

CELINA ANTONIO PRATA

**REPARAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR APÓS IMPLANTE DE UMA
COMBINAÇÃO DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE
ESMALTE E OSSO AUTÓGENO. ESTUDO HISTOMÉTRICO.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Odontologia. Área
de Concentração: Reabilitação Oral

Orientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Brentegani

**Ribeirão Preto
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CELINA ANTONIO PRATA

**REPARAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR APÓS IMPLANTE DE UMA
COMBINAÇÃO DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE
ESMALTE E OSSO AUTÓGENO. ESTUDO HISTOMÉTRICO.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Odontologia. Área
de Concentração: Reabilitação Oral

Orientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Brentegani

**Ribeirão Preto
2005**

Dedicatória

Dedicatória

*Aos meus pais, **Venceslau e Maria Madalena**, responsáveis pela minha formação. Obrigada por tudo e por me ensinarem a importância do estudo.*

*Aos meus filhos, **Ana Júlia e Lucas**, que me fizeram uma pessoa melhor. Vocês são o maior incentivo da minha vida.*

Agradecimento Especial

Agradecimento Especial

Ao Prof. Dr. Luiz Guilherme Brentegani, por ter me dado a oportunidade de trabalhar com o senhor. Tudo o que aprendi nesses anos de convivência só foi agradável e extremamente proveitoso, por causa de sua sabedoria, paciência e gentileza, não somente comigo, mas com todas as pessoas. Hoje o senhor tem todo o meu respeito e consideração.

A*gradecimentos*

Agradecimentos

*Aos amigos e técnicos do laboratório de histopatologia: **Edna Aparecida dos Santos Moraes, Gilberto André e Silva, Antonio de Campos e Adriana de Mattos Gonçalves da Silva**, pela paciência, dedicação e ensinamentos durante todo o período de desenvolvimento de nosso trabalho*

*Às secretárias da pós-graduação, **Isabel Cristina C. Galiano Sola e Regiane Cristina Moi Saciolotto**, por tantas dúvidas que me esclareceram.*

*À **Filomena Lelli Placciti**, pela educação e amizade que demonstra em seu trabalho.*

*À **Regiane de Cássia Tirado Damasceno**, pelo apoio e por tantos favores que me concedeu, sempre com tanta disponibilidade. Sempre achei inacreditável a sua paciência com os pós-graduandos.*

*À amiga **Carla Moreto Santos**, pela amizade e cumplicidade em todos os momentos da pós-graduação. Aprendi muito com você.*

*Aos Departamentos **de Materiais Dentários e Prótese e de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia** que estiveram de portas abertas para que eu pudesse chegar ao final desta jornada.*

*Ao **Prof. Dr. Sebastião Hetem**, pela confiança e incentivo. O senhor é o responsável pelo meu ingresso na carreira acadêmica.*

*A **Alex Tadeu Martins, Rosangela de Carvalho Goulart, Simone Baroni Salgado Marques**, pela amizade tão prazerosa e estimulante.*

*Às amigas do Sesi: **Valéria Catarina Bonfim, Paula Aparecida Pedro e Adriane Silva Caresia Wood**, pela ajuda e compreensão em nosso trabalho.*

Às minhas funcionárias **Gisele Cristina da Silva** e **Rosangela da Silva**, que considero como pessoas da minha família.

À minha querida tia **Walmiria Antonio Ribeiro de Mendonça**, pelo apoio em todos os momentos de minha vida. Nunca poderei agradecer tudo o que a senhora já fez por mim.

A **José Carlos Cardoso**, meu amigo e marido de minha mãe, pelo amor e carinho ao meu filho, que foram fundamentais em todos os momentos em que estive ausente.

A minha irmã **Marina Antonio Prata**, querida amiga, que sempre acreditou que o caminho acadêmico era o melhor para mim. Amo você.

Ao meu namorado **Mario Sergio Amorim dos Santos**, pelos momentos de carinho que ajudaram a aliviar a tensão desses últimos meses.

Resumo

PRATA, C.A. **Reparação óssea alveolar após implante de uma combinação de proteínas derivadas da matriz de esmalte e osso autógeno. Estudo histométrico.** 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Resumo

Inúmeros materiais biocompatíveis são utilizados em defeitos ósseos no sentido de acelerar a neoformação óssea e promover a osseointegração. Um destes materiais é a proteína derivada da matriz do esmalte (PDME - emdogain), que tem demonstrado eficácia na regeneração de tecidos periodontais devido a sua ação estimuladora na proliferação de células do ligamento periodontal. Um outro é o osso autógeno que tem sido utilizado com sucesso como implante em defeito intra-ósseo, e é ainda considerado a referência padrão devido as suas vantagens biológicas e potencial osteogênico. O objetivo deste estudo foi avaliar histológica e histometricamente a reparação óssea alveolar após a extração dental em ratos implantados/enxertados com proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), com osso autógeno (OA) e com a associação de OA e PDME. Ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar), pesando entre 250 a 300 g, foram anestesiados e submetidos à extração do incisivo superior direito e divididos em: grupo controle (sem implante), grupo implantado com PDME, grupo implantado com OA (fragmentos de osso do rebordo alveolar foram implantados no terço cervical do alvéolo) e grupo implantado com OA e PDME. Os animais foram sacrificados no 7°, 21° e 42° dias após a extração, suas maxilas foram fixadas, descalcificadas, incluídas em parafina para a obtenção de seções finas (6 µ) e coradas com HE. Através de um sistema de análise de imagens estimou-se a fração de volume do tecido ósseo em todo alvéolo e em áreas contíguas ao implante. Os animais implantados com PDME tiveram um formação óssea semelhante aos controles no período de 7 dias e menor nos outros períodos (21 e 42) embora sem significância estatística. O enxerto de osso no terço cervical do alvéolo, tanto o OA como a associação do AO e PDME mostrou uma osteointegração progressiva e sem reação de corpo estranho. A quantificação da reparação óssea no alvéolo evidenciou que o OA associado à PDME produziu maior quantidade de osso em relação aos outros grupos (10%) em todos os períodos estudados, mas sem significância estatística. Concluiu-se que as PDME-emdogain sozinhas não estimularam a formação óssea no interior do alvéolo, mas quando associadas ao OA produziu aumento da quantidade de osso neoformado.

Palavras-chave: reparação óssea alveolar, implante, enxerto, proteínas da matriz de esmalte, osso autógeno.

Abstract

PRATA, C.A. **Alveolar bony repair after implant of a combination of enamel matrix protein and autogenous bone. Histometric study.** 2005. 100 p. Thesis (Master) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Abstract

Several biocompatible materials are used in bony defects to accelerate bone neof ormation and to promote osseointegration. One of these materials is enamel matrix proteins (EMP – emdogain), which showed efficiency in the regeneration of periodontal ligament due to its stimulation action on the proliferation of periodontal ligament cells. Another is the autogenous bone that has been used with success in intra-bony defects, and it is regarded as the gold standard due to its biological advantages and osteogenic potential. The objective of this study was to evaluate histologically and histometrically the alveolar bony repair after the dental extraction of a rat implanted/grafted with enamel matrix proteins (EMP), with autogenous bone (AO) and with the association of AO and EMP. Male rats (*Rattus norvegicus*, Wistar variety), weighing from 250 to 300 g, were anesthetized and submitted to the extraction of the right superior incisor and divided into: control group (without implant), group implanted with EMP, group implanted with AO (fragments of bone of the alveolar edge were implanted in the cervical third of the alveolus) and a group implanted with AO and EMP. The animals were sacrificed on the 7th, 21st and 42nd days after the extraction, their maxillae were fixed, decalcified, embedded in paraffin for the obtaining of fine sections (6 μ) and stained with HE. Through a system of analysis of images it was estimated the fraction of volume of the bone in all alveoli and in contiguous areas to the implants. The animals implanted with EMP had a bony formation similar to the controls in the 7 days period and smaller in other periods (21 and 42) although without statistical significance. The bone fragment implanted in the cervical third of the alveolus, the AO as well as the association of AO and EMP showed a progressive osseointegration and without foreign-body reaction. The quantification of the bony repair in the areas adjacent to the implants showed that the AO associated to EMP produced a larger amount of bone in relation to the other groups (10%) in all the studied periods, but without statistical significance. It was concluded that the EMP -emdogain alone didn't stimulate bony formation into the alveolus, but when associated to the AO produced an increase in the amount of neoformed bone.

Keywords: alveolar bony repair, implant, graft, enamel matrix proteins, autogenous bone.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3. PROPOSIÇÃO.....	41
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
5. RESULTADOS.....	51
6. DISCUSSÃO.....	59
7. CONCLUSÃO.....	83
8. REFERÊNCIAS.....	85
9. ANEXO.....	99

1 Introdução

Introdução

O processo de reparação de feridas de extração dental, ou processo de reparação alveolar, refere-se ao conjunto de reações teciduais desencadeadas no interior do alvéolo, em seguida à exodontia. O organismo tem como objetivo, frente a um traumatismo após a extração dental, preencher com tecido ósseo o espaço deixado no alvéolo. Este fenômeno apresenta a mesma sequência das respostas reparativas observadas em outras regiões, com algumas particularidades locais (PERRI DE CARVALHO; OKAMOTO, 1987).

A cicatrização de uma ferida de extração dental, que é a ferida óssea mais comum na cavidade oral, é uma extensão única de tecido conjuntivo cicatricial, pois a formação de novo osso depende da deposição de cristais de hidroxiapatita ao longo das fibras colágenas em uma matriz de proteoglicanas chamada osteóide (KURITA et al., 1985). A reparação alveolar se completa quando o alvéolo dentário apresentar-se preenchido por trabéculas ósseas espessas e espaços medulares diminutos, e a crista alveolar remodelada (ALVES; OKAMOTO, 1989). Sabe-se que fatores tanto sistêmicos como locais, modulam a formação, reabsorção, remodelação e, conseqüentemente, a reparação óssea. Numerosos trabalhos estão sendo desenvolvidos com a aplicação (implante/enxerto) local de materiais na busca de um material que promova formação óssea em tempo mais curto.

Recentemente um material à base de proteínas derivadas da matriz do esmalte dental (PDME – Emdogain) vem se mostrando efetivo na regeneração periodontal, favorecendo a formação de cimento acelular, ligamento

periodontal e osso alveolar (HAMMARSTRÖM et al., 1997; MELLONIG, 1999). Os mecanismos exatos de atuação das proteínas derivadas do esmalte ainda não estão totalmente esclarecidos, mas os trabalhos têm mostrado que esta proteína atua como uma matriz extracelular, estimulando a migração e proliferação de células do ligamento periodontal, favorecendo a regeneração dos tecidos (HOANG, et al, 2000; SCHWARTZ, et al, 2000; CHANO, et al, 2003).

A literatura tem apontado alguns estudos promissores tanto clínicos como laboratoriais associando estas proteínas com osso bovino poroso (ZUCHELLI et al., 2003) e osso autógeno (COCHRAN et al., 2003), os quais apresentaram resultados favoráveis a um aumento da formação óssea.

O osso autógeno, devido as suas vantagens biológicas e potencial osteogênico (SANADA et al, 2003), atuam por osteoindução e osteocondução (ELLIES, 1992), promovendo estímulo e aposição de tecido ósseo a partir do osso já existente. Dessa forma, atua como modelo para a neoformação óssea (MANSO; LANG, 1997). Tanto enxertos com osso autógeno compacto ou poroso contem em sua matriz inorgânica, osteócitos, osteoclastos, osteoblastos e proteínas osteogênicas, apresentando potencial para osteogênese quando usado para melhorar ou corrigir defeitos ósseos (BLOCK; KENT, 1997; KIYOKAWA et al, 2002; MERKX et al, 1999a; ORR et al, 2001). Embora o osso autógeno apresente as características ideais para um substituto ósseo, ainda se procura um material para acelerar a formação de osso, reduzindo o tempo para a colocação de implante como suporte dental.

2 Revisão da Literatura

Revisão da Literatura

REPARAÇÃO ÓSSEA

Os estudos da reparação óssea que se segue à extração dental, realizados em humanos e em diferentes espécies animais, descrevem a sequência de alterações celulares e tissulares, bem como a cronologia do processo, que culmina com o completo preenchimento do alvéolo dental por tecido ósseo neoformado.

Em 1960, Amler et al. descreveram a reparação alveolar através de estudos feitos com biópsias de feridas de extração dental humanas, como um processo que pode ser dividido nas seguintes fases: 1) logo após a exodontia ocorre a formação do coágulo; 2) em seguida ocorre a substituição do coágulo por tecido de granulação; 3) este tecido de granulação é substituído por tecido conjuntivo; 4) ocorre então a formação de um tecido osteóide, principalmente no ápice do alvéolo e depois, em toda extensão do alvéolo, partindo ápice para região cervical; 5) amadurecimento da matriz óssea e 6) epitelização da ferida cirúrgica.

Okamoto e Russo em 1973 observaram e descreveram a reparação alveolar em ratos com intervalos de 3 dias em 21 dias. Dividiram o processo em 3 fases distintas (período de formação de coágulo e proliferação de células, período de formação de tecido conjuntivo e período de ossificação) que representam em essência as mencionadas no trabalho anterior. Pela descrição

feita neste trabalho, ao final de 21 dias o alvéolo aparentemente está completamente preenchido com tecido ósseo.

Em 1987, Carvalho e Okamoto acrescentaram, ainda com finalidade didática, uma 4ª fase à reparação alveolar. Esta fase representa, para os autores, a fase de maturação do tecido conjuntivo que acontece antes da fase de ossificação.

A diferenciação celular que acontece dentro do alvéolo durante o processo de reparação óssea após exodontias, foi estudada por Lin et al. em 1994. O estudo concluiu que a maioria dos fibroblastos que migram para o coágulo sanguíneo forma tecido conjuntivo denso e se diferenciam em osteoblastos, são originados do ligamento periodontal remanescente. Fatores de crescimento (PDGF e TGF- β) presentes no coágulo sanguíneo são considerados responsáveis pela diferenciação. Apenas uma pequena parcela dos osteoblastos é originada dos fibroblastos vindos do endóstio e do suprimento vascular periapical.

Lamano-Carvalho et al. (1997b), em análise histométrica, analisaram a cronologia da reparação alveolar em ratos após exodontia. Observaram através dos resultados que a neoformação óssea continua após 21 dias da extração dental, tempo considerado como final do processo. Nos resultados, até a 6ª semana (42 dias) ainda ocorre formação de tecido ósseo no terço cervical do alvéolo.

A reparação alveolar tem sido investigada em numerosas condições experimentais, no sentido de observar possíveis fatores, locais ou sistêmicos, que possam interferir com o processo, acelerando-o ou retardando-o. É provável, no entanto que a maioria das observações seja passível de

questionamento, pois se em alguns trabalhos realizou-se uma análise quantitativa mais precisa, na grande maioria efetuou-se apenas a observação histológica dos alvéolos em processo de reparação.

Segundo Magalhães et al (1982), a irregularidade no contorno e altura do alvéolo e a fratura da tábua óssea ou de cristas alveolares durante a exodontia, atrasam a reparação normal.

Para Carvalho e Okamoto (1987), a laceração da gengiva, o diâmetro aumentado do alvéolo, a permanência de fragmentos ósseos sem nutrição, resíduos radiculares e de corpos estranhos no interior do alvéolo, retardam o processo de reparação normal. Além disso, cuidados com a curetagem, irrigação e suturas devem ser tomados, pois estes procedimentos, quando não bem realizados, podem alterar a cicatrização alveolar. Estes autores ainda chamam atenção para as condições periodontais prévias e às infecções, como alveolites, que também são prejudiciais no pós-operatório.

Em 1994, Okamoto et al., avaliaram a importância da permanência do coágulo no interior do alvéolo. No estudo, um grupo de animais teve as bordas do alvéolo suturadas logo após a exodontia, e em outro grupo o coágulo foi removido após 6 a 8 minutos da cirurgia. Houve um profundo atraso na cicatrização no 2º grupo e, embora um novo coágulo tenha sido formado, este não era organizado. Desta forma, concluíram que a qualidade, constituição, manutenção e retração do coágulo são fatores que regulam a formação de tecido conjuntivo durante a reparação alveolar.

Os implantes intra-alveolares, utilizados com a finalidade de coibir hemorragias pós-extração, debelar infecções pós-operatórias, prevenir ou corrigir defeitos ósseos periodontais, manter o contorno do rebordo alveolar ou

substituir tecidos perdidos durante procedimentos cirúrgicos, podem provocar reações inflamatórias persistentes que retardam a reparação ou acontece uma boa aceitação do organismo como está descrito nos trabalhos que se seguem.

Numa revisão realizada por Carvalho e Okamoto, (1972) verificou-se que a maioria dos implantes atrasa o processo de reparação. A justificativa empregada é a de que a presença de qualquer material estranho no interior do alvéolo perturbaria a organização do coágulo e provocaria distúrbios na neoformação tecidual, atrasando a cronologia da reparação.

O material pode se comportar como agente irritante, sendo reconhecido como corpo estranho, por isso o organismo tenta eliminá-lo. Isso ocorre também devido à maior irrigação sanguínea das estruturas da cavidade bucal, o que determina maior defesa local e reações mais severas contra corpos estranhos (CARVALHO; OKAMOTO, 1987).

Apesar disso, numerosos trabalhos foram desenvolvidos com a aplicação (implante/enxerto) local de materiais na busca de um material que promova formação óssea em tempo curto. Estes materiais são chamados de biomateriais, e podem ser definidos como uma substância ou combinação de duas ou mais substância farmacologicamente inertes, de natureza sintética ou natural, que são utilizados para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou integralmente, tecido e órgãos (WILLIAMS, 1987).

Os implantes de hidroxiapatita, e de fosfato de tricálcico foram testados por Rosa et al. (1994) em estudo histométrico e os resultados mostraram que houve formação de uma menor quantidade de osso durante todos os períodos de estudo. Portanto os implantes, apesar de biocompatíveis, retardaram o processo de reparação alveolar.

O cimento de ionômero de vidro, material restaurador, foi também avaliado histológica e histometricamente como implante intra-alveolar, em ratos, imediatamente após a exodontia. Brentegani et al. (1996) descreveram que a presença dos grânulos de ionômero de vidro no terço cervical levou a um pequeno atraso na formação óssea apenas na primeira semana. As outras regiões do alvéolo, ao contrário, tiveram uma tendência de apresentar grande quantidade de osso trabecular a partir da terceira semana. Desta forma foi concluído que o material não atrasou o processo de reparação, favorecendo a neoformação óssea. Em outro trabalho realizado pelos mesmos autores em 1997, ficou novamente comprovado que o material, além de biocompatível, foi progressivamente incorporado ao osso.

Lamano-Carvalho et al. (1997a) avaliaram os efeitos do implante imediato de uma resina de poliuretano (*Ricinus communis*) na cronologia da reparação alveolar em ratos. Apesar da biocompatibilidade do material, houve uma alteração no processo de reparação, com atraso na neoformação óssea nos terços médio e apical.

Também em 1997, o Tissucol, um material adesivo de fibrina, foi testado em alvéolos dentais de ratos submetidos ao estresse, por Alves-Rezende e Okamoto. O material foi considerado biocompatível e agiu como um agente hemostático efetivo. Além disso, foi concluído que não houve interferência na formação de tecido conjuntivo e ósseo.

Zerbo et al. (2001) demonstraram que o uso de grânulos de fosfato tricálcico permitiu a formação de novo tecido ósseo em defeitos alveolares. Estes autores sugerem que o fosfato tricálcico tenha tido ação osteocondutora, isto é, guiando células osteogênicas a partir de um tecido ósseo pré-existente.

Além disso, neste mesmo estudo observou-se a formação de osso dentro dos poros das partículas da biocerâmica.

Prado em 2002 avaliou qualitativa e quantitativamente através de microscopia de luz e eletrônica de varredura, os efeitos de uma bebida alcoólica na reparação alveolar, comparando, nesta situação, a ação de uma biocerâmica de fosfato de cálcio (Osteosynt) na neoformação óssea. Teve como conclusão que a utilização da biocerâmica minimiza os efeitos deletérios do alcoolismo crônico sobre a reparação alveolar.

Em 2005, Calixto examinou o comportamento de enxertos ósseos heterógenos orgânico e inorgânico (Matriz Óssea Bovina Liofilizada Orgânica e Inorgânica), de uma mistura de BMPs (Proteínas morfogenéticas do Osso) bovinas e de um vidro bioativo implantados no interior do alvéolo. As observações seguiram até 9 semanas após a exodontia e implantação dos materiais. Em seus resultados concluiu que deve-se levar em conta, quando da necessidade da utilização de um biomaterial para preservação /recuperação de um tecido ósseo, que qualquer material introduzido no interior de um defeito pode atrasar a reparação. Portanto, segundo o autor, deve-se ponderar se e em quais circunstâncias um determinado material favoreceria o resultado desejado.

Também em 2005, o látex, na forma de grânulos e gel associado ao colágeno, foi avaliado no interior do alvéolo de ratos, em períodos de 7, 21 e 42 dias, por Balabanian. Dos resultados concluiu-se que o látex é um material biologicamente biocompatível, desenvolvendo uma osteointegração progressiva, estimulando a angiogênese e acelerando a neoformação óssea nos primeiros 7 dias da reparação óssea.

PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE (PDME)

A matriz extracelular de esmalte contém duas grandes classes de proteínas: as amelogeninas e as enamelinas. A essas proteínas têm-se atribuído o principal papel na mineralização e organização estrutural do esmalte em desenvolvimento. As amelogeninas constituem cerca de 90% da matriz do esmalte e possuem, como grande característica, capacidade de agregação, ficando praticamente insolúvel em pH fisiológico e temperatura corporal ((DEUTSCH et al., 1987; TEM CATE, 1988; INAGE et al.,1996; GESTRELIUS et al.1997b).

Gestrelius et al. (1997b) afirmaram, em estudo “in vitro”, que a maioria das células necessita de uma matriz extracelular para sua função, e que a adição de proteínas derivadas do esmalte ao meio de cultura celular resultou em muitas mudanças que induziram à proliferação de células do ligamento periodontal, mas não as células epiteliais, bem como a um aumento na produção de proteína e colágeno, e à mineralização.

Hammarström et al. (1997) tentaram obter regeneração periodontal através da simulação de eventos ocorridos durante o desenvolvimento radicular, partindo de evidências de que as células da bainha epitelial de Hertwig secretam proteínas da matriz do esmalte durante o processo de rizogênese, participando da formação de cimento acelular. Estudos em macacos mostraram que o cimento acelular é formado quando as células do folículo dentário estão expostas à matriz de esmalte endógena ou exógena.

As proteínas derivadas da matriz do esmalte são importantes durante o desenvolvimento da raiz dental, para a formação de cimento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar. O mecanismo da ação dessas proteínas

não é conhecido com detalhes, mas acredita-se que a deposição temporária de proteínas da matriz de esmalte sobre uma superfície radicular seja um passo essencial que precede a nova formação do cemento acelular, e que o novo ganho de ligamento periodontal e osso alveolar depende da formação desse cemento (HAMMARSTRÖM, 1997; HIROOKA, 1998; FONG; HAMMARSTRÖM, 2000).

Vários estudos foram realizados para se entender os mecanismos de atuação das proteínas derivadas do esmalte, quando empregadas na terapia regenerativa. Parece que quando aplicadas podem ser identificadas por um período de 2 semanas e atuam como uma matriz extracelular, estimulando a migração e proliferação de células do ligamento periodontal, favorecendo a regeneração dos tecidos (SCHWARTZ, et al, 2000; CHANO, et al 2003).

Recentemente um material à base de proteínas derivadas da matriz do esmalte dental – emdogain – vem se mostrando efetivo na regeneração periodontal (MELLONIG, 1999).

Dobbs (1999) descreve o emdogain como uma fórmula comercial de matriz derivada do esmalte, produzida por Biora AB, em Malmö, Suécia. Representa um complexo protéico à base de amelogenina, derivado do extrato ácido purificado de matriz de esmalte de porcos jovens.

A formulação comercial disponível apresenta-se constituída em 90% de amelogenina e 10% de outras proteínas oriundas da matriz de esmalte de dentes de porcos. Além destas proteínas, apresenta um veículo de apresentação, o alginato propileno glicol, que faz com que, em temperatura ambiente e pH ácido, o produto seja viscoso. Após aplicação, quando a temperatura é corpórea e o pH neutro, a matriz derivada de esmalte se

precipita sob forma de complexos esféricos insolúveis que permanecem no local da aplicação por duas semanas. Esta camada de proteínas, quando aplicada sobre a superfície radicular propicia um leito que é povoado por células mesenquimais e estimulam a diferenciação destas células em cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos, promovendo um processo de regeneração dos tecidos periodontais (GESTRELIUS et al., 1997a).

O emdogain foi avaliado em casos de cirurgia periodontais com retalho modificado de Widman, em defeitos ósseos de uma ou duas paredes, onde houve uma associação do material com a técnica. Foi concluído que a associação com emdogain promoveu um ganho significativo de tecido ósseo quando comparado com a aplicação de um placebo (HEIJL et al., 1997).

A segurança quanto à utilização do emdogain foi testada e bem documentada por Zetterstrom et al (1997), e confirmada em estudos clínicos que relataram a ausência de reações alérgicas ou de reações inflamatórias após a aplicação do mesmo.

Petinaki et al. (1998), levando em consideração a possibilidade de uma resposta imunológica contra o emdogain devido às pequenas divergências da estrutura proteica primária da amelogenina humana e a de porcos, isolaram linfócitos do sangue de dez indivíduos saudáveis e cultivaram-nos “in vitro” na presença de diferentes concentrações de emdogain, com o objetivo de determinar a taxa de proliferação celular, a expressão dos antígenos de superfície, e a produção de citocinas e imunoglobinas. Concluíram que o emdogain pode ser empregado seguramente em cirurgias periodontais, pois houve discreta resposta imunológica somente em concentrações muito acima das utilizadas na vida prática.

Em outro trabalho, após testar o material em cirurgias periodontais em 28 pacientes, Sculean et al. (1999) afirmaram que a ausência de reações adversas, como alergias, abscessos, ou processos inflamatórios severos sugerem que este material seja bem tolerado.

O tratamento de lesões de furca de grau III foi avaliado experimentalmente em cães por Araújo e Lindhe (1998), após a aplicação de emdogain associado a uma membrana absorvível. Verificaram que não havia diferenças entre a quantidade de osso e ligamento periodontal formados após quatro meses nos grupos experimentais e controle. No entanto, numa análise mais detalhada, ficou evidente que no grupo controle houve a formação de um cimento acelular em toda a região do defeito. Já no grupo experimental, houve formação de um cimento acelular na porção apical e celular na porção cervical.

Ainda em 1998, Eger e Müller, em estudo clínico realizado em humanos, compararam a técnica de regeneração tecidual guiada, usando uma membrana reabsorvível com aplicação das proteínas da matriz de esmalte sem o uso de membrana, em defeitos ósseos. Nesse estudo, as duas técnicas apresentaram os mesmos resultados clínicos, tanto para diminuição da profundidade de bolsa como para nível de inserção clínica, concluindo-se que as duas técnicas têm a mesma validade para os tratamentos de defeitos infra-ósseos.

Em 2000, Van der Pauw et al., em um estudo realizado "in vitro", também procuraram analisar a influência das proteínas da matriz do esmalte no crescimento das células do ligamento periodontal (HPLF) e dos fibroblastos gengivais (HGF). Os resultados levaram à conclusão de que estas proteínas impedem a formação de células HGF nas primeiras 24 horas, enquanto que as

células HPLF continuam a se proliferar, contribuindo, desta maneira, para uma colonização e inserção mais rápida das células do ligamento periodontal.

Iqbal e Bamaas, em 2001, avaliaram histologicamente o efeito do emdogain na regeneração periodontal em dentes reimplantados em cães. Os dentes foram avulsionados e mantidos em meio ambiente (seco) por períodos de 15,30 e 60 minutos e reimplantados com ou sem aplicação do emdogain. Em dois dos grupos tratados, realizaram a esplintagem durante sete dias e em um não houve a realização da esplintagem em nenhum momento. Os autores verificaram que quanto maior o tempo extra-alveolar menor foi a quantidade de ligamento formado. Não houve diferença significativa entre os grupos esplintados ou não. Já o grupo que recebeu tratamento com emdogain antes do reimplante, apresentou maior incidência ligamento periodontal regenerado e menor incidência de anquilose, principalmente com 12 semanas após a reimplantação.

Fillipi et al. (2001) propuseram, como alternativa de tratamento de dentes anquilosados, o reimplante intensional com o uso do emdogain, na justificativa de que os dentes anquilosados em criança limitariam o desenvolvimento ósseo. Onze dentes anquilosados, apresentando reabsorção por substituição, foram extraídos, tiveram os canais tratados extra-alveolar por via retrógrada, inserindo um pino de titânio e receberam aplicação do emdogain sobre a superfície radicular e no alvéolo. Estes dentes foram avaliados clínica e radiograficamente por 6 meses, e os resultados sugeriram que a reimplantação intensional usando emdogain deva prevenir ou diminuir a anquilose nestes dentes. Estes mesmos autores, em 2002, utilizando a mesma metodologia, reforçaram as conclusões do trabalho anterior, pois mesmo após 2 anos, o

tratamento das raízes com emdogain antes da reimplantação, se mostrou efetivo para prevenção ou diminuição de anquilose.

Molares de ratos tratados ou não com emdogain foram transplantados para uma posição subcutânea na cavidade abdominal. Em análise imunoistoquímica e de microscopia de luz, os autores concluíram que a amelogenina estava precipitada em toda superfície dos dentes que receberam emdogain. Além disso, foi observada formação osso alveolar em todos os dentes tratados com o material, e reabsorção radicular em somente um. (HAMAMOTO et al., 2002).

Chano et al. (2003) examinaram a diferenciação celular em bolsas periodontais em ratos tratados com emdogain. Os resultados demonstraram que o emdogain aparentemente não afeta a diferenciação de células ou a síntese de proteínas da matriz óssea. Portanto, o efeito de emdogain na reparação do periodonto deveria ser independente da diferenciação da população de células examinadas neste trabalho.

Molina (2004) em análise histológica e histométrica avaliou em ratos, o comportamento das estruturas periodontais em dentes reimplantados com o uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte. Através dos resultados encontrados, concluiu que o uso do emdogain não trouxe benefícios para o reimplante dental.

Utilizando emdogain em reparação óssea após extração dental, Mendes (2000) observou em seu trabalho que o material não foi capaz de estimular a neoformação óssea dentro do alvéolo. O autor chegou a esta conclusão após a verificação dos resultados nos períodos de 6, 15 e 28 dias após as exodontias. Apenas no período de 6 dias, os animais que foram tratados com emdogain

tiveram uma maior formação óssea, mas sem significância estatística. Nos outros períodos, a formação óssea foi maior nos animais controles.

Alguns autores têm mostrado uma associação do emdogain com outros materiais e técnicas, na tentativa de acelerar a reparação óssea. Um exemplo disso foi o trabalho clínico de Zucchelli et al. (2003), onde os autores compararam os efeitos do uso de emdogain com a associação de osso bovino poroso mineral associado a este material, no tratamento de defeitos ósseos de pacientes portadores de doença periodontal crônica. Depois de 1 ano de avaliações clínicas e radiográficas, os autores concluíram que a associação feita trouxe os mesmos resultados obtidos somente com o emdogain.

Da mesma forma, em 2004, Sculean et al., fizeram uma associação de enxerto xenógeno bovino, emdogain e regeneração óssea guiada para tratamento de defeito ósseo em um paciente. O estudo clínico e histológico mostrou que houve formação de novo osso, cemento e ligamento periodontal.

Mesmo com a utilização somente de emdogain em casos de tratamento de defeitos intra-ósseos em humanos, os resultados mostraram que mesmo 24 meses após a cirurgia periodontal associada ao material, houve um melhora na regeneração dos tecidos (FRANCETTI et al., 2004).

Recentemente foi demonstrado que o Emdogain–Gel contem TGF- β e BMP como fatores de crescimento que contribuem para indução de biomineralização durante a regeneração periodontal (SUZUKI et al., 2005).

Um estudo em ratos foi realizado com objetivo de avaliar a influência de emdogain e osso bovino desproteínizado na regeneração óssea guiada (GBR). Os animais foram divididos em 4 grupos. Nos dois primeiro grupos foi usado emdogain de um lado da mandíbula e somente GBR do outro. A diferença

entre estes grupos foi os períodos de sacrifício (60 e 120 dias). Nos grupos restantes, também com períodos de 60 e 120 dias, foi avaliado o uso de osso bovino desproteínizado, e sua associação com emdogain. Foi concluído que os materiais, ou mesmo a associação deles, não foi capaz de aumentar a quantidade de formação óssea quando comparados com a utilização de regeneração óssea guiada somente (DONOS et al., 2005).

Ainda em 2005, Sculean et al., avaliaram a combinação de proteínas derivadas da matriz (EMD) do esmalte com um vidro bioativo (BG) ou BG sozinho no tratamento de defeitos intra-ósseos periodontais em humanos. Seis meses após a cirurgia, os dentes foram extraídos juntamente com um pouco dos tecidos circundantes para observação histológica. Dos resultados concluíram que o BG usado com EMD resultou em formação de novo cemento com ligamento periodontal associado, da mesma forma que aumentou a mineralização ao redor das partículas de BG.

OSSO AUTÓGENO

Desde 1975 o osso autógeno já era estudado. Neste ano Levin et al. o testaram (osso poroso) em comparação com fosfato tricálcico para tratamentos de defeitos ósseos periodontais em cães. Os resultados indicaram que os defeitos preenchidos com a cerâmica cicatrizaram mais lentamente e que, anquilose e reabsorções da raiz podem ocorrer quando o osso autógeno foi usado .

Block e Kent (1985) compararam o uso de hidroxiapatita sozinha com uma combinação com osso autógeno para aumento de rebordo em cães.

Foram extraídos os terceiros e quartos pré-molares e os primeiros molares bilateralmente e, em seguida, uma alveolectomia radical foi feita. Depois de 8 semanas os materiais foram colocados nos rebordos em uma nova cirurgia. O osso autógeno foi removido da crista ilíaca dos animais. Ao final de 16 semanas então os autores concluíram que o uso combinado de hidroxiapatitas e osso autógeno mostrou uma formação de osso em toda a área contribuindo para aumento do rebordo.

Pelos resultados obtidos por Burchardt (1987) os enxertos de osso poroso mostram uma revascularização rápida, mas seu trabeculado é mais facilmente reabsorvido, prejudicando a manutenção da forma e volume do enxerto. Por outro lado, esta reabsorção permite que logo ocorra uma substituição por osso. Já o enxerto de osso compacto persiste por muitos anos e mostra regiões viáveis e necróticas.

Frame et al. (1987) avaliaram o uso de hidroxiapatitas (porosa ou não) sozinhas e em combinação com osso autógeno e gesso paris. Os autores observaram histologicamente, ao final de 24 semanas, que o acréscimo de osso autógeno às hidroxiapatitas não aumentou a deposição de osso. Verificaram ainda que os fragmentos de osso não existiam mais ao final do período.

Em 1989, Wada et al., em seu estudo avaliaram as respostas reparativas em defeitos ósseos em furcas de terceiros e quartos molares em cães, utilizando três materiais: osso autógeno, osso bovino desmineralizado liofilizado e fosfato tricálcico (TCO- β). Os resultados foram obtidos com avaliação histológica depois 10 semanas. Os autores concluíram que, apesar de todos os materiais terem sido bem aceitos, os defeitos preenchidos com

osso autógeno mostraram significativamente uma regeneração mais pronunciada do a dos outros materiais usados.

Observações de Ellies (1992) de que o osso autógeno possui ações osteoindutora e osteocondutora, o consagraram até hoje como uma referência padrão como material de enxerto ósseo, agindo inicialmente preenchendo o espaço vazio no defeito, enquanto prossegue o ciclo osteoclástico, em seguida os osteoblastos iniciam o processo de formação óssea.

De acordo com Citarde e Friedman (1994), dados experimentais de animais demonstram que enxertos de sítios doadores de osso de origem membranosa tendem a sofrer menos reabsorção do que os enxertos de osso de origem endocondral., provavelmente por causa da diferença na arquitetura óssea de cada um desses tipos de osso. Os autores ressaltam ainda, que a remoção do enxerto do sítio doador está relacionada com a menor morbidade geral.

Nishibori et al. (1994) relataram os resultados de dois casos clínicos de aumento de assoalho de seio, um com osso autógeno da crista ilíaca, e outro com osso bovino desmineralizado liofilizado (DFDB). As amostras dos locais que receberam osso autógeno foram obtidas depois de 8 meses da cirurgia, e dos locais onde foram usados o DFDB após 16 meses. As observações sugeriram que o osso autógeno produz osso em quantidade e qualidade adequada para os locais de implantes, enquanto que o enxerto com DFDB não fica completamente remodelado pelo osso do hospedeiro e produz osso em quantidade e qualidade insuficiente para os locais de implantes.

Um trabalho feito por Triplett e Schow (1996), descrevendo técnicas para aumentar contorno e altura de processo alveolar em desdentados, analisou o

uso de enxerto de osso autógeno para colocação simultânea ou secundária de implantes osteointegrados. Os enxertos foram obtidos da crista íliaca e da mandíbula. Com as observações os autores concluíram que os enxertos de osso autógeno podem ser usados com segurança para promover habilidade na colocação de implantes. O sucesso dos implantes nos locais com osso autógeno foi melhor quando os implantes foram colocados secundariamente, 6 a 9 meses depois dos enxertos. A falha dos implantes não implicou em falha dos enxertos ósseos, e em todos os momentos onde os implantes falharam na osteointegração, enxertos ósseos foram suficientes para permitir implantes subsequentes.

Manso e Lang (1997) descrevem com clareza as fases osteogênicas da reparação em um enxerto autógeno em que destaca dois importantes tempos. No primeiro, há a proliferação e diferenciação das células enxertadas com deposição de tecido osteóide e produção de trabeculado composto. Nessa fase acontece a revascularização do osso enxertado por angiogênese periférica. Em um segundo tempo, normalmente, a partir da Segunda semana, há o predomínio da diferenciação das células mesenquimais do leito receptor em osteoblastos (osteoindução). Esta fase torna-se dominante durante as próximas 4 a 5 semanas após o transplante. Ainda na Segunda fase, os osteoclastos derivados dos monócitos circulantes começam a aparecer no osso enxertado, promovendo reabsorção, que, juntamente com as aposições formam um fenômeno denominado como “substituição aposicional”.

Para Gross (1997) o osso autógeno apresenta as características ideais para um substituto ósseo que são: livre de transmissão de doenças, biocompatibilidade, radiopacidade, microporosidade, estimular a indução

óssea, reabsorver em período comparativo ao da formação óssea, ser substituído por tecido ósseo, fácil de ser obtido e manipulado, agir como matriz ou veículo para outros materiais e ter baixo custo.

Contendo em sua matriz inorgânica, osteócitos, osteoclastos, osteoblastos e proteínas osteogênica, o osso autógeno apresenta potencial para osteogênese quando usado como enxerto para melhorar ou corrigir defeitos ósseos (BLOCK; KENT, 1997).

Becker et al. (1998) se propuseram em comparar a reparação alveolar em 8 pacientes após a implantação de osso bovino, osso bovino desmineralizado liofilizado (DFDBA), osso autógeno ou proteínas morfogenéticas de osso humano em um veículo de osteocalceína/osteonectina (hBMP/NCP). As biópsias foram feitas após 3 a 6 meses depois do tratamento para análise histológica. Os resultados deste estudo indicaram que os alvéolos que receberam hBMP/NCP, continham um osso lamelar com trabeculado bem vivo. Os demais materiais utilizados promoveram reparação alveolar, e aparentemente não interferiram no processo.

Sabendo que os enxertos de osso autógeno podem ser de osso poroso ou compacto, Merckx et al. (1999a) compararam a resposta destes dois tipos com osso bovino mineral reabsorvível (RBM) em defeitos ósseos em seios maxilares de cabras. Com a avaliação histológica, após 24 semanas, foi concluído que os dois tipos de osso foram aceitos e incorporados da mesma maneira nos defeitos ósseos. Já em relação ao RBM, a conclusão foi que este material foi somente osteocondutivo. Os mesmos autores (1999b), alguns meses depois, no mesmo ano, usaram os enxertos de osso poroso ou compacto, em forma de fragmentos e de blocos. A mesma metodologia foi

usada e os resultados, após 24 semanas, mostraram que o osso poroso, em fragmentos ou em blocos, é o material de escolha para tratamento de defeitos em áreas maxilofaciais onde não haja necessidade de forças mecânicas. Já o osso compacto em fragmentos não é confiável o suficiente para ser usado como um enxerto ósseo solitário nestas condições. Segundo os autores, o ideal seria sua utilização em blocos.

Um estudo em cães feito por Hockers et al. (1999), testou o efeito de uma membrana reabsorvível suportada por enxertos xenógenos ou autógenos na reparação óssea dentro de defeitos ósseos ao redor de implantes. Foram extraídos os terceiros e quartos molares e os primeiros molares mandibulares bilateralmente. Depois de 4 meses, 3 defeitos ósseos foram criados de cada lado da mandíbula, e foram colocados 1 implante por defeito. Os 6 locais foram distribuídos em 4 grupos, sendo um controle, sem membrana ou enxerto. Os outros receberam, somente membrana, membrana com osso bovino desproteinizado, e o último, membrana com osso autógeno retirado no momento de confecção do defeito. Depois de 16 semanas, os resultados mostraram que a membrana reabsorvível promoveu maior formação óssea quando em conjunto com os enxertos. Os autores concluíram ainda que não houve acréscimo na formação óssea com a utilização de osso autógeno, quando comparado com o uso de osso bovino.

Orsini et al., em 2001, testaram e compararam o uso de duas combinações de materiais para tratamento de defeitos intra-ósseos periodontais: osso autógeno com sulfato de cálcio e osso autógeno com membrana reabsorvível. Os autores observaram a profundidade de sondagem,

nível clínico de inserção e sangramento durante a sondagem durante 6 meses. Concluíram que as duas terapias foram compatíveis nos resultados.

Donos et al. (2002) também avaliaram a utilização de membranas em combinação com osso cortical autógeno, mas neste trabalho foram usadas membranas não reabsorvíveis. A intenção do uso destes materiais foi conseguir um aumento do rebordo em ratos. Os autores fizeram análise histológica em material conseguido 15, 30, 60 e 90 dias após a cirurgia. Dos resultados concluiu-se que o volume do enxerto de osso autógeno pode ser mantido com a cobertura de uma membrana, quando esta estiver apropriadamente adaptada e coberta com mucosa durante a cicatrização. Nos animais onde isto não ocorreu, osso autógeno implantado apresentou reabsorções e falta de continuidade entre o enxerto e osso do sítio receptor.

Já Tadjoeidin et al., em 2002, comparam o osso autógeno com um vidro bioativo (BG) em relação a capacidade destes em promover aumento do osso maxilar no assoalho do seio em humanos. Estes materiais foram testados em 3 pacientes nos dois lados da maxila. De um lado foi colocada uma mistura de 80-100% de BG com 20-0% de partículas de osso da crista ilíaca. Do outro lado 100% de osso autógeno foi utilizado como enxerto. As biópsias foram feitas depois de 4,6 e 15 meses após as cirurgias. Os resultados sugeriram que uma mistura com 80-90% de BG com 10-20% de osso autógeno são efetivos na reparação óssea para aumento do assoalho de seio, necessitando de 6 meses para cicatrização, enquanto que 12 meses são necessários para cicatrização com osso autógeno somente.

Kiyokawa et al. (2002), avaliaram a habilidade de pacientes com periodontite avançada em recuperar a função mastigatória, usando seus

próprios dentes e enxertos com osso poroso da crista ílica para regeneração de osso alveolar. 65 dentes foram reimplantados juntamente com os enxertos de osso autógeno. Após 2 anos e 8 meses de observação, somente 4 dentes tiveram insucesso. Os autores verificaram radiograficamente, a formação de osso alveolar e, mesmo no final das observações, nenhuma reabsorção do osso neoformado ou radicular foi encontrada.

Nas técnicas cirúrgicas, os sítios doadores mais frequentemente usados para obtenção de enxertos de osso compacto e poroso podem ter origem extra-oral (crista ílica, calota craniana e tibia) ou intra-oral (mento, tuberosidade da maxila, ramo ascendente da mandíbula e áreas desdentadas) (CARDOSO; GONÇALVES, 2002).

Em um trabalho realizado por Cochran et al. (2003) uma associação de osso autógeno e emdogain foi usada em defeitos ósseos de 1 a 6 mm criados ao lado de dentes na mandíbula de macacos. Os autores observaram, depois de 2 meses, a formação óssea e a de cimento. Concluíram que a associação dos materiais produziu maior quantidade de formação dos dois tecidos analisados, quando comparada com a utilização somente de emdogain. Vale ressaltar ainda que estes resultados foram melhores nos defeitos menores.

Segundo Khan et al. (2005) a incorporação do enxerto de osso autógeno na área receptora depende de vários fatores, como: tipo de enxerto (vascular ou avascular), local do sítio doador, qualidade do osso transplantado e do osso receptor, preparação área receptora, doenças locais e sistêmicas e propriedades mecânicas do enxerto.

Um estudo feito em 2005 por Kim et al., comparou o uso de osso autógeno e um biomaterial reabsorvível a base de carbonato de cálcio em

defeitos intra-ósseos periodontais em cães. O objetivo foi avaliar histologicamente, após 8 semanas das cirurgias, a reparação dos tecidos periodontais, com foco em reabsorções radiculares e anquilose, após a implantação dos materiais. Concluíram que ambos não promovem reabsorções ou anquilose, mas que, apesar disso, o potencial osteogênico do osso autógeno é limitado.

Silva et al. (2005) estudando a reparação de defeitos ósseos em ratos usaram a hidroxiapatita em forma de discos porosos, em comparação ao osso autógeno. Os resultados foram analisados histológica e radiograficamente depois de 2,4,8 e 24 semanas após a cirurgia e mostraram que, ao final das 24 semanas, os defeitos preenchidos com osso autógeno ou com a biocerâmica mostraram volumes similares de tecido ósseo neoformado.

Busenlechner et al. (2005), estudaram o potencial de membranas de reabsorção lenta (PTLM), em combinação com enxertos de osso autógeno e osso bovino desproteínizado (DBBM), na reparação óssea com finalidade aumento de rebordo alveolar em macacos. Cavidades foram preparadas na mandíbula 3 meses depois da extração dos primeiros e segundos molares. Os defeitos ósseos receberam o osso autógeno somente (ABB), ABB+PTLM e DBBM+PTLM. Depois de nove meses, os resultados mostraram que os locais desprotegidos com a membrana ocorreram reabsorções. Portanto, tanto ABB quanto DBBM foram efetivos para aumento de rebordos, em defeitos deste tipo, nos locais onde estavam protegidos pela membrana.

Proposição

O objetivo do presente trabalho foi:

1. Avaliar qualitativamente, a biocompatibilidade e a capacidade de osteointegração de implante/enxerto de uma proteína derivada da matriz de esmalte (emdogain) e de osso autógeno no interior da cavidade de extração dentária de ratos imediatamente após a exodontia;
2. Comparar utilizando a histometria, as interferências do emdogain e de uma associação de osso autógeno e emdogain, com a dinâmica da reparação óssea alveolar.

Para tanto, foram realizadas as observações histológicas e histométricas dos tecidos reparacionais e dos materiais implantados/enxertados nos períodos de 7, 21 e 42 dias após a extração dentária.

4 Materiais e Métodos

Materiais e Métodos

TRATAMENTO DOS ANIMAIS

Foram utilizados 60 ratos albinos machos variedade Wistar, pesando 250-300 gramas, procedentes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, mantidos em gaiolas individuais semi-metabólicas em condições controladas de iluminação (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (21 a 25°C), alimentados com ração sólida balanceada (Nuvilab).

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foram constituídos 4 grupos experimentais:

Grupo 1: 15 ratos controles submetidos à extração do incisivo superior direito e sacrificados nos períodos de 1, 3 e 6 semanas pós-cirurgia.

Grupo 2: 15 ratos experimentais, submetidos à extração do incisivo superior direito, implantados com Emdogain e sacrificados nos períodos de 1, 3 e 6 semanas pós-cirurgia.

Grupo 3: 15 ratos experimentais, submetidos à extração do incisivo superior direito, implantados com osso autógeno (fragmento de osso com área = $0,2 \pm 0,02 \text{ mm}^2$ da borda do alvéolo) e sacrificados nos períodos de 1, 3 e 6 semanas pós-cirurgia.

Grupo 4: 15 ratos experimentais, submetidos à extração do incisivo superior direito, implantados com osso autógeno associado ao Emdogain e sacrificados nos períodos de 1, 3 e 6 semanas pós-cirurgia.

EXTRAÇÃO DENTÁRIA

Os animais foram anestesiados com tribromoetanol (2,2,2-tribromoethanol, ALDRICH-Milwaukee, USA) administrado por via intraperitoneal, na dose de 25 mg/100 gramas de peso corporal. Após sindesmotomia foi extraído o incisivo superior direito com um fórceps adaptado (OKAMOTO, 1964) (Fig.1,2 e 3). Imediatamente após a exodontia, os alvéolos foram suturados com fio mononylon 4.0 (Ethicon, São José dos Campos, SP, Brazil) e os animais receberam 0,2 ml de injeção intramuscular de Pentabiótico Veterinário, em dose única (Wyeth-São Bernardo do Campo, SP, Brazil).



FIGURA 1. Instrumentos utilizados para o procedimento cirúrgico.

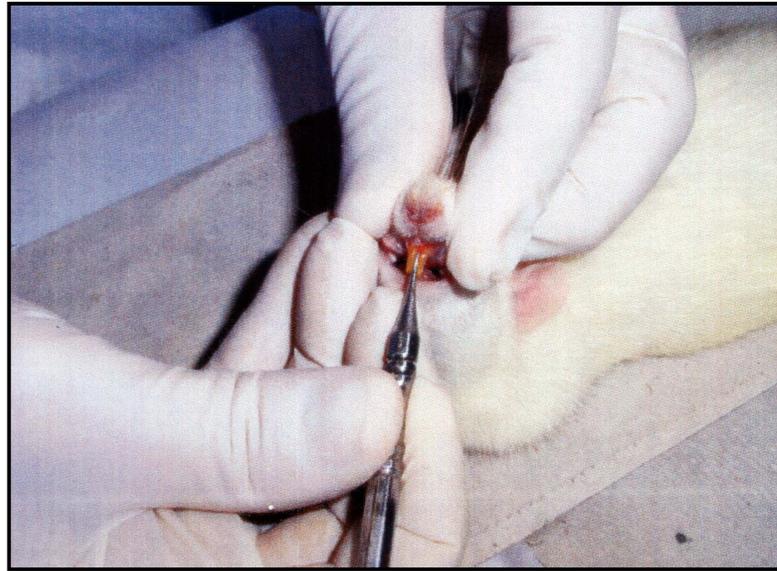


FIGURA 2. Sindesmotomia e luxação do incisivo superior direito.

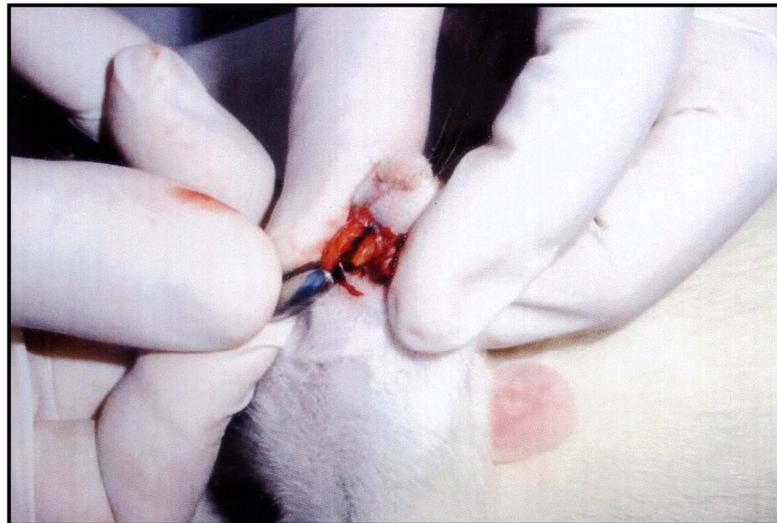


FIGURA 3. Extração do incisivo superior direito.

IMPLANTE DO MATERIAL

Imediatamente após as exodontias, os animais do grupo 2 tiveram o terço médio de seus alvéolos preenchidos com o emdogain (Biora AB, Ideon/Malmö, Sweden), que foi introduzido no interior dos alvéolos com o auxílio de uma seringa tipo Luer tomando-se o cuidado de inserir sempre a mesma quantidade (0,1 ml). Os animais do grupo 3 e 4 receberam a implantação de um fragmento de osso (área = $0,2 \pm 0,02 \text{ mm}^2$) da borda do alvéolo que foi removido logo após a exodontia. Este fragmento foi mergulhado em soro fisiológico (grupo 3) e em Emdogain (grupo 4) e implantado no interior do alvéolo (Fig.4).



FIGURA 4. Instrumentos utilizados para implante/enxerto dos materiais.

SACRIFÍCIO E COLETA DE MATERIAL

Completados os períodos em estudo (1, 3 e 6 semanas), os grupos de animais foram sacrificados por uma sobredose do mesmo anestésico, suas mandíbulas foram separadas das maxilas, com o auxílio de uma lâmina de bisturi, e a maxila direita foi separada da esquerda através de uma incisão ao nível do plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar; um corte com tesoura reta tangenciando a face distal dos molares possibilitou a obtenção da peça com o alvéolo dentário direito (Fig.5).

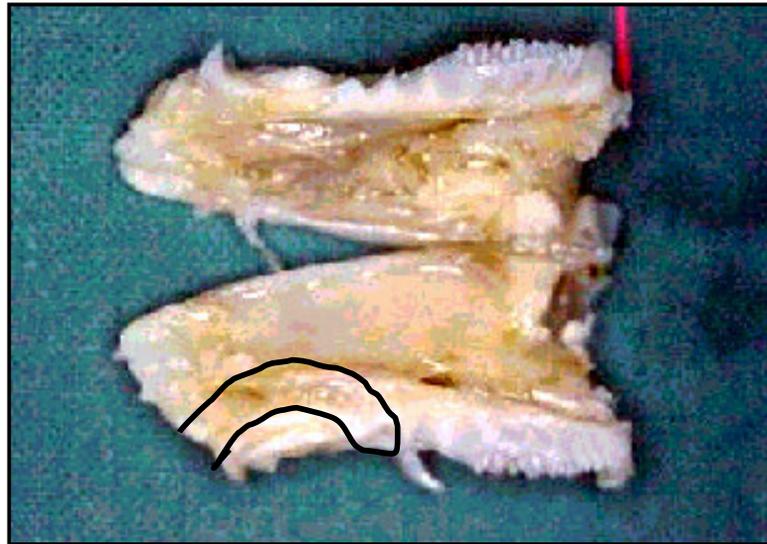


FIGURA 5. Peças recortadas.

PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO

As hemi-maxilas direitas foram imersas em formol a 10% e fixadas, descalcificadas por 4 dias em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 30% (MORSE, 1945), lavadas em 24 horas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina e orientadas de maneira a permitir cortes longitudinais de 6 micrômetros de espessura, corados pela

hematoxilina-eosina. Foram obtidos 20 cortes distanciados um do outro por um intervalo de 60 μm .

ANÁLISE HISTOMÉTRICA DOS ALVÉOLOS

Para facilitar o estudo, o alvéolo foi dividido em três terços: apical, médio e cervical. Utilizou-se para a análise quantitativa dos tecidos um microscópio Leica DM LB2 (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar Germany) com uma câmera digital de vídeo Leica DFC 280 (Leica Microsystems Imagig AG, Cambridge, England). As imagens foram processadas por um programa Leica Owin (Leica Imaging Systems Ltd, Cambridge, England) obtendo-se a fração de volume do osso trabecular (%) no interior do alvéolo.

Os cortes histológicos foram focalizados ao microscópio com objetiva de 40x. Em cada alvéolo foram analisados 60 campos microscópicos mediante a utilização de uma grade colocada sobre os cortes (Fig.6).

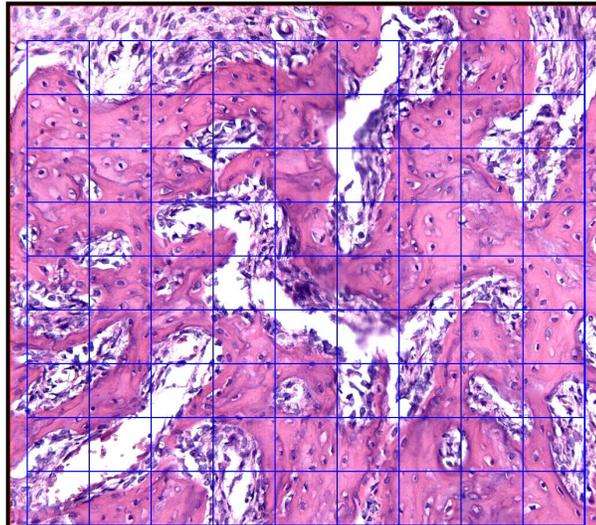


FIGURA 6. Grade.

Essa grade consiste de um quadrado que limita a área teste, contendo 100 cruzamento das linhas que pode ser utilizada para contar pontos, sobre uma determinada estrutura histológica. Conhecida a área coberta pela grade foi possível estimar a densidade volumétrica do tecido ósseo nos diferentes períodos do estudo pela contagem de 6000 pontos por alvéolo analisado, correspondente ao produto de 20 campos microscópicos por terço, por 100 pontos (cruzamentos). A densidade volumétrica das diferentes estruturas foi então estimada pelo quociente da divisão do número de pontos que ficam sobre a estrutura estudada, pelo número total de pontos obtidos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações entre os resultados dos grupos foram realizadas pelos testes estatístico não-paramétrico de Mann-Whitney (comparações 2 a 2) e de Kruskal-Wallis (comparações múltiplas) (SIEGEL, 1975).

5 Resultados

Resultados

RESULTADOS HISTÓLGICOS

7 Dias

Grupo 1 – Controle

Nos cortes histológicos dos alvéolos dos animais controle observou-se um preenchimento parcial com tecido conjuntivo cicatricial rico em fibroblastos, capilares e osso neoformado. O alvéolo encontrou-se parcialmente preenchido por delicadas trabéculas ósseas imaturas circundadas por osteoblastos, entremeadas com massas de coágulo em organização, principalmente no terço médio (Fig. 7).

Grupo 2 – Emdogain

Nos animais implantados com emdogain, o alvéolo se apresentou parcialmente preenchido por trabéculas ósseas neoformadas bem organizadas e circundadas por osteoblastos, entremeadas em um tecido conjuntivo maduro contendo ainda coágulos sanguíneos (Fig. 8).

Grupo 3 – Osso Autógeno

As avaliações histológicas demonstraram a presença do fragmento de osso implantado, que não foi reabsorvido, localizado no terço médio do alvéolo sem nenhuma reação inflamatória de corpo estranho. Na superfície do remanescente do implante observava-se deposição de osso novo circundado por um tecido conjuntivo imaturo (Fig.9).

Grupo 4 – Osso Autógeno + Emdogain

Foi observada também neste grupo a presença do fragmento de osso implantado, que não foi reabsorvido, localizado no terço médio do alvéolo

sem nenhuma reação inflamatória de corpo estranho. Na superfície do remanescente do implante notou-se claramente uma deposição de osso novo circundado por um tecido conjuntivo maduro em um arranjo mais acelerado que no grupo implantado somente com osso autógeno (Fig.10).

21 DIAS

Grupo 1 – Controle

A reparação óssea observada, principalmente nos terços apical e cervical dos animais controles, estava composta por trabéculas ósseas mais espessas envolvida por osteoblastos. A quantidade de tecido conjuntivo se mostrava bem menor do que no período anterior (Fig.11)

Grupo 2 – Emdogain

Neste período o alvéolo apresentou-se com tecido ósseo constituído por trabéculas ósseas menores e ainda circundado por tecido conjuntivo em volume maior que nos animais controles (Fig.12).

Grupo 3 – Osso Autógeno

Observou-se ao redor do fragmento de osso uma maior quantidade de osso neoformado em substituição ao tecido conjuntivo maduro existente (Fig.13).

Grupo 4 – Osso Autógeno + Emdogain

O fragmento de osso implantado se apresentou totalmente envolvido por uma formação de osso em substituição ao tecido conjuntivo maduro existente. A comparação destes dois grupos evidencia que neste último, o tecido ósseo neoformado possuía um trabeculado mais espesso (Fig.14).

42 dias

Grupo 1 – Controle

O trabeculado ósseo era espesso principalmente no terço cervical, e foi possível observar grande quantidade de matriz óssea com pequena quantidade de tecido conjuntivo (Fig.15).

Grupo 2 – Emdogain

O grupo implantado com emdogain muito embora tenha apresentado um trabeculado ósseo espesso e maduro ainda se notava que a quantidade de tecido conjuntivo era maior quando comparado aos seus controles (Fig.16).

Grupo 3 – Osso Autógeno

Nesse período o fragmento de osso permaneceu sem reabsorções e circundado por tecido ósseo com trabeculado mais espesso (Fig.17).

Grupo 4 – Osso Autógeno + Emdogain

Da mesma forma que no grupo anterior o fragmento de osso se encontrava envolvido totalmente por osso (Fig.18).

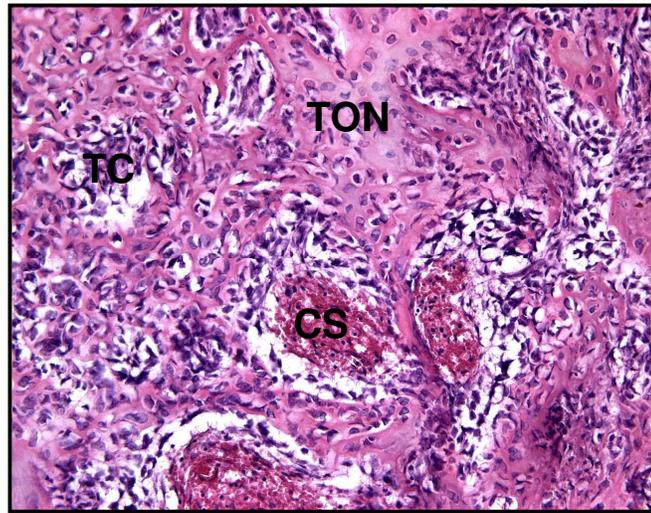


Figura 7. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 1-controle 7 dias após a extração dental. TON – tecido ósseo neoformado, TC – tecido conjuntivo, CS – coágulo sanguíneo. Coloração Hematoxilina-Eosina, aumento de 56X.

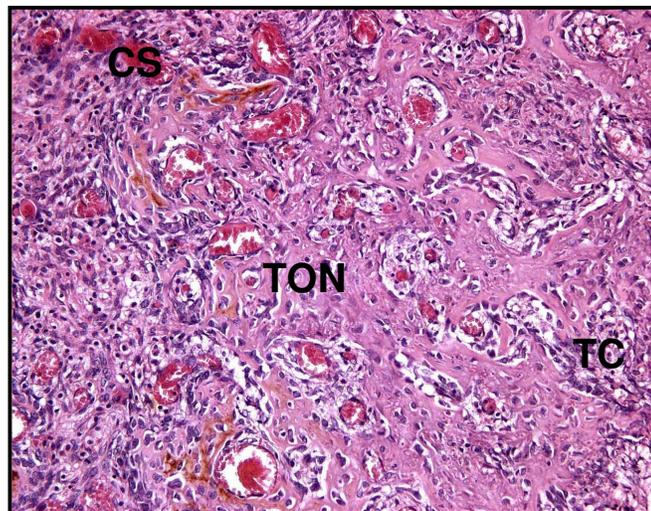


Figura 8. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 2- Emdogain 7 dias após a extração dental. TON – tecido ósseo neoformado, TC – tecido conjuntivo, CS – coágulo sanguíneo. Coloração Hematoxilina-Eosina, aumento de 56X.

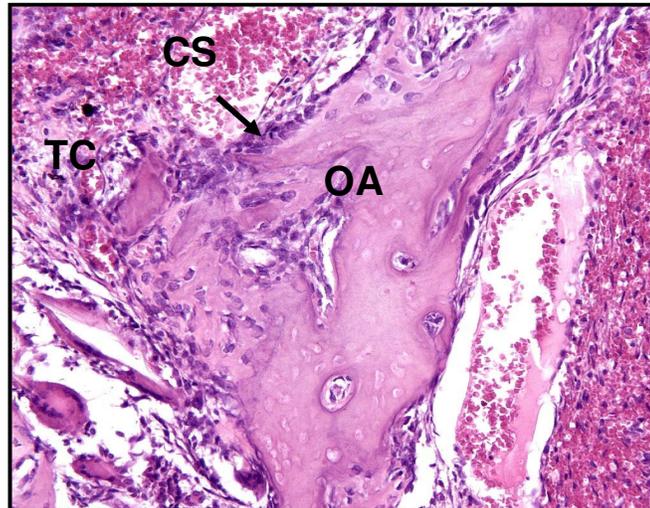


Figura 9. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 3-Osso Autógeno 7 dias após a extração dental. TC – tecido conjuntivo, AO – fragmento de osso autógeno, CS – coágulo sanguíneo. Seta mostra osso neoformado sobre o implante. Coloração HE, aumento de 56X.

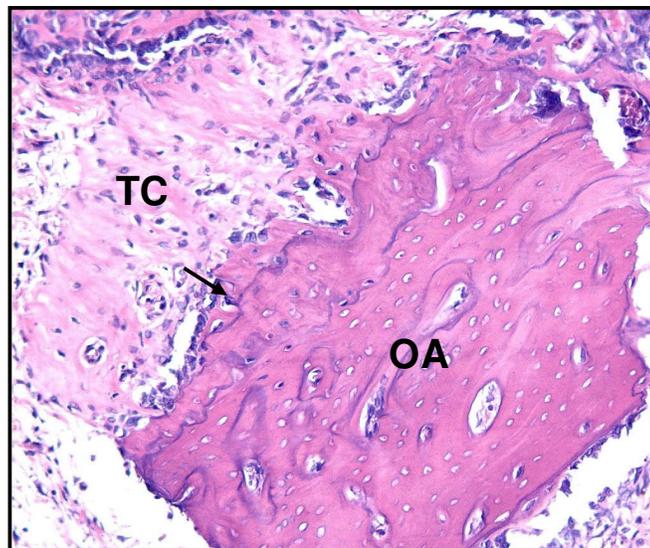


Figura 10. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 4-Osso Autógeno+Emdogain 7 dias após a extração dental. AO – fragmento de osso autógeno, TC – tecido conjuntivo. Seta mostra osso neoformado sobre o implante. Coloração HE, aumento de 56X.

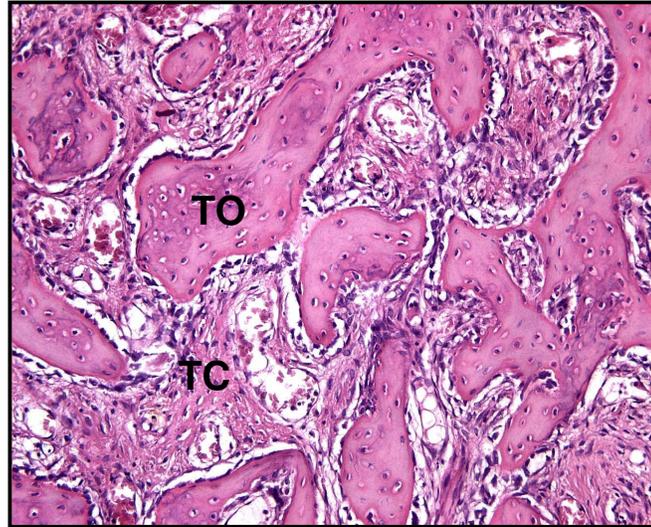


Figura 11. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 1- controle 21 dias após a extração dental. TO – tecido ósseo, TC – tecido conjuntivo. Coloração HE, aumento de 56X.

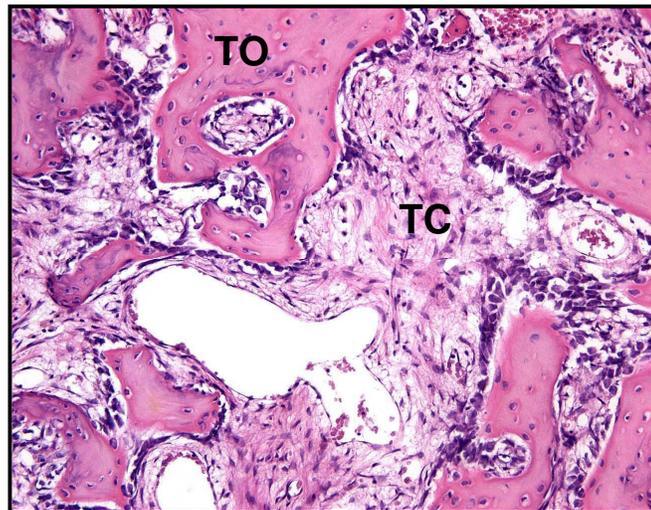


Figura 12. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 2- Emdogain 21 dias após a extração dental. TO – tecido ósseo, TC – tecido conjuntivo. Coloração HE, aumento de 56X.



Figura 13. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 3-Osso Autógeno 21 dias após a extração dental. TON – tecido ósseo neoformado, AO – fragmento de osso autógeno. Seta mostra limites do osso neoformado com o implantado. Coloração HE, aumento de 56X.

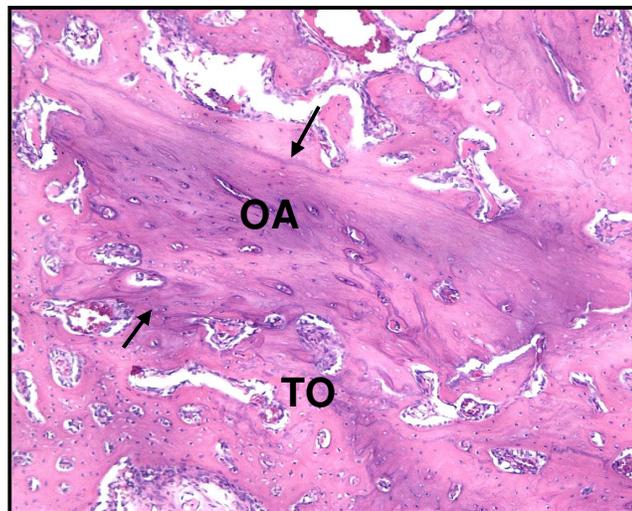


Figura 14. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 4-Osso Autógeno+Emdogain 21 dias após a extração dental. AO – fragmento de osso autógeno, TO –tecido ósseo. Seta mostra limites do osso neoformado com o implantado. Coloração HE, aumento de 56X.

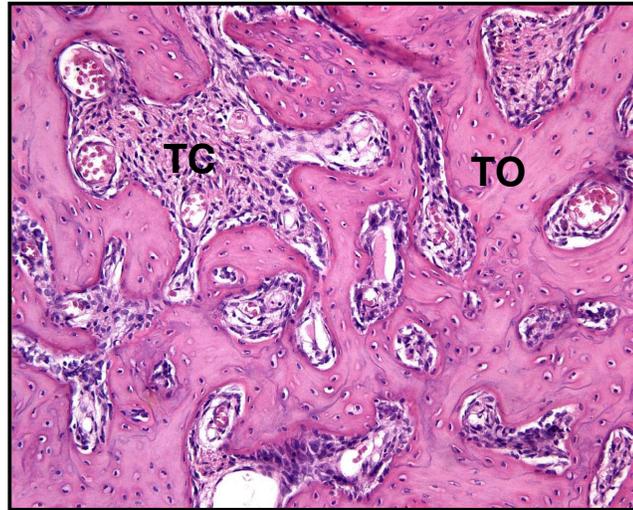


Figura 15. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 1- controle 42 dias após a extração dental. TO – tecido ósseo, TC – tecido conjuntivo. Coloração HE, aumento de 56X.

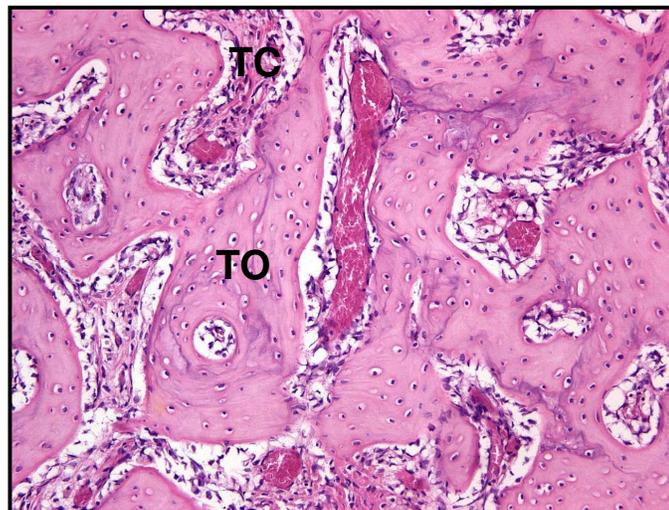


Figura 16. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 2- Emdogain 42 dias após a extração dental. TO – tecido ósseo, TC – tecido conjuntivo. Coloração HE, aumento de 56X.

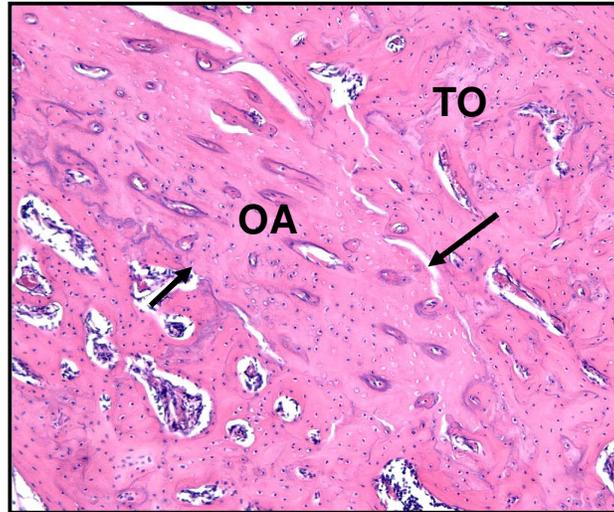


Figura 17. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 3-Osso Autógeno 42 dias após a extração dental. TO – tecido ósseo, AO – fragmento de osso autógeno. Seta mostra limites do osso neoformado com o implantado. Coloração HE, aumento de 56X.

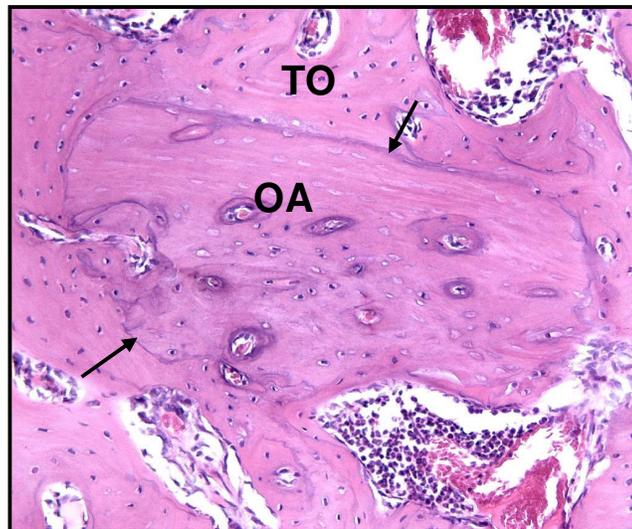


Figura 18. Corte histológico do terço médio do alvéolo de ratos grupo 4-Osso Autógeno+Emdogain 42 dias após a extração dental. AO – fragmento de osso autógeno, TO – tecido ósseo. Seta mostra limites do osso neoformado com o implantado. Coloração HE, aumento de 56X.

RESULTADOS HISTOMÉTRICOS

Na tabela 1 estão expressos os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com o emdogain no período de 7 dias após a extração dental. Pode-se observar uma maior quantidade de formação de tecido ósseo (sem significância estatística) no terço apical dos animais tratados com emdogain quando comparados aos animais controles.

A tabela 2 mostra os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com osso autógeno e implantados com osso autógeno associado ao emdogain no período de 7 dias após a extração dental. Com exceção do terço apical, os animais implantados com a combinação de osso autógeno com emdogain mostraram valores superiores ao dos demais grupos.

A tabela 3 apresenta as comparações entre os 4 grupos, no período de 7 dias. O teste estatístico aplicado (Kruskall-Wallis) acusou que os resultados apresentaram significância estatística (5%) com a implantação do osso autógeno e altamente significante (1%) com o uso do osso autógeno associado ao emdogain.

TABELA 1: Média aritmética e erro padrão referentes do volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com emdogain, 7 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 7 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain
1	33,6	36,7	40,7	33,6	40,2	28,6
2	32,6	35,3	34,8	26,8	36	32,6
3	42,9	42,8	25,3	37,9	39	40,6
4	34,4	39,1	28,2	38,7	32	37,4
5	34,6	37,7	42,9	35,7	45,1	41,7
M	35,6	38,3	34,4	34,5	38,5	36,2
EP	1,8	1,3	3,4	2,1	2,1	2,5

TABELA 2: Média aritmética e erro padrão referentes ao volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com Osso Autógeno e Osso Autógeno associado ao Emdogain, 7 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 7 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd
1	51	48	17	51	42	57
2	54	52	35	31	56	57
3	52,5	48	30	42	45	56
4	54	51	22	35	50	56
5	51	51	26	41	52	59
M	52,5	50	26	41	49	57
EP	0,6	0,8	3,1	3,4	2,5	0,54

Tabela 3: Comparações entre os grupos controle (c), emdogain (E), osso autógeno (O) e osso autógeno + emdogain (O+E), no período de 7 dias após a extração dental. Teste estatístico de Kruskal-Wallis

Grupos	7 Dias
C x E	ns
C x O	5%
C x O + E	1%
E x O	5%
E x O + E	1%
O x O + E	ns

Na tabela 4 estão demonstrados os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com o emdogain no período de 21 dias após a extração dental. Notar que apresentou significância estatística (5%) entre os dois grupos.

A tabela 5 relata os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com osso autógeno e implantados com osso autógeno associado ao Emdogain no período de 21 dias após a extração dental. Muito embora os números mostram maior quantidade de osso no grupo com osso autógeno associado ao emdogain, o teste aplicado não acusou significância estatística.

A tabela 6 representa a comparação entre os 4 grupos, no mesmo período (21 dias) onde o teste estatístico de Kruskal-Wallis acusou significância estatística (5%) apenas entre os grupos controle x emdogain e controle x osso autógeno.

TABELA 4: Média aritmética e erro padrão referente ao volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com emdogain, 21 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 21 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain
1	57,3	41,7	57,7	45,8	59,3	69,2
2	59,8	51,4	57,9	52,3	56	59,3
3	52,6	59	60,9	56,1	58,7	65,8
4	65,7	48,3	61,8	55,8	61,5	62,5
5	70,8	51,7	60,7	49,1	73,9	55,4
M	61,2	50,4	59,8	51,8	61,8	62,4
EP	3,2	2,8	0,8	1,9	3,1	2,4

TABELA 5: Média aritmética e erro padrão referentes ao volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com osso autógeno e osso autógeno associado ao emdogain, 21 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 21 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd
1	60	48	36	67	53	72
2	50	55	59	47	65	62
3	56	52,7	41,2	53	60	65
4	55	51	48	59	58	64
5	54	51	53,5	59	59	72
M	55	51,5	47,5	57	59	67
EP	1,6	1,1	4,1	3,3	1,9	2

Tabela 6: Comparações entre os grupos controle ©, Emdogain (E), osso autógeno (O) e osso autógeno + Emdogain (O+E), no período de 21 dias após a extração dental. Teste estatístico de Kruskal-Wallis

Grupos	21 Dias
C x E	5%
C x O	5%
C x O + E	ns
E x O	ns
E x O + E	ns
O x O + E	ns

Na tabela 7 estão expressos os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com o emdogain no período de 42 dias após a extração dental. A comparação entre os dois tratamentos mostrou serem diferentes, com significância estatística (5%).

A tabela 8 aponta os valores médios e erro padrão da média do volume percentual de **tecido ósseo** nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com osso autógeno e implantados com osso autógeno associado ao emdogain no período de 42 dias após a extração dental. O implante de osso autógeno associado ao emdogain foi superior ao osso autógeno na maioria dos terços alveolares embora sem significância estatística.

A tabela 9 representa a comparação entre os 4 grupos, no mesmo período e o teste estatístico mostra significância (5%) entre o controle x emdogain, emdogain X osso autógeno e altamente significativa (1%) entre emdogain x osso associado ao emdogain.

TABELA 7: Média aritmética e erro padrão referentes ao volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais controles e implantados com emdogain, 42 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 42 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain	Controle	Emdogain
1	61,2	63,7	64,1	65,3	69	73,8
2	63,8	62,7	66,6	58,2	70,2	68,7
3	75,3	64,8	74,2	64,5	80,5	67,6
4	69,8	66,5	79,5	66,9	72,9	68,3
5	74,9	61,5	63,4	69,8	70,4	67,6
M	69	63,8	69,6	64,9	72,6	69,2
EP	2,8	0,8	3,2	1,9	2	1,16

TABELA 8: Média aritmética e erro padrão referentes ao volume percentual de tecido ósseo nos terços apical, médio e cervical dos animais implantados com osso autógeno e osso autógeno associado ao emdogain, 42 dias após a extração dental. Teste estatístico de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. (n=5).

Tecido Ósseo 42 dias						
N	Apical		Médio		Cervical	
	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd	Osso	Osso+Emd
1	68	58	72	69	79	84
2	72	71	64	74	64	90
3	69	70	64	74,5	75	86
4	66	65	70	70	66	87
5	74,7	58,5	70	69,8	73,5	88
M	70	64,5	68	71,5	71,5	87
EP	1,5	2,7	1,7	1,1	2,8	1

Tabela 9: Comparações entre os grupos controle ©, Emdogain (E), osso autógeno (O) e osso autógeno + Emdogain (O+E), no período de 42 dias após a extração dental. Teste estatístico de Kruskal-Wallis

Grupos	42 Dias
C x E	5%
C x O	ns
C x O + E	ns
E x O	5%
E x O + E	1%
O x O + E	ns

Na figura 19 estão representados em gráficos os valores médios e os erros padrões (valores dentro dos cilindros) do volume percentual de tecido ósseo do alvéolo total dos animais dos grupos controle e implantados com emdogain. Independente do resultado estatístico, a figura evidencia que o tratamento com emdogain produziu menos formação óssea quando comparados aos controles.

A figura 20 representa os valores médios e os erros padrões (valores dentro dos cilindros) do volume percentual de tecido ósseo do alvéolo total dos animais dos grupos do osso autógeno e osso autógeno associado ao emdogain. Esta figura evidencia que o osso tratado com emdogain acelerou a reparação óssea no interior do alvéolo implantado.

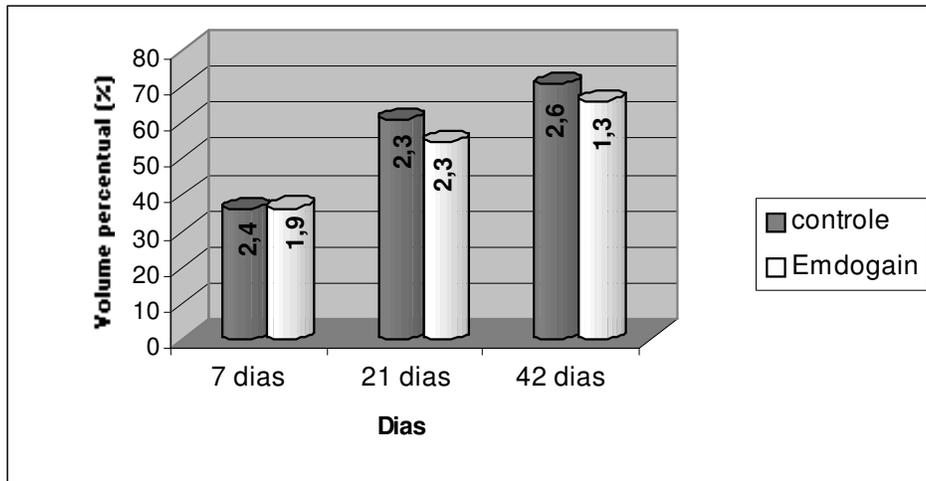


Figura 19 – Média e erro padrão (dentro dos cilindros) da fração de volume (%) de tecido ósseo no alvéolo total dos animais controles e implantados com emdogain, nos períodos de 7, 21 e 42 dias.

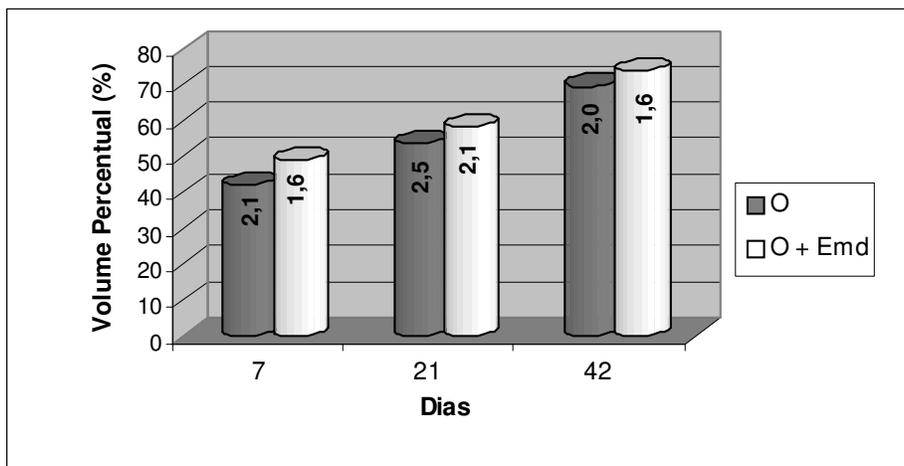


Figura 20 – Média e erro padrão (dentro dos cilindros) da fração de volume (%) de tecido ósseo no alvéolo total dos animais implantados com osso autógeno (O) e osso autógeno associado ao emdogain (O + Emd), nos períodos de 7, 21 e 42 dias.

Discussão

A reparação tecidual é um dos fenômenos mais interessantes que ocorrem nos organismos vivos. Deve-se ter em mente que este não é um processo isolado, mas faz parte de uma série complexa de eventos biológicos. A reparação dos tecidos biológicos é considerada uma fase da reação inflamatória, de vez que não pode ser separado dos fenômenos vasculares e celulares que ocorrem em resposta a uma agressão.

O processo de reparação consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido. Tal evento é dinâmico envolvendo fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular. Inclui diversos processos, como coagulação, inflamação, depósito de substâncias e síntese de matriz, a angiogênese, fibroplasia, a epitelização, a retração da lesão e remodelação (MANDELBAUM, 2003).

O início da coagulação é imediato após o surgimento da ferida. Essa fase depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação. Ocorre uma complexa liberação de produtos. Substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases são liberadas e ditam o desencadeamento de outras fases. A formação do coágulo serve para cruzar a fibronectina, oferecendo uma matriz provisória, em que os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos possam ingressar na ferida. Intimamente ligada à fase anterior, a inflamação depende, além de inúmeros mediadores químicos,

das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. Os PMN chegam no momento da injúria tissular e ficam por período que varia de três a cinco dias, são eles os responsáveis pela fagocitose das bactérias (WERNER; GROSE, 2003). O macrófago é a célula inflamatória mais importante dessa fase, permanece do terceiro ao décimo dia, fagocita bactérias, debrida corpos estranhos e direciona o desenvolvimento de tecido de granulação. Alta atividade fagocitária dos macrófagos é observada após trauma. Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente uma semana, seu papel não é bem definido, porém sabe-se que, com suas linfocinas, tem importante influência sobre os macrófagos. Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com o importante papel da fibronectina. Sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais, ela adere, simultaneamente à fibrina, ao colágeno e a outros tipos de células, funcionando assim como cola para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz. Além de formar essa base para a matriz extracelular, tem propriedades quimiotáticas e promove a psonização e fagocitose de corpos estranhos e bactérias. Os mediadores mais freqüentes são: Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF); Fatores de Crescimento Transformadores (TGF- β e TGF- α); Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF); Complementos plasma-ativados C3 e C5a (toxinas anafiláticas), eles conduzem a multiplicação das células endoteliais, produzindo novos vasos sangüíneos (angiogênese), duplicando células musculares lisas e sintetizando matriz. Muitos fatores que influem no processo de reparação tecidual são secretados pelos macrófagos, como TGFs, citocinas e interleucina-1 (IL-1),

fator de necrose tumoral (TNF) e PDGF (MANDELBAUM, 2003; WERNER; GROSE, 2003).

Na seqüência final está à proliferação, que é o fechamento do processo com a presença do tecido de granulação, angiogênese, fibroplasia e formação da matriz, que no tecido ósseo finaliza com a formação do osteóide e mineralização.

O processo de reparação de feridas de extração dental, ou processo de reparação alveolar, refere-se ao conjunto de reações teciduais desencadeadas no interior do alvéolo, em seguida à exodontia. Tem sido estudado detalhadamente, visto que dentre os procedimentos cirúrgicos, as exodontias ocupam posição de destaque nos consultórios odontológicos (JOHANSEN, 1970).

O organismo tem como objetivo, frente a um traumatismo após a extração dental, preencher com tecido ósseo o espaço deixado no alvéolo. Este fenômeno apresenta a mesma seqüência das respostas reparativas observadas em outras regiões, com algumas particularidades locais (PERRI DE CARVALHO; OKAMOTO, 1987).

A cicatrização de uma ferida de extração dental, que é a ferida óssea mais comum na cavidade oral, é uma extensão única de tecido conjuntivo cicatricial, pois a formação de novo osso depende da deposição de cristais de hidroxiapatita ao longo das fibras colágenas em uma matriz de proteoglicanas chamada osteóide (KURITA et al., 1985). A mineralização do alvéolo dentário se dá a partir do terço apical em direção ao cervical e das paredes alveolares para o centro (SANTOS PINTO, 1964). O epitélio da mucosa gengival prolifera sobre o coágulo organizado e/ou sobre o tecido conjuntivo jovem, na tentativa

de restabelecer a continuidade da cobertura epitelial do rebordo alveolar. A reparação alveolar se completa quando o alvéolo dentário apresentar-se preenchido por trabéculas ósseas espessas e espaços medulares diminutos, e a crista alveolar remodelada (ALVES; OKAMOTO, 1989).

A compreensão do processo de reparação no organismo é de grande importância na busca de materiais que possam interferir favorecendo a restauração tecidual de maneira rápida e adequada.

As horas seguintes à extração são críticas, pois qualquer distúrbio local ou sistêmico sobre o coágulo, no sentido de desorganizá-lo, pode retardar consideravelmente a reparação alveolar. A colocação de qualquer material no interior de alvéolos dentais é encarada como um distúrbio local pelo organismo podendo, portanto, resultar em atraso, mais ou menos acentuado, na cronologia do processo de reparação. Os implantes intra-alveolares normalmente perturbam a organização do coágulo e lesam o ligamento periodontal remanescente (CARVALHO; OKAMOTO, 1978).

O emdogain, um composto comercial derivado da amelogenina, proteína que constitui o principal componente da matriz do esmalte, foi sugerido como uma alternativa aos enxertos ósseos e às membranas, no tratamento de defeitos periodontais (HAMMARSTRÖM et al., 1997). Apesar de não ser totalmente conhecido o mecanismo de ação das proteínas derivadas da matriz do esmalte, foi demonstrado, por Gestrelus et al. em 1997a, que a maioria das células necessita de uma matriz extracelular para sua função, e que a adição dessas proteínas ao meio de cultura celular resultou em muitas mudanças que induziram à proliferação de células do ligamento periodontal, bem como a um aumento na produção de proteína e colágeno, e à mineralização.

Neste trabalho foi observado que o emdogain em forma de gel implantado no alvéolo não apresentou atraso na reparação, quando se avaliou o alvéolo total, embora a comparação entre os grupos mostre pequena diminuição na formação óssea nos tratados nos períodos de 21 e 42 dias, esta diferença não indicou significância estatística. Estes resultados estão de acordo com aqueles observados por Mendes (2000), que avaliou a reparação óssea alveolar com a implantação de emdogain no interior do alvéolo. O autor verificou que os animais tratados com emdogain apresentaram maior formação óssea nos primeiros 6 dias, mas sem significância estatística, enquanto que em períodos mais longos, a formação óssea foi maior nos animais controles, concluindo com estes resultados que o material não foi capaz de estimular a neoformação óssea.

Apenas pelos resultados deste trabalho não se podem explicar exatamente os mecanismos intrínsecos envolvidos no processo de neoformação celular com o uso deste material. No entanto, pode-se sugerir a possibilidade de interação de seus componentes com as células do organismo, atuando em um dos pontos do processo regulatório de crescimento e diferenciação celular.

Os resultados apresentados nesta pesquisa sugerem que a proteína existente no emdogain possuiu características que o tornam capaz de interferir no processo de reparação do tecido ósseo, porém, são necessários mais estudos para melhor conhecimento das propriedades deste material e de sua interação com as células dos organismos nos quais se pretende implantá-lo. O que se pode sugerir é que esta interação seja explicada pela adesão celular que é mediada por receptores da superfície celular interagindo com as

proteínas do emdogain, formando uma camada monoadesiva. Em seqüência os macrófagos são ativados liberando fatores de crescimento de citocinas que são importantes na indução do processo de reparação celular (cicatrização). Os fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), os fatores de crescimento transformadores (TGF alpha e beta), interleucina 1 e outros estimuladores de migração celular, exarcebam o processo inflamatório no local da lesão, enquanto o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e a vasotropina (VEGF) induzem o processo de angiogênese.

Apesar dos resultados em nossa pesquisa não terem sido animadores, ou seja, não produziu aceleração da neoformação óssea, devemos lembrar que material bem aceito pelo tecido ósseo em outras regiões do corpo apresentam problemas no interior do alvéolo, por perturbarem a organização do coágulo e irritarem os restos do ligamento periodontal (CARVALHO; OKAMOTO, 1987; OKAMOTO et al, 1994). Gestrelius et al. (1997b), em um estudo "in vitro", comprovaram que a resposta das células epiteliais à adição da matriz derivada do esmalte foi diferente daquela obtida pelas células do ligamento periodontal. Com isso concluíram que o mecanismo por trás das diferentes respostas das células epiteliais e mesenquimais ainda não está esclarecido.

Mellonig (1999) destacou em seu trabalho a importância da hemostasia quando se planeja utilizar emdogain, não apenas para visualização do defeito ósseo, mas também quando da colocação do material, pois o sangue evita o contato íntimo deste com a superfície. O sangramento excessivo e a contaminação salivar são os maiores fatores que impedem a obtenção de resultados satisfatórios (HIROOKA, 1998; MELLONIG, 1999).

Por isso, neste trabalho, cuidados com a hemostasia e suturas logo após as exodontias foram tomados, e nenhuma reação inflamatória significativa foi encontrada no interior dos alvéolos dos animais implantados com emdogain.

Devido às dificuldades no manuseio do material, pode ter ocorrido durante a sua colocação no interior do alvéolo, algum extravasamento, seja logo após a implantação, seja em períodos posteriores. Gestrelius et al. (1997a), após um estudo sobre a cinética do emdogain, em cirurgias periodontais, observaram que o material permaneceu em níveis detectáveis, na superfície radicular de molares de ratos por pelo menos duas semanas. No interior do alvéolo seu comportamento foi semelhante, apresentando níveis detectáveis até os 15 dias. É importante lembrar que a presença do material por si já representa um fator que contribui para o retardo da reparação, pois ocupa o espaço destinado às células que conduzem o processo.

O restabelecimento do volume ósseo pode ser obtido através de diversos materiais de implante/enxerto. Segundo Ellis III⁹ (2001), o enxerto ideal deveria ter as características estruturais de um enxerto em bloco e o potencial osteogênico de um enxerto ósseo esponjoso-medular em partículas, fornecendo altas concentrações de células osteogênicas.

São denominados biomateriais, aqueles materiais que são colocados em contato com sistemas biológicos e apresentam habilidade de interagir apropriadamente com o hospedeiro em uma aplicação específica (WILLIANS, 1987; VAN NOORT, 1994).

O objetivo na utilização dos biomateriais é a combinação de uma reparação rápida com capacidade de ser reabsorvido durante a remodelação

óssea (LANGSTAFF et al., 2001) ou osseointegrado ao tecido. Os biomateriais são considerados:

Implantes quando são dispositivos destituídos de células vivas para uma permanência por um período significativo de tempo.

Enxertos quando são fragmentos de tecido com vitalidade que serão transferidos de um doador para um receptor.

Transplantes quando são órgãos ou tecidos completos que serão transferidos para restabelecer a função orgânica (PERRI de CARVALHO et al., 2004).

Os enxertos são divididos em:

Autógenos ou autólogos quando um tecido é transferido de uma posição para outra no mesmo indivíduo.

Alógenos, homogêneos ou homólogos quando um tecido é transplantado de outro indivíduo da mesma espécie.

Xenógenos, heterólogos ou heterógenos quando um tecido é transplantado de espécie diferente do receptor.

Materiais aloplásticos que é um biomaterial de origem sintética ou quase totalmente sintética (CARDOSO; GONÇALVES, 2002; PERRI de CARVALHO et al., 2004).

Estes materiais ainda podem ser classificados quanto à relação que estabelecem com o tecido ósseo em: osteocondutores, osteoindutores, osteogênicos e osteopromotores.

Osteocondutores quando funcionam como um arcabouço de suporte para adesão e proliferação de células osteoblásticas que logo formarão tecido ósseo.

Osteoindutores quando estimulam as células mesenquimais a se diferenciarem em células osteogênicas.

Osteogênicos produzem formação óssea derivada de células formadoras de osso contidas nele próprio.

Osteopromotores são aqueles que se constituem em barreiras físicas (membranas) para o isolamento do local em reparação, visando a seleção de um tipo particular de células para promover a reparação, ao mesmo tempo em que exclui células concorrentes inibitórias (MOORE et al., 2001; CARDOSO; GONÇALVES, 2002; PERRI de CARVALHO et al., 2004; CALIXTO, 2005).

Diversos materiais para implante, cada um com suas propriedades próprias, são utilizados na tentativa de acelerar a reparação óssea. Muitos destes materiais quando usados sozinhos apresentam efeitos limitados ou variáveis sobre a reparação óssea e, em alguns casos com desvantagens específicas. Por esta razão, muitos clínicos e/ou pesquisadores tem combinado materiais para encontrar uma associação que apresente maior eficiência na reparação óssea (COCHRAN et al., 2003).

O osso autógeno é, ainda, a referência “gold standard” devido as suas vantagens biológicas e potencial osteogênico (SANADA et al.,2003), atuando por osteoindução e osteocondução (ELLIES 1992), promovendo estímulo e aposição de tecido ósseo a partir do osso já existente, atuando como modelo para a neoformação óssea (MANSO; LANG, 1997).

Age inicialmente preenchendo o espaço vazio no defeito, enquanto prossegue o ciclo osteoclástico, em seguida os osteoblastos iniciam o processo de formação óssea (ELLIES, 1992)

Contendo em sua matriz inorgânica, osteócitos, osteoclastos, osteoblastos e proteínas osteogênica, o osso autógeno apresenta potencial para osteogênese quando usado como enxerto para melhorar ou corrigir defeitos ósseos (BLOCK; KENT, 1997).

Para um enxerto ser considerado favorável tornam-se necessárias algumas características ideais que o osso autógeno apresenta como um substituto ósseo, que são: livre de transmissão de doenças, biocompatibilidade, radiopacidade, microporosidade, estimular a indução óssea, reabsorver em período comparativo ao da formação óssea, ser substituído por tecido ósseo, fácil de ser obtido e manipulado, agir como matriz ou veículo para outros materiais e ter baixo custo (GROSS, 1997).

Neste trabalho avaliou-se através da histologia e histometria a reparação óssea do defeito ósseo produzido pela extração dentária utilizando como implante/enxerto uma associação do osso autógeno com o emdogain.

O exame histológico dos alvéolos mostrou um padrão normal de reparação, apresentando característica similar aos da literatura, incluindo aquelas do nosso laboratório (BRENTGANI et al, 1996 e 1997; LAMANO CARVALHO et al, 1997; PRADO, 2002; CALIXTO, 2005; BALABANIAN, 2005). A análise mostrou que o material enxertado é biocompatível, e foi progressivamente integrado ao osso alveolar no processo de reparação óssea.

Os resultados apresentados no histograma da figura 20 (alvéolo total) mostram que a combinação do osso autógeno com o emdogain produziu um aumento na formação óssea, embora não apresentando significância estatística. Pode-se observar (tabela 2, 5 e 8) que nos terços apicais em todos os períodos o comportamento da reparação óssea se mostrou menor que os

outros terços (médio e cervical, que se localizam mais próximos ao material enxertado) quando comparado ao grupo implantado só com o osso autógeno (sem o emdogain). Isto talvez se deva ao fato de o enxerto estar em posição mais distante deste terço.

Estudos documentam a capacidade do osso autógeno na reparação óssea em defeitos ósseos (LEUNG; JIN.,2003; COCHRAN et al., 2003; BLOCK; KENT 1997), e o potencial das proteínas da matriz do esmalte em estimular a proliferação de células do ligamento periodontal, a formação de colágeno e favorecer a mineralização (GESTRELIUS et al.,1997a), todavia o implante de proteínas da matriz do esmalte sozinhas no interior de defeitos ósseos não aumentou a formação óssea (MENDES, 2000) . Estes resultados sugerem um efeito sinérgico entre os materiais, ou seja, enquanto o osso autógeno pode agir como osteogênico e/ou osteoindutivo, as proteínas derivadas da matriz do esmalte podem estar estimulando células da região promovendo formação de novo osso.

O osso autógeno age inicialmente preenchendo o espaço vazio no defeito, enquanto prossegue o ciclo osteoclástico, em seguida os osteoblastos iniciam o processo de formação óssea (ELLIES, 1992), e liberam fatores de crescimento que contribuem para a reparação dos defeitos ósseos (MERKX et al.,1999a; KIYOKAWA K., et al., 2002). Estes fatores de crescimento, juntamente com proteínas presentes na matriz óssea, são responsáveis pela capacidade osteoindutora do enxerto. Já a proliferação e diferenciação das células enxertadas com deposição de tecido osteóide caracterizam a capacidade osteogênica do osso autógeno (MANSO; LANG, 1997)

A teoria descrita por CAPELLI (2003), explica os eventos prováveis que tenha acontecido em nosso experimento, onde o fragmento de osso não vascularizado implantado no alvéolo dental sofre uma completa remodelação semelhante ao osso vascularizado. O espaço entre o implante e as paredes do alvéolo é preenchido por coágulo sanguíneo, que será invadido por fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e osteoprogenitoras perivascular que se diferenciarão em osteoblastos para formar osso (BOYNE, 1996). No implante ósseo há também osteoblastos e pré-osteoblastos sobreviventes já aprisionados e prontos para formar osso. Desta forma a indução óssea pode iniciar a partir das células pluripotenciais do próprio implante ósseo ou das células primitivas do leito vascular da medula óssea.

Em trabalho realizado por Cochran et al. (2003), a associação de osso autógeno e emdogain foi usada em defeitos ósseos de 1 a 6 mm criados ao lado de dentes na mandíbula de macacos. Os autores observaram não só a formação óssea, mas também a de cimento e concluíram que a associação dos materiais produziu maior quantidade de formação óssea, quando comparada com a utilização somente de emdogain. Vale ressaltar ainda que estes resultados foram melhores nos defeitos menores, o que coincide com a teoria de que muitas vezes existe a necessidade de uma quantidade adequada de enxerto (HILL et al., 1999; GREEN et al., 2002).

Foi testada a associação de osso bovino poroso com emdogain (ZUCHELLI et al., 2003). Os resultados acusaram um aumento da formação óssea quando associados ao emdogain. O mesmo não ocorreu com a associação emdogain+osso bovino desproteínizado na regeneração óssea guiada (DONOS et al., 2005).

A comparação de relatos da literatura sobre o comportamento dos diferentes biomateriais utilizados em estudos clínicos ou experimentais é sabidamente difícil, devido às diferenças entre as espécies animais e os sítios de implantação, aos diferentes períodos e parâmetros macroscópicos, histológicos ou histométricos escolhido para análise (MERKX et al., 2003).

Os resultados desta pesquisa, obtidos em animais, não devem ser diretamente extrapolados para humanos, nem conduzir a uma inferência sobre o uso dos biomateriais na clínica odontológica. No entanto, eles acrescentam evidências ao fato de que, em que pese a necessidade e conveniência da utilização de biomateriais para preservação/recuperação de tecido ósseo, deve-se levar em conta que qualquer material introduzido no interior de um defeito pode atrasar a reparação, e reafirmam a necessidade de se ponderar se e em quais circunstâncias um determinado material favoreceria o resultado desejado.

7 *Conclusão*

Conclusões

Dos resultados apresentados pode-se concluir que:

1. A reparação óssea no interior do alvéolo dental com implantação do emdogain não produziu alterações significativas quando comparado aos controles.
2. O fragmento de osso autógeno implantado no terço cervical do alvéolo mostrou uma osteointegração progressiva e sem reação de corpo estranho.
3. O implante/enxerto de uma associação de osso autógeno mais emdogain produziu aumento da quantidade de osso neoformado no interior do alvéolo.

8 *Referências*

Referências

- ALVES, M.C.R.; OKAMOTO, T. Influência do estresse no processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. **Rev. Odont.UNESP**, v.18, p.119-130, 1989.
- ALVES, M.C.R.; OKAMOTO, T. Effects of fibrin adhesive material (Tissucol) on alveolar healing in rats under stress. **Braz. Dent. J.**, v.8, n.1, p. 13-19, 1997.
- AMLER, M. H.; JOHNSON, P.L.; SALMAN, I. Histological and histochemical investigation of alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 61, p.32-44, 1960.
- ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. An experimental study in dogs. **J. Clin. Periodontol.**, v.25, p.524-30, 1998.
- BALABANIAN, C.A.C.A. **Avaliação histométrica e histológica de reparo ósseo do alvéolo dental implantado com látex natural**. 2005. 98 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP, 2005.
- BECKER, W.; CLOKIE, C.; SENNERBY, L.; URIST, M.R.; BECKER, B.E. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. **J. Periodontol.**, v.69,p.414-21, 1998.
- BESENLECHNER, D.; KANTOR, M.; TANGL, S.; TEPPER, G.; ZECHNER, W.; HAAS, R.; WATZER, G. Alveolar ridge augmentation with a prototype

- trilayer membrane and various bone grafts: a histomorphometric study in baboons. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 16, n.2, p.220-27, 2005.
- BLOCK, M.S.; KENT, J.N. Healing of mandibular ridge augmentations using hydroxyapatite with and without autogenous bone in dogs. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.43, p. 3-7, 1985.
- BLOCK, M.S.; KENT, J.N. Sinus augmentation for dental implants: the use of autogenous bone. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.55,n.11, p. 1281-6, 1997.
- BOYNE, P.J. Histologic response of bone to sectioning by high-speed rotary instruments. **J. Dent. Res.**, v.45, p. 270-76, 1996.
- BRENTEGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F.; LAMANO-CARVALHO, T.L. Immediate implantation of glass ionomer cement granules increases osteogenesis during rat alveolar wound healing. **J. Nihon Univ. Sch. Dent.**, v.38, n.3, p.141-145, 1996.
- BRENTEGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F.; LAMANO-CARVALHO, T.L. Histological evaluation of the biocompatibility of a glass-ionomer cement in rat alveolus. **Biomaterials**, v.18, n.2, p.137-140, 1997.
- BURIC, N.; JOVANOVIĆ, G.; KRASIĆ, D.; KESIĆ, L. Investigation of the bone tissue response to glass-ionomer microimplants in the canine maxillary alveolar ridge. **J. Oral Sci.**, v.45 ,n.4, p. 207-12, 2003.
- BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. **Orthop. Clin. North Am.**, v.18, p.187-96, 1987.
- CALIXTO, R.F.E. **Estudo comparativo do reparo alveolar após implante de uma mistura de BMPs bovinas, de partículas de matriz óssea bovina orgânica e inorgânica e de um vidro bioativo na cavidade de extração dental de rato.** 2005. 97 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP, 2005.

- CAPELLI, M. Autogenous bone graft from the mandibular ramus: A technique for bone augmentation. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.3, n.3, p. 277-85, 2003.
- CARDOSO, R.J.A.; GONÇALVES, A.P.N. **Periodontia/Cirurgia/Cirurgia para implantes.** São Paulo, Artes Médicas, 516p,2002.
- CARVALHO A.C.P., OKAMOTO T. Implantes intra-alveolares: considerações sobre estudos experimentais. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.32, n.4, p.273-79, 1978.
- CARVALHO A.C.P., OKAMOTO T. **Cirurgia Bucal: fundamentos experimentais aplicados a clínica.** São Paulo, Médica Panamericana, 139 p., 1987.
- CHANO, I.; TENAMBAUM, H.C.; LEKIC,P.C.; SODEK, J.; MCCULLOCH, C.A; Emdogain regulation of cellular differentiation in wounded rat periodontum. **J.Periodont Res.**, v.38, p.164-174, 2003.
- CITARDI, M.J.; FREEDMAN, C.D. Nonvascularized autogenous bone grafts for craniofacial skeletal augmentation and replacement. **Otolaryngol. Clin. North Am.**, v.27,n.5,p.891-910.
- COCHRAN, D.L.; JONES, A .; HEIJL, L.; MELLONIG, J. T.; SCHOOLFIELD, J. ; KING, G.N. Periodontal regeneration with a combination of enamel matrix proteins and autogenous bone grafting. **J.Periodontol.**, v.74, n.9, p.1269-81, 2003.
- DEUTSCH, D.; PALMON, A.; CATALAMO-SHERMAN, J.; LASKOV, R. Production of monoclonal antibodies against enamelin and against amelogenin proteins of developing enamel matrix. **Adv. Dent. Res.**, v.1, n.2, p. 282-88, 1987.
- DOBBS, W.E. Emdogain. **Northwest Dent.**, v.78, n.5, p.27-29, 1999.

- DONOS, N.; KOSTOPOULOS, L.; KARRING T. Alveolar ridge augmentation by autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes. **Clin. Oral Implants Res.**, v.13,n.2,p.185-91,2002.
- DONOS, N.; BOSSHARDT, D.;LANG, N.; GRAZIANI, F.; TONETTI, M.; KARRING, T.; KOSTOPOULOS, L. Bone formation by enamel matrix protein and xenografts: an experimental study in the rat ramus. **Clin. Oral Implants Res.**, v.16,n.2,p.140-46,2005.
- EGER, T., MÜLLER, P. Periodontal regeneration in vertical bone defects with re-absorbable membranes and enamel-matrix proteins. A comparative clinical study. **J. German Dent.**, v.9, p.590-94, 1998.
- ELLIES, L.G. Altered sensation following mandibular implant surgery: a retrospective study. **J Prosthet Dent**, v.68, n.4, p. 664-71, 1992.
- ELLIS III, E. Reconstrução cirúrgica dos defeitos maxilares. In: PETERSON L.J. **Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001.
- FILIPPI, A; POHL, Y; VON ARX, T.; POHL, Y. Treatment of replacement resorption with Emdogain – preliminary results after 10 month. **Dental traumatology**,v.17, p.134-138,2001.
- FILIPPI, A; POHL, Y; VON ARX, T.; POHL, Y. Treatment of replacement resorption with Emdogain – a prospective clinical study. **Dental traumatology**,v.18, p.138-143,2001.
- FONG, C.D.; HAMMARSTROM, L. Expression of amelin and amelogenin in epithelial root sheath remnants of fully formed rat molars. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.90,n.2,p.218-23, 2000.

- FRAME, J.W.; ROUT, P.G.; BROWNE, R.M. Rigde Augmentation using solid and porous hydroxyapatite particles with and without autogenous bone or plaster. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.45, p.771-77, 1987.
- FRANCETTI, L.; DEL FABBRO, M.; BASSO, M.; TESTORI, T.; WEINSTEIN, R. Enamel matrix proteins in the treatment of intra-bony defects. A prospective 24-month clinical trial. **J. Clin. Periodontol.**, v.31, n.1, p.52-9, 2004.
- GESTRELIUS, S.A.C.; ANDERSON, C.; JOHANSSON, A.C.; PERSON, E.; BRODIN, A.; RYDHAG, L.; HAMMARSTRÖM, L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating-kinetics and cell colonization. **J. Clin. Periodontol.**, v.24, p. 678-84, 1997a.
- GESTRELIUS, S.A.C.; LIDSTROM, D.; HAMMARSTRÖM L.; SOMERMAN, M. In vitro studies on periodontal ligament cell and enamel matrix derivate. **J.Clin.Periodontol.**, v. 24, p. 685-692, 1997b.
- GREEN, D.; WALSH, D.; MANN, S.; OREFFO, R.O. The potential of biomimesis in bone tissue engineering: lessons from the design and synthesis of invertebrate skeletons. **Bone**, v.30, n.6, p.810-15, 2002.
- GROSS, J.S. Bone grafting materials for dental applications: A practical guide. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v.18, p. 1013-34, 1997.
- HAMMARSTRÖM, L.; HEIJL, L.; GESTRELIUS, S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol.**, v.24, p. 669-677, 1997.
- HAMAMOTO, Y.; KAWASAKI, N.; JARNBRING, F.; HAMMARSTRÖM L. Effects and distribution of enamel matrix derivative Emdogain in the periodontal tissues of rat molars transplanted to the abdominal wall. **Dental Traumatology**, v.18, p.12-23, 2002.

- HEIJL, L.; HEDEN, G.; SVARDSTRÖM, G.; ÖSTGREN A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. **J. Clin. Periodontol.**, v.24,p.705-14, 1997.
- HILL, N.M.; HORNE, J.G.; DEVANE, P.A. Donor site morbidity in the iliac crest bone graft. **Aust. NZ J. Surg.**, v.69, p. 726-28, 1999.
- HIROOKA, H. The biologic concept for the use of enamel matrix protein: true periodontal regeneration. **Quintessence Int.**, v.29, n.10, p.621-30, 1998.
- HOANG, A.M.; OATES, T.W.; COCHRAN, D.L. In vitro wound healing responses to enamel matrix derivate. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 1270-1277, 2000.
- HOCKERS, T.; ABENSUR, D.; VALENTINI, P.; LEGRAND, R.; HAMMERIE C.H.F. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. **Clin. Oral Impl. Res.**, v.10, p.487-98, 1999.
- INAGE, T.; SHIMOHAWA, H.; WAKAO, K.; SASAKI, S. Gene expression and localization of amelogenin in the rat incisor. **Adv. Dent. Res.**, v.10, n.2, p. 201-7, 1996.
- IQBAL, M.K.; BAMAAS, N.S. Effect of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) upon periodontal healing after replantation of permanent incisors in Beagle dogs. **Dental Traumatology**, v.17, p.36-45,2001.
- JOHANSEN, J.R. Repair of the post-extraction alveolus in the Wistar rat: a histologic and autoradiographic study. **Acta. Odontol. Scand.**, v.28, n.4, p.441-61, 1970.
- KHAN, S.N.; CAMMISA, F. P. Jr; SANDHU, H.S.; DIWAN, A.D.; GIRARDI, F.P.; LANE, J.M. The biology of bone grafting. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.**, v.13, n.1, p. 77-86, 2005.

- KIM, C. S. ; CHOI, S.H.; CHO, K. S.; CHAI, J.K.; WIKESJO, U.M.; KIM, C.K. Peiodontal healing in one-wall intra-bony defects in dogs following implantation of autogenous bone or a coral-derived biomaterial. **J. Clin. Periodontol.**, v.32, n.6, p. 583-89, 2005.
- KURITA, K.; HASHIMOTO, Y.; TAKEI, T.; KAWAI, T.; HAYAKWA, T. Changes in collagen types during the healing of rabbit tooth extraction wounds. **J. Dent. Res.**, v.64, n.1, p.28-32, 1985.
- KIYOKAWA, K.; KIYOKAWA, M.; HARIYA, Y.; FUJII, T.; TAI Y. Regenerative treatment of serious periodontosis with grafting of cancellous iliac bone and gingival flaps and replanting of patient's teeth. **J. Craniofac. Surg.**, v.13,n.3,p.375-81, 2002.
- LAMANO-CARVALHO, T.L.; TEÓFILO, J.M.; ARAÚJO, C.A.C.A.; BRENTGANI, L.G. Chronology of alveolar healing following immediate implantation of *Ricinus communis* polyurethane resin: histometric analysis in rats. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.37, p.449-52, 1997.
- LAMANO-CARVALHO, T.L.; BRENTGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F. Histometric analysis of rat alveolar wound healing. **Braz Dent J**,v.8, p.9-12, 1997.
- LANGSTAFF, S.;SAYER, M.; SMITH, T.J.N.; PUGH, S.M. Reabsorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part II: evaluation of biological response. **Biomaterials**, v.22,p. 135-150, 2001.
- LEUNG, G; JIN, L. A combined approach of enamel matrix derivative gel and autogenous bone grafts in treatment of intrabony periodontal defects. A case report. **Prim Dent Care** v.10, n.2, p. 41-3, 2003.
- LEVIN, M.P.; GETTER, L.; CUTRIGHT, D. E. A comparison of iliac marrow and biodegradable ceramic in periodontal defects. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.9,n.2,p.183-95, 1975.

- LIN, W.L.; MCCULLOCH, C.A.G.; CHO MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. **The Anatomical Record**, v.240, p.492-506, 1994.
- MAGALHÃES, A.E.O.; OKAMOTO, T., BARROSO J.S. Influência da fratura da crista óssea alveolar no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.36, n.2, p.203-12, 1982.
- MANDELBAUM, S.H. **An. Bras. Dermatol.**, v.78, n.4, p. 393-410, 2003.
- MANSO, M.C.; LANG, R.D. Enxerto ósseo retro-molar “onlay” para restauração ideal do contorno do rebordo alveolar. **Rev. Bras. Implant.**, v.5, n.5, p. 7-14, 1997.
- MELLONIG, J.T. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. **Int.J.Periodontics Restorative Dent.**, v. 19, p. 9-19, 1999.
- MENDES, V.C. **Influência da matriz de esmalte dentário (Emdogain) sobre o processo de reparo alveolar: análise histológica e histométrica em ratos.** 2000. Dissertação (Mestrado) - Faculdade Odontologia de Araçatuba – UNESP, 2000.
- MERKX, M. A.; MALTHA, J. C.; FREIHOFER, H. P.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M. Incorporation of three types of bone implants in the facial skeleton. **Biomaterials**, v.20, n. 7, p.639-45, 1999a.
- MERKX, M. A.; MALTHA, J. C.; FREIHOFER, H. P.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M. Incorporation of particulated bone implants in the facial skeleton. **Biomaterials**, v.20, n. 21, p.2029-35, 1999b.

- MERKX, M. A.; MALTHA, J. C.; STOELINGA, P. J. Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: a review of clinical reports. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 32, n. 1, p. 1-6, 2003.
- MOLINA, G.O. **Estudo das proteínas derivadas da matriz do esmalte no reimplante dental. Análise histométrica.** 2004. 129 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP, 2004.
- MOORE, W.R.; GRAVES, S.E.; BAIN, G.I. Synthetic bone graft substitutes. **ANZ J. Surg.**, v.71, n.6, p.354-61, 2001.
- NISHIBORI, M.; BETTS, N.J.; SALAMA, H.; LISTGARTEN, M.A. Short-term healing of autogenous and allogenic bone grafts after sinus augmentation: a report of 2 cases. **J. Periodontol.**, v.65, n.10, p. 958-66, 1994.
- OKAMOTO, T.; RUSSO, M.C. Wound healing following tooth extraction. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v.2, n.2, p.153-62, 1973.
- OKAMOTO, T.; OKAMOTO, R.; ALVES REZENDE, M. C.; GABRIELLI, M. F. interference of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. Histomorphological study in rats. **Braz. Dent. J.**, v.5, n.2, p.85-92, 1994.
- ORR, T.E.; VILLARS, P.A.; MITCHEL, S.L.; HSU, H.P.; SPECTOR, M. Compressive properties of cancellous bone defects in a rabbit model treated with particles of natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite. **Biomaterials**, v.22, p.1953-59, 2001.
- ORSINI, M.; ORSINI, G.; BENLLOCH, D.; ARANDA, J.J.; LAZARO, P.; SANZ, M.; DE LUCA, M.; PIATTELLI, A. Comparison of calcium sulfate and autogenous bone graft to bioabsorbable membranes plus autogenous bone graft in the treatment of intrabony periodontal defects: a splint-mouth study. **J. Periodontol.**, v.72, n.3, p.296-302, 2001.

- PERRI de CARVALHO, A.C.; OKAMOTO, T. **Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica**, São Paulo, Panamericana, 1987.
- PERRI de CARVALHO, P. S.; BASSI, A. P. S.; PEREIRA, L.A.V.D. **ImplantNews**, v.1, n.3, p. 255-260, 2004.
- PETINAKI, E.; NIKOLOPOULOS, S.; CASTANAS, E. Low stimulation of peripheral lymphocytes, following in vitro application of Emdogain. **J. Clin. Periodontol.**, v.25, n.9, p. 715-20, 1998.
- PRADO, K.F.B. **Efeito do alcoolismo no reparo alveolar de ratos após o implante de uma biocerâmica. Estudo qualitativo e quantitativo em microscopia de luz e eletrônica de varredura**. 2002. 109 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP, 2002.
- ROSA, A.L.; BRENTGANI, L.G.; GRANDINI, S.A. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate implants in dental alveolus of rats : a histometric study. **Braz. Dent. J.**, v.6, p.103-109, 1994.
- SANADA, J.T.; CANOVA, G.C.; CESTARI, T.M.; TAGA, E.M.; BUZALAF, M.A.R.; GRANJEIRO, J.M. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. **J. Appl. Oral Sci.**, v.11, n.3, p. 209-15, 2003.
- SANTOS-PINTO, R. **Mineralização no processo de reparo em feridas de extração dental em cães. Estudo histológico, radiográfico e microscópico**. 1964. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, 1964.
- SCHWARTZ, Z.; CARNES, D.L.; PULLIAM, R.; LOHMANN, C.H.; SYLVIA, V.L.; LIU, Y.; DEAN, D.D.; COCHRAN, D.L.; BOYAN, B.D. Porcine fetal enamel matrix derivate stimulates proliferation but not differentiation of

- pre-osteoblastic 2T9 cell, inhibits proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cell. **J.Periodontol.**, v.71, p. 1287-1296, 2000.
- SCULEAN, A.; REICH, E.; CHIANTELLA, G.C.; BRECX, M. Treatment of intrabony defects with enamel matrix protein derivative (Emdogain): a report of 32 cases. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.19, p.157-63, 1999.
- SCULEAN, A.; WINDISCH, P.; CHIANTELLA, G.C. Human histologic evaluation of an intrabony defect treated with enamel matrix derivative, xenograft, and GTR. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.24, n.4, p.327-33, 2004.
- SCULEAN, A.; WINDISCH, P.; KEGLEVICK, T.; GERA, I. Clinical and histological evaluation of enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.25, n.2, p. 139-47, 2005.
- SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento.** São Paulo, Mc Graw-Hill, 1975.
- SILVA, R.V.; CAMILLI, J. A.; BERTRAN, C.A.; MOREIRA, N.H. The use of hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.34,n.2, p.178-84, 2005.
- SUZUKI, S.; NAGANO, T.; YAMAKOSJI, Y.; GOMI, K.; ARAI, T.; FUKAE ,M.; KATAGIRI, T.; OIDA, S. Enamel matrix derivative gel stimulates signal transduction of BMP and TGF- β . **J. Dent. Res.**, v.86, n.6, p.510-14, 2005.
- TADJOEDIN, E.S.; DE LANGE, G.L.; LYARUU, D.M.; KUIPER, L.;BURGER, E.H. High concentration of bioactive glass material (BioGran) vs. Autogenous bone for sinus floor elevation. Histomorphometrical

- observations on three split mouth clinical cases. **Clin. Oral Impl. Res.**, v.3, p.428-36, 2002.
- TEM CATE, A.R. **Histologia Bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. 2^a ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 395p., 1988.
- TRIPLETT, R.G.; SCHOW, S.R. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.54, n.4, p.486-94, 1996.
- VAN DER PAUW, M.T.; VAND DEN BOS, T.; EVERTS, V.; BEERTSEN, W. Enamel matrix derive protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor B1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 31-43, 2000.
- WADA, T.; WU, CH.; SUGITA, H.; SUGITA, N.; KATAGIRI, S.; SHIMIZU, M.; HARA, K. Autogenous, allogenic, and β -TCP grafts: comparative effectiveness in experimental bone furcation defects in dogs. **J. Oral Implantol.**, v.15, n.4, p.231-36, 1989., v.15, n.4, p.231-36, 1989.
- WERNER, S.; GROSE,R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiol. Rev.**, v.83, p. 835-70, 2003.
- WILLIAMS, D.F. Definitions in Biocompatibility. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, p. 3-5, 1986. In: Chester, V.K. **Progress in Biomedical Engineering**, v. 4, Elsevier Science Publishers, London, 1987.
- ZERBO, I.R.; BRONCKERS, A.L.; DE LANGE, G.L.; VANBUK, G.J.; BURGER, E.H. Histology of human alveolar bone regeneration with a porous tricalcium phosphate. A report of two cases. **Clin. Oral Implant. Res.**, v.12, n.4, p.379-84, 2001.

ZETTERSTROM, A; ANDERSON, C.; ERIKSSON, L.; FREDRIKSSON, A.; FRESKOPP, J.; HEDEN, G.; JANSSON, B.; LONDGREN, T.; NILVEUS, R.; OLSSON, A.; RENVERT, S.; SALONEN, L.; SJOSTROM, L.; WINELL, A.; OSTGREN, A.; GESTRELIUS, S. Clinical safety of enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of periodontal defects. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 697-704, 1997.

ZUCHELLI, G.; AMORE, C.; MONTEBUGNOLI, L.; DE SANCTIS, M. Enamel matrix proteins and bovine porous mineral in the treatment of intrabony defects: a comparative controlled clinical trial. **J. Periodontol.**, v.74, n.12, p.1725-35, 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)