or paracrine factor for human bone cells. *Connect Tissue Res.*, v.23, n.2/3, p.209-18, 1989.
- BARTH, A. Die entestehung und das wachstum der freien gelenkkorper - eine histologisch-klinische studie: the formation and growth of free joints - a histological-clinical study. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation: molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.
- BECK, L. S., AMENTO, E. P., XU, Y., DEGUZMAN, L., LEE, W. P., NGUYEN, T., GILLETT, N. A. TGF- β_1 induces bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rh TGF- β_1 . *J. Bone Miner. Res.*, v.8, n.6, p.753-61, 1993.

* Baseado:

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas.

- BECKER, W., LYNCH, S. E., LEKHOLM, U., BECKER, B. E., CAFFESSE, R., DONATH, K., SANCHEZ, R. 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
- BONUCCI, E. New knowledge on the origin, function and fate of osteoclasts. *Clin. Orthop.*, v.158, p.252-69, 1981.
- BOWEN-POPE, D. F., MALPASS, T. W., FOSTER, D. M., ROSS, R. Platelet-derived growth factor in vivo: levels, activity, and rate of clearance. apud ROSS R., RAINES E. W., BOWEN-POPE, D. F. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell.*, n.2, v.46, p.155-69, 1986.
- BREINE, U., BRÄNEMARK, P. I. Reconstruction of alveolar bone jaw bone. An experimental and clinical study of immediate and preformed autologous bone grafts in combination with osseointegrated implants. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, v.14, n.1, p.23-48, 1980.
- BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. *Orthop. Clin. North Am.*, v.18, n.2, p.187-96, 1987.
- BURCHARDT, H., ENNEKING, W. F. Transplantation of bone. *Surg. Clin. North Am.*, v.58, n.2, p.403-27, 1978.
- BURT, D. W. Evolutionary grouping of the transforming growth factor-beta superfamily. apud LIND, M. Growth factor simulation of bone healing: effects on osteoblasts, osteomies and implants fixation. *Acta Orthop. Scand.*, v.283, Suppl., p.2-37, 1998.

- CAPLAN, A. I. *New logic for tissue engineering: multifunctional and biomart delivery vehicles*. In: DAVIES, W. E. *Bone engineering*. Hong Kong: Ed. Rainbow Graphic and Printing Ltda., 2000. p.441-6.
- CARLSON, E. R. Bone grafting the jaws in the 21st century: the use of platelet-rich plasma and bone morphogenetic protein. v.93, n.3, p.26-30, 2000.
- CARVALHO, A. C. P., OKAMOTO, T. *Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica*. São Paulo: Ed. Panamericana, 1987. cap.5, p.55-80.
- CARVALHO, P. S. P., VASCONCELOS, L. W., PI, J. Influence of bed preparation on the incorporation of autogenous bone grafts: a study in dogs. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.15, n.4, p.565-70, 2000.
- COHEN, S. Isolation of a submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J. Biol. Chem.*, v.237, p.1555, 1962.
- DAVIES, J., WARWICK, J., TOTTY, N., PHILIP, R., HELFRICH, M., HORTON, M. The osteoclast functional antigen, implicated in the regulation of bone resorption, is biochemically related to the vitronectin receptor. apud MUNDY, G. R. Cellular and molecular regulation of bone turnover. *Bone*, v.24, n.5, p.3S-8S, 1999.
- DELMAS, P. D., MALAVAL, L. *The proteins of bone*. In: MUNDY, G. R., MARTIN, E. S. *Physiology and pharmacology of bone*. Berlin: Springer Verlag, 1993. p.673-724.

DEQUEKER, J. *Bone structure and function*. In: KLIPPEL, J. H., DIEPPE, P. A. *Rheumatology*. St. Louis: Mosby, 1994. p.7.

FROST, H.M. Dynamics of bone remodeling. *Bone biodynamics*. apud MUNDY, G. R. Cellular and molecular regulation of bone turnover. *Bone*, v. 24, n. 5S, p.35S-38S, 1999.

FROUM, S. J., WALLACE, S. S., TARNOW, D. P., CHO, S. Effect of platelet-rich plasma on bone growth of osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.22, n.1, p.45-53, 2002.

GERRARD, J. M., PHILLIPS, D. R., RAO, G. H. R., PLOW, E. F., WALZ, D. A., ROSS, R., HARKER, L. A., WHITE, J. G. Biomechanical studies of two patients with the gray platelet syndrome. *J. Clin. Invest.*, v.66, n.1, p.102-9, 1980.

GIANNOBILE W. V., FINKELMAN R. D., LYNCH S. E. Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF/IGF-I. *J. Periodontol.*, v.65, n.12, p.1158-68, 1994.

GIBSON, L. J. The mechanical behavior of cancellous bone. *J. Biomech.*, v.18, n.5, p.317-28, 1985.

GOSPODAROWICZ, D. Localization of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature*, v.249, n.453, p.123-7, 1974.

GRAVES, D. T., OPRAN, A. V., DELGADO, R., VALENTE, A. J., MUNDY, G., PICHE, J. The potencial role of platelet-derived growth

- factor as an autocrine or paracrine factor for human bone cells. *Connect Tissue Res.*, v.23, n.2/3, p.209-18, 1989.
- HAM, A .W. Some histophysiological problems peculiar to calcified tissues. apud *Regeneração óssea guiada em implantodontia*. São Paulo: Quintessence Ed. Ltda., 1996. cap.3, p.49-99.
- HARKER, L. A., FINCH, C. A. Thrombokinetics in man. *J. Clin. Invest.*, v.48, n.6, p.963-74, 1969.
- HEATH, C. A. Cells for tissue engineering. *Trends. Biotechnol.*, v.48, n.6, p.963-74, 1969.
- HELDIN, C. H., WESTERMARK, B., WASTESON, A. Demonstration of an antibody against platelet-derived growth factor. apud ROSS, R., RAINES, E. W., BOWEN-POPE, D. F. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell.*, v.46, n.2, p.155-69, 1986.
- HOCK, J. M., CANALIS, E. Platelet-derived growth factor enhances bone cell replication but not differentiated function of osteoblast. *Endocrinology*, v.134, n.3, p.1423-8, 1994.
- HOLLINGER, J. Strategies for regenerating bone of the craniofacial complex. *Bone*, v.14, n.3, p.575-80, 1993.
- HUGHES, D. E., DAÍ, A., TIFFEE, J. C., LI, H. H., MUNDY, G. R., BOYCE, B. F. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF β . *Nat. Med.*, v.2, n.10, p.1132-6, 1996.
- JENSEN, O. T. *The sinus bone graft*. Colorado: Quintessence Books, 1999. P.183-9.

- JOYCE, M. E., JINGUSHI, S., SCULLY, S. P., BOLANDER, M. E. Role of growth factors in fracture healing. *Prog. Clin. Biol. Res.*, v.365, p.391-416, 1991.
- KAPLAN, K. L., BROEKMAN, M. J., CHERNOFF, A., LESZNIK, G. R., DRILLINGS, M. Platelet alpha-granule proteins: studies on release and subcellular localization. *Blood*, v.53, n.4, p.604-18, 1979.
- KAPLAN, D. R., CHAO, F. C., STILES, C. D., ANTONIADES, H. N., SCHER, C. C. Platelet alpha-granules contain a growth factor for fibroblasts. *Blood*, v.53, p.1043-52, 1979.
- 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.
- KAWAMURA, M., URIST, M. R. Growth factors, mitogens, cytokines, and bone morphogenetic protein in induced chondrogenesis in tissue culture. *Dev. Biol.*, v.130, n.2, p.435-42, 1988.
- 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.
- KNIGHTON, D. R., SILVER, I. A., HUNT, T. K. Regulation of wound healing angiogenesis: effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery*, v.90, n.2, p.262-70, 1981.
- KNIGHTON, D. R., OREDSSON, S., BANDA, M., HUNT, T. K. *Regulation of repair*: hypoxic control of macrophage mediated angiogenesis. apud

- HUNT, T. K., HEPPENSTAHL, R. B., PINES, E. (editors). Soft and hard tissue repair. New York: Praeger, 1984. P.41-9.
- LANE, J. M., SANDHU, H. S. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop. Clin. North Am.*, v.18, n.2, p.213-25, 1987.
- LEKHOLM, U., ZARB, G. A. Patient selection and preparation. In: BRÄNEMARK, P. I., ZARB, G. A., ALBREKTSSON, T. *Tissue integrated prosthesis*. Chicago: Quintessence Publishing Company, 1985. P.199-209.
- LEKOVIC, V., CAMARGO, P. M., WEINLAENDER, M., VASILIC, N., KENNEY, E. B. 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.
- LEVANDER, G. *A study of bone regeneration*. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation: molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.
- LIND, M. Growth stimulation of bone healing: effects on osteoblasts, osteomies and implants fixation. *Acta Orthop. Scand.*, v.283, suppl., p.2-37, 1998.
- LINKHART, T. A., MOHAN, S., BAYLINK, D. J. Growth factors for bone growth and repair; IGF, TGF-beta, and BMP. *Bone*, v.19, suppl. 1, p.1S-12S, 1996.

LOZADA, J. L., CAPLANIS, N., PROUSSAEFS, P., WILLARSEN, J., KAMMEYER, G. Platelet rich plasma application in sinus graft surgery. Part I. Background and processing techniques. *J. Oral Implantol.*, v.27, n.1, p.38-42, 2001.

LYNCH, S. Introduction. In: LYNCH, S. E., MARX, R. E. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Illinois: Quintessence Publishing, 1999.

LYNCH, S. E., DE CASTILLA, G. R., WILLIAMS, R. C., KIRITSY, C. P., HOWELL, T. H., REDDY, M. S., ANTONIADES, H. N. 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.

MAN, D., PLOSKER, H., WINLAND-BROWN, J. E., SALTZ, R. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.107, n.1, p.238-9, 2001.

MARX, R. E. *Platelet-rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts*. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Illinois: Quintessence Books, 1999. P.71-82.

MARX, R. E. Platelet concentrate: a strategy for accelerating and improving bone regeneration. In: DAVID, J. E. *Bone engineering*. Canadá: Ed. Squared Incorporated, 2000. p.447-53.

MARX, R. E., GARG, A. K. Bone graft physiology with use platelet-rich plasma and hiperbaric oxygen. *The Sinus Bone Graft*. Colorado:

Quintessence Books, 1999. P.183-9.

MARX, R. E., GARG, A. K. A estrutura óssea, o metabolismo e a fisiologia: seu impacto na implantodontia. *J. Implant. Dent.*, v.5, p.15-25, 1999.

MARX, R. E., GARG, A. Biology of PRP. <http://www.plateletrich.com/biology-prp.html>, 2002.

MARX, R. E., CARLSON, E. R., EICHSTAEDT, R. M., SCHIMMELE, S. R., STRAUSS, J. E., GEORGE, K. R. 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.

MATRAS, H. Fibrin seal: the state of the art. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.43, n.8, p.605-11, 1985.

MEEK'REN, J. J. V. Observations medico-chirurgicae. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation: molecular, cellular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.

MERKX, M. A. W., MALTHA, J. C., FREIHOFER, H. P. M., KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Incorporation of three types of bone block implants in the facial skeleton. *Biomaterials*, v.20, n.7, p.639-45, 1999.

MOHAN, S., BAYLINK, D. J. Bone growth factors. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, n.263, p.30-48, 1991.

- MUNDY, G. R. Cellular and molecular regulation of bone turnover. *Bone*, v.24, n.5, suppl., p.35S-38S, 1999.
- MUSTOE, T. A., PURDY, J., GRAMATES, P., DEUEL, T. F., THOMASEN, A., PIERCE, G. F. Reversal of impaired wound healing in irradiated rats by platelet derived growth factor BB: requirement of an active bone marrow. *Am. J. Surg.*, v.158, n.4, p.345-50, 1989.
- OBARRIO, J. J., ARAUZ-DUTARI, J., CHAMBERLAIN, T. M., CROSTON, A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology – case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.20, n.5, p.487-97, 2000.
- PALLESEN, L., SCHOU, S., AABOE, M., HANSEN, E. H., NATTESTAD, A., MELSEN, F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.17, n.4, p.498-506, 2002.
- PETRUNGARO, P. S. Platelet-rich plasma for dental implants and soft-tissue grafting. *Dental Implantol. Update*, v.12, n.6, p.41-6, 2001.
- PETRUNGARO, P. S. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Complend. Contin. Educ. Dent.*, v.22, n.9, p.729-46, 2001.
- PETRUNGARO, P. S. Immediate restoration of multiple tooth implants for aesthetic implant restorations. *Implant. Dent.*, v.11, n.2, p.118-27, 2002.

- PHEMISTER, D. B. The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituent. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation: molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.
- PIERCE, G. F., TARPLEY, J. E., YANAGIHARA, D., MUSTOE, T. A., FOX, G. M., THOMASON, A. PDGF-BB, TGF- β 1 and basic FGF in dermal wound healing: neovessel and matrix formation and cessation of repair. *Am. J. Pathol.*, v.140, n.6, p.1375-88, 1992.
- PROLO, D. J., RODRIGO, J. J. Contemporary bone graft physiology and surgery. *Clin. Orthop.*, n.200, p.322-42, 1985.
- RAVEL, R. *Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. P.109-29.
- REDDI, A. H. Bone morphogenesis and modeling: soluble signals sculpt osteotomes in the solid state. *Cell*, v.89, n.2, p.159-61, 1997.
- ROBERTS, W. E., GARETO, L. P. Bone physiology and metabolism. apud MISCH, E. C. *Implantes dentários contemporâneos*. São Paulo: Ed. Santos, 2000. p.225-37.
- ROBERTS, W. E., TURLEY, P. K., BREZNIAK, N., FIELDER, P. J. Implants bone physiology and metabolism. *Calif. Dent. Assoc. J.*, v.15, n.10, p.54-61, 1987.
- ROBIONY, M., POLINI, F., COSTA, F., POLITI, M. Osteogenesis distraction and PRP for bone restoration of the several atrophic

- mandible: preliminary results. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.60, n.6, p.630-5, 2002.
- ROSENBERG, E. S., TOROSIAN, J. Sinus grafting using platelet-rich plasma: inicial case presentation. *Practic. Periodontics Aesthet. Dent.*, v.12, n.9, p.843-50, 2000.
- ROSS, R., RAINES, E. W., BOWEN-POPE, D. F. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell.*, v.46, n.2, p.155-69, 1986.
- ROSSI JÚNIOR, R., LEMOS, J. J., PISPICO, R. Utilização de plasma rico em plaquetas e em enxertos ósseos – proposta de um protocolo de obtenção simplificado. Disponível em: www.dentalnet.com.br?ArtigoPRP.htm
- RUDKIN, G. H., MILLER, T. A. Growth factors in surgery. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.97, n.2, p.469-76, 1996.
- RUTHERFORD, R. B., RYAN, M. E., KENNEDY, J. E., TUCKER, M. M., CHARETTE, M. F. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J. Clin. Periodontol.*, v.20, n.7, p.537-44, 1993.
- SCHENK, R. K. *Regeneração óssea: bases biológicas*. apud BUSER, et al. *Regeneração óssea guiada em implantodontia*. São Paulo: Quintessence, 1996. cap.3, p.49-99.
- SENN, N. On the healing of aseptic cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation:

- molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.
- SINGH, J. P., CHAIKIN, M. A., STILES, C. D. apud ROSS, R., RAINES, E. W., BOWEN-POPE, D. F. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell.*, v.46, n.2, p.155-69, 1986.
- SHANAMAN, R., FILSTEIN, M. R., DANESH-MEYER, R. J. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.21, n.4, p.345-55, 2001.
- SLATER, M., PATAVA, J., KINGHAM, K., MASON, R. S. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J. Orthop. Res.*, v.13, n.5, p.655-63, 1995.
- SONNLEITNER, D., HUEMER, P., SULLIVAN, D. Y. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.15, n.6, p.879-82, 2000.
- SPORN, M. B., ROBERTS, A. B., WAKEFIELD, L. M., ASSOIAN, R. K. Transforming growth factor- β : biological function and chemical structure. *Science*, v.233, n.4763, p.532-4, 1986.
- TAYAPONGSAK, P., O'BRIEN, D. A., MONTEIRO, C. B., ARCEO-DIAZ, L. D. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.52, n.2, p.161-5, 1994.
- URIST, M. R. Bone: formation by osteoinduction. apud YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G.

Evolution of bone transplantation: molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.

VENGELEN, T. In: *Technical manual*. 12.ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1996.

WEIBRICH, G., KLEIS, W. K. G., KUNZ-KOSTOMANOLAKIS, M., LOOS, A. H., WAGNER, W. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, Sex and platelet count of the donor. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.16, n.5, p.693-9, 2001.

WHITMAN, D. H., BERR, Y. R. L., GREE, 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.

WITTE, L. D., KAPLAN, K. L., NOSSEL, H. L., LAGES, B. A., WEISS, H. J., GOODMAN, D. S. Studies of the release from human platelets of the growth factor for cultured human arterial smooth muscle cells. *Circ. Res.*, v.42, n.3, p.402-9, 1978.

YASZEMSKI, M. J., PAYNE, R. G., HAYES, W. C., LANGER, R., MIKOS, A. G. Evolution of bone transplantation: molecular, celular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.175-85, 1996.

RESUMO

RESUMO

NUNES FILHO, D. P. *Efeitos do PRP associado ou não ao osso autógeno particulado no reparo de cavidades ósseas em cães*. Araçatuba, 2003. 129p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar histologicamente o efeito do plasma rico em plaquetas (PRP) associado ou não ao osso autógeno no reparo de cavidades ósseas mandibulares de cães. Para o desenvolvimento do estudo, foram realizadas 6 (seis) cavidades ósseas Hemi-mandibulares em 4 (quatro) cães sem raça definida e sob anestesia geral. Foram formados 3 grupos: controle (preenchido por coágulo sangüíneo); PRP (preenchido por gel de PRP) e, PRP associado ao osso autógeno particulado. Após 120 dias, os animais foram sacrificados e as peças incluídas foram cortadas no sentido longitudinal e transversal e coradas pelo método da hematoxilina e eosina. Os resultados mostraram que nas cavidades preenchidas pelo gel de PRP havia a presença, em todos os animais, de tecido conjuntivo no centro da loja enquanto que no grupo da associação do PRP

com osso autógeno a cavidade estava totalmente preenchida por osso neoformado. As partículas de osso autógeno remanescentes na cavidade estavam incorporadas ao osso neoformado ou com aspecto de parcialmente reabsorvidas. Assim, foi possível concluir, nas condições experimentais deste trabalho, que o gel de PRP não promove o reparo da cavidade enquanto que no grupo da associação do PRP com osso autógeno particulado houve reparo completo.

PALAVRAS-CHAVE: Enxerto ósseo; reparo ósseo; enxerto autólogo.

ABSTRACT

ABSTRACT

NUNES FILHO, D. P. *Effect of PRP associated or not to the particulated autogenous bone in the repair of bone cavities in dogs.* Araçatuba, 2003. 129p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

The purpose of the present study was to evaluate histologically the platelet rich plasma (PRP) associated or not to the autogenous bone in the mandibular bone cavities repair in dogs. For the development of the study, 6 mandibular bone cavities were performed in 4 indefinite race dogs under general anaesthesia. Three groups were created: control (filled with blood clot); PRP (filled with PRP gel); and PRP associated to the particulated autogenous bone. After 120 days, the animals were killed and the embedded parts were longitudinally and transversely sectioned and completed through the hematoxylin and eosin method.

The results showed that in the cavities filled with PRP gel the connective tissue could be seen in the middle of the lodge in all of the animals, while in the group of PRP associated to autogenous bone the cavity was totally filled with

new bone. The remnant autogenous bone particles in the cavity were incorporated to the new bone or suggested being partially resorbed. Consequently, it was possible to conclude, through the experimental conditions of this study, that the PRP gel did not promote the cavity repair while in the group of PRP associated to particulated autogenous bone the repair was complete.

KEY-WORDS: Bone transplantation; bone repair; transplantation, autologous.