

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

**REPARAÇÃO ÓSSEA EM CAVIDADE CIRÚRGICA DE 8MM
DE DIAMETRO, PREENCHIDA COM OSSO AUTÓGENO
ASSOCIADO AO PLASMA RICO EM PLAQUETA E
ADESIVO FIBRÍNICO. ANÁLISE HISTOLÓGICA EM
CRÂNIO DE COELHOS**

JOSÉ MARCIO BARBOSA LEITE DO AMARAL

**Bauru
2007**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

**REPARAÇÃO ÓSSEA EM CAVIDADE CIRÚRGICA
PREENCHIDA COM OSSO AUTÓGENO ASSOCIADO AO
PLASMA RICO EM PLAQUETA E ADESIVO FIBRÍNICO.
ANÁLISE HISTOLÓGICA EM CRÂNIO DE COELHOS**

JOSÉ MARCIO BARBOSA LEITE DO AMARAL

Dissertação apresentada à Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração: Implantologia, sob orientação do Prof. Dr. Luis Eduardo Marques Padovan.

**Bauru
2007**

Dedico este trabalho...

À minha família,

Que soube entender a ausência e a presença compartilhada com os problemas que envolvem a conclusão deste projeto e com amor e paciência transmitiram os incentivos necessários para o término desta jornada que, durante os quatro anos de idas e vindas, me ensinaram, através de seus exemplos, que eu nunca deveria desistir desse sonho.

Enricco, filho querido, você ensinou-me com seu exemplo que nem sempre ser o melhor time de futebol é o suficiente para ganhar uma final de campeonato, pois outros ingredientes, como humildade, dedicação, suor e sobre tudo coração e o que faz a diferença. Valeu campeão!

Maithê, filha adorada, você ensinou-me com seu exemplo que, para fazer as coisas difíceis, é necessário ter uma dose elevada de teimosia e determinação, pois sem estes ingredientes, a menina de dois anos incompletos não conseguiria enfrentar os desafios da patinação artística, caindo, chorando e se levantando para continuar brilhando.

San, você é a síntese de tudo de bom que esta família me oferece, você é minha inspiração, minha luz, minha força e minha vida e sem os seus exemplos de doação, sendo mãe, pai, irmã, amiga e esposa, eu não teria conseguido vencer este desafio. Muito obrigado do fundo da minha alma, hoje e sempre.

À minha mãe, Iselte, e ao meu irmão, José Moacir, que sabem mais do que ninguém que, depois de tantas dificuldades que vivemos juntos nesta jornada de vida, podemos ser considerados sobreviventes e nós vencemos. Muito obrigado.

À minha saudosa sogra, Marina, que soube fazer a leitura da minha alma e entender o quanto era importante a notícia que recebera que eu havia passado pelo exame de seleção do mestrado, neste momento muitos sorriram mais só você chorou. Meu obrigado e minhas saudades.

À minha avó, Maria de Lurdez, e ao meu tio, Marcio Aníbal, por terem proporcionado o suporte financeiro para que eu pudesse concluir o curso de Odontologia, que representa para mim o início deste sonho. Obrigado.

Ao meu querido avô, José Barbosa, que vibrava com minha vida acadêmica e me acompanha todos os dias como um Anjo da guarda. Obrigado.

Ao meu tio, José Juvêncio, que me ensinou como educador que, no caminho para as realizações, era necessário estudar sempre. Obrigado.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor **Luis Eduardo Marques Padovan**, pelo entusiasmo, conhecimento profundo e a transmissão honesta destas informações para construção deste trabalho. Muito obrigado.

Ao meu coordenador, Professor **Carlos Eduardo Francischone**, responsável pela luz, vento, inspiração que me trouxeram até aqui. Muitíssimo obrigado.

À Professora **Mariza Akemi Matsumoto**, pela atenção, disposição e competência nos ensinamentos para compreensão absoluta dos resultados deste trabalho. Muito obrigado.

Ao Professor e amigo **Renato Savi de Carvalho**, que me acolheu, ensinou-me com o reflexo de sua índole os meandros da iniciação científica. Minhas saudações.

Ao parceiro **Luiz Fernando M. André**, pelo companheirismo, amizade, ensinamentos e brilhante condução dos nossos trabalhos na minha ausência. Muito obrigado.

Aos meus amigos e colegas de turma do Mestrado, **Maurício Barreto, Gonçalo Pimentel Neto, Roberto Sydney, Ronaldo Brum, Ronaldo Barcelos Santana, Paulo Nary**, pelos ensinamentos transmitidos e pelo profundo sentimento de família nesta formidável jornada.

Ao funcionário do Biotério da Universidade do Sagrado Coração, **Sergio Henrique Pereira Moura**, pela atenção e colaboração durante toda a realização deste trabalho.

À biomédica **Patrícia**, do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade do Sagrado Coração, pela condução dos trabalhos na elaboração do Plasma Rico em Plaqueta. Muito obrigado.

À funcionária da Pró-reitoria de Pós-graduação, **Angela**, que nos auxiliou na etapa de revisão bibliográfica deste trabalho.

A todos os **funcionários do Curso de Odontologia da Universidade do Sagrado Coração**.

Ao meu aluno, assistente e amigo, **Renato Tiosso**, por sempre ter priorizado o auxílio nos trabalhos de campo para realização deste trabalho. Muito obrigado.

Aos **animais experimentais** (coelhos), que verdadeiramente abdicaram da própria vida, colaborando com a realização deste trabalho.

A todas as pessoas que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho.

Agradecimentos Especiais

Ao amigo **Rodolfo Alba Candia Junior**; qualquer empresário escolheria os habilitados e você, na contramão da história, resolve habilitar o escolhido. Obrigado por esta pessoa diferente e especial.

Ao amigo **João Vaiano**; parcerias se desfazem quando não existe um equilíbrio entre as partes, amizades terminam quando conflitos éticos, morais ou pessoais aparecem. Mas a união entre irmãos de almas... esta sim é para vida toda. Por sempre ter contado com seu apoio e confiança, muito obrigado.

Aos meus amigos, **Gustavo Petrilli, Alexandre Molinari e Rachel Melhado**, que iniciaram esta árdua jornada em 2002 e que estiveram, estão e sempre estarão no meu coração e nas minhas lembranças. Muito obrigado.

À família **Conexão**, pelos incentivos constantes e apoio irrestrito. Obrigado.

À **Universidade Metropolitana de Santos**, pelo apoio e pelas concessões para que eu pudesse concluir esta jornada. Obrigado.

RESUMO

A Odontologia Moderna enfrenta um desafio para correções de defeitos ósseos. Estas adequações de arquitetura advêm do objetivo de criar condições para inserções de implantes osseointegrados, reabilitando pacientes e devolvendo, muitas vezes, um sistema mastigatório eficiente, bem como reconstruções maxilares, reparando defeitos ósseos com finalidades estéticas e funcionais. Desta maneira, o presente estudo avaliou a reparação óssea em defeitos críticos realizados em crânios de coelhos, utilizando enxerto ósseo autógeno associado ao adesivo fibrínico irrigado com ácido épsilon-aminocapróico; enxerto ósseo autógeno associado ao plasma enriquecido em plaquetas; enxerto ósseo autógeno com coágulo espontâneo e o Grupo Controle sem adição de material algum de enxertia, somente o coágulo sanguíneo espontâneo do próprio animal. Utilizaram-se 32 coelhos brancos (da raça Nova Zelândia) machos e adultos, com idade acima de 12 meses, e pesando entre três a quatro quilos. Foram realizados defeitos ósseos no crânio do animal utilizando uma broca trefina de 10,0mm. Posteriormente, estes defeitos foram preenchidos com materiais e divididos em grupos. O Grupo I (Controle) foi preenchido com coágulo sanguíneo espontâneo do próprio animal. No Grupo II, os defeitos foram preenchidos com osso autógeno cortical triturado e gel de plasma enriquecido em plaqueta (PRP) e, no Grupo III, osso autógeno cortical triturado e Adesivo fibrínico irrigado com EACA. No grupo IV, osso autógeno cortical triturado com coágulo sanguíneo espontâneo do próprio material. Os animais foram escolhidos ao acaso e divididos em quatro grupos. Os períodos de sacrifício foram de sete, 15, 30 e 60 dias, em que foi realizada a análise microscópica descritiva com as lâminas coradas em HE e tricrômico de Masson. Os resultados demonstraram que o Grupo Controle apresentou somente uma discreta formação óssea aos 60 dias, próximo às margens do defeito. Os grupos II, III e IV mostram similaridade no processo de reparo ósseo; porém, o Grupo II (PRP) apresentou um volume aumentado nos períodos de sete, 14 e 30 dias, e igualando-se aos grupos I e IV ao final de 60 dias, em que se observou tecido ósseo maduro lamelar, com áreas de remodelação óssea. A partir destes resultados, concluiu-se que os materiais utilizados no experimento similares, não havendo diferenças.

Palavras-chave:¹ enxerto ósseo; adesivo de fibrina; ácido épsilon-aminocapróico; coelho; ciência dos animais de laboratório; plasma enriquecido de plaqueta.

¹ BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de informação em Ciências da Saúde. DeCS: Descritos em Ciências da Saúde. São Paulo. BIREME – OPAS – OMS. Disponível em <<http://decs.bvs.br/>>. Acesso em: 17 dez. 2004.

ABSTRACT

The modern Dentistry faces a challenge to correct bone defeats. The adequacy of architecture happen to the purpose to create conditions to insert osteointegrated implants, rehabilitating patients and returning, many times, an efficient chewed system, as well as maxillary reconstruction, repairing bone defeats with esthetic and functional purposes. In this way, this study evaluated bone repair in critic defeats done in rabbit skull, using autogenic bone graft associated to a fibrinic adhesive irrigated with epsilon-aminocaproic acid; autogenic bone graft associated to enriched plasma in platelets; autogenic bone graft with spontaneous clot and the Control Group without addition of graft material, only sanguine spontaneous clot by the own animal. They were used 32 white rabbits (New Zealand) male and adults, about 12 months old and weighing about three to four kilos. They were done bone defeats in the animal skull using a trefine drill of 10.0mm. After, these defeats were filled in materials and divided in groups. The Group I (Control) was filled in sanguine spontaneous clot by the own animal. In Group II, the defeats were filled in triturated cortical autogenic bone and gel of enriched plasma with platelets (PRP) and, in Group III, triturated cortical autogenic bone and fibrinic adhesive irrigated with EACA. In Group IV, triturated cortical autogenic bone with sanguine spontaneous clot by the own material. The animals were chosen by chance and divided in four groups. The period of sacrifice was 7, 15, 30 and 60 days, which were done the descriptive microscopical analyses with dyed blades in HE and Masson trichromic. The results showed that Control Group presented only a discrete bone formation at 60 day, near margins of the defeat. Groups II, III e IV showed similarity in the bone repair process; it is important, however, an observation about Group II (PRP), that showed a big volume in the period of 7, 14 and 30 days, and being equal of Group I and IV to the end of 60 days, that was observed bone mature lamelar tissue, with areas of bone remodelations. From these results, we concluded these materials used were similar, having no significant differences.

Key words:² bone graft; fibrin adhesive; epsilon-aminocaproic acid; rabbit; science of laboratory animals; enriched plasma with platelets.

² BIREME. Latin-American and Caribbean Center of Information in Health Sciences. DeCS: Described in Health Sciences. São Paulo. BIREME – OPAS – OMS. Available in: <<http://decs.bvs.br/>>. Access in: Dec. 17th 2004.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Coelho da raça Nova Zelândia utilizado neste estudo experimental.	46
Figura 2: <i>Kit Tissucol</i> [®] 1,0ml (adesivo fibrínico).....	48
Figura 3: Preparo da solução de adesivo fibrínico, através da adição de aprotinina.	49
Figura 4: Preparo da solução de trombina, através da adição de cloreto de cálcio.	50
Figura 5: Método de administração do adesivo fibrínico com sistema duploject [®]	51
Figura 6: Ácido épsilon-aminocapróico.....	52
Figura 7: Triturador ósseo manual em forma de pilão.....	53
Figura 8: Enxerto ósseo autógeno cortical triturado.	53
Figura 9: Punção intracardiaca.	55
Figura 10: Centrifugação para obtenção do plasma.	56
Figura 11: Plasma rico em plaquetas.....	57
Figura 12: Medicação utilizada para manter os animais em plano anestésico adequado.	58
Figura 13: Anti-sepsia e campos estéreis.	59
Figura 14: Infiltração subperiosteal.	59
Figura 15: Incisão no sentido longitudinal.	60
Figura 16: Incisão no sentido longitudinal.	60
Figura 17: Descolamento dermo-periosteal.	60
Figura 18: Broca trefina de 10mm.	60
Figura 19: Perfuração bicortical.	61
Figura 20: Perfuração bicortical.	61
Figura 21: Esquema dos grupos.....	61
Figura 22: Cortical da calota craniana.	63
Figura 23: Cortical triturada.	63
Figura 24: Osso autógeno + PRP.	63
Figura 25: Conj. sendo levado à cavidade.	63
Figura 26: Cavidades com coágulo e PRP.	64
Figura 27: Sutura.	64
Figura 28: Remoção da cortical.	64
Figura 29: Osso autógeno.	64
Figura 30: Grupo adesivo fibrínico.	65
Figura 31: Irrigação com EACA.	65
Figura 32: Osso autógeno.	65
Figura 33: Aplicação do adesivo fibrínico.	65
Figura 34: Suturas e aplicação de rifocina.....	65
Figura 35: <i>Grupo controle</i> : a, a') 7 dias – defeito ósseo preenchido por coágulo; b, b') 14 dias – predomínio de tecido fibroso no interior da cavidade (*), com eventuais áreas de neoformação óssea (seta) (a – HE, aumento original ~ 20x; a' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 20x; b, b' – HE e Tricrômico de Masson, aumento original ~ 10x).....	71
Figura 36: <i>Grupo controle</i> : a, a') 30 dias – permanência de tecido conjuntivo fibroso (*) com eventuais trabéculas ósseas, predominantes na região periférica do defeito; b, b') 60 dias – predomínio de tecido fibroso no interior da cavidade (*), com limitada formação óssea (seta) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 10x).	72
Figura 37: <i>Grupo Osso Triturado</i> : a, a') 7 dias – presença dos fragmentos ósseos não viáveis enxertados (*) circundados por tecido de granulação; b, b') 14 dias – fragmentos ósseos enxertados (*) com atividade osteocondutora (setas); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' –Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x).....	73

Figura 38: Grupo Osso Triturado: a, a') 30 dias – observam-se trabéculas ósseas organizadas, em fase de maturação; b, b') 60 dias – osso lamelar com áreas de remodelação preenche o defeito ósseo; (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ a':10x; b': 40x). 74

Figura 39: Grupo PRP: a, a') 7 dias – notam-se fragmentos ósseos não viáveis (*) permeados por tecido de granulação (tg), além de discreta atividade osteoclástica (setas); b, b') 14 dias - os fragmentos ósseos enxertados servem como osteocondutores (*), observa-se atividade osteogênica (setas); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a,b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x)..... 75

Figura 40: Grupo PRP: a, a') 30 dias – preenchendo a cavidade, observa-se incorporação do osso enxertado com o osso neoformado; b, b') 60 dias – trabéculas ósseas em maturação e incorporação ao osso antigo (*); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a,b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~b: 10x; b': 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' –Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x). 76

Figura 41: Grupo Adesivo Fibrínico: a, a') 7 dias – presença dos fragmentos de osso enxertado (*), sobre os quais se observa discreta atividade osteocondutora (setas); b, b') 14 dias – nota-se intensa atividade osteoclástica (setas); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x)..... 77

Figura 42: Grupo Adesivo Fibrínico: a, a') 30 dias – defeito preenchido por trabéculas ósseas organizadas, com áreas de remodelação; b, b') 60 dias – presença de tecido ósseo maduro e áreas de incorporação do osso com o osso antigo (*); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x)..... 78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% = por cento

mm = milímetros

EACA = ácido épsilon-aminocapróico

kg = quilograma

ml = mililitro

mg = miligrama

mg/ml = miligrama por mililitro

UI = Unidade Internacional

K = Kelvin

mol = quantidade de massa

l = litro

°C = grau Celsius

ml/kg = mililitros por quilograma

mg/kg = miligramas por quilograma

PVP-I = polivinilpirrolidona-iodo

cm = centímetro

rpm = rotação por minuto

EDTA = ácido etilenodiaminotetracético

pH = potencial hidrogênio-iônico

µm = micrômetro

HE = hematoxilina-eosina

mm³ = milímetro cúbico

PRP = plasma rico em plaqueta

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	19
1.1 Defeito ósseo “crítico” em estudos experimentais	19
1.2 Enxertos ósseos autógeno e xenógeno	20
1.3 Adesivo fibrínico.....	25
1.4 Ácido épsilon-aminocapróico (EACA).....	31
1.5 Plasma rico em plaqueta (PRP)	32
CAPÍTULO 2 – PROPOSIÇÃO.....	44
CAPÍTULO 3 – MATERIAL E MÉTODO	46
3.1 Modelo experimental.....	46
3.2 Substâncias e produtos utilizados no estudo experimental	47
3.2.1 Adesivo fibrínico	47
3.2.1.1 Preparação da solução de adesivo fibrínico	49
3.2.1.2 Preparo da solução de trombina.....	50
3.2.1.3 Método de administração.....	50
3.3 Ácido Épsilon-aminocapróico (EACA).....	51
3.3.1 Osso autógeno cortical triturado	52
3.3.2 Preparação para obtenção do Plasma Enriquecido em Plaqueta	54
3.3.2.1 Procedimento para coleta sanguínea.....	54
3.3.2.2 Preparo para obtenção do de PRP	55
3.4 Procedimento cirúrgico	57
3.4.1 Anestesia.....	57
3.4.2 Tricotomia e anti-sepsia.....	58
3.4.3 Ato cirúrgico	59
3.5 Cuidados pós-operatórios.....	66
3.6 Eutanásia dos animais e obtenção das amostras para análise	66
3.7 Critérios para análise microscópica descritiva.....	67
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS	69
CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO	80
CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS.....	88



Introdução

INTRODUÇÃO

A Odontologia Moderna, mais especificamente as especialidades de Implantodontia e Bucomaxilofacial, enfrenta um desafio para correções de defeitos ósseos. Estas adequações de arquitetura têm como objetivo criar condições para inserções de implantes osseointegrados, reabilitando pacientes e devolvendo, muitas vezes, um sistema mastigatório eficiente, bem como reconstruções maxilares, reparando defeitos ósseos com finalidades estéticas e funcionais.

Estas alterações estruturais dos tecidos ósseos provêm de várias condições e, cronologicamente, podem ter início durante a vida intra-uterina, sendo definidas como alterações ósseas congênitas. Podem ocorrer, também, devido a fatores extrínsecos surgidos ao longo da vida, como as alterações ósseas adquiridas. Estas alterações ou defeitos ósseos na região maxilofacial podem ser decorrentes de acidentes, ressecção de tumores, reabsorções após extrações dentárias consideradas fisiológicas, uso de próteses removíveis mal adaptadas e manobras cirúrgicas iatrogênicas.

Como opções para reparação dessas alterações ósseas, estão indicados os procedimentos reconstrutivos com enxertos ósseos que podem ser alógenos, xenógenos, exógenos.

Deste modo, diversas técnicas e materiais para reconstruções ósseas são descritas na literatura, objetivando encontrar os melhores métodos de tratamento, proporcionando um prognóstico mais favorável e menos invasivo para estas reabilitações.

O avanço nas pesquisas teciduais de cicatrização e o desenvolvimento das técnicas reconstrutivas transformaram os transplantes ósseos autógenos em procedimentos previsíveis e passíveis de aplicação clínicas rotineira. Desde os estudos de Branemark et al. (1975), quando enxertos ósseos foram associados aos implantes osseointegrados, sucederam-se vários

experimentos, ratificando uma viabilidade da enxertia óssea na Implantodontia. A grande maioria destas pesquisas mostrou esses enxertos como ideais para as técnicas reconstrutivas, devido ao seu excelente potencial de revascularização, total compatibilidade imunológica e capacidade osteogênica efetiva (BLOCK et al., 1998).

Os enxertos ósseos autógenos podem ser removidos de áreas doadoras intra-orais como: mento, região retromolar da mandíbula e o túber da maxila, quando não necessitamos de grande quantidade óssea para reconstrução (MARX; MORALES, 1988). Na presença de grandes defeitos ósseos, temos como opção de reconstrução áreas doadoras extra-orais, como crista ilíaca (KELLER et al., 1987), calota craniana, tibia (BREINE; BRANEMARK, 1980), costela (LISTROM; SYMINGTON, 1988), clavícula.

Entretanto, os enxertos ósseos autógenos estão intimamente relacionados com a morbidade da área doadora, podendo assim ocasionar algumas complicações como dores crônicas, hemorragias, herniações, agressões vasculares, alterações neurológicas, infecções profundas e fraturas ósseas (ARRINGTON et al., 1996).

Ainda como alternativas para reconstruções, há os enxertos alógenos e xenógenos, que são descritos como preparados ósseos desmineralizados de origem humana ou bovina. Eles sofrem diferentes tipos de processos laboratoriais e são desenvolvidos e comercializados nas formas de partículas, grânulos, blocos, pó, gel entre em outros (FEIGHAN et al., 1995).

A principal vantagem dos enxertos ósseos alógenos e xenógenos é o fato de que eles podem ser utilizados sem a necessidade de um sítio doador, minimizando, assim, o tempo cirúrgico e proporcionando uma recuperação pós-operatória mais branda para o paciente. Outra vantagem é a sua quantidade ilimitada. Em contrapartida, a utilização dos enxertos alógeno e xenógeno pode não ser aconselhável devido à possibilidade de transmissão de infecções e desenvolvimento de diversas reações imunológicas (FRIEDLANDER, 1987; CHAPMAN; VILLAR, 1992).

Todos estes materiais tiveram seus desempenhos analisados e aferidos isoladamente. Todavia, com a evolução, buscaram-se associações com outros biomateriais no intuito de melhorar o desempenho das enxertias, diminuindo tempo do reparo ósseo e aumentando sua qualidade.

Quando se almeja os melhores prognósticos na formação óssea envolvendo terapias com enxertos, é fundamental dedicar atenção especial aos aspectos que influenciam o processo de reparação óssea, como por exemplo, os fatores de crescimento. Esses fatores são produzidos por diversas células, tais como plaquetas, fibroblastos, osteoblastos, condroblastos e outras células de origem mesenquimal. Os fatores existentes nas plaquetas, por exemplo, são capazes de auxiliar as células ósseas no processo de reparo de lesões ósseas (LYNCH et al., 1991).

Dentre os fatores de crescimento já caracterizados, cinco deles parecem muito promissores no campo da regeneração tecidual: o fator de crescimento derivado da plaqueta (PDGF); o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF); o fator de crescimento transformado- β (TGF- β); o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) (STEFANI et al., 1997).

A compreensão dos fatores de crescimento e seu papel na engenharia tecidual levaram ao desenvolvimento de meios tecnológicos para utilizá-los. Uma das estratégias propostas é acelerar e otimizar os efeitos dos fatores de crescimento contidos nas plaquetas. Atualmente, isso é possível pelo uso do plasma rico em plaquetas (PRP), que é atóxico, não imunogênico e contém esses fatores em altas concentrações (CHAGAS et al., 2004).

O PRP, em sua constituição básica, possui três componentes: o plasma – formado por soro mais os diversos fatores de coagulação; os leucócitos – que conferem uma resistência natural a essa substância contra os processos infecciosos e/ou alérgicos; e as plaquetas – principal constituinte, capazes de liberar os desejados fatores de crescimento (PEREIRA FILHO et al., 2004).

A obtenção do PRP ocorre a partir do sangue autógeno, por meio de um processo que utiliza o princípio da separação celular por centrifugação diferencial, resultando em seqüestro e concentração de plaquetas (MARX, 1999).

Disponíveis desde a década de setenta, podemos utilizar também os compostos altamente concentrados em fibrinogênio, entre eles o adesivo fibrínico, com o objetivo primário de controlar os sangramentos pós-cirúrgicos. O sistema adesivo fibrínico tem sido utilizado em muitos campos de cirurgia como excelente auxiliar na hemostasia de tecidos duros e moles e na cavidade bucal em diferentes situações clínicas quando há comprometimento do sistema hemostático (ARBES et al., 1981). No ano de 1982, Albrektsson et al. relataram que a utilização do adesivo de fibrina acelerou o processo de regeneração óssea.

A associação do adesivo fibrínico com outras substâncias também tem sido relatada na literatura com bons resultados, como comprovou os estudos de Duckert e Nymam (1978); Okamoto et al. (1995); Rezende et al. (1997) e Padovan (2002), que realizaram a associação do adesivo fibrínico com solução a 5% do ácido épsilon-aminocapróico em diversos procedimentos experimentais.

A versatilidade do uso do adesivo de fibrina é grande, já que se trata de um produto natural; sendo assim, nenhum efeito colateral ou complicação foram descritos. Ele foi testado clinicamente em cirurgias orais e tem sido muito efetivo na fixação de enxertos de pele e mucosa; na reconstrução óssea associada com enxertos ósseos; no tratamento da osteomielite esclerosante crônica na mandíbula, depois da adição do metronidazol; e também em muitos outros campos da cirurgia (PETERSEN, 1985).

Atualmente, inúmeros estudos são realizados para a comparação da reparação, biocompatibilidade e eficiência destes materiais juntamente com os enxertos ósseos autógenos, para que o cirurgião-dentista tenha novas alternativas e melhores resultados em

seus procedimentos reconstrutivos. Por isso, justifica-se a avaliação do processo de reparação óssea em cavidades cirúrgicas preenchidas com osso autógeno associado ao plasma rico em plaqueta e adesivo de fibrina – análise histológica – em crânio de coelhos.



Capítulo 1
Revisão da Literatura

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

O presente capítulo será dividido em tópicos, para melhor elucidação dos assuntos abordados.

1.1 DEFEITO ÓSSEO “CRÍTICO” EM ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Schimitz e Hollinger (1986) relataram que os defeitos ósseos podem ser classificados em tamanho crítico ou não crítico, de acordo com sua capacidade ou não de se regenerar espontaneamente, através de neoformação óssea. Quando não ocorre cicatrização espontânea, ele é considerado de tamanho crítico. Esta cicatrização pode variar de acordo com o potencial osteogênico do indivíduo, do nível filogenético, de acordo com a idade e a localização anatômica.

Hollinger e Kleinschmidt (1990) descrevem os defeitos ósseos em tíbias de coelhos adultos como críticos tendo dimensão de 6mm.

Estudo realizado por Aaboe et al. (1994) demonstra que os defeitos ósseos em tíbias de coelhos não são de tamanho crítico devido às medidas anatômicas da tíbia dos animais não ultrapassarem 8mm, evidenciando que os defeitos neste tamanho neoformaram osso espontaneamente.

Taga et al. (1997) relataram o fechamento total de defeitos ósseos com 8mm de diâmetro, realizados em crânio de coelhos adultos, tratados com matriz orgânica bovina liofilizada.

Kawamura e Urist (1998) relatam que a terminologia “defeito crítico” se baseia no fato de que, quando um defeito ósseo ultrapassa um determinado diâmetro, podendo variar de

acordo com o tipo de osso e com o espécime animal, não seria passível de cicatrização por regeneração, ocorrendo apenas a reparação por proliferação de tecido conjuntivo fibroso.

De acordo com as observações histológicas e tomográficas de Dodde et al. (2000), determinou-se que os defeitos ósseos em crânio de coelhos adultos, superiores a 1,5cm, são considerados de tamanho crítico.

1.2 ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENO E XENÓGENO

O tecido ósseo é formado por matriz orgânica e inorgânica, sendo que a matriz orgânica é constituída por 90 a 95% de fibras colágenas do tipo I (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995), e por uma pequena quantidade de matriz extracelular, composta por líquido extracelular e agregados de proteoglicanas e glicoproteínas, sendo que a matriz inorgânica é formada por minerais, principalmente por cálcio e fosfato (GUYTON; HALL, 1997). A maior parte da densidade do tecido ósseo vem da matriz inorgânica, representando aproximadamente 60 a 70% (HOLLINGER; MCALLISTER, 1995).

Embora o tecido ósseo mostre um grande potencial de regeneração e possa restaurar completamente a sua estrutura e função originais, os defeitos ósseos podem freqüentemente fracassar em cicatrizar como tecido ósseo (LINDHE et al., 1999), sofrendo a invasão de tecido conjuntivo fibroso.

Os primeiros estudos sobre os enxertos ósseos foram realizados pelo cirurgião alemão Job van Meekeren, em 1868, após remoção de enxerto ósseo da calota craniana de cão para enxertia num defeito ósseo craniano, originado por trauma, em um soldado (PROLO; RODRIGO, 1985).

Os processos biológicos que ocorrem nos enxertos ósseos foram descritos e subdivididos por Anderson et al. (1964) em quatro estágios: revascularização, incorporação,

substituição e remodelação. A revascularização ocorre em um período inicial de duas semanas, com a neoformação de vasos sanguíneos no interior dos espaços medulares do enxerto. Na incorporação, ocorre o processo de união do enxerto ao osso hospedeiro, cujo osso doador, nem sempre, modifica suas características físicas. Na substituição, o enxerto ósseo é reabsorvido e substituído pela deposição de tecido ósseo. E, finalmente, a remodelação, em que ocorre uma reabsorção final do enxerto ósseo, devolvendo a arquitetura do osso hospedeiro.

As propriedades biológicas dos materiais de enxertia óssea podem também ser dividida em três processos básicos: osteoindução, osteocondução e osteogênese.

A capacidade de um material induzir a transformação de células indiferenciadas mesenquimais em osteoblastos ou condroblastos, em uma região onde espontaneamente isto não ocorreria, denomina-se osteoindução (MARX, 1994; MISCH; DIETSH, 1993). A osteocondução caracteriza-se pela formação de novo osso por sobre um arcabouço de substância biológica ou aloplástica, a partir de células osteogênicas do osso já existente (MISCH; DIETSH, 1993).

O osso autógeno é o único material disponível atualmente com comportamento osteogênico (CITARDI; FRIEDMAN, 1994). Ele tem a capacidade de formar tecido ósseo mesmo na ausência de células mesenquimais indiferenciadas, pois se compõe de células ósseas viáveis, que produzem grandes quantidades de fatores de crescimento para a formação do tecido ósseo. Durante esta formação, os osteoblastos são envoltos por matriz óssea e se transformam em osteócitos (GUYTON; HALL, 1997).

Segundo Misch e Dietch (1993) e baseados nestes processos biológicos de reparação, existem três classes de materiais para enxertia óssea:

1. Osso autógeno: material orgânico que forma osso por osteogênese, osteoindução e osteocondução.

2. Materiais alógenos: como o osso liofilizado mineralizado ou desmineralizado (homógeno ou xenógeno), que tem propriedades de osteoindução e osteocondução.
3. Materiais aloplásticos: como a hidroxiapatita e o fosfato tricálcio, que são somente osteocondutores.

Weiland et al. (1984) relatam que as introduções às técnicas de enxerto ósseo no fim do século 19 conduziram seu uso no tratamento de inúmeras situações para reparações e tratamento de defeitos e complicações ósseas até serem definidas em: enxertos ósseos autógenos (livre ou vascularizado), enxertos alógenos e xenógenos.

O enxerto de osso autógeno está intimamente relacionado com a morbidade da área doadora, podendo assim ocasionar algumas complicações como infecções, dores crônicas, hemorragias, herniações, agressões vasculares, alterações neurológicas, infecções profundas e fraturas locais (ARRINGTON et al., 1996). Mas os melhores resultados ainda têm sido relatados com o enxerto de osso autógeno (LUNDGREN et al., 1996).

A principal vantagem dos enxertos ósseos alógenos e xenógenos sobre o enxerto autógeno é o fato de que eles podem ser utilizados sem a necessidade de um sítio doador, minimizando assim o tempo cirúrgico e a recuperação pós-operatória do paciente, além do fato da sua quantidade poder ser ilimitada.

A influência da origem embriológica (endocondral e membranosa) dos ossos envolvidos neste processo, em relação à sua manutenção volumétrica, revascularização e neoformação óssea, segundo as observações clínicas de Peer (1951), demonstrou a superioridade dos enxertos ósseos membranosos devido à sua menor tendência de reabsorção no esqueleto craniofacial. Este fato pode ser associado com uma taxa mais rápida de revascularização dos enxertos ósseos membranosos.

Zins e Whitaker (1983) realizaram um estudo com enxertos ósseos para reconstrução óssea craniofacial, em modelos experimentais, com coelhos e macacos, observando uma significativa redução na reabsorção dos enxertos de origem membranosa em comparação com os de origem endocondral.

Isaksson (1992) realizou um estudo experimental em crânio de coelhos para avaliar a reparação óssea e a incorporação de substitutos ósseos em defeitos com 5mm de diâmetro. Os períodos de análise foram de quatro e 15 semanas e os materiais utilizados foram: osso autógeno; matriz óssea orgânica bovina (Bio-Oss[®]); osso alógeno liofilizado e hidroxiapatita. Os autores relatam melhores resultados com os enxertos autógenos e também a biocompatibilidade de todos os substitutos ósseos analisados.

Um estudo em crânio de coelhos adultos, realizado por Lundgren et al. (1996), avaliou a influência do tamanho das partículas dos enxertos ósseos autógenos triturados. Os grupos foram divididos em Grupo I (Partículas pequenas – 0,5 a 2mm³), Grupo II (Partículas grandes – 10mm³) e Grupo III (Controle). Os resultados demonstraram que o Grupo I apresentou maior formação de osso primário, quando comparado ao Grupo II e também osso mais maduro após a segunda e quarta semanas. Os autores recomendam enxertos com tamanho de partículas de 0,5 a 2mm³, ao invés dos enxertos com 10mm³, em procedimentos reconstrutivos de enxertia óssea particulada.

Ozaki e Buchman (1998) avaliaram o volume superior de osso produzido pelos enxertos ósseos de origem membranosa sobre aqueles de origem endocondral, explicando a base da preferência dos cirurgiões para a sua utilização em cirurgias craniofaciais. Proporcionalmente, os ossos membranosos possuem mais osso compacto do que esponjoso, quando comparado com o osso endocondral. Esta diferença em sua composição pode desempenhar papel fundamental na capacidade de sobrevivência destes enxertos, não tendo correlação com sua origem embriológica.

Quando utilizamos somente a parte cortical ou a parte medular do enxerto ósseo, as pesquisas demonstram que o osso medular é revascularizado mais rapidamente do que o osso cortical, independentemente de sua origem embriológica. Entretanto, quando comparamos a revascularização dos enxertos ósseos corticais de ambas as origens embriológicas, não se constata diferença significativa (LIN et al., 1990).

O enxerto autógeno particulado pode ser composto por osso cortical, medular ou cortico-medular (ZIDE, 2000). As partículas ósseas corticais são mais estáveis que as do osso medular (KAINULAIN; OIKARINEN, 1998). Estes enxertos podem ser associados com materiais alógenos e aloplásticos (MOY et al., 1993).

Os enxertos ósseos autógenos particulados são rapidamente revascularizados, liberando assim uma quantidade maior de fatores de diferenciação e crescimento nos estágios iniciais da regeneração e exibem uma atividade osteoclástica mais intensa resultando em uma maior reabsorção quando comparados aos enxertos em bloco (PALLESEN et al., 2002).

Com base nas descobertas de Urist (1965), de que a matriz óssea orgânica possui inúmeros fatores morfogenéticos, de natureza protéica, com alta capacidade de indução da osteogênese, novas alternativas de tratamento foram encontradas para o tratamento de defeitos ósseos.

Os enxertos alógenos se apresentam como uma matriz orgânica totalmente desproteinizada, para a eliminação de reações imunológicas associadas ao material, agindo somente como arcabouço para propiciar as formações ósseas ao seu redor, sendo posteriormente substituída (BERNARD, 1991).

Young et al. (1999) compararam a regeneração óssea em defeitos intra-ósseos na maxila e mandíbula de coelhos preenchidos com osso autógeno e xenógeno. Como resultado, houve reabsorção e neoformação óssea ao redor das partículas de osso autógeno e

neoformação em menor escala com ausência de reabsorção das partículas de osso xenógeno após um período de 90 dias.

Herculiani et al. (2000) estudaram o processo de reparo ósseo em defeitos ósseos com 12mm de diâmetro em crânios de coelhos utilizando como enxerto a matriz óssea bovina cortical Gen-ox[®] e a membrana de cortical óssea bovina liofilizada Gen-derm[®]. O período de análise das amostras foi de 30, 90 e 180 dias. Os autores concluíram, entre outras informações, que os enxertos de matriz óssea bovina sofrem reabsorção e promovem a formação de ilhas de osso no interior do defeito ósseo.

1.3 ADESIVO FIBRÍNICO

A utilização de materiais à base de fibrina é descrita na literatura desde o início do século passado, sendo utilizada como um hemostático local após intervenções cirúrgicas.

Bergel (1909) relatou o efeito hemostático do pó de fibrina no fechamento de pequenos vasos. Grey (1915) empregou tampões de fibrina para controlar a hemorragia de órgãos parenquimatosos. Harvey (1916) realizou procedimento semelhante. Young e Medawar (1940) obtiveram sucesso na anastomose de nervos periféricos de animais, com cola de fibrina. Cronkite et al. (1944) empregaram fibrinogênio e trombina na fixação de enxertos cutâneos.

O adesivo fibrínico, preparado através do fibrinogênio humano, que se tornou disponível em escala industrial a partir dos anos 70, intensificou os estudos e trabalhos relacionados com este material no emprego e manejo da ferida cirúrgica.

A partir do desenvolvimento das propriedades adesivas e cicatrizantes do coágulo de fibrina houve um crescimento de novas técnicas e o aprimoramento das substâncias empregadas. No intuito de aumentar as propriedades da fibrina, foram realizados estudos com a adição de fibrinogênio concentrado. Os resultados promissores encorajaram outros trabalhos

experimentais, bem como a expansão do uso destas substâncias em diferentes áreas cirúrgicas. (MOSHER, 1975; MATRAS, 1985).

Duckert e Nyman (1978) acreditam que a adesividade deste material se deve a ligações covalentes cruzadas entre a fibrina do adesivo e o colágeno presente nos tecidos.

Segundo Staindl (1979), este sistema adesivo de tecido consiste em fibrinogênio humano altamente concentrado e trombina. Os autores comentam sobre algumas características do material, tais como: boa adesão; consistência elástica; biocompatibilidade e boa absorção, características estas que fazem com que, segundo os autores, este material seja preferível a adesivos de tecidos convencionais baseados em cianocrilato.

Em 1982, Matras et al. utilizaram uma preparação de fibrinogênio com sucesso na reparação de nervos periféricos de animais em procedimentos experimentais.

Wepner et al. (1982) testaram a eficácia do sistema de adesão de fibrina após cirurgia oral menor em pacientes com problemas de sangramento ou utilizando anticoagulantes.

O trabalho realizado por Baudo et al. (1985) avaliou o comportamento clínico do adesivo fibrínico como agente hemostático, quando implantado em alvéolos dentais de pacientes, com alterações na coagulação, decorrente de patologias sistêmicas ou do uso de anticoagulantes. Os autores verificaram que a utilização deste material biológico dispensava a terapia profilática de reposição, através de componentes plaquetários, e a suspensão da anticoagulação oral, além de reduzir a dose dos fatores de coagulação a ser administrada.

Em cirurgias periodontais, Calandriello et al. (1985) utilizaram também este material sem o uso da sutura a fio com resultados de maturação mais avançada do tecido epitelial quando comparado ao Grupo Controle com suturas convencionais.

Pini Prato et al. (1985) observaram menor inflamação em tecidos com implantes de adesivo fibrínico quando comparados histologicamente à sutura convencional com fio de seda.

Procedimentos cirúrgicos para fechamento de comunicações buco-sinusais foram realizados por Stajcic et al. (1985) empregando o adesivo fibrínico, sem realizar a sutura convencional do retalho, obtendo bons resultados clínicos.

Outro estudo sobre cirurgias periodontais com o uso de adesivo fibrínico foi realizado por Pini Prato et al. (1986), observando histologicamente em animais e clinicamente em pacientes, a utilização do adesivo de fibrina em cirurgia periodontal, mostrando as qualidades hemostáticas e adesivas do sistema que facilitaram a cirurgia e reduziram os tempos operatórios.

Zilch e Wolff (1987) realizaram um estudo experimental em cães para avaliar as propriedades do adesivo fibrínico com a adição de aprotinina e sem a adição da mesma, fazendo uma correlação da propriedade de inibição da fibrinólise com a provável capacidade de inibição da osteogênese por parte da aprotinina. Após 60 dias, não houve diferença significativa entre os grupos avaliados. Os autores ressaltam ainda que o adesivo fibrínico não possui propriedades de osteoindução.

Em um estudo com metodologia experimental realizado em cães, Dogan et al. (1992) avaliaram o emprego do adesivo fibrínico em defeitos de furca criados intencionalmente. Tais autores demonstraram que a aplicação do material não só preveniu a migração apical do epitélio como também forneceu um campo adequado à migração fibroblástica, nos casos de terapia periodontal em questão.

O estudo de Nascimento et al. (1996), utilizando adesivo tecidual baseado em cianocrilato, em ratos, constatou que este material obteve melhores resultados nos períodos de um a dez dias quando comparado a suturas convencionais.

Hallman et al. (2001) realizaram um estudo clínico em 20 pacientes submetidos a procedimentos de levantamento de seio maxilar utilizando a associação de enxerto ósseo xenógeno (Bio-Oss[®]) com enxerto ósseo autógeno e adesivo fibrínico. Realizou-se biópsia

para a análise, nos períodos de seis e 36 meses, com a instalação de implantes osseointegráveis. Os resultados demonstraram uma resposta positiva na formação óssea nos períodos observados.

Carmagnola et al. (2002) avaliaram a reparação óssea em defeitos de 4mm de diâmetro e 8mm de profundidade, em mandíbulas desdentadas de cães, utilizando como enxerto a matriz orgânica de osso bovino (Bio-Oss[®])³ no Grupo I e no Grupo II, a mesma matriz com adesivo fibrínico (Tissel[®]).⁴ Em ambos os grupos, utilizou-se uma membrana de colágeno. Os períodos avaliados foram de 30 e 90 dias. Os resultados mostraram que o Grupo I obteve uma alta porcentagem de contato entre as partículas da matriz e o tecido ósseo em comparação com o Grupo II. Os autores concluíram que o adesivo fibrínico pode prejudicar a união das partículas da matriz óssea bovina com o tecido ósseo.

Neste estudo, FUERST et al. (2004) analisaram os efeitos no selamento por adesivo fibrínico (FSPC; Tissucol Kit, Baxter, Viena, Áustria), com e sem fator de crescimento plaquetário (PRP), que foram investigados quanto à cicatrização óssea e à ação nos defeitos mandibulares corticais. Os defeitos foram realizados em mandíbula na face vestibular com uso de uma broca trefina em oito miniporcões adultos; as cavidades então foram preenchidas com adesivo fibrínico, adesivo fibrínico mais fator de crescimento plaquetário (PRP) e o Grupo Controle sem adição de material algum. Os animais foram sacrificados depois de quatro e oito semanas. Os espécimes foram processados para a histologia pelo método de Donath (1988) e corados com corante Levai-Laczko. Histologicamente, a osteogênese periosteal excedeu a formação endóssea. Nenhuma diferença foi observada na formação óssea entre os grupos preenchidos com adesivo fibrínico, o grupo de mistura com fator de crescimento plaquetário (PRP) e os controles nos períodos de quatro e oito semanas. Não houve diferença significativa entre os três grupos, em termos de porcentagem óssea

neoformada em quatro e oito semanas na análise histomorfométrica ($P = 0,6977$). Este estudo demonstrou que, para os grupos preenchidos com adesivo fibrínico, não houve aumento nem diminuição da quantidade de neoformação óssea em relação aos controles e que a adição do fator de crescimento plaquetário não teve efeito algum na regeneração óssea do osso cortical dos miniporcões no período de quatro e oito semanas.

MUNERATO (2005) avaliou a reparação óssea em defeitos realizados em crânios de coelhos utilizando enxerto ósseo autógeno e xenógeno com irrigação do ácido épsilon-aminocapróico e implante de adesivo fibrínico. Utilizaram-se 16 coelhos brancos (Nova Zelândia) machos e adultos, com idade acima de 12 meses e pesando entre três e quatro quilos. Foram realizados defeitos ósseos no crânio do animal utilizando uma broca trefina de 6,0mm. Posteriormente, estes defeitos foram preenchidos com materiais e divididos em grupos. O Grupo I (Controle) foi preenchido com coágulo sangüíneo do próprio animal. No Grupo II, os defeitos foram preenchidos com enxerto ósseo autógeno em associação com adesivo fibrínico e, no Grupo III, utilizou-se enxerto ósseo xenógeno e associação com adesivo fibrínico. Nos Grupos II e III realizou-se em suas cavidades irrigação prévia com 2ml da solução de 5% do ácido épsilon-aminocapróico, antes da inserção dos enxertos ósseos. Os animais foram escolhidos ao acaso e divididos em quatro grupos. Os períodos de sacrifício foram de sete, 15, 30 e 60 dias, em que foi realizada a análise microscópica descritiva com as lâminas coradas em HE e Alcian Ponceau. Os resultados demonstraram que todos os grupos experimentais permitiram a reparação óssea até o período de 30 dias e, no período de 60 dias, somente os Grupos I e II apresentaram manutenção do tecido ósseo neoformado. Neste período, o Grupo III, apresentou formação de tecido conjuntivo fibroso nos defeitos ósseos. A partir destes resultados, concluiu-se que a utilização do enxerto ósseo xenógeno não favoreceu a manutenção do tecido ósseo neoformado em associação com os biomateriais.

³ Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Suíça.

Ronald et al. (2005) propuseram através deste estudo: 1) testar se PRP ou fibrinas comercializadas podem aumentar a regeneração óssea comparadas com defeitos não tratados dessa forma e 2) testar se PRP ou fibrinas aumentam a regeneração óssea quando usadas como sistema de entrega para recombinar proteína morfogenética óssea humana 2 (rhBMP-2). Em 16 coelhos brancos (Nova Zelândia), quatro tiveram um defeito de 6mm de diâmetro quando perfuraram no osso da abóbada craniana. Para classificar os 64 defeitos, foram propostas cinco modalidades de tratamento: (0) grupo controle não tratado, (1) grupo tratado com fibrina, (2) grupo tratado com PRP, (3) grupo tratado com fibrina com 15µg rhBMP-2 e (4) grupo tratado com PRP com 15µg rhBMP-2. Para fibrina em gel e o PRP contendo rhBMP-2, 15µg rhBMP-2 foram incorporados pela precipitação dentro da matriz antes da geleificação. Após quatro semanas, os animais foram sacrificados e o osso da abóbada craniana removida para preparo histológico. A área de fração da nova formação óssea foi determinada em secções verticais do meio do defeito para análise histomorfométrica. A principal área de fração da nova formação óssea foi encontrada dentro de um defeito ósseo de 23,4% ($\pm 13,5\%$) no sítio controle, de 28,4 ($\pm 17,4\%$) na fibrina e 34,5% ($\pm 17,4\%$) no PRP. A análise estatística não revelou diferenças significativas no osso formado entre os três grupos (ANOVA). A adição de 15µg rhBMP-2 no gel de fibrina ($59,9 \pm 20,3\%$) e no gel de PRP ($63,1 \pm 25,3\%$) aumentou significativamente a formação óssea. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os sítios, onde PRP e fibrina foram usados como carregadores para rhBMP-2 (ANOVA). Concluindo, a aplicação de gel de fibrina ou de PRP em defeitos ósseos não é superior para tratar o defeito. Considerando uma quantidade de formação óssea, a aplicação de 15µg rhBMP-2 em defeitos ósseos acentua significativamente a cicatrização em quatro semanas. Nestes animais de teste, a avaliação de fibrina comercial e o gel de PRP autólogo são igualmente efetivos como sistema de carregamento para rhBMP-2.

⁴ Immuno AG, Viena, Áustria.

1.4 ÁCIDO ÉPSILON-AMINOCAPRÓICO (EACA)

O ácido épsilon-aminocapróico (EACA) atua tanto por inibição competitiva da ativação do plasminogênio, como por inibição da plasmina. Esta ação resulta numa redução da atividade fibrinolítica da plasmina.

Duckert e Nyman (1978) acreditam que a utilização do ácido épsilon-aminocapróico em associação com o adesivo fibrínico aumente a sua adesividade junto ao colágeno presentes nos tecidos.

Staindl et al. (1981) corroboram tal afirmação e recomendam a irrigação da ferida cirúrgica com este ácido, previamente à aplicação do implante de adesivo fibrínico, objetivando a maximização de suas propriedades biológicas.

Hermanson (1987) encontrou organização mais rápida do coágulo sangüíneo em feridas de extração dental em ratos tratados localmente com ácido épsilon-aminocapróico.

Rezende (1991) estudou histologicamente, em ratos estressados, a reparação de alvéolos dentais após a aplicação do adesivo fibrínico e observou que o material forneceu o suporte adequado para a proliferação fibroblástica favorecendo, assim, o reparo alveolar. Ademais, observou que este material foi absorvido precocemente no grupo que recebeu irrigação alveolar com solução a 5% de ácido épsilon-aminocapróico previamente ao implante do adesivo.

Okamoto et al. (1995) avaliaram histologicamente os efeitos do Tissucol[®] e Tissucol[®]/EACA sobre a reparação óssea em tíbias de ratos, nos períodos de um, três, sete, 14 e 21 dias. Os resultados histológicos mostraram que tanto o grupo com Tissucol[®] como o Tissucol[®]/EACA foram agentes hemostáticos efetivos. E ainda que o grupo Tissucol[®]/EACA não proporcionou reação de corpo estranho e não impediu a reparação óssea. Os

procedimentos de irrigação com solução a 5% do ácido épsilon-aminocapróico (EACA) antes do implante de adesivo fibrínico facilitaram a reabsorção do material.

Fattah (2002) avaliou histologicamente o efeito da aplicação do sistema adesivo fibrínico na superfície radicular de incisivos de ratos, associado à irrigação alveolar com ácido épsilon-aminocapróico. Os resultados mostraram que o grupo tratado com hipoclorito de sódio e adesivo fibrínico, associado ao EACA, apresentou discreta melhora na organização do tecido conjuntivo, nos períodos iniciais do reparo, e redução da reabsorção radicular, quando comparado ao grupo que foi tratado com hipoclorito de sódio e tetraciclina. O grupo tratado com hipoclorito de sódio, tetraciclina e adesivo fibrínico, associado ao EACA, apresentou melhor organização do tecido conjuntivo, nos períodos iniciais do reparo, e menor reabsorção radicular, quando comparados aos demais grupos.

Padovan (2002) realizou um estudo experimental que avaliou o processo de reparo de feridas de extração dental em ratos, após irrigação com solução a 5% do ácido épsilon-aminocapróico (EACA) e implante de adesivo fibrínico. As amostras foram avaliadas aos sete, 14 e 30 dias, constatando que o grupo que foi submetido à irrigação com a solução a 5% do EACA em adição do adesivo fibrínico obteve resultados semelhantes ao grupo controle, que foi preenchido com coágulo sangüíneo. Os resultados demonstraram também a propriedade de biocompatibilidade dos materiais analisados.

1.5 PLASMA RICO EM PLAQUETA (PRP)

Lynch et al. (1991) salientam que, quando se almejam os melhores prognósticos na formação óssea envolvendo terapias com enxertos, é fundamental dedicar atenção especial aos aspectos que influenciam o processo de reparação óssea como, por exemplo, os fatores de crescimento. Esses fatores são produzidos por diversas células, tais como plaquetas, fibroblastos, osteoblastos, condroblastos e outras células de origem mesenquimal. Os fatores

existentes nas plaquetas, por exemplo, são capazes de auxiliar as células ósseas no processo de reparo de lesões ósseas. O uso de fatores de crescimento foi então testado pelos autores que utilizaram o plasma rico em plaquetas e o fator semelhante à insulina em defeitos ósseos periodontais, circunferenciais. Neste trabalho, os autores encontraram um excelente crescimento ósseo nos grupos tratados com PRP, quando comparados com o Grupo Controle. Ainda em 1991, Lynch et al. testaram a mesma mistura de fatores de crescimento, desta vez, em defeitos ao redor de implantes. Os resultados foram semelhantes aos encontrados nos defeitos periodontais.

Becher e Lynch (1992) publicaram um trabalho em que comparavam a utilização de membranas de politetrafluoretileno expandido combinadas com fatores de crescimento derivados do plasma rico em plaquetas e osso desmineralizado. Os autores compararam os resultados com um grupo controle que utilizava somente membranas e coágulo. Os resultados mostraram um crescimento acentuado no processo de cicatrização óssea no grupo PRP.

Stefani et al. (1997) afirmam que, dentre os fatores de crescimento, cinco deles parecem muito promissores no campo da regeneração tecidual:

- O fator de crescimento derivado da plaqueta (PDGF) estimula o DNA e a síntese de proteína no osso, bem como a reabsorção óssea, atua como um potente agente mitogênico nas células mesenquimais, fibroblastos e células da musculatura lisa. O efeito do PDGF depende da presença de outros fatores de crescimento, servindo também como um poderoso quimiotático para células da musculatura lisa, fibroblastos, macrófagos e leucócitos. Em adição às propriedades angiogênicas, estimula o colágeno e a formação de matriz *in vivo*;
- O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) estimula o crescimento de cartilagem, formação de matriz óssea, pré-osteoblastos e osteoblastos. Pode agir

diretamente estimulando as células osteoblásticas, ativando-as e aumentando a atividade da fosfatase alcalina;

- O fator de crescimento transformador- β (TGF- β) encontrado em alta concentração nos ossos e plaquetas, sua principal função, consiste na estimulação da angiogênese, quimiotaxia e mitose dos precursores dos osteoblastos e inibição da formação e reabsorção pelos osteoclastos. O fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP's). A obtenção do PRP ocorre a partir do sangue autógeno, por meio de um processo que utiliza o princípio da separação celular por centrifugação diferencial, resultando em seqüestro e concentração de plaquetas (MARX, 1999).

Landesberg, Roy e Glickman (2000), com o intuito de verificar os níveis dos fatores de crescimento PDGF e TGF- β no gel de PRP obtido por meio de dois protocolos diferentes, realizaram estudo utilizando dois métodos de geleificação, ou coagulação do plasma obtido. Três voluntários hígidos, dois homens e uma mulher, doaram 5ml de sangue cada um, coletado em tubos *vacutainer* contendo 0,5ml de citrato de sódio a 10% ou ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 15%. O gel de PRP foi preparado utilizando-se ora o agente geleificador ITA (Netrex Technologies Inc., Greenville, EUA), ora a trombina bovina. A ambos acrescentou-se o cloreto de cálcio a 10%. Armazenou-se o preparo a 4°C, por uma noite, para que se procedesse a quantificação dos fatores de crescimento a serem analisados. Apesar de se observarem maiores danos às plaquetas quando utilizado o EDTA como anticoagulante, não se verificou diferença estatisticamente significante entre os níveis de PDFG e TGF- β com os diferentes agentes coagulantes.

Marx (2001) estabelece como sendo um volume de plasma autógeno que apresenta uma concentração plaquetária acima dos valores normais, cerca de 1.000.000/ μ l em 5ml de volume de plasma.

Weibrich, Kleis e Hafner (2002) analisaram os níveis de fatores de crescimento presentes no PRP preparado com dois sistemas comerciais diferentes, o *kit* PRP Curasan (Curasan, Kleinostheim, Alemanha) e o Sistema PCCS-PRP (3i/Implant Innovations, Palm Beach Gardens, EUA). Neste estudo considerou-se, ainda, o sangue total do doador e a contagem de plaquetas no PRP produzido. Para isto, coletou-se 54ml de sangue total de 46 pacientes hígidos, sendo 17 homens e 26 mulheres, que passou pelos procedimentos indicados pelos fabricantes. Após o preparo do PRP, este foi submetido ao teste ELISA para obter a concentração dos fatores de crescimento TGF- β 1, PDGF-AB e IGF-I, onde se observou que o TGF- β 1 foi dominante utilizando-se o sistema PCCS-PRP, enquanto que pelo sistema Curasan, o fator dominante foi o PDGF-AB. A concentração de plaquetas pelo método PCCS foi maior que o Curasan, 2.232.500/ μ l e 1.140.500/ μ l, respectivamente. Destacou-se que tal diferença poderia estar relacionada com a proporção celular encontrada nos dois preparos. Embora tenham sido constatados níveis maiores de fatores de crescimento com o *kit* PCCS-PRP, não se conseguiu explicar a importância biológica deste fato.

No mesmo ano, Weibrich e Kleis realizaram outro estudo comparativo utilizando os mesmos sistemas, em que participaram 47 pacientes, confirmando a superioridade do PCCS-PRP (3i/Implant Innovations, Palm Beach Gardens, EUA) sobre o PRP Curasan (Curasan, Kleinostheim, Alemanha) no que diz respeito ao número de plaquetas presentes no PRP.

Aghaloo, Moy e Freymiller (2002) avaliaram o desempenho do PRP associado ao osso autógeno no preenchimento de cavidades preparadas na calota craniana com 8mm de diâmetro em 15 coelhos, que foram preenchidos por enxerto autógeno, PRP e por uma mistura de osso autógeno e PRP. Uma das cavidades não recebeu material algum, servindo como

grupo controle. Realizou-se – nos períodos de um, dois e quatro meses – avaliação radiográfica por subtração digital, análise microscópica e histomorfométrica dos espécimes obtidos. Verificou-se um aumento significativo da área e densidade óssea nos grupos de osso autógeno sozinho e associado ao PRP em todos os períodos experimentais quando comparado ao grupo PRP isolado e controle.

Weibrich et al. (2003) testaram outros dois sistemas comerciais para obtenção e preparo do PRP, o Sistema SmartPREP (Harvest Technologies Corporation, Munique, Alemanha) e o método Friadent-Schütze PRP (Friadent-Schütze, Viena, Áustria). O número de plaquetas obtido diferiu significativamente entre os dois sistemas, com o *kit* Friadent-Schütze apresentando o melhor resultado (1.440.500(501.700)) que o SmartPREP (1.227.890(312.440)). O mesmo sistema também se mostrou superior com relação ao número dos fatores de crescimento TGF- α 1 e PDGF-AB. Os níveis de IGF-1 foram similares nos dois métodos.

Okuda et al. (2003) mostram preocupação semelhante, em trabalho em que confirmaram as altas concentrações dos fatores de crescimento PDGF-AB e TGF- α , 440,6% e 346,6% do plasma normal, respectivamente, e a ação positiva destes fatores sobre a proliferação de células osteoblásticas e fibroblásticas da gengiva e ligamento periodontal.

Jakse et al. (2003) propuseram-se avaliar a eficácia do PRP adicionado ao enxerto medular autógeno nos levantamentos de seios maxilares, utilizando ovelhas como modelo experimental. Doze animais receberam enxerto particulado da crista íliaca em ambos os seios maxilares, padronizando-se que o seio maxilar esquerdo receberia a adição do gel de PRP. Para cobertura das áreas, empregaram-se membranas de colágeno reabsorvíveis. Após quatro e 12 semanas, seis ovelhas de cada período receberam os implantes osteointegráveis. No mesmo momento cirúrgico, realizaram-se biópsias com brocas trefina para obtenção dos espécimes, que foram submetidos à análise histomorfométrica. Avaliaram-se a área de tecido

ósseo neoformado e a área de contato entre o enxerto e o osso neoformado. O tratamento estatístico dos resultados não mostrou diferenças significativas entre os grupos.

Chagas et al. (2004) citam em seu trabalho que identidade e compreensão dos fatores de crescimento e seu papel na engenharia tecidual levaram ao desenvolvimento de meios tecnológicos para utilizá-los. Uma das estratégias propostas é acelerar e otimizar os efeitos dos fatores de crescimento contidos nas plaquetas. Atualmente, isso é possível pelo uso do plasma rico em plaquetas (PRP), que é atóxico, não imunogênico e contém esses fatores em altas concentrações.

Pereira et al. (2004) esclarecem que o PRP em sua constituição básica possui três componentes: o plasma – formado por soro mais os diversos fatores de coagulação; os leucócitos – que conferem uma resistência natural a essa substância contra os processos infecciosos e/ou alérgicos; e as plaquetas – principais constituintes, capazes de liberar os desejados fatores de crescimento.

Fürst et al. (2003) realizaram levantamentos bilaterais dos seios maxilares em doze miniporcões, empregando-se para o preenchimento, de um lado, hidroxiapatita bovina (BioOssTM) e, do outro, o mesmo material misturado ao gel de PRP. Imediatamente, dois implantes de superfície maquinada foram instalados no interior do enxerto através da parede anterior do seio maxilar. Os animais foram sacrificados após três, seis e 12 semanas para obtenção dos espécimes para posterior análise microscópica e histomorfométrica. Como resultados, observaram que, nos períodos de três e seis semanas, o grupo experimental apresentou menor contato osso-implante na parede anterior do seio maxilar. Após 12 semanas, o grupo experimental alcançou o grupo controle, não havendo diferenças estatísticas significantes entre os grupos.

Wiltfang et al. (2004) visando avaliar a ação do PRP na regeneração de defeitos ósseos, combinado a osso autógeno, fosfato tricálcico (CeraSorbTM), osso bovino (Bio-OssTM) e

esponja de colágeno bovina (CollossTM), realizaram estudo utilizando como modelo experimental 24 miniporcões fêmeas. Foram realizados seis defeitos ósseos na região frontal com brocas trefina de 10mm de diâmetro, aprofundando-se 8mm, posteriormente preenchidos com os materiais a serem experimentados. Em todos os animais mantinha-se um dos defeitos vazio, servindo como grupo controle. Três defeitos foram preenchidos com osso autógeno ou um dos substitutos ósseos, sendo que em dois deles adicionava-se o PRP, obtido a partir de dois sistemas: Curasan e PCCS. Após duas, quatro e 12 semanas, os animais foram sacrificados para remoção dos espécimes. Os níveis mais altos de remineralização foram conseguidos com o uso do osso autógeno e do Colloss, 38 (9,9%) e 52,6 (4,0%), respectivamente, no período de duas semanas. Neste mesmo período, o grupo PRP *ad modum* PCCS apresentou melhora significativa do processo de reparo ósseo somente quando associado ao osso autógeno. No entanto, após quatro semanas, ambos preparados de PRP não mais aprimoraram o processo de reparo com o osso autógeno. No período de 12 semanas, os níveis de reossificação eram similares em todos os grupos.

Choi et al. (2005) relataram que estudos prévios mostraram que uma combinação entre plasma rico em plaquetas e enxerto de osso autógeno pode aumentar a taxa de osteogênese e, qualitativamente, pode aumentar a formação óssea. Porém, foram reportados resultados contraditórios em recente estudo realizado em um modelo animal. Para elucidar estas inconsistências, este estudo examinou a influência das concentrações de plasma rico em plaquetas na viabilidade e proliferação de células do osso alveolar *in vitro*. Foram expostas células ósseas obtidas de cortes de osso alveolar em várias concentrações de plasma rico em plaquetas. Depois de um período de cultura de sete dias, a viabilidade celular e a proliferação foram avaliadas contando-se o número de células e um ensaio de MTT. Os resultados mostraram que a viabilidade e a proliferação das células ósseas alveolares foram suprimidas através de concentrações elevadas de plasma rico em plaquetas, porém, foram estimuladas

através de baixas concentrações de protoplasma rico em plaquetas (1-5%). Estes resultados *in vitro* corroboram com os resultados observados em que as variações nas concentrações de protoplasma rico em plaquetas poderiam influenciar a formação óssea dentro dos enxertos tratados com o mesmo.

Sanchez et al. em (2005), com o propósito de avaliar a influência regenerativa do plasma rico em plaquetas (PRP) acrescido de enxertos ósseos xenogênicos ósseos em cães, analisaram noventa implantes dentais endósseos que foram inseridos nas mandíbulas de nove cães de caça. Três defeitos nas paredes mesial e distal periimplante foram cirurgicamente criados adjacentes aos implantes. Os defeitos foram designados fortuitamente a três grupos: osso seco e desmineralizado com protoplasma rico em plaqueta; osso seco e desmineralizado somente, e nenhum tratamento. Os animais foram sacrificados a um, dois e três meses, de acordo com um programa aleatório previamente estabelecido, e os espécimes foram submetidos à análise histomorfométrica. As porcentagens da área óssea dentro do implante, contato osso-implante e área óssea fora das linhas de implante foram registradas. Foram avaliados os efeitos do tratamento usando a análise dos modelos de discrepância.

RESULTADOS: O efeito dos três tratamentos nas medidas dos resultados não diferiu significativamente no tempo de cicatrização ($P > 0,05$ pelo tempo cicatricial e pela interação dos tratamentos). Porém, a média (divergência padrão) e a porcentagem de osso seco e desmineralizado com plasma rico em plaquetas e de somente osso seco e desmineralizado foi significativamente diferente entre os grupos de tratamento. Em particular, a porcentagem média de contato osso-implante diferiu entre os defeitos periimplante tratados com osso seco e desmineralizado com protoplasma rico em plaquetas e osso seco e desmineralizado (33,8% [11,0]) e aqueles tratados com osso seco e desmineralizado somente (28,5% [10,8]; $P = 0,042$), como também entre os do grupo sem tratamento (27,9% [11,0]; $P = 0,024$). Além disso, o percentual médio de área óssea fora das linhas de implante diferiu significativamente

entre os defeitos tratados com osso seco e desmineralizado com protoplasma rico em plaquetas comparado aos defeitos no grupo sem tratamento (51,6% [12,2] contra 43,3% [10,3]; $P = 0,005$). Houve evidências não conclusivas que sugeriram que a porcentagem média de área óssea dentro do implante e área óssea fora das linhas de implante eram significativamente diferentes em relação à extensão do tempo cicatricial ($P = 0,054$ e $P = 0,085$, respectivamente). **CONCLUSÃO:** Este estudo observou que a adição do plasma rico em plaqueta em enxertos ósseos xenogênicos demonstrou um baixo potencial regenerativo neste modelo animal.

Klongnoi et al. (2006) avaliaram efeitos benéficos no aumento do seio maxilar. O objetivo deste estudo foi o de avaliar em curto e em longo prazo o efeito plasma rico em plaquetas na osseointegração após uma única etapa cirúrgica de levantamento de seio em um estudo em animais em um longo prazo. Os pré-molares maxilares de 24 miniporcos foram extraídos bilateralmente e a cicatrização foi mantida durante dois meses. Subseqüentemente, todos os animais sofreram elevação bilateral do assoalho do seio, através de osso autógeno Biogran, como também com uma combinação de materiais com plasma rico em plaquetas (PRP). Três implantes dentais (Ankylos, Dentsply, Mannheim, Alemanha) foram instalados simultaneamente em cada seio maxilar. Foram sacrificados quatro animais em cada período de observação (um, dois, oito e 12 meses). Foram obtidas imagens de microrradiografias dos espécimes para avaliação quantitativa do contato osso-implante e imagens microscópicas em campo claro para análise qualitativa. Um incremento do contato osso-implante pode ser visto durante o tempo de observação em todos os grupos. O osso autógeno exibiu um nível de contato osso-implante de $25,1 \pm 9,96\%$ no período de um mês; $55,1 \pm 13,10\%$ no período de doze meses; na adição do plasma rico em plaquetas (PRP), o contato osso-implante variou de $28,4 \pm 4,64\%$ a $52,5 \pm 17,06\%$. O Biogran com e sem plasma rico em plaquetas conduziu a níveis de contato osso-implante de $16,3 \pm 4,64\%$ a $37,6 \pm 16,40\%$

e 21,7 + / - 4,33% a 46,6 + / - 19,37%, respectivamente. Os resultados deste estudo não mostraram um efeito significativamente positivo do plasma rico em plaquetas (PRP) no contato osso-implante seguido pelo aumento do seio maxilar em ambos os grupos.

Mirada et al. (2006) analisaram a cicatrização da interface dos enxertos autógenos *onlay* em três situações diferentes. Material e métodos: Dezesesseis coelhos submetidos a cirurgias de enxerto osso autógeno na calvária. Os enxertos ósseos em blocos foram posicionados em três situações diferentes: 1) contato direto entre o bloco de enxerto ósseo e o leito receptor; 2) enxerto de bloco ósseo com interposição de osso particulado e o leito receptor; 3) enxerto de bloco ósseo com interposição de plasma rico em plaquetas (PRP). Depois de sete, 15, 30, e 60 dias, os espécimes foram sacrificados para análise histológica e morfométrica. Resultados: Todos os grupos tiveram cicatrização normal e apresentaram incorporação dos enxertos depois de 30 dias. Uma formação de osso primário ligeiramente mais evidente poderia ser observada no grupo de PRP no primeiro período analisado e maturação mais cedo de osso no último período, embora não foram encontradas estatisticamente diferenças significantes entre os grupos. Conclusão: O uso de material adicional entre o enxerto ósseo e o leito de receptor não influenciou significativamente no processo de reparação, quando usada a técnica de *onlay* **devem ser considerados cuidadosamente**, levando-se em conta o tamanho da reconstrução e a relação de custo/benefício. A adição de PRP entre blocos de osso autógenos e o leito receptor não conferiu benefício significativo para o processo de reparação óssea em calvária de coelhos.

Wilson et al. (2006), no presente estudo propuseram-se a analisar os efeitos do PRP utilizado para reparar uma falha óssea diafisária segmentar de meia espessura e 2cm de comprimento produzida no rádio de coelhos Nova Zelândia. O perióstio foi ressecado na circunferência do local da falha e a cavidade medular foi selada com cera óssea em todos os animais para bloquear a chegada de células regeneradoras que não fossem do próprio osso,

mas dos tecidos vizinhos. Três grupos de 15 animais cada um foram planejados, de acordo com o procedimento realizado: 1) falha deixada vazia; 2) falha preenchida com o PRP; e 3) falha preenchida com um material inerte (Gelfoam[®]). Em cada grupo, os animais foram distribuídos em três subgrupos de acordo com o período de observação pós-operatória, de quatro, oito e 12 semanas, respectivamente, quando os animais foram mortos e o rádio foi ressecado para os estudos histológicos. Radiografias e cintilografias foram obtidas a intervalos de quatro semanas, começando na quarta semana pós-operatória. Cicatrização completa e remodelação foram observadas no Grupo II já na 8.^a semana, enquanto que nos Grupos I e III esse processo era apenas parcial na 12.^a semana. A captação do tecnécio estava aumentada em todos os grupos, assim permanecendo durante todo o período de observação nos Grupos I e III, mas diminuindo da 8.^a para a 12.^a semana no Grupo II, acompanhando o processo de remodelação, com diferenças significantes entre os grupos ($p < 0,05$).

Capítulo 2

Proposição



CAPÍTULO 2 – PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi avaliar, através da análise microscópica descritiva, o processo de reparo ósseo em defeitos críticos realizados em calotas cranianas de coelhos, preenchidas com:

1. Osso autógeno triturado associado com adesivo fibrínico previamente irrigado com solução a 5% do ácido épsilon-aminocapróico;
2. Osso autógeno triturado associado com plasma rico em plaquetas;
3. Osso autógeno triturado associado com coágulo sanguíneo espontâneo.



Capítulo 3
Material e método

CAPÍTULO 3 – MATERIAL E MÉTODO

3.1 MODELO EXPERIMENTAL

O presente estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa da Universidade do Sagrado Coração, segundo protocolo n.º 027/2005, na data de 20 de maio de 2005.

Foram utilizados 32 coelhos brancos (*Oryctolagus cuniculus*), da raça Nova Zelândia, machos e adultos, com idade acima de 12 meses e pesando entre três e quatro (FIGURA 1), subdivididos em dois grupos de 16 animais cada grupo. Os animais foram mantidos em gaiolas unitárias, à temperatura ambiente, sendo alimentados com ração sólida⁵ e água à vontade durante todo o período do procedimento experimental (60 dias), que foi realizado no Biotério da Universidade do Sagrado Coração.



Figura 1: Coelho da raça Nova Zelândia utilizado neste estudo experimental.

⁵Ração Procoelho Primor, São Paulo – Brasil.

3.2 SUBSTÂNCIAS E PRODUTOS UTILIZADOS NO ESTUDO EXPERIMENTAL

3.2.1 ADESIVO FIBRÍNICO

O sistema adesivo fibrínico (Tissucol[®]),⁶ é fornecido em estojos de um, dois ou cinco mililitros e cada estojo contém cinco frascos-ampola (FIGURA 2), com os seguintes componentes:

Fibrinogênio Humano (75-115mg/ml)

Trombina Humana (4UI/ml) – solidificação lenta

Trombina Humana (500UI/ml) – solidificação rápida

Aprotinina (3000KIU/ml)

Cloreto de Cálcio (40mmol/l)

⁶ Immuno AG, Viena, Áustria.



Figura 2: *Kit* Tissucol[®] 1,0ml (adesivo fibrínico).

O fibrinogênio é reconstituído com a aprotinina, e a trombina é reconstituída com o cloreto de cálcio. Estas duas soluções reagem imediatamente quando colocadas em contato, resultando no produto final, que deve ser empregado em um período de até quatro horas.

Para a reconstituição do adesivo fibrínico liofilizado utilizou-se o Fibrinotherm[®],⁷ que aquece a uma temperatura de 37°C, da seguinte maneira:

- 1) Pré-aquecimento dos frascos contendo o adesivo fibrínico liofilizado e a solução de aprotinina durante cerca de dez minutos.

⁷ Baxter AG, Viena, Áustria.

- 2) Transferência da solução de aprotinina para o frasco contendo o adesivo fibrínico liolifizado, utilizando a seringa com graduação em azul ou a mesma utilizada para a diluição da solução de aprotinina.
- 3) Recolocação do frasco com solução de adesivo fibrínico a 37°C, durante um minuto.
- 4) Agitação do frasco com solução de adesivo fibrínico com movimento giratório lento, para não formar espuma excessiva. Em seguida, recolocação do frasco no Fibrinotherm[®] a 37°C por um período de 10 a 15 minutos.

3.2.1.1 Preparação da solução de adesivo fibrínico

Após o aquecimento dos frascos, a reconstituição de adesivo fibrínico liolifizado se faz com a adição da solução de aprotinina de 3000KIU/ml, utilizando uma seringa estéril com graduação em azul contida na embalagem (FIGURA 3).



Figura 3: Preparo da solução de adesivo fibrínico, através da adição de aprotinina.

3.2.1.2 Preparo da solução de trombina

Dependendo da concentração de trombina que se deseja, realiza-se a transferência da quantidade apropriada do frasco de solução de cloreto de cálcio ou para o frasco de trombina 500 liofilizada (solidificação rápida) ou para o frasco de Trombina 4 (solidificação lenta). Para o preparo da solução de trombina 500 liofilizada (solidificação rápida), utilizou-se uma seringa estéril, com graduação em preto contida na embalagem (FIGURA 4).



Figura 4: Preparo da solução de trombina, através da adição de cloreto de cálcio.

3.2.1.3 Método de administração

Os componentes do adesivo são aplicados por um sistema duploject[®],⁸ que consiste em um berço para duas seringas descartáveis idênticas e um êmbolo comum, através do qual é

⁸ Baxter AG, Viena, Áustria.

possível suprir volumes iguais dos dois componentes, através de uma peça de função comum, antes de se misturarem na agulha de aplicação e serem injetados (FIGURA 5).

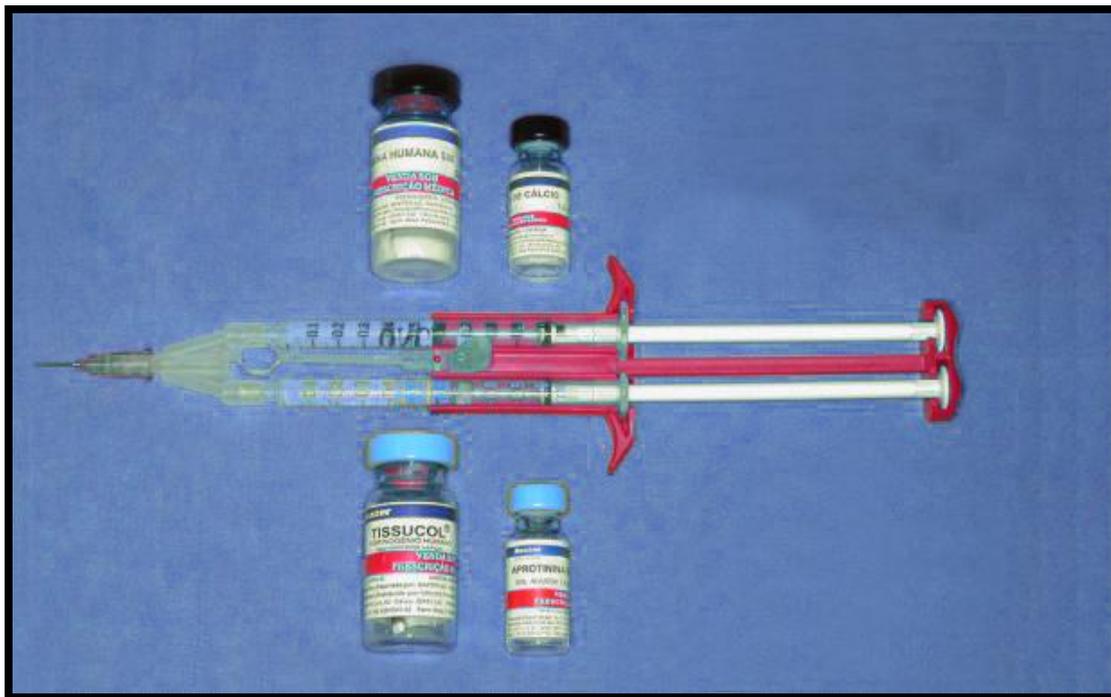


Figura 5: Método de administração do adesivo fibrínico com sistema duploject[®].

3.3 ÁCIDO ÉPSILON-AMINOCAPRÓICO (EACA)

A solução a 5% de ácido épsilon-aminocapróico, foi obtida através da fragmentação de dez comprimidos de Ipsilon^{®9} com 500mg cada (FIGURA 6), dissolvido em 100ml de água destilada, segundo Padovan (2002).

⁹ Química e Farmacêutica Nikkho do Brasil Ltda., Ilha do Governador, Brasil.

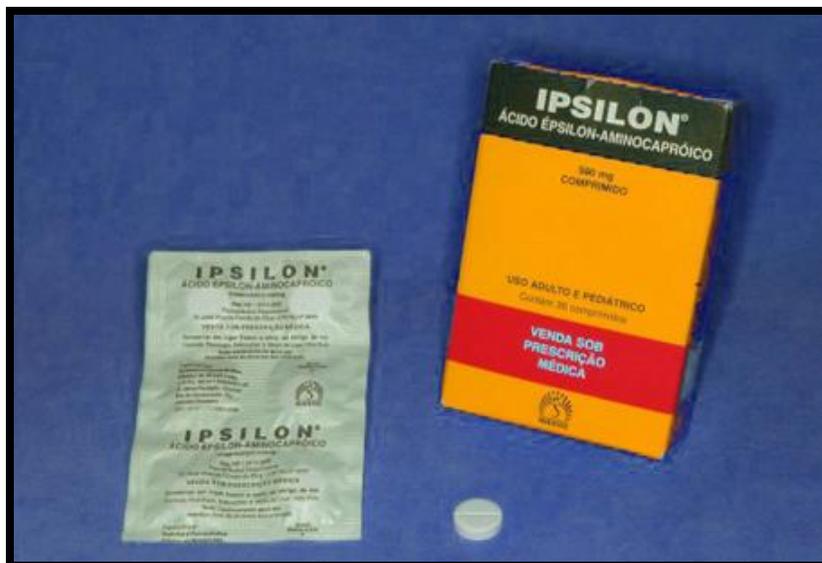


Figura 6: Ácido épsilon-aminocapróico.

3.3.1 OSSO AUTÓGENO CORTICAL TRITURADO

Realizou-se a remoção do enxerto ósseo autógeno cortical dos ossos parietais do crânio dos animais, utilizando broca trefina de 10mm com irrigação constante de solução fisiológico a 0,9%. O osso autógeno cortical foi triturado individualmente com o auxílio de um triturador ósseo manual em forma de pilão¹⁰ (FIGURAS 7 e 8).

¹⁰ Sem marca comercial – confeccionado em aço inox com auxílio de torno mecânico.

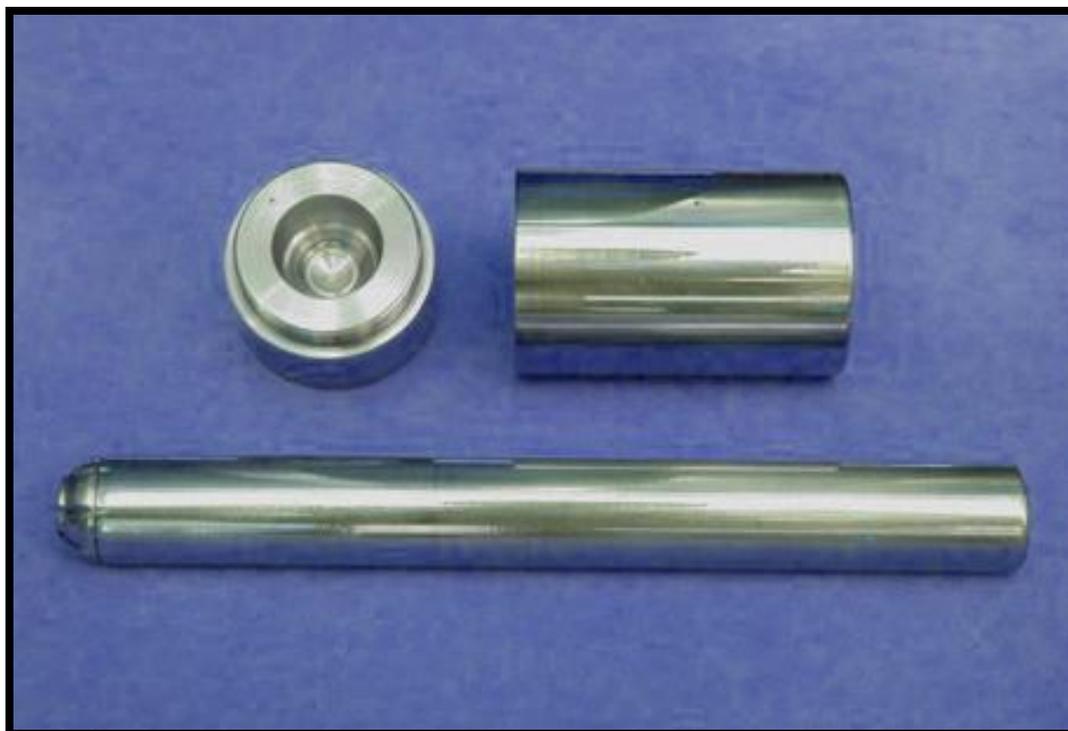


Figura 7: Triturador ósseo manual em forma de pilão.

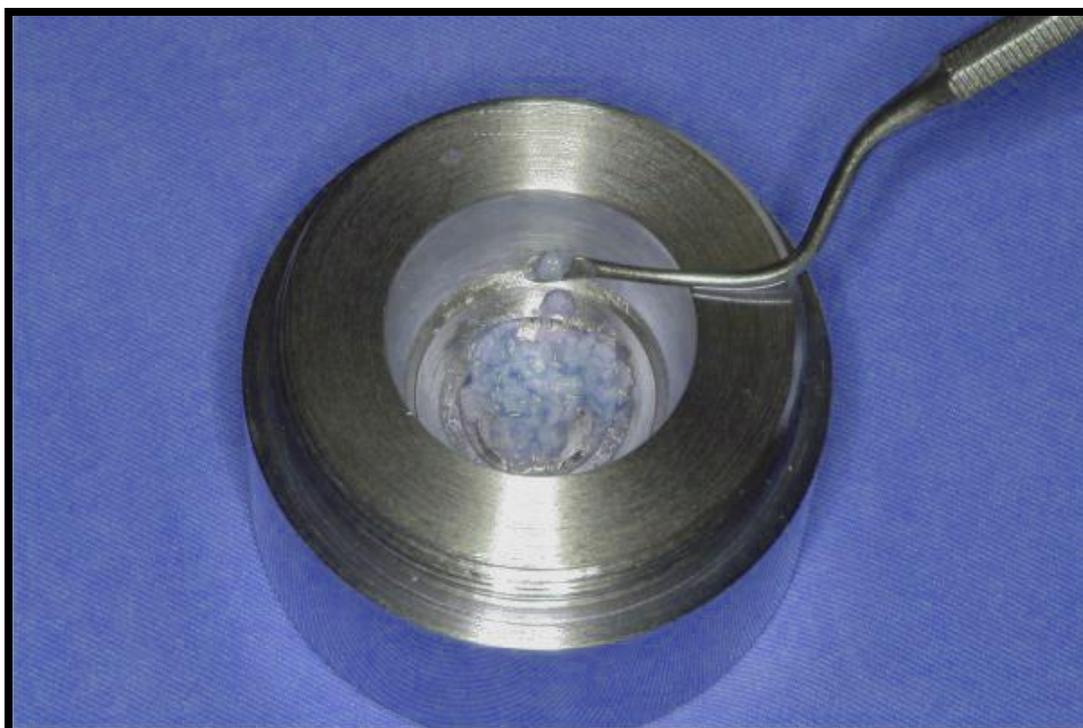


Figura 8: Enxerto ósseo autógeno cortical triturado.

3.3.2 PREPARAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO PLASMA ENRIQUECIDO EM PLAQUETA

Previamente aos procedimentos cirúrgicos, os 16 coelhos do Grupo I foram submetidos a coleta de 10ml de sangue de cada animal para obtenção do plasma enriquecido em plaquetas (PRP) este procedimento foi realizado sob a orientação de um veterinário conjuntamente com um técnico em veterinária.

3.3.2.1 Procedimento para coleta sanguínea

Preparo inicial, animal posicionado em decúbito ventral e imobilizado desta forma procede-se à anti-sepsia da região do tórax com o uso de solução alcoólica a 70%; em seguida, inicia-se a punção intracardíaca para coleta do sangue, utilizando seringa hipodérmica de 10ml e agulha 30x8 (FIGURA 9).



Figura 9: Punção intracardiaca.

A partir da coleta, transferiu-se o sangue para dois tubos *vacutainer* de 5ml contendo citrato de sódio a 10%, mantido em homogeneização constante para evitar a coagulação do mesmo, sendo este imediatamente enviado para o Laboratório de Análises Clínicas (LAC) da Clínica de Educação para Saúde (CEPS) da Universidade Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, para a obtenção do gel de PRP pela Biomédica responsável do LAC.

3.3.2.2 Preparo para obtenção do de PRP

Para o preparo do gel de PRP, os tubos *vacutainer* contendo o sangue total do animal foram colocados na centrífuga Excelsa Baby I modelo 206 (Fanem, São Paulo, Brasil), sendo esta balanceada a 3.000rpm por cinco minutos, para separação das hemácias do plasma. Posteriormente, coletou-se o plasma obtido com o uso de pipetas automáticas Petcelm, que foi novamente levado à centrífuga em velocidade de 3.000rpm por dez minutos, conseguindo-se assim o plasma pobre em plaquetas e o plasma rico em plaquetas (FIGURA 10).



Figura 10: Centrifugação para obtenção do plasma.

Em temperatura ambiente, o plasma pobre em plaquetas foi desprezado e o plasma enriquecido em plaquetas levado a um gral de vidro estéril, sendo adicionado 1ml de cloreto de cálcio a 10% e 1ml de trombina humana (Dade Innovin, Dade Behring Inc., Newark, EUA). Após alguns minutos, observou-se a formação do gel de PRP, cuja consistência permitia a sua manipulação com pinça clínica.

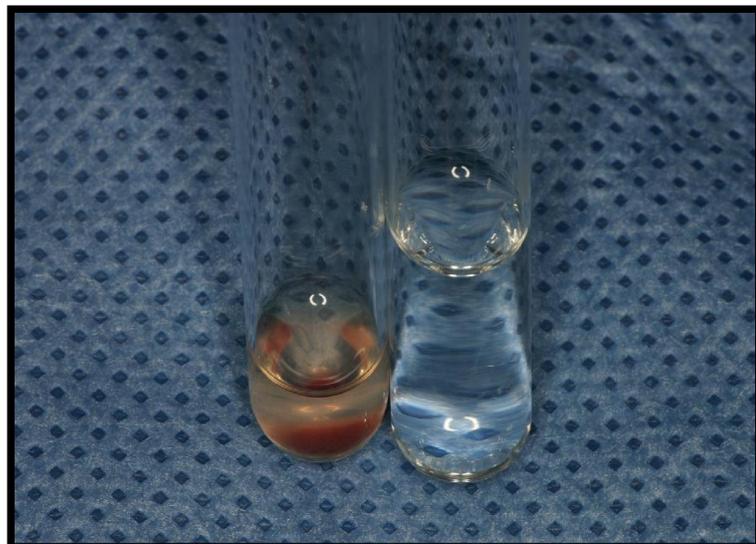


Figura 11: Plasma rico em plaquetas.

Para confirmação do número de plaquetas encontradas no PRP, foi realizada a contagem das mesmas em coelho não incluído no experimento, em aparelho Coulter, modelo STKS (USA), sendo verificada a presença de 1.200.000 plaquetas/cm³.

3.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

3.4.1 ANESTESIA

Inicialmente, os animais foram submetidos à anestesia geral por meio de injeção intramuscular, com seringa¹¹ de 3ml e agulha¹² 25X7, na região medial do membro pélvico, com um relaxante muscular Virbaxyl^{®13} (Xilazina a 2%), na dose de 1ml/kg e em seguida com um anestésico geral Vetaset^{®14} (Cloridrato de Quetamina), na dose de 0,25ml/kg (FIGURA 12). Após este procedimento, realizou-se a administração de uma dose profilática de

¹¹ Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda., Ourinhos, Brasil.

¹² Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba, Brasil.

¹³ Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda., Roseira, Brasil.

¹⁴ Fort Dodge, Iowa, USA.

antibiótico Sulfamax^{®15} (Sulfadiazina) de largo espectro com dosagem de 0,2mg/kg, através de injeção intramuscular na região medial do membro pélvico.



Figura 12: Medicação utilizada para manter os animais em plano anestésico adequado.

3.4.2 TRICOTOMIA E ANTI-SEPSIA

Com o animal em plano anestésico adequado, realizou-se a tricotomia da derme (região fronto-parietal) do crânio, utilizando-se para este fim uma tesoura de mayo e um tricótomo. A anti-sepsia foi realizada com gaze embebida em solução tópica de PVP-I a 1%¹⁶ (polivinilpirrolidona-iodo a 1%), sendo então posicionados os campos estéreis e fixados com o uso de pinças Backhaus (FIGURA 13).

¹⁵ Vallée S/A, Montes Claros, Brasil.

¹⁶ Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil.

3.4.3 ATO CIRÚRGICO

Após a completa montagem do campo operatório, procedeu-se à complementação anestésica local com infiltração subperiosteal do anestésico Mepiadre^{®17} (cloridrato de mepivacaína a 2% com adrenalina 1:100.000) na região dos ossos parietais do crânio (FIGURA 14), para hemostasia local. Realizou-se uma incisão no sentido longitudinal nesta região do crânio com lâmina n.º 15,¹⁸ montada em cabo de bisturi n.º 3, de aproximadamente 4cm. Posteriormente, procedeu-se descolamento dermo-periosteal com descolador de *molt* para exposição do tecido ósseo (FIGURAS 15, 16 e 17).

Com auxílio de broca trefina,¹⁹ de diâmetro interno de 10,0mm, montada em contra-ângulo 16:1 Anthogyr²⁰ com motor elétrico Anthogyr^{®21} (10.000rpm) e irrigação constante com solução de soro fisiológico a 0,9%,²² foram realizadas duas perfurações bicorticais na região dos ossos parietais de 11mm de diâmetro e equidistantes em 4mm aproximadamente expondo, assim, a meninge no interior dos defeitos ósseos (Figura 18, 19 e 20), expondo assim a meninge no interior dos defeitos ósseos.



Figura 13: Anti-sepsia e campos estéreis.

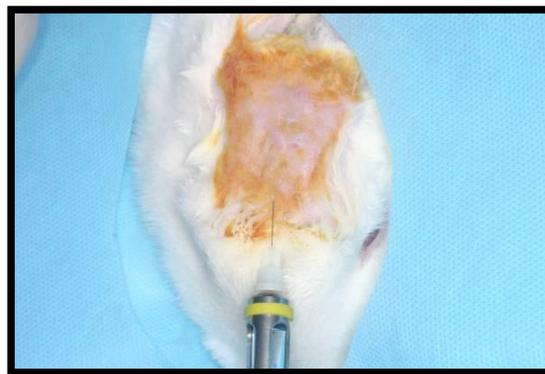


Figura 14: Infiltração subperiosteal.

¹⁷ DFL, Rio de Janeiro, Brasil.

¹⁸ Indústrias Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora, Brasil.

¹⁹ Neodent, Curitiba, Brasil.

²⁰ Anthogyr, Paris, França.

²¹ Anthogyr, Paris, França.

²² Darrow Laboratórios, Rio de Janeiro, Brasil.



Figura 15: Incisão no sentido longitudinal.



Figura 16: Incisão no sentido longitudinal.



Figura 17: Descolamento dermo-periostal.



Figura 18: Broca trefina de 10mm.

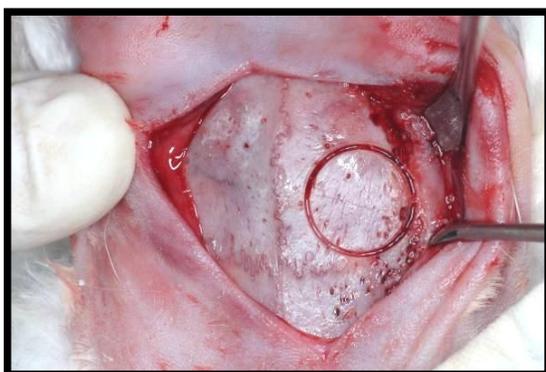


Figura 19: Perfuração bicortical.

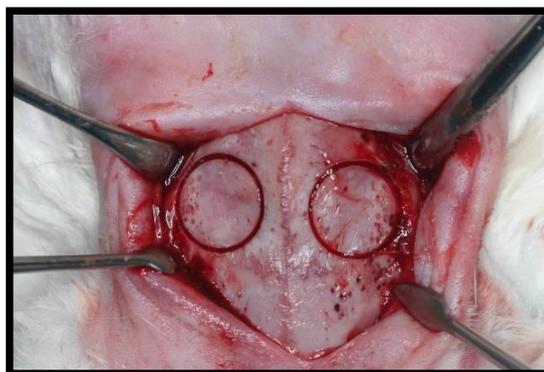


Figura 20: Perfuração bicortical.

Os defeitos ósseos foram preenchidos com diferentes materiais, formando quatro grupos:

Grupo I – Coágulo sanguíneo espontâneo do próprio animal (Controle).

Grupo II – Osso autógeno cortical triturado mais gel de plasma enriquecido em plaqueta (PRP).

Grupo III – Osso autógeno cortical triturado mais adesivo fibrínico irrigado com EACA.

Grupo IV – Osso autógeno cortical triturado com coágulo sanguíneo espontâneo do próprio material.

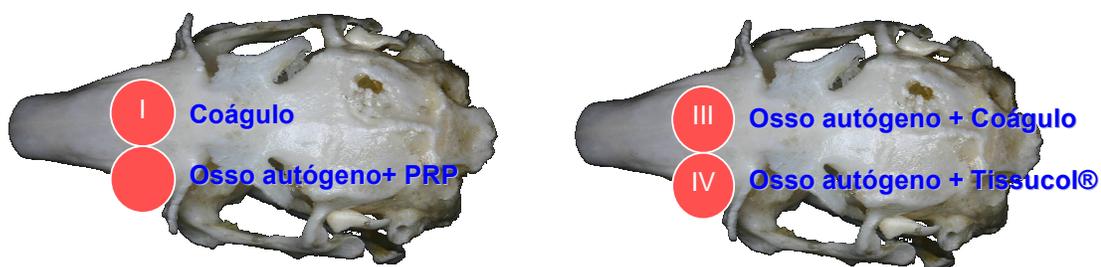


Figura 21: Esquema dos grupos.

No Grupo I (Controle), realizou-se a irrigação com 2ml da solução de soro fisiológico a 0,9%, e preenchimento do defeito ósseo com coágulo sanguíneo (FIGURA 26).

No Grupo II, realizou-se irrigação 2ml da solução de soro fisiológico a 0,9%, e preenchimento do defeito ósseo com osso cortical (crânio) triturado manualmente juntamente com plasma enriquecido em plaquetas (FIGURAS 24, 25, 26).

No Grupo III (Irrigação com EACA + Osso autógeno cortical triturado + Adesivo fibrínico), utilizou-se irrigação com 2ml da solução a 5% de ácido épsilon-aminocaprílico, seguido do preenchimento do defeito ósseo com enxerto osso autógeno cortical (crânio) triturado manualmente e a aplicação de 0,3ml do adesivo fibrínico (FIGURAS 30, 31, 32 e 33).

No Grupo IV, realizou-se irrigação em 2ml da solução de soro fisiológico a 0,9%, e preenchimento do defeito ósseo com osso cortical (crânio) triturado manualmente (FIGURAS 28 e 29).

Após o preenchimento dos defeitos ósseos com seus respectivos materiais, foi realizado o reposicionamento do perióstio, através de sutura interna com ponto simples, utilizando fio de sutura Vicryl^{®23} 4-0 (poliglactina 910) e também sutura externa da derme (FIGURAS 27 e 34).

²³ Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil.

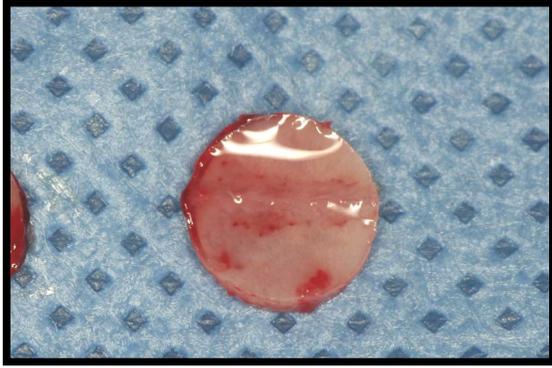


Figura 22: Cortical da calota craniana.

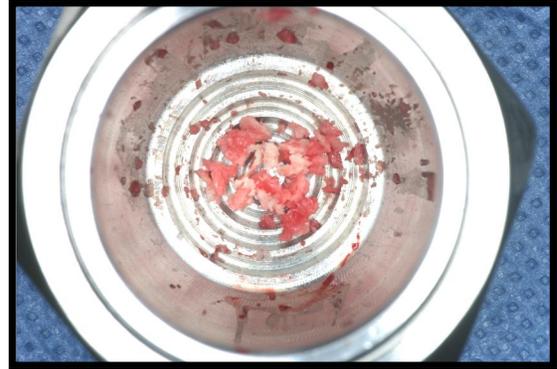


Figura 23: Cortical triturada.

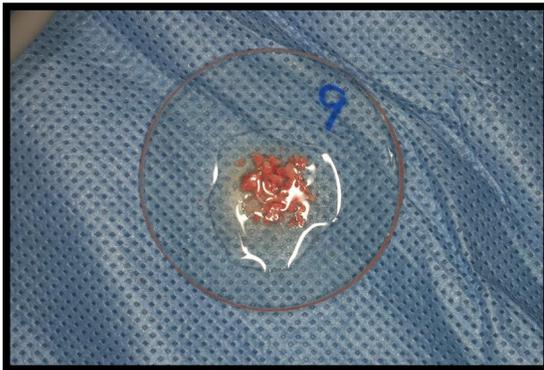


Figura 24: Osso autógeno + PRP.

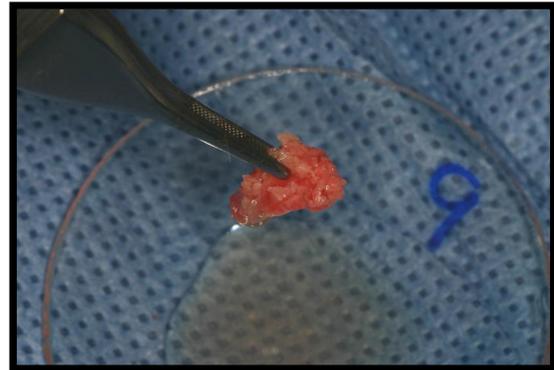


Figura 25: Conj. sendo levado à cavidade.

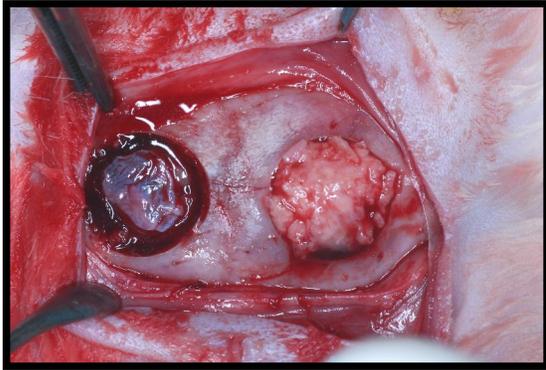


Figura 26: Cavidades com coágulo e PRP.



Figura 27: Sutura.



Figura 28: Remoção da cortical.

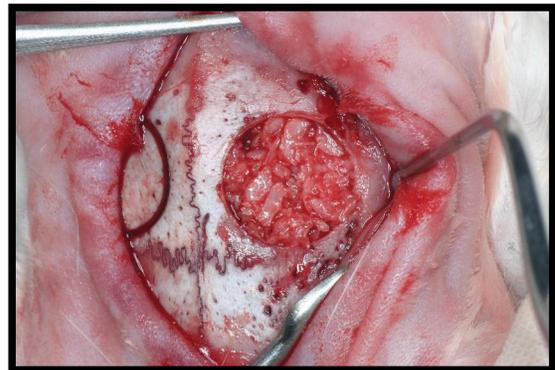


Figura 29: Osso autógeno.

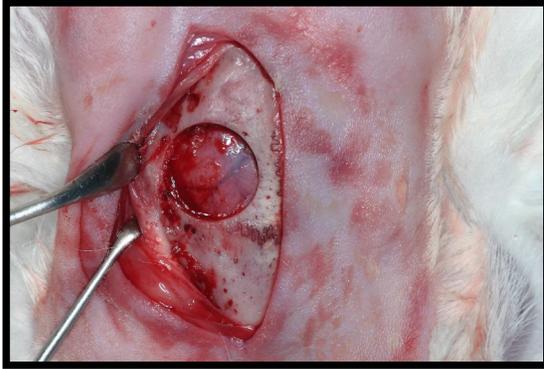


Figura 30: Grupo adesivo fibrínico.

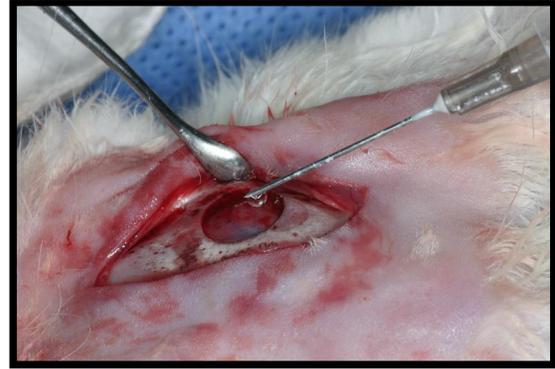


Figura 31: Irrigação com EACA.

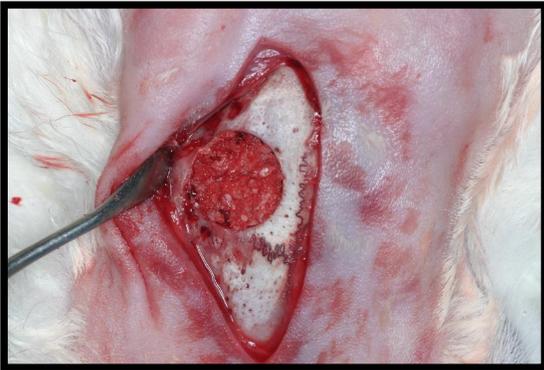


Figura 32: Osso autógeno.

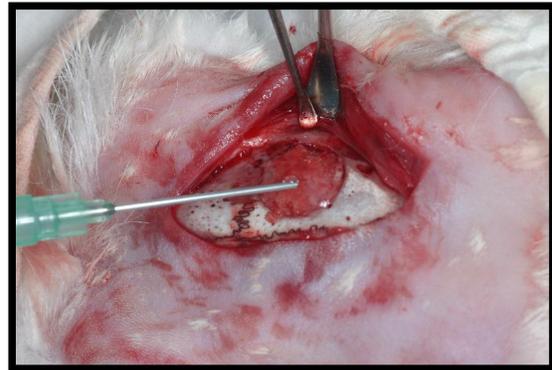


Figura 33: Aplicação do adesivo fibrínico.

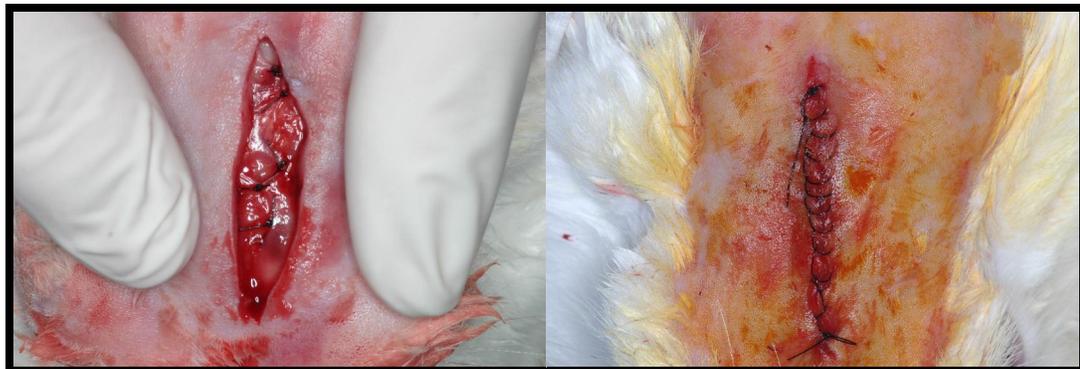


Figura 34: Suturas e aplicação de rifocina.

3.5 CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram medicados através de injeção intramuscular, com seringa de 3ml e agulha 25X7, na região medial do membro pélvico com analgésico D-500²⁴ (dipirona sódica 500mg) 0,33ml/kg, em dose única. Os mesmos foram mantidos em gaiolas individuais, com ração sólida e água à vontade durante todo o experimento, até os períodos de eutanásia.

3.6 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE

Após sete, 15, 30 e 60 dias do procedimento cirúrgico, os animais foram selecionados ao acaso, em número de quatro por período, e sacrificados através de injeção endovenosa de Hypnol 3%²⁵ (Pentobarbital Sódico) com 1,2ml/kg, para obtenção das amostras.

Para a remoção das peças ósseas, foi utilizado o mesmo acesso cirúrgico, com descolamento dermo-periosteal amplo, utilizando discos de *carborundum* montados em peça reta com motor elétrico Vector DTCEB. As amostras foram identificadas e acondicionadas em frascos contendo formaldeído a 10% por um período de 48 horas.

Posteriormente, as amostras foram submetidas a processo de desmineralização em solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10% tamponado com pH 7,0, e com trocas realizadas duas vezes por semana por 60 dias, aproximadamente, até que não apresentassem resistência ao corte com navalha. As amostras foram então lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina.

Realizaram-se cortes semi-seriados de 5µm de espessura de cada bloco utilizando-se micrótomo rotatório elétrico Leica RM. Empregaram-se para as análises os cortes centrais das amostras correspondendo ao diâmetro dos defeitos ósseos.

Os métodos de coloração empregados foram o da hematoxilina-eosina de Harris (HE) e Tricrômico de Masson, preconizados e registrados nos protocolos técnicos do Laboratório de Histologia do Curso de Biologia da Universidade do Sagrado Coração.

3.7 CRITÉRIOS PARA ANÁLISE MICROSCÓPICA DESCRITIVA

Para obtenção dos dados compatíveis com a proposta deste estudo, foi realizada a análise microscópica descritiva das lâminas, buscando estabelecer a condição de reparo ósseo dos diferentes grupos. A leitura das lâminas foi feita com auxílio de microscópio Olympus CBS binocular, analisando os fenômenos de neoformação e remodelação óssea, bem como a manutenção e o grau de reabsorção do osso enxertado. Os dados obtidos a partir da identificação dos critérios morfológicos microscópicos foram descritos e registrados por meio de fotomicrografias digitais.

²⁴ Fort Dogde, Campinas, Brasil.

²⁵ Fontoveter, Itapira, Brasil.



Capítulo 4
Resultados

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS

Grupo Controle: No pós-operatório de sete dias, observou-se cavidade preenchida por coágulo e tecido de granulação. Em um dos espécimes, notou-se discreta deposição de osso neoformado na periferia do defeito. Aos 14 dias, predominou a presença de tecido conjuntivo fibroso no interior do defeito ósseo. No período de 30 dias, permanecia o tecido conjuntivo fibroso, com presença de eventuais trabéculas ósseas neoformadas. Aos 60 dias, ainda há presença de tecido conjuntivo fibroso, permeado por eventuais trabéculas ósseas. Periféricamente, notou-se a formação de osso primário a partir das paredes do defeito.

Grupo Osso Triturado: No período de sete dias, visualizaram-se vários fragmentos ósseos não viáveis permeados por tecido de granulação e coágulo. Notou-se atividade osteoclástica na maioria dos fragmentos, com deposição de osso neoformado sobre o osso enxertado. Na periferia do defeito também foi possível visualizar neoformação óssea a partir da parede óssea. O período de 14 dias revelou intensa atividade osteogênica e osteocondutora ao redor dos fragmentos ósseos não viáveis. De permeio, tecido conjuntivo ricamente celularizado e vascularizado. Aos 30 dias, o defeito mostrava-se preenchido por trabéculas ósseas em fase de remodelação, com presença de eventuais fragmentos ósseos não viáveis. A medula óssea era constituída predominantemente por tecido adiposo. No período de 60 dias, observou-se tecido ósseo maduro lamelar, com áreas de remodelação.

Grupo PRP: Aos sete dias, notaram-se vários fragmentos ósseos não viáveis permeados por tecido de granulação. Nas regiões periféricas do defeito observou-se deposição de osso primário. Observou-se, ainda, discreta atividade osteoclástica do osso enxertado nos espécimes. O volume do tecido em reparação apresentava-se com maior volume que o osso original. No 14.º dia, notou-se a presença de eventuais fragmentos ósseos não viáveis servindo como osteocondutores, com intensa formação de osso primário, resultando em maior volume que o osso adjacente. De permeio, verificou-se tecido conjuntivo fibroso ricamente celularizado, com focos de tecido adiposo. No período de 30 dias, o defeito apresentava-se parcialmente preenchido por trabéculas ósseas em remodelação, conferindo volume maior que o osso original, com medula óssea predominantemente amarela. No período de 60 dias, o defeito mostrava-se preenchido por tecido conjuntivo fibroso com eventuais trabéculas ósseas

ora em remodelação, ora constituídas por osso neoformado substituindo a porção central de osso não viável, com espessura igual ou menor do que o osso adjacente ao defeito ósseo.

Grupo Adesivo Fibrínico: O período de sete dias apresentou, no interior do defeito, fragmentos de tecido ósseo não viável, permeados por tecido de granulação. Observou-se atividade osteoclástica, com deposição de osso neoformado. Aos 14 dias, notou-se presença de fragmentos ósseos não viáveis servindo como osteocondutores, com intensa deposição de osso primário sobre os mesmos. De permeio, observou-se tecido conjuntivo fibroso ricamente celularizado, com focos de tecido adiposo. No 30.º dia, o defeito mostrou-se preenchido por trabéculas ósseas em remodelação, com medula óssea predominantemente amarela, por vezes com volume maior que o osso original. No período de 60 dias, a maioria das trabéculas apresentava-se maduras, com predomínio de medula óssea amarela. No entanto, neste período, ainda era possível visualizar áreas de osso enxertado sendo substituído por osso neoformado.

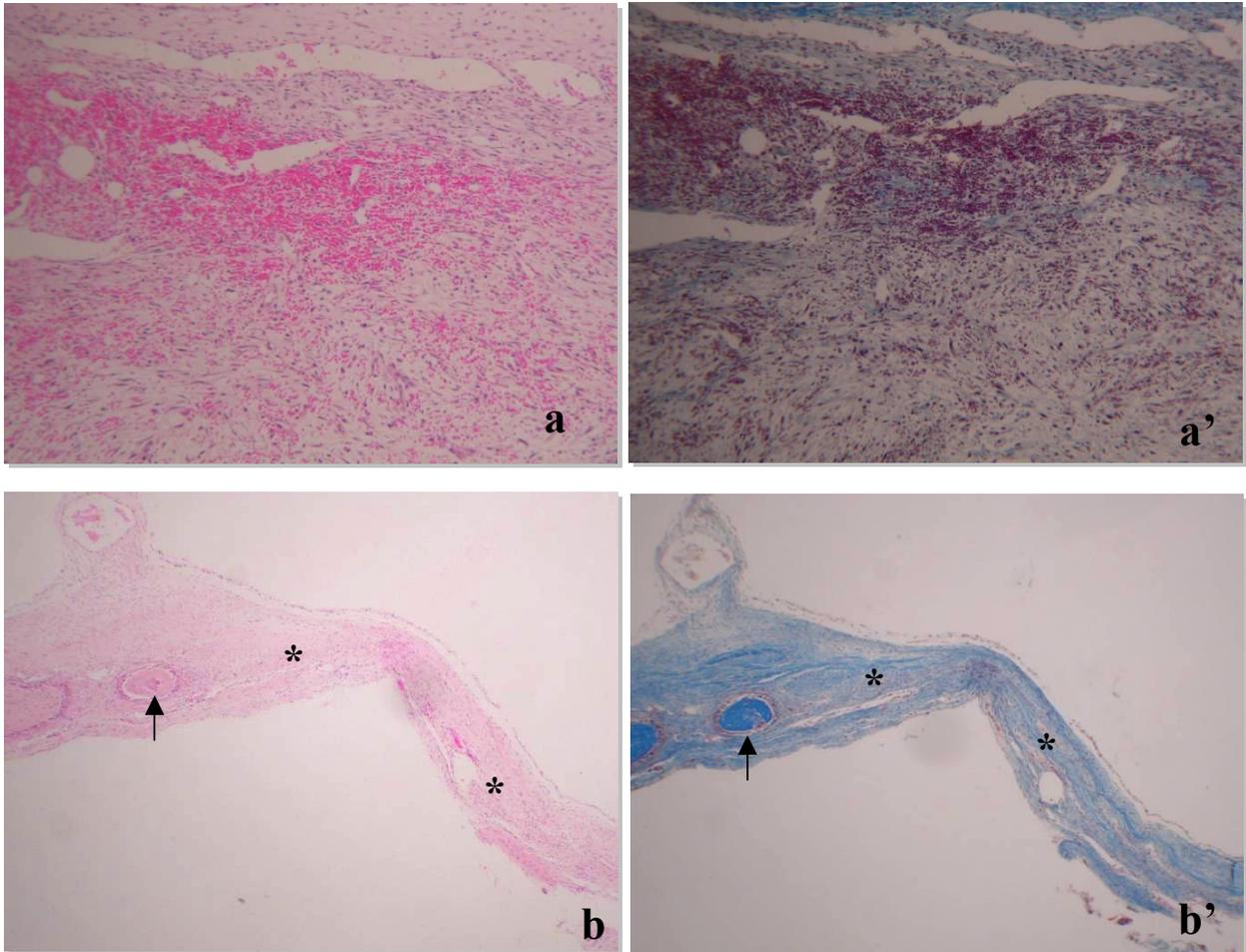


Figura 35: Grupo controle: a, a') 7 dias – defeito ósseo preenchido por coágulo; b, b') 14 dias – predomínio de tecido fibroso no interior da cavidade (*), com eventuais áreas de neoformação óssea (seta) (a – HE, aumento original ~ 20x; a' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 20x; b, b' – HE e Tricrômico de Masson, aumento original ~ 10x).

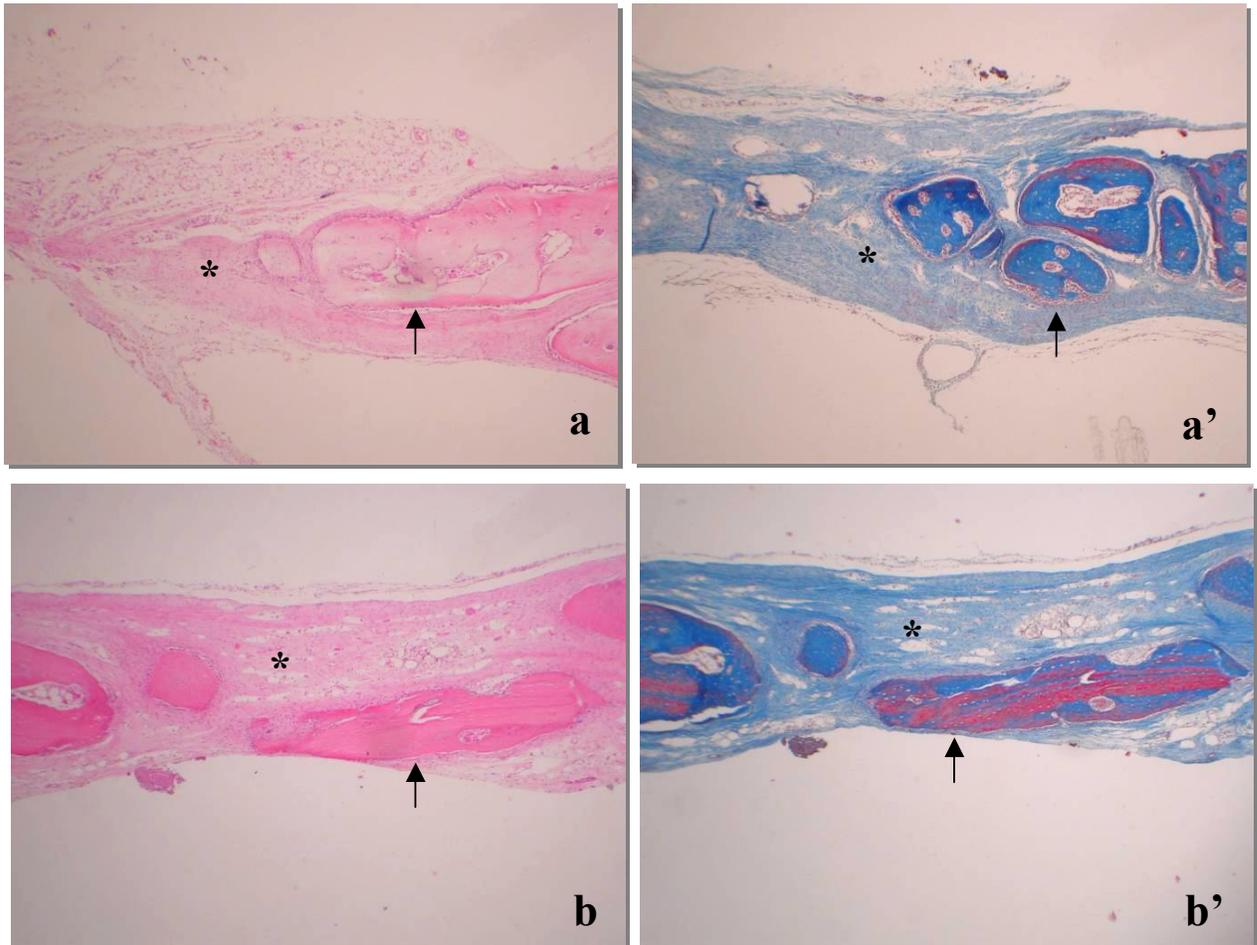


Figura 36: Grupo controle: a, a') 30 dias – permanência de tecido conjuntivo fibroso (*) com eventuais trabéculas ósseas, predominantes na região periférica do defeito; b, b') 60 dias – predomínio de tecido fibroso no interior da cavidade (*), com limitada formação óssea (seta) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 10x).

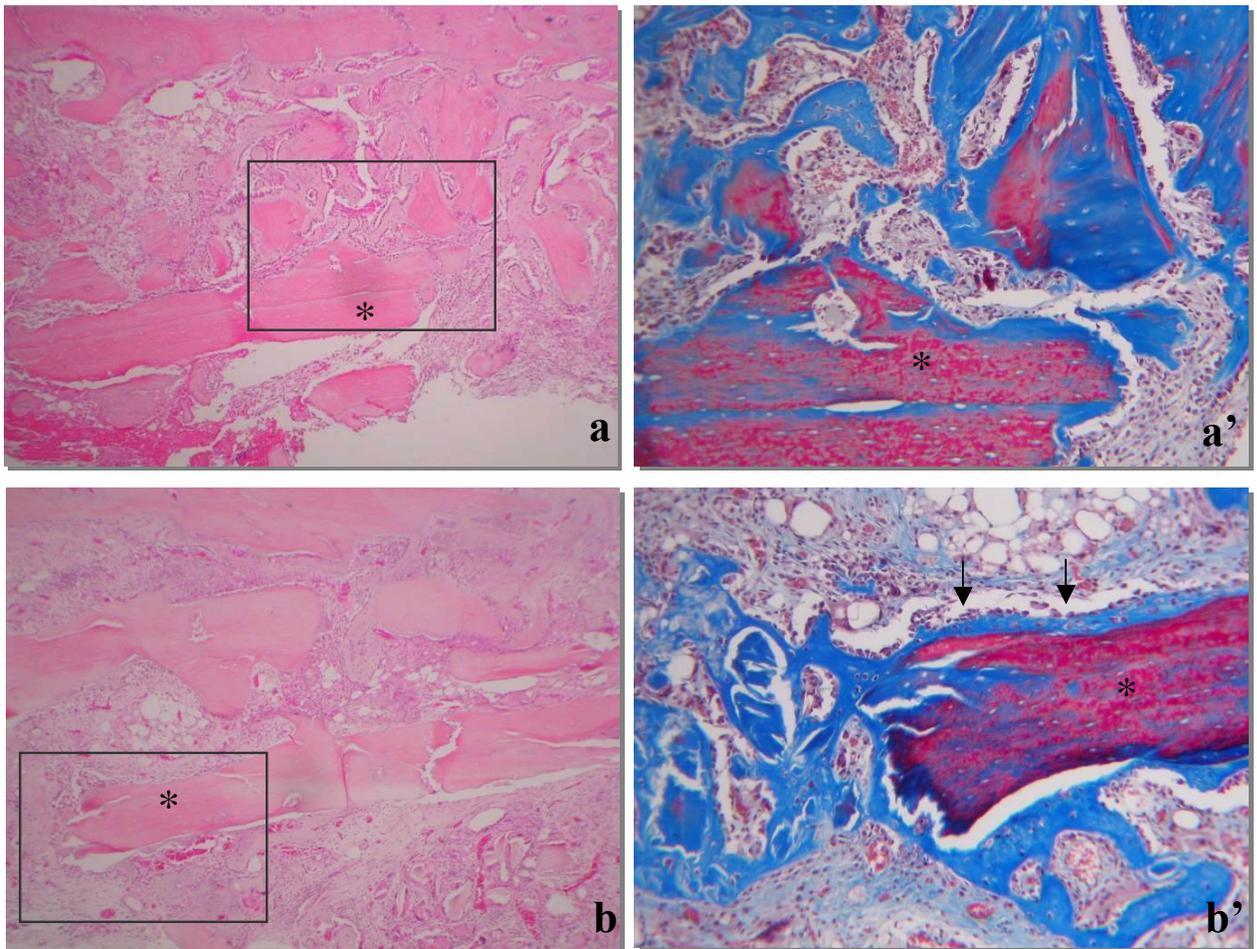


Figura 37: Grupo Osso Triturado: a, a') 7 dias – presença dos fragmentos ósseos não viáveis enxertados (*) circundados por tecido de granulação; b, b') 14 dias – fragmentos ósseos enxertados (*) com atividade osteocondutora (setas); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' –Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x).

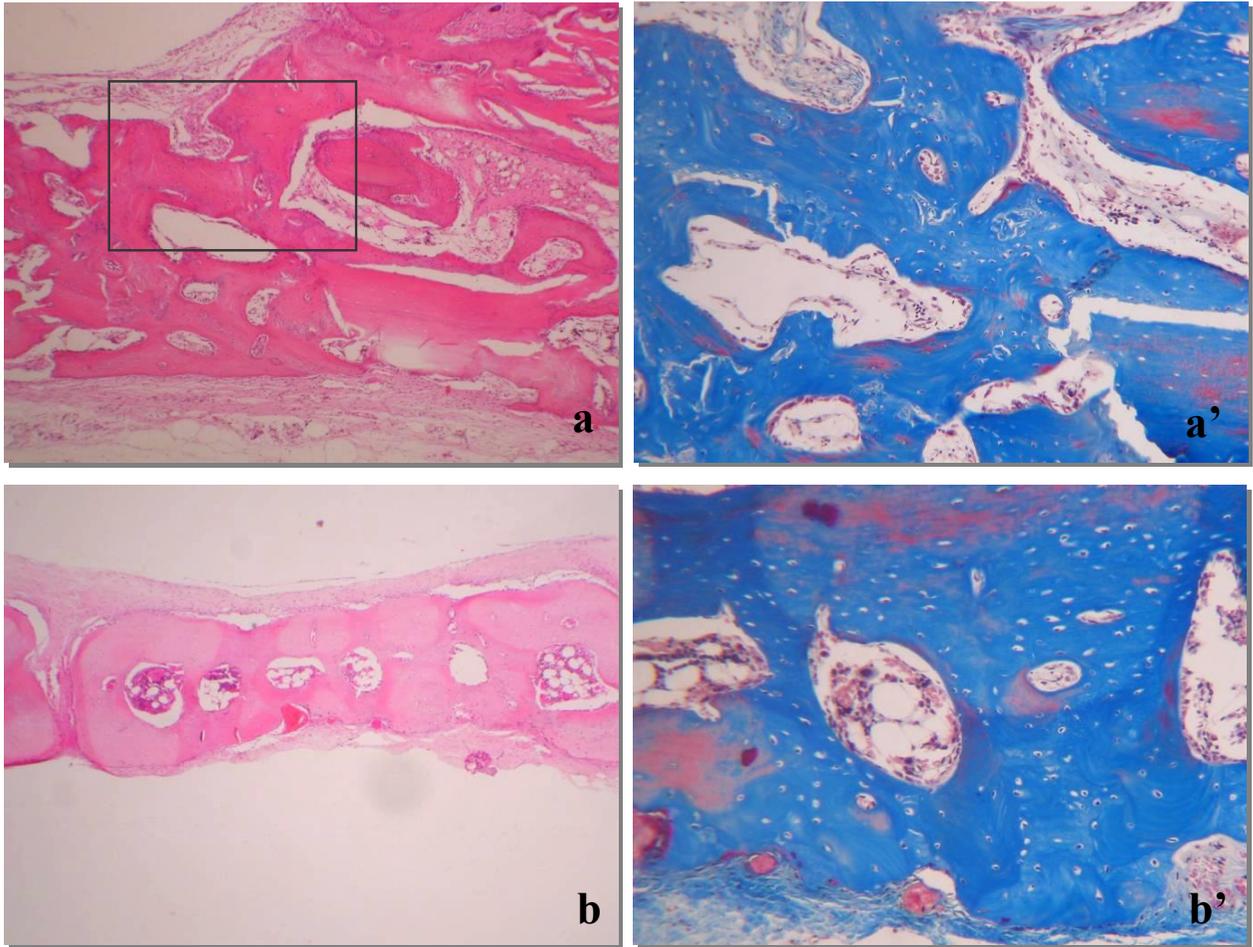


Figura 38: Grupo Osso Triturado: a, a') 30 dias – observam-se trabéculas ósseas organizadas, em fase de maturação; b, b') 60 dias – osso lamelar com áreas de remodelação preenche o defeito ósseo; (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ a':10x; b': 40x).

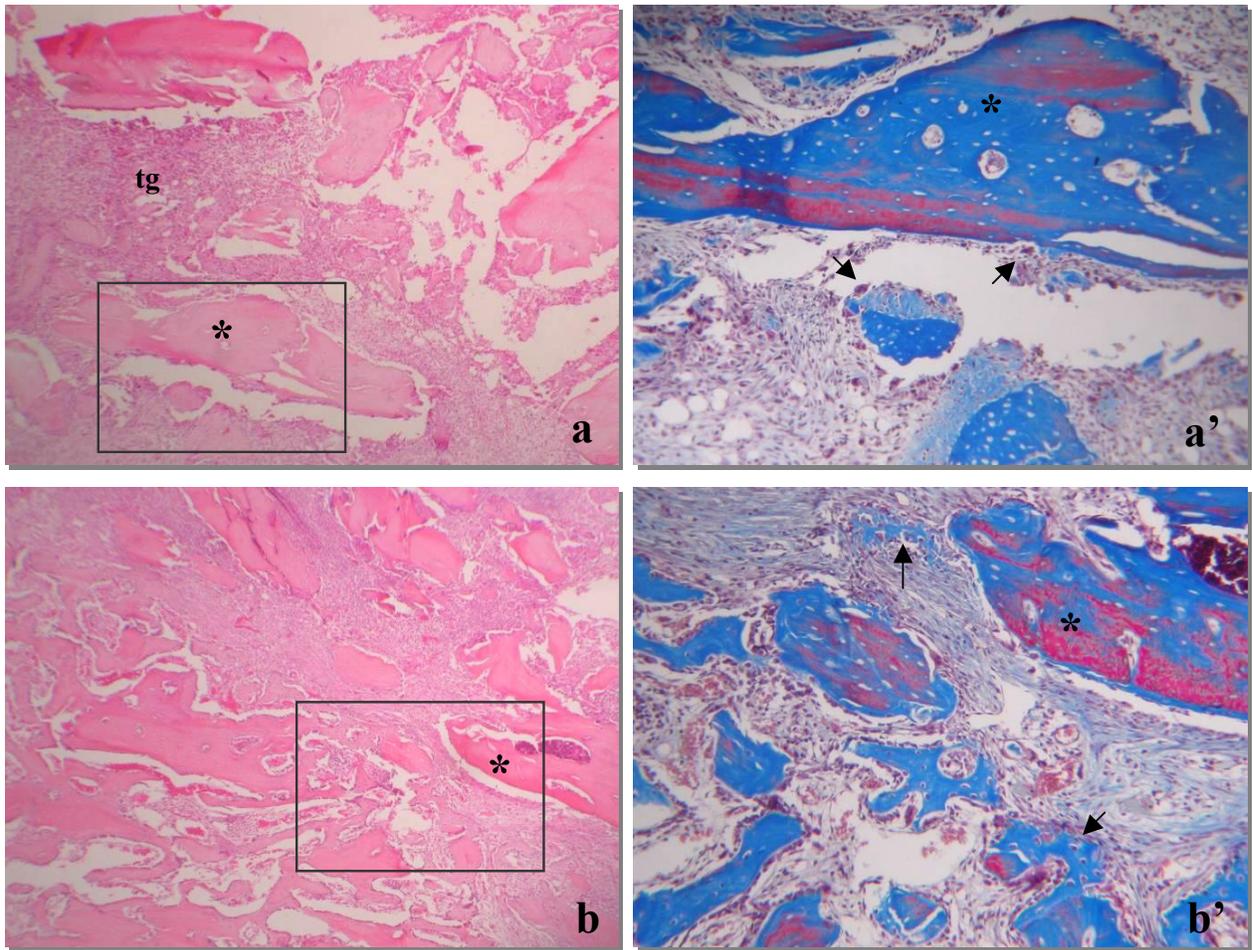


Figura 39: Grupo PRP: a, a') 7 dias – notam-se fragmentos ósseos não viáveis (*) permeados por tecido de granulação (tg), além de discreta atividade osteoclástica (setas); **b, b') 14 dias** - os fragmentos ósseos enxertados servem como osteocondutores (*), observa-se atividade osteogênica (setas); (□): destaque para o aumento de 40x) (a,b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x).

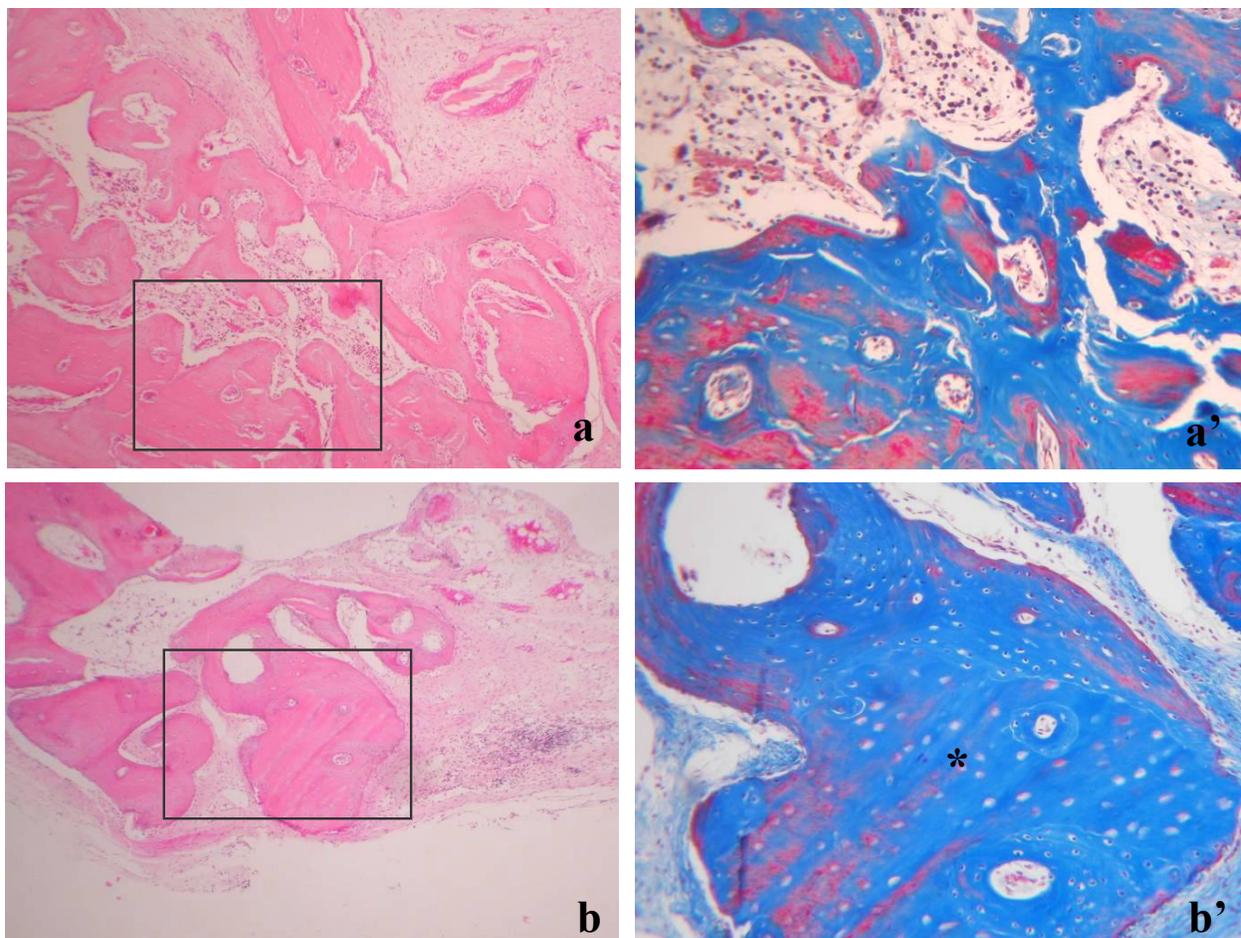


Figura 40: Grupo PRP: a, a') 30 dias – preenchendo a cavidade, observa-se incorporação do osso enxertado com o osso neoformado; **b, b') 60 dias** – trabéculas ósseas em maturação e incorporação ao osso antigo (*); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a,b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~b: 10x; b': 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' –Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x).

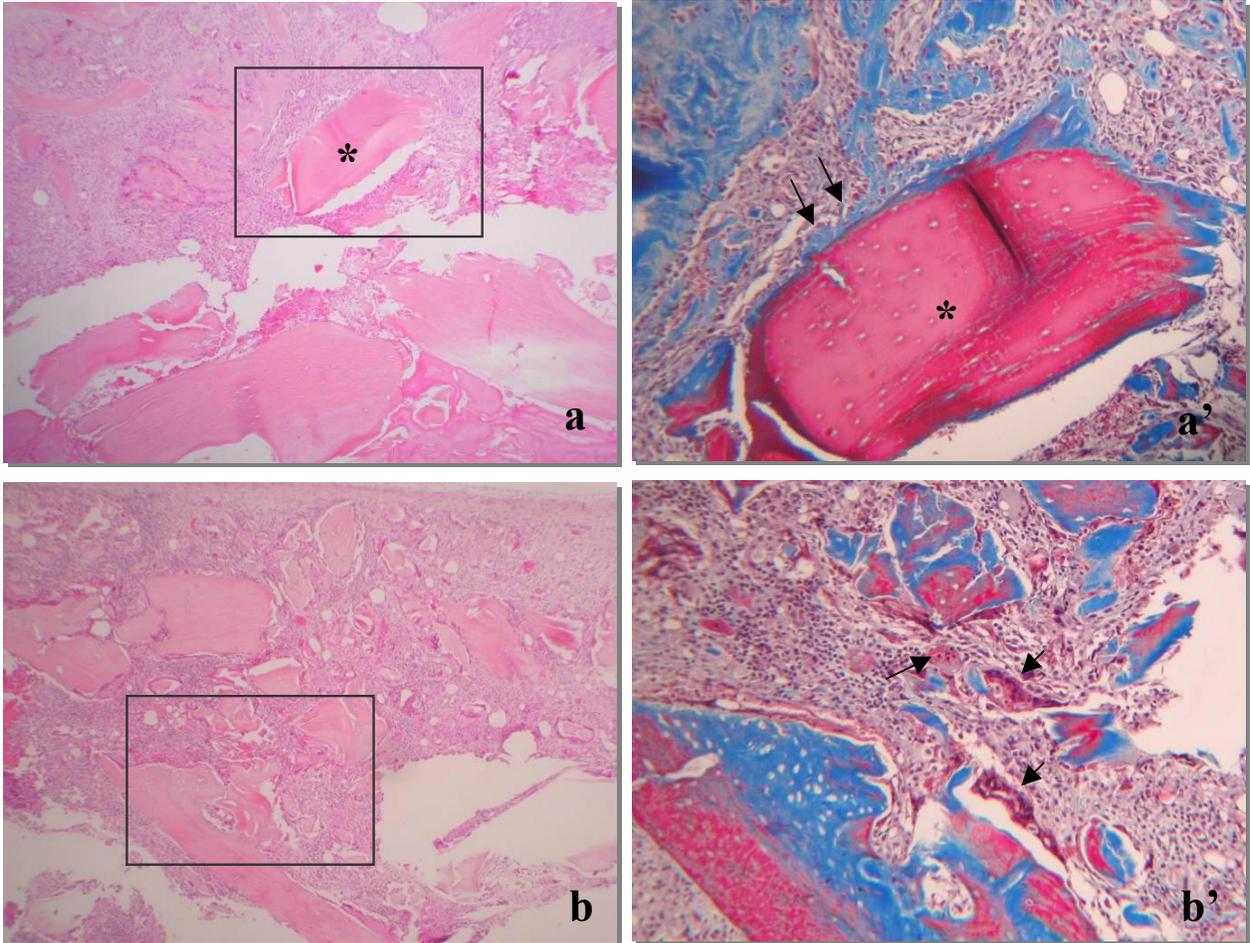


Figura 41: Grupo Adesivo Fibrínico: a, a') 7 dias – presença dos fragmentos de osso enxertado (*), sobre os quais se observa discreta atividade osteocondutora (setas); b, b') 14 dias – nota-se intensa atividade osteoclástica (setas); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x).

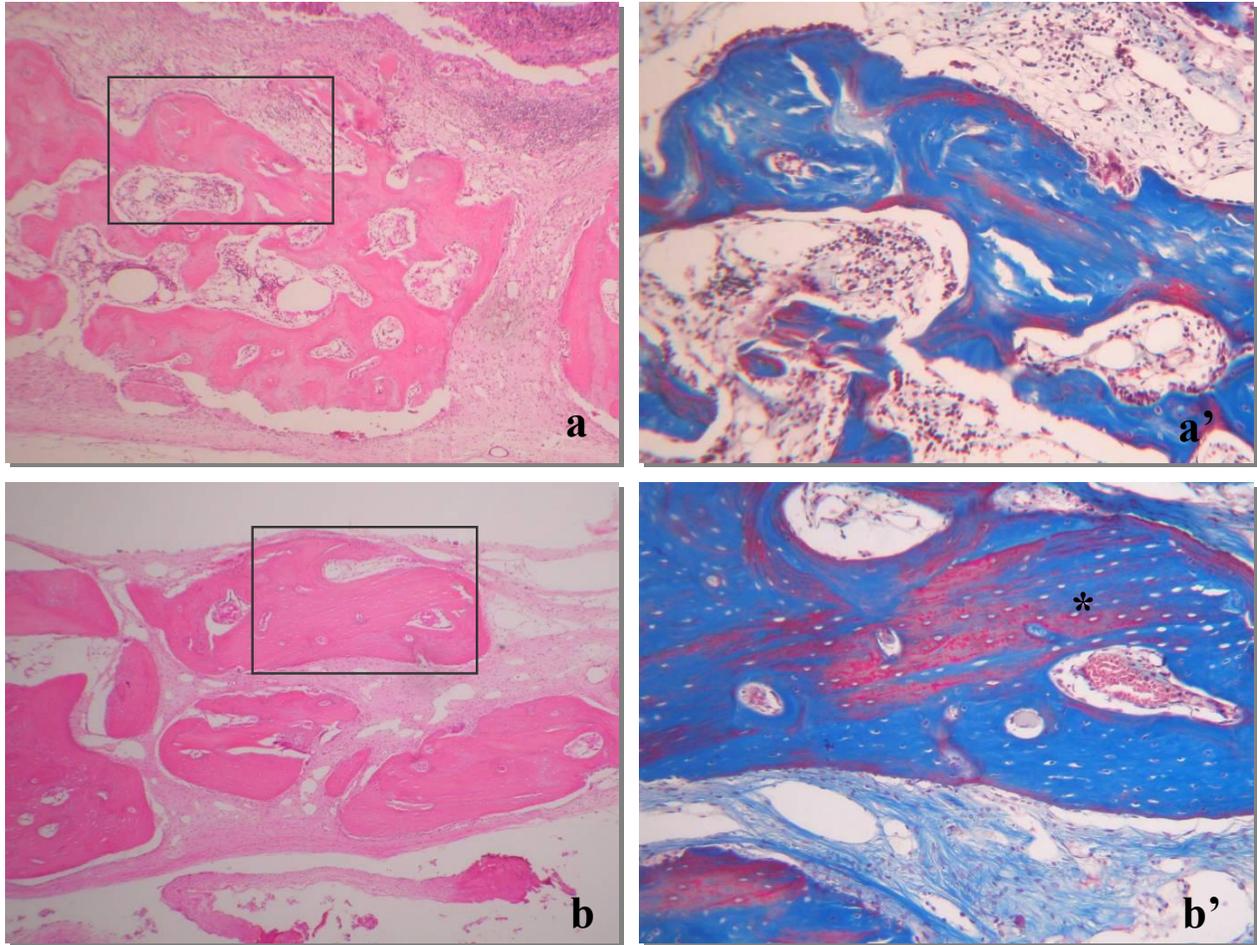


Figura 42: Grupo Adesivo Fibrínico: a, a') 30 dias – defeito preenchido por trabéculas ósseas organizadas, com áreas de remodelação; b, b') 60 dias – presença de tecido ósseo maduro e áreas de incorporação do osso com o osso antigo (*); (□ : destaque para o aumento de 40x) (a, b – HE, aumento original ~ 10x; a', b' – Tricrômico de Masson, aumento original ~ 40x)



Capítulo 5

Discussão

CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO

A escolha pelo modelo animal utilizado na metodologia experimental ocorreu devido a inúmeros trabalhos na literatura científica investigando o processo de reparação óssea, sobretudo pela facilidade de manipulação do animal e anatomia da calvária que, em virtude de sua extensão, permitiu a execução de dois defeitos críticos de 11mm, e também pela ossificação intramembranosa característica de osso (HOLLINGER; KLEINSCHMIDT, 1990; AABOE et al., 1994; TAGA et al., 1997; DODDE et al., 2000; AGHALOO; MOY; FREYMILLER, 2002; MUNERATO, 2005; MIRANDA et al., 2006; RONALD et al., 2006).

Os defeitos ósseos “críticos” em coelhos adultos são relatados na literatura, dependendo da região em que são realizados, porém com algumas controvérsias. Segundo Taga et al. (1997), o tamanho dos defeitos de 8mm no crânio em seu estudo de reparação óssea foi considerado crítico pois defeitos inferior a este diâmetro propiciam neoformação óssea até um período de 30 dias. Em contrapartida, Dodde et al. (2000) demonstraram que o defeito crítico nesta região teria dimensão de 1,5cm de diâmetro.

As propriedades ideais de um material utilizado em procedimentos de enxertia óssea foram relatadas por Mitchell, et al. (1960), sendo que o mesmo deve ser biocompatível, biodegradável, ou seja, ser gradualmente substituído pelo tecido ósseo em formação, ser osteocondutivo e, se possível, possuir propriedade osteocondutiva, aliado também ao baixo custo e fácil manipulação. E, como característica ideal, destaca-se a capacidade de manter a estabilidade mecânica e volumétrica inicial do material a ser reabsorvido totalmente com o tempo (ISAKSSON, 1992).

O formato dos enxertos ósseos (blocos ou articulados) também é considerado como importante fator de reparação e regeneração óssea, dependendo da sua aplicabilidade clínica. Os enxertos e implantes têm a função de preencher o defeito ósseo, impedindo a invasão do

mesmo por tecido conjuntivo fibroso cicatricial, ocorrendo assim um processo lento de regeneração óssea, que gradualmente substitui o material implantado por tecido ósseo.

Os enxertos ósseos autógenos particulados são rapidamente revascularizados, liberando assim uma quantidade maior de fatores de diferenciação e crescimento nos estágios iniciais da regeneração (PALLESEN et al., 2002).

A respeito destas considerações, elegeu-se o enxerto ósseo autógeno como sendo a melhor alternativa em termos de reabilitação óssea local pela falta de imunogenicidade e por apresentar propriedades osteoindutora e osteocondutora, promovendo, inevitavelmente, a ação osteogênica. Evidências na literatura indicam uma acentuação destas propriedades quando se associam ao tecido ósseo, fatores de crescimento como o PDGF, TGF- β e IGF, comumente presentes nos processos de reparo teciduais, devido às suas ações mitogênica e angiogênica, tendo como fonte principal as plaquetas (MARX et al., 1998).

Por este motivo, inúmeros trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando-se o plasma rico em plaquetas (PRP) em procedimentos que visam proporcionar uma boa reparação óssea associando-o, na grande maioria das vezes, a materiais particulados no preenchimento de cavidades e defeitos ósseos (AGHALOO; MOY; FREYMILLER, 2002; JAKSE et al. 2003).

Para a obtenção da quantidade de sangue necessário no modelo selecionado, a punção intracardíaca se mostrou mais eficiente. Apesar de aparente agressividade, tal via não causa sofrimento ao animal quando realizado por pessoal treinado e experiente. A preocupação com a quantidade de sangue a ser obtido ocorreu por conta da concentração final de plaquetas presente no PRP. Marx (2001) chamou a atenção para o que considera como sendo o verdadeiro PRP, que deve conter cerca de 1.000.000 plaquetas/ μ l em um volume de 5ml de plasma. Valores menores que este não seriam capazes de melhorar o processo de reparo. O volume conseguido pela punção intracardíaca foi de 10ml, gerando cerca de 2ml de PRP com uma concentração de 1.200.000 de plaquetas/ mm^3 , confirmadas em contador específico. Esta

consideração se faz bastante oportuna, uma vez que, na literatura, poucos trabalhos revelam a quantidade de plaquetas obtidas.

A partir da avaliação e reprodução de alguns dos protocolos disponíveis na literatura, confirmou-se a possibilidade de se proceder à obtenção do PRP e do preparo do gel de PRP no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) da Universidade do Sagrado Coração.

O sangue coletado foi depositado em tubos *vacutainer* contendo citrato de sódio a 10% como anticoagulante e não o EDTA, como sugerem alguns autores, devido à possibilidade de esta solução causar danos iniciais às plaquetas, influenciando na liberação dos fatores de crescimento (LANDESBERG; ROY; GLICKMAN, 2000).

Objetivando trabalhar com um material que possui propriedades semelhantes, encontramos o adesivo fibrínico, de origem biológica, que é um sistema formado por dois componentes principais, obtidos de plasma humano. Um de seus componentes apresenta um alto concentrado de fibrinogênio, fator XIII, fibronectina plasmática, resquícios de plasmogênio e outras proteínas do plasma, como a albumina. Este componente foi, na ocasião do seu emprego, misturado com a aprotinina. O segundo componente é feito de trombina, misturada com cloreto de cálcio. Após a combinação das duas misturas, a trombina, na presença de cálcio, converte o fibrinogênio em fibrina; o fator XIII converte o monômero de fibrina em polímero, formando uma verdadeira rede de fibrina. A aprotinina exerce uma função protetora sobre esta rede, além de possibilitar melhor adesão do selante à ferida (ALVING et al., 1995).

A propriedade do adesivo fibrínico de se solidificar é de extrema importância clínica em procedimentos reconstrutivos com enxertos ósseos particulados. A aglutinação do adesivo com estes materiais de energia foram relatados por Hallman et al. (2001) na sua utilização com enxerto ósseo xenógeno (Bio-Oss[®]) associado com enxerto ósseo autógeno. Realizou-se biópsia para a análise em pacientes submetidos a procedimentos de levantamento do seio

maxila, nos períodos de seis e 36 meses. Os resultados demonstraram uma resposta positiva na formação óssea nos períodos observados.

O ácido épsilon-aminocapróico (EACA) apresenta propriedades inibidoras da ativação do plasminogênio (PIPAN et al., 1992) e pode ser utilizado em associação com o adesivo fibrínico, através de irrigação com solução e 5% deste ácido no interior da ferida cirúrgica (OKAMOTO et al., 1995).

Okamoto et al. (1995) relatam ainda que os procedimentos de irrigação com solução de 5% do ácido épsilon-aminocapróico (EACA) antes da inserção do implante de adesivo fibrínico, em um estudo com defeitos ósseos realizados em tíbias de ratos, facilitou a reabsorção do adesivo fibrínico. Neste estudo, a irrigação prévia dos defeitos ósseos nos Grupos II e III com a solução de 5% do ácido épsilon-aminocapróico, antes da inserção dos enxertos ósseos e da aplicação do adesivo fibrínico, foi realizada com objetivo de bloquear a atividade fibrinolítica da estreptoquinase, presente em alta concentração local durante as cirurgias, procurando preservar as propriedades adesivas do adesivo fibrínico, conforme indicado por Staindl (1979).

Padovan (2002) realizou um estudo que avaliou o processo de reparo de feridas de extração dental em ratos, após irrigação com solução a 5% de ácido épsilon-aminocapróico (EACA) e implante de adesivo fibrínico. No grupo de associação do adesivo fibrínico com a EACA, notou-se que o processo de reparo se adiantou em todos os períodos analisados, se comparados com o grupo controle e o grupo do adesivo.

A partir dos achados na literatura, que nos serviu para estabelecer um protocolo de pesquisa, podemos então confrontar os resultados encontrados na literatura com os resultados do presente trabalho.

Ficou evidente que os resultados mais satisfatórios são alcançados quando se associa o PRP ao osso autógeno ou a uma proteína osteoindutora, como as BMPs, do que quando se utiliza outro tipo de material. Tais evidências vêm reafirmar a ação dos fatores de crescimento presentes no plasma sanguíneo, que necessitam de população celular adequada para surtirem os efeitos esperados. Suspeita-se, assim, que esta condição explique os resultados desfavoráveis quando se associa o PRP aos materiais não osteoindutores (SHANAMAN; FILSTEIN; DANESH-MEYER, 2001; FROUM et al., 2002; WILFTANG et al., 2003; VELICH et al., 2004).

Todavia, o trabalho de Wilson et al. (2006) mostra uma evidente aceleração no processo de reparo ósseo quando da utilização do PRP.

Em contrapartida, outros estudos obtiveram respostas negativas com a associação do PRP, como os trabalhos de Fennis et al. (2001), em ressecções mandibulares em cabras; de Aghaloo, Moy e Freymiller (2002), em defeitos em calota craniana de coelhos; e de Fuerst et al (2003), em miniporcós.

A análise microscópica das áreas obtidas não detectou diferença significativa entre os grupos avaliados que receberam adição de materiais, em concordância com autores como Jakse et al. (2003); Fürst et al. (2003); Wiltfang et al. (2004); Munerato 2005; Miranda et al. (2006) e Ronald et al. (2005), que também não verificaram melhoras dos resultados finais nos tratamentos propostos utilizando o PRP e o adesivo fibrínico. Apesar das variações de técnica e dos materiais testados nos trabalhos citados, todos eles utilizaram modelos animais e número de amostra significativos, além de uniformidade da metodologia.



Conclusão

CONCLUSÃO

Baseado na análise microscópica descritiva dos resultados obtidos neste estudo experimental, conclui-se que:

- Em todos os grupos, a seqüência de fenômenos biológicos que compõem o reparo alveolar esteve presente, havendo diferença apenas em sua cronologia, sem reações exacerbadas dos tecidos, confirmando as características de biocompatibilidade dos materiais testados.
- O Grupo PRP apresentou um volume maior nos períodos de sete, 14 e 30 dias; porém, no período de 60 dias, igualou-se aos grupos adesivo fibrínico e osso autógeno com coágulo espontâneo do próprio animal.
- A adição dos materiais adesivo fibrínico e plasma rico em plaquetas ao osso autógeno triturado não favoreceu e nem comprometeu o processo de reparo ósseo, comparando-se com o grupo com osso autógeno e coágulo espontâneo do próprio animal.



Referências

REFERÊNCIAS

AABOE, M.; PINHOLT, E. M.; HJORTING-HANSEN, E. Unicortical critical size defect of rabbit tibia is larger than 8 mm. **J. Craniofac. Surg.**, v. 5, n. 3, p. 201-203, Jul. 1994.

AGHALOO, T. L.; MOY, P. K.; FREYMILLER, E. G. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 60, n. 10, p. 1176-1181, Oct. 2002.

ALVING, B. M. et al. Fibrin sealant: summary of a conference on characteristics and clinical uses. **Transfusion**, v. 35, n. 9, p. 783-790, 1995.

ANDERSON, K. J. et al. End-point results of processed heterogenous, autogenous and homogenous bone transplants in the human: a histologic study. **Clin. Orthop.**, v. 33, p. 220-236, Mar.-Apr., 1964.

ARRINGTON, E. D. et al. Complications of iliac crest bone graft harvesting. **Clin. Orthop.**, v. 329, p. 300-309, Aug. 1996.

BAUDO, F. et al. Local hemostasis after tooth extraction in patients with abnormal hemostatic function: use of human fibrinogen concentrate. **Haemostasis**, v. 15, n. 6, p. 402-404, 1985.

BECKER W.; LYNCH S. E. A comparison of PTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. **J. Periodontol.**, v. 63, p. 929-940, 1992.

BERGEL, S. On the effects of fibrin. **Dtsch. Med. Wochenschr.**, v. 35, p. 633-665, 1909.

BERNARD, G. W. Healing and repair of osseous defects. **Dent. Clin. North Am.**, v. 35, p. 469, 1991.

BREINE, U.; BRANEMARK, P.-I. Reconstruction of alveolar jaw bone. An experimental and clinical study of immediate and preformed autologous bone grafts in combination with osseointegrated implants. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, v. 14, n. 1, p. 23-48, 1980.

BUCK, B. E.; MALININ, T. I.; BROWN, M. D. Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Clin. Orthop.**, v. 240, p. 129-136, Mar. 1989.

CALANDRIELLO, M.; BERNARDI, F.; SILD, E. Considerazioni conclusive sull'uso della colla di fibrina in chirurgia paradontale. **Minerva Stomatol.**, v. 34, n. 5, p. 789-794, 1985.

CARMAGNOLA, D.; BERGLUNDH, T.; LINDHE, J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. An experimental study in Labrador dogs. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, n. 5, p. 377-383, May. 2002.

CHAGAS, A. S.; OLIVEIRA, S.; BORTOLI JÚNIOR, N. Regeneração tecidual – Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Plasma Rico em Fibrinogênio (PRF). In: PONTUAL, M. A. B.; MAGINI, R. S. **Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Fatores de Crescimento: das Pesquisas Científicas à Clínica Odontológica**. São Paulo: Livraria Santos, 2004. p. 145-162.

CHOI, B. H. et al. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 34, n. 4, p. 420-4, Jun. 2005.

CHAPMAN, P. G.; VILLAR, R. N. The bacteriology of bone allografts. **J. Bone Joint Surg. Br.**, v. 74 n. 3, p. 398-399, May 1992.

CITARDI, M. J.; FRIEDMAN, C. D. Nonvascularized autogenous bone grafts for craniofacial skeletal augmentation and replacement. **Otolaryngol. Clin. North Am.**, v. 27, n. 5, p. 891-910, Oct. 1994.

CRONKITE, E. P.; LOZNER, E. L.; DEEVER, J. M. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 124, p. 976-978, 1944.

DODDE, R. Spontaneous bone healing in the rabbit. **J. Craniofac. Surg.**, v. 11, n. 4, p. 346-349, Jul. 2000.

DOGAN, A. et al. Effects of fibrin adhesive material (Tissucol) application on furcation defects in dogs. **J. Nihon. Univ. Sch. Dent.**, v. 34, n. 1, p. 34-41, 1992.

DUCKERT, F.; NYMAN, D. Factor XIII, fibrin and collagen. **Suppl. Thromb. Haemost.**, v. 63, p. 391-396, 1978.

FATTAH, C. M. R. S. **Aplicação do sistema adesivo fibrínico (TISSUCOL) associado ao ácido epsilon-aminocapróico (EACA) em reimplante a 10% e/ou hipoclorito de sódio a 1%: estudo microscópico em ratos**. 2002. 173p. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

FEIGHAN, J. E. et al. Induction of bone by a demineralized bone matrix gel: a study in a rat femoral defect model. **J. Orthop. Res.**, v. 13, n. 6, p. 881-891, Nov. 1995.

FRIEDLANDER, G. E. Current concepts review: bone grafts. **J. Bone Joint Surg.**, v. 69A, p. 786-790, 1987.

FUERST G. et al. Enhanced bone-to-implant contact by platelet-released growth factors in mandibular cortical bone: a histomorphometric study in minipigs. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 18, n. 5, p. 685-90, Sep.-Oct. 2003.

FUERST G. et al. Effects of fibrin sealant protein concentrate with and without platelet-released growth factors on bony healing of cortical mandibular defects. An experimental study in minipigs. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 15, n. 3, p. 301-307, Jun. 2004.

FÜRST, G. et al. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 14, n. 4, p. 500-508, Aug. 2003.

GREY, E. G. Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 21, p. 452-454, 1915.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. O osso e suas relações com o cálcio e os fosfatos extracelulares. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9. ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. Cap. 79. p. 898-900.

HALLMAN, M.; LUNDGREN, S.; SENNERBY, L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. **Clin. Implant Dent. Relat. Res.**, v. 3, n. 2, p. 87-96, 2001.

HARVEY, S. C. Hemostatic in parenchymatous organs. **Boston Med. Surg. J.**, v. 174, p. 659-662, 1916.

HERCULIANI, P. P. et al. Tratamento de defeito ósseo perene em calvária de cobaia com membrana de cortical óssea bovina liofilizada associada ou não a enxerto ósseo bovino desmineralizado. **Rev. Bras. Implant.**, v. 2, n. 6, p. 7-14, abr.-jun. 2000.

HERMANSON, S. L. **Efeito da aplicação do ácido epsilon-aminocapróico em alvéolos de ratos: estudo histológico**. 1987. 48p. Monografia (Especialização – Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

HOLLINGER, J. O.; KLEINSCHMIDT, J. C. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. **J. Craniofac. Surg.**, v. 1, n. 1, p. 60-68, Jan. 1990.

HOLLINGER, J. O.; MCALLISTER, B. M. Bone and its repair. In: HENCH, J.; GREENSPAN, D. (Eds.). **Bioceramics**. London: Pergamon-Elsevier, 1995. p. 3.

ISAKSSON, S. Aspects of bone healing and bone substitute incorporation. An experimental study in rabbit skull bone defects. **Swed. Dent. J. Suppl.**, v. 84, p. 1-46, 1992.

JAKSE, N. et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 14, n. 5, p. 578-583, Oct. 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: **Histologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. Cap. 5. p. 108-126.

KAINULAINEN, V.; OIKARINEN, K. Comparison of four bone collectors designed for oral and maxillofacial surgery--an in Vitro study. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 9, n. 5, p. 327-332, Oct. 1998.

KAWAMURA, M.; URIST, M. R. Induction of callus formation by implants of bone morphogenetic protein and associated bone matrix noncollagenous proteins.

Clin. Orthop., v. 236, p. 240-248, Nov. 1988.

KELLER, E. E. et al. Prosthetic-surgical reconstruction of the severely resorbed maxilla with iliac bone grafting and tissue-integrated prostheses. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 2, n. 3, p. 155-165, 1987.

KLONGNOI, B. et al. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 17, n. 3, p. 312-320, Jun. 2006.

LANDESBERG, R.; ROY, M.; GLIKMAN, R. S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gem preparation, **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 58, p. 297-300, 2000.

LIN, K. Y. et al. The effect of rigid fixation on the survival of onlay bone grafts: an experimental study. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 86, n. 3, p. 449-456, Sep. 1990.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratamento periodontal regenerativo. In: _____. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. Cap. 20. p. 429-462.

LYNNCH, S. E. et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. **J. Periodontol.**, v. 62, p. 458-467, 1991.

LYNNCH, S. E. et al. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of pilot study in Beagle dogs, **J. Periodontol.**, v. 62, p. 710-716, 1991.

LISTROM, R. D.; SYMINGTON, J. M. Osseointegrated dental implants in conjunction with bone grafts. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 17, n. 2, p. 116-118, Apr. 1988.

LUNDGREN, S. et al. Augmentation of the maxillary sinus floor with particulated mandible: a histologic and histomorphometric study. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 11, n. 6, p. 760-766, Nov.-Dec. 1996.

MARX, R. E. Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. **Clin. Plast. Surg.**, v. 21, n. 3, p. 377-392, Jul. 1994.

MARX, R. E.; MORALES, M. Morbidity from bone harvest in major jaw reconstruction : a randomized trial comparing the lateral and posterior approaches to the ilium. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 48, p. 196-203, 1998.

MARX, R. E.; GARG A. K. A estrutura óssea, o metabolismo e a fisiologia: seu impacto na implantodontia dentária. **Implant Dentistry**. Edição em Português, n. 5, p. 15-25, 1999/2000.

MARX, R. E. What is PRP and what is not PRP? **Implant Dentistry**, v. 10, n. 4, p. 225-228, 2001.

- MARX, R. E. Platelet-rich plasma: A source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: **Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics**. Illinois: Quintessence Books, 1999. P. 71-82.
- MARX, R. E. et al. Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts, **Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 85, p. 638-646, 1998.
- MATRAS, H. The use of fibrin sealant in oral and maxillofacial surgery. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 40, n. 10, p. 617-622, Oct. 1982.
- MATRAS, H. Fibrin sealant in maxillofacial surgery. Development and indications: a review of the past 12 years. **Facial Plast. Surg.**, v. 2, n. 4, p. 297-313, 1985.
- MIRANDA, S. R. et al. Use of platelet-rich plasma under autogenous onlay bone grafts. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 17, n. 6, p. 694-699, Dec. 2006.
- MISCH, C. E.; DIETSH, F. Bone-grafting materials in implant dentistry. **Implant Dent.**, v. 2, n. 3, p. 158-167, 1993.
- MITCHELL, D. F.; SHANKWALKER, G. B.; SHAZER, S. Determining the tumorigenicity of dental materials. **J. Dent. Res.**, v. 39, p. 1023-1028, Sep.-Oct. 1960.
- MOSHER, D. F. Cross-linking of cold insoluble globulin by fibrin stabilizing factor. **J. Biol. Chem.**, v. 250, n. 16, p. 6614-6621, 1975.
- MOY, P. K.; LUNDGREN, S.; HOLMES, R. E. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 51, n. 8, p. 857-862, Aug. 1993.
- MUNERATO, M. S. **Avaliação microscópica do reparo ósseo em calotas cranianas de coelhos, utilizando enxertos ósseos autógeno e xenógeno com adesivo fibrínico, após irrigação do ácido épsilon-aminocapróico**. 2005. 82 p. Dissertação (Mestrado – Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade do Sagrado Coração, Bauru.
- NASCIMENTO, L. M. C. et al. Adesivo tecidual (cianocrilato) na reparação de ferida cirúrgica. **Revista Periodontia**, v. 5, n. 4, p. 364-368, jul.-dez. 1996.
- OBBERG, S.; ROSENQUIST, J. B. Bone healing after implantation of hydroxyapatite granules and blocks (Interpore 200) combined with autolyzed antigen-extracted allogeneic bone and fibrin glue. Experimental studies on adult rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 23, n. 2, p. 110-114, Apr. 1994.
- OKAMOTO, T. et al. Osseous regeneration in the presence of fibrin adhesive material (Tissucol®) and epsilon-aminocaproic-acid (EACA). **Braz. Dent. J.**, v. 6, n. 2, p. 77-83, 1995.

OKUDA, K. et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 6, p. 849-857, Jun. 2003.

OLLIER, L. **Traite experimental et clinique de la regeneration des os et la production artificielle du tissu osseux**. Paris: P. Masson et fils, 1867. 128p.

OZAKI, W.; BUCHMAN, S, R. Volume maintenance of onlay bone grafts in the craniofacial skeleton: micro-architecture versus embryologic origin. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 102, n. 2, p. 291-299, Aug. 1998.

PADOVAN, L. E. M. **Implante de adesivo fibrínico em alvéolos dentais de ratos tratados com varfarina sódica após irrigação com ácido épsilon-aminocapróico. Análise histológica**. 2002. 142p. Tese (Doutorado – Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

PALLESEN, L. et al. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 17, n. 4, p. 498-506, Jul.-Aug. 2002.

PEER, L. A. Fate of autogenous human bone grafts. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 3, n. 4, p. 233-243, Jan. 1951.

PEREIRA F.º, V. A. et al. Bases biológicas do tecido ósseo. In: **Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Fatores de Crescimento: das Pesquisas Científicas à Clínica Odontológica**. São Paulo: Livraria Santos, 2004. p. 47-69.

PHEMISTER, D. The fail of transplanted bone and regenerative power of its various constituents. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 19, p. 303-309, 1914.

PINI-PRATO, G. P.; CLAUSER, C.; CORTELLINI, P. The use of fibrin sealant (Tissucol / Tisseel) in periodontal surgery: clinical and histological evaluation. **J. Surgical Res.**, v. 1, p. 183-186, 1986.

PINI-PRATO, G. P. et al. On the use of a biological sealing system (“Tissucol”) in periodontal therapy: histological evaluation. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v. 5, n. 3, p. 32-41, 1985.

PIPAN, C. M. et al. Effects of antifibrinolytic agents on the life span of fibrin sealant. **J. Surg. Res.**, v. 53, n. 4, p. 402-407, 1992.

PROLO, D. J.; RODRIGO, J. J. Contemporary bone graft physiology and surgery. **Clin. Orthop.**, v. 200, p. 322-342, 1985.

REZENDE, M. C. R. A. **Implante de Tissucol em alvéolos dentais: estudo histológico em ratos estressados**. 1991. 96p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

REZENDE, M. C. R. A.; OKAMOTO, T. Effect of fibrin adhesive material Tissucol® and epsilon amino caproic (EACA) in rats under stress. **Braz. Dent. J.**, v. 8, p. 1-7, 1997.

RONALD, E. J. et al. Platelet-rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2. **Clinical Oral Implants Research**, v. 16, n. 6, p. 676-682, Dec. 2005.

SANCHEZ, A. R. et al. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 10, p. 1637-1644, Oct. 2005.

SCHARGUS, G. The use of fibrin adhesive in dental practice. In: **Fibrin sealant in operative medicine**. Berlin: Verlag, 1986, p. 164-170.

STEFANI, C. M. et al., Fatores de crescimento: novas perspectivas para regeneração periodontal. **Periodontia**, v. 6, p. 161-165, 1994.

SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clin. Orthop.**, v. 205, p. 299-308, Apr. 1986.

STAINDL, O. Tissue adhesion with highly concentrated human fibrinogen in otolaryngology. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, v. 88, n. 3, p. 413-418, 1979.

STAINDL, O.; GALVAN, G.; MACHER, M. The influence of fibrin stabilization and fibrinolysis on the fibrin-adhesive system: a clinical study using radioactively marked fibrinogen as a tracer. **Arch. Otorhinolaryngol.**, v. 233, n. 1, p. 105-116, 1981.

STAJCIC Z.; TODOROVIC L, J.; PETROVIC V. Tissucol in closure of oroantral communication. A pilot study. **Int. J. Oral Surg.**, v. 14, n. 5, p. 444-446, Oct. 1985.

TAGA, R. et al. Reparo de defeito ósseo perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **Rev. Bras. Implant.**, v. 3, n. 1, p. 13-20, 1997.

URIST, M. R. Bone formation by autoinduction. **Science**, v. 150, p. 893-899, 1965.

WEILAND, A. J.; PHILLIPS, T. W.; RANDOLPH, M. A. Bone grafts: a radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 74, n. 3, p. 368-379, Sep. 1984.

WEPNER, F.; FRIES, R.; PLATZ, H. The use of the fibrin adhesion system for local hemostasis in oral surgery. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 40, n. 9, p. 555-558, 1982.

WILSON, E. M. K.; BARBIERI C. H.; MAZZER N. Plasma autógeno rico em plaqueta – estudo experimental em coelhos. **Acta Ortop Bras.**, v. 14, n. 4, p. 208-212, 2006.

WEIBRICH, G. et al. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex and platelet count of the donor. **Int. Oral Maxillofac. Implants.**, v. 16, p.693-699, 2001.

WEIBRICH, G. et al. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 30, n. 2, p. 97-102, Apr. 2002.

WEIBRICH, G. et al. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 14, n. 2, p.233-239, Apr. 2003.

WEIBRICH, K. W. K. G. et al. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 14, n. 3, p. 357-62, Jun. 2003.

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

WEIBRICH, K. W. K. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 13, n.4, p. 437-443, Aug. 2002.

WHITMAN, D. H.; BERRY R. L. A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 56, p. 1217-1218, 1998.

WILTFANG, J. et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 15, n. 2, p. 187-193, Apr. 2004.

YOUNG, J. Z.; MEDAWAR, P. B. Fibrin suture of peripheral nerves. **Lancet**, v. 239, p. 126, 1940.

YOUNG, C.; SANDSTEDT, P.; SKOGLUND, A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 14, n. 1, p. 72-76, Jan.-Feb. 1999.

ZIDE, M. F. Autogenous bone harvest and bone compacting for dental implants. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 21, n. 7, p. 585-590, Jul. 2000.

ZILCH, H.; WOLFF, R. Fibrin glue and bone regeneration. **Z. Orthop. Ihre. Grenzgeb.**, v. 125, n. 2, p. 214-218, Mar.-Apr. 1987.

ZINS, J. E.; WHITAKER, L. A. Membranous versus endochondral bone: implications for craniofacial reconstruction. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 72, n. 6, p. 778-785, Dec. 1983.

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](#)