**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

MARIA FERNANDA CONCEIÇÃO MADEIRA

**Análise tomográfica da formação óssea em defeito segmentar na mandíbula
de coelhos preenchido com osso bovino liofilizado em bloco com colágeno**

**BAURU
2013**

MARIA FERNANDA CONCEIÇÃO MADEIRA

Análise tomográfica da formação óssea em defeito segmentar na mandíbula de coelhos preenchido com osso bovino liofilizado em bloco com colágeno

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Estomatologia e Biologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sant'Ana

**BAURU
2013**

M264a Madeira, Maria Fernanda Conceição
Análise tomográfica da formação óssea em defeito
segmentar na mandíbula de coelhos preenchido com osso
bovino liofilizado em bloco com colágeno / Maria
Fernanda Conceição Madeira. – Bauru, 2013.
83 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia
de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sant’Ana

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
CEEPA nº: 035/2011
Data: 20/12/2011

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, **Paulo Madeira Júnior** que sempre é tão presente em minha vida. Pelo exemplo de determinação, entusiasmo e caráter. Pela humildade que me ensina dia a dia e pelo amor de todas as horas. Obrigada por lembrar sempre que de hora em hora Deus melhora. Amo você, papai.

À minha gata, minha mãe, **Maria Emília** pelo carinho e amor. Exemplo de serenidade, humildade e fé. Como fiel amiga, está sempre torcendo pela minha felicidade e sempre disposta a me levantar quando penso em cair. Obrigada por tudo, mamãe. Amo você.

Ao meu amigo de todas as horas, meu irmão **Paulo Madeira Neto**. Meu maior exemplo de humildade e amor. Meu maior apoio, meu maior conselheiro, meu maior amigo. Pessoa de um coração enorme e de um caráter sem igual. O meu mais valioso presente de Deus. Amo você Delo.

A todos os que torceram e torcem pelo meu sucesso pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por todas as oportunidades, pela saúde, pelos amigos e pela família que me deu. Por sempre olhar por mim e por conduzir minha vida da forma mais bela e doce.

Aos meus **pais** e ao meu **irmão**, Exemplos de sabedoria, fé, amor, coragem e humildade. Por estarem absolutamente todos os dias me apoiando e me incentivando. Por darem a vida pra ver e me fazer feliz. Sem vocês não estaria aqui hoje, finalizando mais uma etapa tão importante. Obrigada por me fazerem tão plena e completa. Vocês são o maior presente que Deus poderia ter me dado e os maiores exemplos que sigo em minha vida. Amo muito vocês.

Aos meus padrinhos **tia Lurdinha** e **tio Serafim**, avós **vó Cida** e **vó Lourdes** e **primos**. Obrigada por sempre estarem torcendo e rezando por mim. Pelo carinho e amor de sempre. Por traduzirem a palavra família em cada carinho, em cada oração e em cada torcida.

Marcela e **Vanessa**... obrigada por tudo... simples assim.... tudo!

Aos amigos **Meire**, **Aloísio**, **Maria Rosa** e **Wilson**. Pela torcida de sempre. Pelo apoio e incentivo. Pelas orações. Pela felicidade que tanto me fazem sentir.

À **Dona Maria**... o maior e melhor anjo da guarda lá de casa.

À **De** e **Rô**, muito mais que secretárias... amigas do coração, de toda a vida.... muito obrigada por toda a paciência, carinho, dedicação e amor que vocês duas sempre tiveram e têm por mim todos os dias. É um prazer tê-las trabalhando comigo. Amo vocês!

Ao **Prof. Dr. Eduardo Sant'Ana**. Por, desde a graduação, me incentivar e me apoiar. Pelos conhecimentos, pela paciência e acima de tudo pela amizade. Por confiar em mim e me dar oportunidade de aprender sempre. Exemplo de dedicação e determinação, me faz crescer a cada dia. Ao senhor me gratidão e orgulho de ser aluna, orientada e amiga. Obrigada por tudo.

Ao **Prof. Dr. Renato Y. Faria Yaedu**. Por tanto ter me ajudado nesta pesquisa. Pelo exemplo de responsabilidade e determinação.

À **Profa. Dra. Adriana Campos Passanezi Sant'Ana** pela ajuda, orientação, dedicação e amizade. Sempre cuidadosa e atenciosa, disposta a me ajudar. Obrigada Dri.

Ao **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos**, que sempre me incentivou e me ajudou em minhas decisões. Desde a graduação, sempre presente como professor e amigo para todas as horas. Obrigada pelo carinho, paciência e companheirismo.

Aos **professores do departamento de Estomatologia, Radiologia e Cirurgia**. Por me acompanharem e me incentivarem sempre. Pelos ensinamentos e pelos exemplos. Obrigada.

Aos funcionários do departamento e das clínicas de Estomatologia, Radiologia e Cirurgia, **James, Fer, Déia, Josi, Lu, Marília e Robert**. Sempre dispostos a ajudar no que fosse preciso. Meus eternos agradecimentos.

Aos **amigos de mestrado e doutorado** pela convivência, pelo aprendizado e pela companhia de sempre.

À **Denise** “alegria” que com o sorriso estampado no rosto sempre esteve disposta a me ajudar em tudo. Exemplo de perseverança e humildade e superação. Obrigada De, por sempre me fazer lembrar que a vida é linda e que sozinhos não somos nada.

À **Vanessa** (tchu) e **Mariana** (minhe). Muito mais que amigas vocês duas são as irmãs que não tive. Obrigada por estarem sempre, a toda hora me apoiando e me dando força. Por não permitirem me ver triste e por nunca me deixarem sentir só. Por me fazerem ter vontade de ser uma pessoa melhor a cada dia. Obrigada. Tenho certeza de que amigos são a família que Deus nos permitiu escolher e vocês são minha família de Bauru e da vida toda.

Johny e Bueninho. Dois irmãos. Obrigada por torcerem por mim, por estarem sempre dispostos a me aconselhar e ajudar.

Gikita, Tatá e Mariballa. Agradeço a Deus por ter conhecido vocês. Pela companhia de todas as horas, pelas lágrimas e risadas. Obrigada.

Tha e Ma e às **amigas e amigos** de **Bebedouro** o meu muito obrigada por todo o carinho, respeito e atenção de sempre.

Aos **moradores e ex-moradores** da “**TOCA**”. Obrigada pela amizade e por me acolher sempre com tanto carinho.

Ao amigo e parceiro de mestrado **Danilo**. Exemplo de responsabilidade e companheirismo. Obrigada por absolutamente tudo, Dan.

Aos **pacientes** que confiaram em mim e me permitiram aprender e crescer.

À **Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo**, na pessoa do diretor **Prof. Dr. José Carlos Pereira**, pelo apoio institucional.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo**, pelo apoio acadêmico e financeiro através da bolsa de mestrado e do auxílio à pesquisa.

RESUMO

Atualmente a implantodontia tem evoluído muito na intenção de substituir perdas dentárias, porém infelizmente nem sempre isto é capaz, uma vez que após a perda dentária, na grande maioria das vezes, o osso remanescente também é reabsorvido, dificultando ou impossibilitando a instalação de implantes osseointegrados. Esse tipo de perda óssea nos maxilares ou as perdas ósseas resultantes de ressecções cirúrgicas, constituem uma preocupação importante na atualidade, uma vez que os cirurgiões dentistas pesquisam um substituto ósseo que devolva a forma e o contorno dos ossos da face e dos maxilares, e/ou que permita a instalação de implantes osseointegrados. Dentre os biomateriais, a utilização do osso bovino liofilizado tem se popularizado e vem ganhando mercado uma vez que reduz a morbidade do paciente evitando a retirada de enxertos autógenos e tem apresentado uma boa previsibilidade de resultados. No presente estudo, foram criados defeitos ósseos na base da mandíbula de coelhos, onde foram enxertados blocos de osso bovino liofilizado com colágeno suíno nos grupos experimentais e deixados vazios nos grupos controle. Os animais foram sacrificados nos tempos 0 (imediatamente após a cirurgia), 3 e 6 meses após o procedimento cirúrgico. As mandíbulas foram coletadas e analisadas através de tomografias computadorizadas de feixe cônico, em que se analisou a capacidade do enxerto de auxiliar no reparo ósseo de defeitos de tamanho crítico criados na mandíbula de coelhos, bem como sua capacidade de manter o contorno e forma do osso. Através da análise tomográfica das áreas enxertadas foi possível concluir que de acordo com a metodologia proposta o enxerto de osso bovino com 10% de colágeno suíno não foi capaz de auxiliar em 100% no reparo ósseo dos defeitos de tamanho crítico criados na mandíbula dos coelhos, mostrando uma camada fina de tecido mole entre o enxerto e o leito. Tendo sido eficiente no preenchimento do espaço do defeito e manutenção do contorno ósseo.

Palavras-chave: Substitutos ósseos. Transplante heterólogo. Tomografia computadorizada por raios X.

ABSTRACT

Tomographic analysis of bone formation in segmental defect in the mandible of rabbits filled with lyophilized bovine bone block with collagen

Currently implant dentistry has evolved tremendously in the intention of replacing missing teeth, but unfortunately this is not always able, since after tooth loss, in most cases, also the remaining bone is reabsorbed, making it difficult or impossible to install dental implants. This type of bone loss in the jaw or bone loss resulting from surgical resections, are a major concern at present, since the dentists researching bone substitute that restores the shape and contour of the bones of the face and jaws, and/or enabling installation of dental implants. Among the biomaterials, the use of lyophilized bovine bone has become popular and has been gaining ground as it reduces the morbidity of the patient avoiding the removal of autogenous grafts has shown a good and predictable results. In the present study, bone defects were created on the basis of mandible in rabbits, which were grafted blocks lyophilized bovine bone with swine's collagen in the experimental groups and control groups left empty. The animals were sacrificed at 0 (immediately after surgery), 3 and 6 months after surgery. The jaws were collected and analyzed using cone beam computed tomography, which analyzed the ability of the graft to aid in bone repair of critical-size defects created in the mandible of rabbits as well as its ability to maintain the contour and shape of the bone. Through the analysis of the tomographic grafted areas was concluded that according to the methodology proposed bovine bone graft with 10% swine's collagen was not able to assist in 100% of the bone repair critical size defects created in rabbit jaw, showing a thin layer of soft tissue between the graft and the bed having been efficient space filling of the defect and maintain the bone contour.

Keywords: Bone substitutes. Transplantation, heterologous. Tomography, X-ray computed.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP	33
Figura 2 -	Tricotomia pré-operatória	36
Figura 3 -	Incisão sobre a base mandibular, anteriormente ao ângulo	36
Figura 4 -	Exposição do osso mandibular	37
Figura 5 -	Defeito ósseo de 10 x 10 mm criado na base mandibular	37
Figura 6 -	Bloco de osso bovino integral (Geistlich Bio-Oss® Collagen)	38
Figura 7 -	Enxerto adaptado ao defeito e estabilizado com fio de aço cirúrgico	38
Figura 8 -	Recobrimento do enxerto com membrana de colágeno (Osseoguard® Biomet 3i)	39
Figura 9 -	Sutura por planos com fio reabsorvível	39
Figura 10 -	Sutura da pele com fio de Nylon®	40
Figura 11 -	Peça armazenada em formol 10%	40
Figura 12 -	Peça posicionada no tomógrafo	42
Figura 13 -	Detalhe da utilização do laser para posicionamento da peça	42
Figura 14 -	Tela do i-Cat Vision® onde foi feita a análise qualitativa.....	43
Figura 15 -	Posicionamento das reformatações parassagittais. 20 cortes de 0,5 mm, totalizando 1 cm (tamanho do defeito criado)	44
Figura 16 -	Tela onde se observa as reformatações parassagittais. As reformatações 5, 10 e 15, as quais dividem o defeito em três partes iguais, foram utilizadas para as medições	44
Figura 17 -	Localização da medida vertical. À esquerda grupo experimental e à direita controle	45
Figura 18 -	Localização da medida horizontal. À esquerda, grupo experimental e à direita, grupo controle	46
Figura 19 -	Reformatação panorâmica de defeito do grupo Controle 0	49

Figura 20 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Controle 0.....	50
Figura 21 - Reformatação panorâmica de defeito do Grupo Controle 3	51
Figura 22 - Reformatação parassagital de defeito do Grupo Controle 3	51
Figura 23 - Reformatação panorâmica de defeito do Grupo Controle 6	52
Figura 24 - Reformatação parassagital de defeito do Grupo Controle 6	52
Figura 25 - Reformatações panorâmicas dos grupos controle. De cima para baixo: mandíbula não operada, controle 0, controle 3 e controle 6	53
Figura 26 - Reformatações parassagitais dos grupos controle. Da esquerda para direita: mandíbula não operada, controle 0, controle 3 e controle 6.....	53
Figura 27 - Reformatação panorâmica de defeito do grupo Experimental 0.....	54
Figura 28 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Experimental 0	54
Figura 29 - Reformatações panorâmica de defeito do grupo Experimental 3	55
Figura 30 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Experimental 3	55
Figura 31 - Reformatação panorâmica de defeito do grupo Experimental 6.....	56
Figura 32 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Experimental 6	56
Figura 33 - Reformatações panorâmicas dos grupos experimentais. De cima para baixo: mandíbula não operada, experimental 0, experimental 3 e experimental 6.....	57
Figura 34 - Reformatações parassagitais dos grupos experimentais. Da esquerda para a direita: mandíbula não operada, experimental 0, experimental 3 e experimental 6.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Formação dos grupos de acordo com o tempo	34
Tabela 2 -	Medidas (em milímetros) obtidas nas reformatações parassagittais dos grupos controles e experimentais.....	59
Tabela 3 -	Médias (em mm) das medidas mesiais dos grupos.....	59
Tabela 4 -	Médias (em mm) das medidas centrais dos grupos	60
Tabela 5 -	Médias (em mm) das medidas distais dos grupos.....	60
Tabela 6 -	Comparação controle x tempo para as medidas verticais mesiais	60
Tabela 7 -	Comparação controle x tempo para as medidas verticais centrais.....	60
Tabela 8 -	Comparação controle x tempo para as medidas verticais distais.....	61
Tabela 9 -	Comparação controle x tempo para as medidas horizontais mesiais.....	61
Tabela 10 -	Comparação controle x tempo para as medidas horizontais centrais	61
Tabela 11 -	Comparação controle x tempo para as medidas horizontais distais.....	61
Tabela 12 -	Comparação experimental x tempo para as medidas verticais mesiais	61
Tabela 13 -	Comparação experimental x tempo para as medidas verticais centrais.....	62
Tabela 14 -	Comparação experimental x tempo para as medidas verticais distais	62
Tabela 15 -	Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais mesiais ..	62
Tabela 16 -	Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais centrais	62
Tabela 17 -	Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais distais....	62
Tabela 18 -	Comparação experimental x controle para as medidas verticais mesiais ...	63
Tabela 19 -	Comparação experimental x controle para as medidas verticais centrais...	63
Tabela 20 -	Comparação experimental x controle para as medidas verticais distais.....	63
Tabela 21 -	Comparação experimental x controle para as medidas horizontais mesiais	63
Tabela 22 -	Comparação experimental x controle para as medidas horizontais centrais ...	63
Tabela 23 -	Comparação experimental x controle para as medidas horizontais distais ...	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

b-TCP	Beta-tri-cálcio
HC	Horizontal Central
HD	Horizontal Distal
HM	Horizontal Mesial
kg	Quilograma
kVp	Quilovoltagem
mg	Miligrama
mL	Mililitros
mm	Milímetros
OBI	Osso Bovino Inorgânico
OBIC	Osso Bovino Inorgânico com Colágeno
TCFC	Tomografia Computadorizada Cone Bean
VC	Vertical Central
VD	Vertical Distal
VM	Vertical Mesial

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor
nº	Número

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	DEFEITOS DE TAMANHO CRÍTICO.....	21
2.2	ENXERTOS ÓSSEOS XENÓGENOS	22
2.2.1	Liofilização	23
2.2.2	Osso bovino inorgânico com colágeno	24
3	PROPOSIÇÃO	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	ANIMAIS	33
4.2	GRUPOS	34
4.3	ANESTESIA DOS ANIMAIS	34
4.4	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	34
4.5	MEDICAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA	35
4.6	EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	40
4.7	AQUISIÇÃO DAS IMAGENS POR TCFC	41
4.8	ANÁLISE QUALITATIVA DAS TCFCs	41
4.9	ANÁLISE QUANTITATIVA DAS TCFCs.....	43
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
5	RESULTADOS	47
5.1	ANÁLISE QUALITATIVA.....	49
5.2	ANÁLISE QUANTITATIVA	58
6	DISCUSSÃO	65
7	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS	75
	ANEXO.....	81

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a implantodontia tem evoluído muito na intenção de substituir perdas dentárias, porém infelizmente nem sempre isto é capaz, uma vez que após a perda dentária, na grande maioria das vezes, o osso remanescente também é reabsorvido, dificultando ou impossibilitando a instalação de implantes osseointegrados. Esse tipo de perda óssea nos maxilares ou as perdas ósseas resultantes de ressecções cirúrgicas, constituem uma preocupação importante na atualidade, uma vez que os cirurgiões dentistas pesquisam um substituto ósseo que devolva a forma e o contorno dos ossos da face e dos maxilares, e/ou que permita a instalação de implantes osseointegrados.

Na intenção de promover um reparo ósseo previsível, para permitir a instalação de implantes em condições favoráveis a uma reabilitação estética e funcional adequada, a falta de volume ósseo tem sido solucionada em muitos casos por meio de procedimentos de enxertia com diversos tipos de biomateriais (ADELL, 1981). Procedimentos estes, que vem se popularizando ao longo do tempo assim como os implantes e tornando-se rotineira a sua realização. Esses são tidos como uma alternativa viável para a substituição dos tecidos ósseos, pois não possuem riscos de transmissão de doenças ou rejeição imunológica além de apresentarem suprimento ilimitado (HALL et al., 1999).

Dentre os biomateriais, a utilização do osso bovino liofilizado tem se popularizado e vem ganhando mercado uma vez que reduz a morbidade do paciente evitando a retirada de enxertos autógenos e tem apresentado uma boa previsibilidade de resultados (FELICE et al., 2008).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEFEITOS DE TAMANHO CRÍTICO

O defeito ósseo experimental não deve proporcionar condições para que ocorra um reparo instantâneo, pois somente assim poderá se medir o potencial do enxerto de induzir a formação óssea, portanto este deverá ser grande o suficiente para não ser reparado em toda a vida do animal (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986). Hollinger e Kleinschmidt (1990) firmaram que este seria um defeito no qual durante toda a vida do animal não se formaria mais de 10% do osso perdido, em um animal esqueleticamente maduro e que possua respostas fisiológicas normais de reparo.

O defeito de tamanho crítico foi instituído para que se pudesse diminuir as diferenças relacionadas com a idade, espécie e sítio anatômico em animais experimentais, padronizando-se os defeitos para possibilitar a comparação dos resultados dos vários estudos (SWEENEY et al., 1995), além de se poder considerar sem erro o potencial osteogênico do material em teste. Porém dificilmente se faz um estudo com animais levando em consideração toda a vida, mas somente por um período experimental, e Gosain et al. (2000), afirmou então que o defeito de tamanho crítico a ser considerado deveria ser aquele que não poderia ser reparado durante o período experimental.

Falhas ósseas na mandíbula são frequentes nos seres humanos uma vez que podem ser causadas por remoção de neoplasias, traumatismos, infecções, perdas dentárias ou até mesmo constituir deformidades congênitas. Sendo assim considerada como um osso ideal para que matérias utilizados em enxertos sejam testados (BRANDÃO; ARAÚJO, 1989).

Lu e Rabie (2003) avaliaram em defeitos críticos a integração de enxertos ósseos autógeno intramembranoso e endocondral em defeitos ósseos membranosos, através da análise das alterações da microarquitetura do osso enxertado 3 meses após a enxertia. Doze defeitos de tamanho crítico (15 x 10mm) foram criados em mandíbulas de coelhos, bilateralmente. Seis defeitos no lado direito da mandíbula foram enxertados com osso autógeno endocondral, e seis à esquerda foram enxertados com osso intramembranoso. Três meses depois, imagens com micro-tomografia computadorizada (Micro-CT) foram obtidas da região dos defeitos para a avaliação do exame de imagem. Micro-CT mostrou que o osso intramembranoso deu mais volume ósseo, número de trabéculas e espessura trabecular maior

($P < 0,001$), e que o osso endocondral tinha mais separação trabecular ($P < 0,001$). Estes resultados por meio da visualização em três dimensões indicam que os enxertos ósseos intramembranosos integram-se melhor do que os enxertos de osso endocondral quando eles são enxertados em defeitos ósseos membranosos.

Zhang et al. (2010) realizaram um estudo para avaliar a cicatrização de defeitos cirúrgicos de tamanho crítico após a implantação do composto nano-hidroxiapatita/poliamida poroso (nHA/PA) em blocos com base em um modelo experimental utilizando-se de mandíbula com coelhos brancos adultos Nova Zelândia. No estudo 15 coelhos foram divididos aleatoriamente em três grupos de acordo com o período de observação: 4, 12 e 24 semanas. Os defeitos de um lado foram implantados com blocos de Nha/PA e os defeitos contralateral foram mantidos como controles (vazio). A combinação de estudos macroscópicos, radiológicos, histológicos e histomorfométricos foram realizadas até 24 semanas de pós-operatório e comparados com cura normal. Foi encontrada diferença significativa entre os grupos Nha/PA e controles sobre a radiopacidade durante todo o período e parâmetros ósseos em quatro semanas de pós-operatório ($P < 0,05$). O nHA/PA poroso promoveu a formação óssea ao longo da extensão do defeito, especialmente na fase inicial. E concluíram que o nHA/PA oferece um potencial interessante para procedimentos de reconstrução em regiões maxilofaciais.

2.2 ENXERTOS ÓSSEOS XENÓGENOS

O primeiro relato descrito na literatura a respeito do enxerto ósseo data de 1682, com Van Meeken transplantando osso de crânio de cão para um defeito cranial no homem, com sucesso (CHASE; HERNDON, 1955; KUABARA; VASCONCELOS; CARVALHO, 2000). Desde então a evolução de enxertos dessa natureza se deu ao longo do tempo até que hoje os enxertos ósseos estão entre os mais realizados em seres humanos, sendo o transplante ósseo na atualidade o segundo mais realizado, sendo que apenas o de sangue o ultrapassa (GIANNOUDIS; DINOPOULOS; TSIRIDIS, 2005).

Segundo Castro-Silva, Zambuzzi e Granjeiro (2009), embora o enxerto autógeno seja considerado a primeira opção para enxertos ósseos ou “padrão ouro” devido ao seu potencial osteogênico, osteoindutor e osteocondutor, sua pequena disponibilidade, incorre em maiores custos operacionais e morbidade do sítio doador a curto e longo prazo. Por isso os enxertos

xenógenos vêm sendo largamente aplicados na odontologia. Dentre as opções para a realização de enxertos os xenógenos vêm sendo utilizados com frequência na clínica odontológica, e dentre eles os mais utilizados são os de origem bovina. A partir do osso bovino diversos tipos de enxertos foram colocados no mercado e disponíveis para a compra.

Indicar cada tipo de material para ser enxertado irá depender de como este foi processado, os enxertos inorgânicos são processados de forma a remover toda matéria que possa causar uma reação de corpo estranho no organismo do receptor, removendo então material proteico e células. E enxertos orgânicos além do que foi removido no inorgânico, a matriz restante é desmineralizada com a finalidade de expor proteínas osteoindutoras, proporcionando esta propriedade ao material, porem deixando este menos resistente mecanicamente (HALLMAN; THOR, 2008; CASTRO-SILVA; ZAMBUZZI; GRANJEIRO, 2009).

A extensão e a complexidade anatômica dos defeitos alveolares definem as dimensões e a quantidade de enxerto requerido para seu tratamento e muitas vezes, dita qual a melhor abordagem para a reconstrução. Influenciam na decisão clínica por uma ou outra conduta clínica, as preferências pessoais. A maioria dos enxertos podem ser utilizados para desempenharem funções distintas (regeneração tecidual guiada, entre eles: evitar o colapso da membrana; servir de matriz para migração de células e vasos; estimular a diferenciação celular; evitar o colapso dos tecidos moles; proteger da reabsorção o volume aumentado), sendo utilizado em bloco ou particulado (BUSER, 2009).

Independente do biomaterial, ele dever ser, por exemplo, biocompatível ou biotolerado, osteoindutor, osteocondutor, osteogênico, além de permanecer no organismo por um tempo compatível para sua substituição por um novo tecido ósseo; deve ser de fácil manipulação, esterilizável, facilmente obtido, hidrofílico, econômico, não devendo atuar como substrato para a proliferação de patógenos, não ser cancerígeno ou teratogênico e antigênico. Contudo, nenhum biomaterial atualmente conhecido, possui todas as características requisitadas (FARDIN et al., 2010).

2.2.1 Liofilização

Biomateriais alternativos de natureza sintética ou natural e diferentes métodos de processamento e armazenamento de tecido ósseo têm sido propostos e exaustivamente

estudados. Entre esses métodos está a liofilização que permite o processamento, a esterilização e o armazenamento de enxertos ósseos homólogos e mesmo heterólogos, principalmente de origem bovina, aumentando assim, o leque de opções de tecidos implantáveis. É importante considerar ainda que o osso bovino possui disponibilidade praticamente ilimitada e, se processado adequadamente, mantém grande similaridade físico-química e estrutural com o humano (OLIVEIRA et al., 1999).

O processo de liofilização do enxerto consiste na retirada de umidade do osso previamente desengordurado, retirada de toda a sua porção celular e microrganismos, e como toda a água é retirada, sendo esta fundamental para que ocorram reações químicas, possibilita a estocagem desse enxerto por longos períodos (SUNDARAMURTHI; SURYANARAYANAN, 2012). Entretanto essa armazenagem por um período prolongado pode gerar perdas na qualidade do enxerto uma vez que suas propriedades de elasticidade já foram alteradas na liofilização e estes podem perder ainda mais a elasticidade tornando-se ainda mais frágeis, o que aparentemente não compromete o desempenho clínico (MACEDO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2007).

2.2.2 Osso bovino inorgânico com colágeno

Segundo Han et al. (2011) a adição de colágeno ao osso bovino inorgânico (OBI) busca uma melhora na capacidade de osteocondução através da estabilização de suas partículas e da formação de pontes entre a parede do defeito e o enxerto. A adição de colágeno ao OBI é realizada buscando estimular a migração de odontoblastos e acelerando o processo de regeneração. O osso bovino inorgânico com colágeno (OBIC) é uma mistura do osso bovino inorgânico com 10% de matriz colágena suína do tipo I (HAN et al., 2011).

Donos et al. (2004) avaliaram o efeito da regeneração óssea guiada com ou sem a combinação de osso bovino desproteínizado e/ou um derivado da matriz de esmalte na cicatrização de defeitos em calvárias de tamanho crítico em 40 ratos, que após 4 meses foram sacrificados e as amostras analisadas histologicamente. Ainda foi analisada a presença ou ausência de membranas protegendo o enxerto e foi observado que as membranas tiveram relação direta com a previsibilidade da formação óssea em defeitos de tamanho crítico. E que o uso combinado com o osso bovino desproteínizado e/ou proteínas de matriz de esmalte não

aumentou significativamente o potencial para a cura completa fornecida pelo procedimento de regeneração óssea guiada.

Araújo e Lindhe (2009), avaliaram o efeito a longo prazo da formação de tecido duro e a quantidade do aumento de rebordo que pode ocorrer pela colocação de um enxerto xenogénico em cavidades pós exodontia de cães. Um enxerto composto de Bio-Oss Collagen® foi colocado e um sítio contralateral ficou sem enxertia. Após 6 meses de cicatrização os cães foram sacrificados e as biópsias foram realizadas. E observaram que a colocação de Bio-Oss Collagen® no sítio pós exodontia serviu para a modelagem de tecido, mas não melhorou a nova formação óssea e proporcionou uma maior manutenção óssea que na região contralateral podendo então preservar as dimensões de crista óssea após exodontia.

Kato et al. (2012) comparou a osteocondutividade e biodegradação de um composto de beta-tri-cálcio (b-TCP) adicionado de um composto de colágeno com o Bio-Oss® Collagen, utilizando defeitos críticos na calvária de rato. Os defeitos foram avaliados por análise histológica e histomorfológica por meio de cortes histológicos dos animais sacrificados com 6 e 10 semanas, respectivamente, após o enxerto. E encontraram que no defeito tratado com o b-TCP continha estruturas ósseas imaturas com tecido conjuntivo denso em contraste com o tecido fibroso abundante, mas nenhuma estrutura trabecular foi observada dentro do defeito tratado com Bio-Oss Collagen® às 6 semanas após a cirurgia. E concluíram que o b-TCP apresentou maior osteocondutividade e melhores propriedades de biodegradação do que Bio-Oss Collagen®.

Degidi et al. (2012) avaliaram radiograficamente as alterações verticais e horizontais do osso alveolar vestibular após a inserção de um implante imediato utilizando um enxerto de Bio-Oss Collagen®. Os implantes foram realizados em pacientes com necessidade de exodontias e implantes na região entre os elementos 15 e 25. Essa avaliação foi realizada por meio de tomografia computadorizada cone beam (TCFC), imediatamente à cirurgia e após 12 meses da cirurgia. Para o estudo foram selecionados 69 pacientes, e os resultados demonstraram que houve um aumento nas dimensões vertical e horizontal da placa do osso bucal (respectivamente, 25,6% e 29,3%). No entanto, a redução da diferença vertical e horizontal estava quase completa (respectivamente, 99,3% e 99,1%) e o implante estava normalmente em contato com o osso bucal.

Heinemann et al. (2012) compararam a preservação do osso alveolar após exodontia com ou sem o tratamento imediato por implantes utilizando-se de enxertos de Bio-Oss Collagen. Para o estudo 25 pacientes foram divididos em três grupos: o primeiro grupo (sete

pacientes) recebeu Bio-Oss Collagen[®] após extração e 8-10 semanas mais tarde, um implante, o segundo grupo (oito pacientes) recebeu apenas Bio-Oss Collagen[®], enquanto que o terceiro grupo foi considerado como controle onde não foi colocado nenhum enxerto no alvéolo pós exodontia. A alteração na posição vertical do nível ósseo das cristas alveolares foram medidos a partir de radiografias panorâmicas e analisados estatisticamente. E observaram que a preservação de alvéolos pós exodontia utilizando Bio-Oss Collagen[®] foi significativamente melhor que os grupos não tratados e que o período de 8 a 10 semanas para a colocação de implantes mostrou-se adequado.

Trevisiol et al. (2012) avaliaram a cicatrização de defeitos ósseos mandibulares em avanços grandes. Em 20 pacientes tratados para a correção da classe II dentoesquelética, nos defeitos por osteotomias mandibulares foram enxertados substituto ósseo bovino com colágeno. Avaliação clínica, radiológica e histológica dos sítios enxertados mostraram uma boa cura da área tanto em termos de recotorno da mandíbula e em termos de qualidade do osso recém-formado. Isto confirma como este processo pode ajudar a evitar os inconvenientes relacionados com grandes avanços mandibulares.

Li et al. (2013), avaliaram clínica e histologicamente enxertos em blocos com Bio-Oss colocados subperiostealmente em uma zona atrófica de mandíbula em 9 pacientes. Estes foram avaliados nove meses após o enxerto, no momento da colocação dos implantes e amostras para biópsia foram coletadas. Após a análise histológica das amostras pode-se observar formação de osso novo através do bloco de osso bovino foi de forma consistente nos 9 casos. E houve deposição direta de osso sobre a superfície do material do enxerto. Mostrando que pode ser útil a colocação de enxertos subperiostealmente em mandíbulas atróficas para a posterior colocação de implantes.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar por meio de tomografias computadorizadas de feixe cônico se o enxerto de osso bovino com 10% de colágeno suíno é capaz de auxiliar no reparo ósseo de defeitos de tamanho crítico criados na mandíbula de coelhos. Bem como sua capacidade de manter o contorno e forma do osso.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto desta pesquisa foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo sob o protocolo de número 035/2011 (Anexo A).

4.1 ANIMAIS

Para os experimentos foram utilizados nesta pesquisa coelhos machos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) pesando entre três quilos e meio a quatro quilos e meio com aproximadamente seis meses de vida. Os animais foram mantidos em biotério dentro de gaiolas de aço individuais (Figura 1), alimentados com ração própria para a espécie e água à vontade, não sendo feito nenhum período de jejum pré-operatório.

Figura 1 - Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP

4.2 GRUPOS

Os animais foram divididos em seis grupos contendo seis animais cada e nomeados de acordo com a época de sacrifício em meses (Tabela 1). No grupo 0 os animais foram sacrificados imediatamente após a cirurgia e nos grupos 3 e 6 os animais foram sacrificados após três e seis meses respectivamente.

Tabela 1 - Formação dos grupos de acordo com o tempo

	0 hora	3 meses	6 meses
Controle	Grupo Controle 0	Grupo Controle 3	Grupo Controle 6
Experimental	Grupo Experimental 0	Grupo Experimental 3	Grupo Experimental 6

4.3 ANESTESIA DOS ANIMAIS

Os animais foram sedados e anestesiados através da administração intramuscular de xilazina (Anasedan[®] Injetável, Ceva Brasil) e quetamina (Dopalen[®] Injetável, Vetbrands) na proporção de 10 mg/kg e 50 mg/kg respectivamente misturados em uma única seringa. Após cinco minutos de latência os animais estavam prontos para a cirurgia. O tempo hábil de anestesia e sedação foi de cerca de trinta minutos.

4.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após a anestesia, com uma lâmina de barbear foi feita a tricotomia na região submandibular envolvendo desde o terço superior do pescoço até a região submentoniana, estendendo-se cerca de um centímetro além da base mandibular em direção lateral (Figura 2). Em seguida, foi feita a desinfecção tópica da região com polivinil pirrolidona iodo (PVPI). Antes da incisão infiltrou-se cerca de meio tubete do anestésico cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000 (Articaíne[®] 100, DFL) na região. Uma incisão de aproximadamente dois centímetros foi feita com uma lâmina de bisturi nº 15 bilateralmente sobre a base da mandíbula anteriormente ao ângulo mandibular (Figura 3). Os planos teciduais foram dissecados até atingir o osso. Com um descolador de Molt nº 9 foi feito o descolamento do

periósteo em direção vestibular e lingual com cerca de um centímetro e meio de profundidade (Figura 4). Com uma broca nº 699 para peça de mão montada em um motor elétrico foi criado um defeito ósseo com dimensões de um centímetro de largura por um centímetro de altura localizado anteriormente à fossa antegonial (Figura 5). Aos defeitos experimentais foi adaptado o bloco de osso bovino liofilizado com 10% de colágeno suíno (Geistlich Bio-Oss[®] Collagen) (Figura 6). Com a mesma broca foram feitos dois orifícios localizados a cerca de três milímetros lateralmente ao defeito e superiormente à base da mandíbula, uma de cada lado do defeito, por onde foi transpassado um fio de aço inoxidável 2.0 (Aciflex[®], Ethicon, Johnson & Johnson) para estabilizar o enxerto ao defeito (Figura 7). Em seguida, uma membrana reabsorvível de colágeno (Osseoguard[®], Biomet 3i) de tamanho 20x30 mm foi utilizada para recobrir a área enxertada (Figura 8). Nos defeitos controles não foi utilizado nenhum tipo de enxerto ou membrana. O tecido mole foi suturado nos planos internos com fio de sutura reabsorvível 3-0 (Vycril[®], Ethicon, Johnson & Johnson) (Figura 9) e a pele suturada com fio de nylon 4-0 (Shalon[®], Shalon Suturas) (Figura 10). Finalizada a sutura outra desinfecção com PVPI foi feita na região operada e as unhas dos animais cortadas para evitar ferimentos e remoção da sutura. Após quinze dias de pós-operatório os pontos remanescentes foram removidos.

4.5 MEDICAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

Imediatamente após o fim da cirurgia foram administrados aos animais por via intramuscular 0,6 mL de antibiótico (Shotapen[®] L.A., Virbac S/A) e 1,2 mL de anti-inflamatório (Ketofen[®] 1%, Merial Saúde Animal Ltda.). O anti-inflamatório foi reaplicado nos três dias seguintes de pós-operatório e o antibiótico no terceiro dia.

Figura 2 - Tricotomia pré-operatória

Figura 3 - Incisão sobre a base mandibular, anteriormente ao ângulo

Figura 4 - Exposição do osso mandibular

Figura 5 - Defeito ósseo de 10 x 10 mm criado na base mandibular

Figura 6 - Bloco de osso bovino integral (Geistlich Bio-Oss® Collagen)

Figura 7 - Enxerto adaptado ao defeito e estabilizado com fio de aço cirúrgico

Figura 8 - Recobrimento do enxerto com membrana de colágeno (Osseoguard® Biomet 3i)

Figura 9 - Sutura por planos com fio reabsorvível

Figura 10 - Sutura da pele com fio de Nylon®

4.6 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Para a eutanásia os animais foram anestesiados com a mesma dose de anestésicos utilizada para o procedimento cirúrgico e em seguida uma dose três vezes maior dos mesmos anestésicos foi injetada diretamente no coração. As mandíbulas foram removidas e depositadas em um recipiente contendo solução de formol a 10% (Figura 11).

Figura 11 - Peça armazenada em formol 10%

4.7 AQUISIÇÃO DAS IMAGENS POR TCFC

As aquisições das imagens tomográficas das peças foram feitas no tomógrafo de feixe cônico (i-CAT[®], Imaging Sciences International) do departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP. Antes das aquisições foi feita a calibração do aparelho através do programa do aparelho (i-CAT Viewer[®], Imaging Sciences International). As peças foram colocadas em um recipiente de plástico vazio e sem tampa que foi colocado no aparelho de TCFC e posicionado com auxílio dos *lasers* (Figuras 12 e 13). A linha média da mandíbula foi alinhada com o *laser* frontal, enquanto o lateral foi posicionado na região do ramo mandibular. Foi utilizado o protocolo para mandíbula com 6 cm de altura, 40 segundos de exposição e resolução de 0,2 *voxels*. A quilovoltagem foi ajustada automaticamente pelo aparelho em 120 kVp e a miliamperagem em 36,12 mAs. Em seguida, as imagens foram convertidas para o formato DICOM e reformatadas no programa fornecido pelo fabricante do aparelho (i-CAT Vision[®], Imaging Sciences International). Neste programa as imagens foram exportadas no formato DICOM para posteriormente serem importadas em um programa para análise ortodôntica e cirúrgica.

4.8 ANÁLISE QUALITATIVA DAS TCFCs

As análises qualitativas das imagens foram realizadas no programa i-CAT Vision[™] (Imaging Sciences International, Hatfield, PA). As reformatações foram orientadas de forma que a axial ficasse com a linha média perpendicular ao solo e a sagital com o plano oclusal paralelo ao solo (Figura 14). Na reformatação panorâmica a espessura das reformatações parassagittais e axiais foram ajustadas em 0,2 mm. As análises foram feitas através das reformatações panorâmicas e parassagittais correndo os cortes sobre a área do defeito ou enxerto (Figura 14). Foram observadas a forma e densidade do osso regenerado nos grupos controles e a integração, forma e densidade nos grupos experimentais.

Figura 12 - Peça posicionada no tomógrafo

Figura 13 - Detalhe da utilização do laser para poscionamento da peça

Figura 14 - Tela do i-Cat Vision® onde foi feita a análise qualitativa

4.9 ANÁLISE QUANTITATIVA DAS TCFCS

Para a análise quantitativa as imagens foram importadas em um programa de análise ortodôntica e cirúrgica (Dolphin Imaging® 11.5 Premium, Paterson Dental Suply). As reformatações foram ajustadas de forma a possuírem 20 cortes, com espessura de 0,5 mm e largura de 16 mm. Os vinte cortes de 0,5 mm totalizaram um centímetro, o mesmo tamanho do defeito criado (Figura 15). As medições foram realizadas em três reformatações: uma central, uma distal e uma mesial, igualmente espaçadas (Figura 16).

Figura 15 - Posicionamento das reformatações parassagittais. 20 cortes de 0,5 mm, totalizando 1 cm (tamanho do defeito criado)

Figura 16 - Tela onde se observa as reformatações parassagittais. As reformatações 5, 10 e 15, as quais dividem o defeito em três partes iguais, foram utilizadas para as medições

O método empregado para as medições foi a realização de uma linha horizontal traçada a partir do ponto mais inferior e exterior da cortical mais hiperdensa e localizada mais inferiormente. Estendeu-se esta linha até a outra cortical para verificar a espessura mandibular e finalizou-se na metade desta espessura, coincidindo com o centro, determinando o ponto de origem da linha que serviu para medir a altura do osso regenerado (Figura 17). Novamente na cortical iniciou-se uma linha vertical com metade do comprimento da linha que determinou a altura do osso regenerado, determinando em sua ponta a altura da linha horizontal que serviu para verificar a espessura do osso (Figura 18).

As variáveis foram denominadas de acordo com a reformatação a que pertenciam: vertical mesial (VM), horizontal mesial (HM), vertical central (VC), horizontal central (HC), vertical distal (VD) e horizontal distal (HD).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) dois critérios para verificar a relação entre os fatores grupo e tempo com as variáveis VM, HM, VC, HC, VD e HD.

Os dados obtidos das medições foram tabulados e analisados no programa SigmaPlot® versão 12.0 (Systat Software, Inc.).

Figura 17 - Localização da medida vertical. À esquerda grupo experimental e à direita controle

Figura 18 - Localização da medida horizontal. À esquerda, grupo experimental e à direita, grupo controle

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE QUALITATIVA

Após a realização das tomografias computadorizadas de feixe cônico das mandíbulas coletadas foi possível analisar as características radiográficas apresentadas nos diferentes tempos de observação. No grupo Controle 0 em que a mandíbula foi coletada imediatamente após a cirurgia foi possível observar nas reformatações panorâmicas um defeito de margens nítidas com secção das raízes dos dentes localizados na região superior ao defeito (Figura 19). Em alguns defeitos existiam raízes parcialmente seccionadas, não interferindo significativamente na forma do defeito. Nas reformatações parassagittais observou-se o seccionamento das raízes ao mesmo nível das corticais vestibular e lingual (Figura 20). Em um dos animais a raiz ultrapassava levemente o limite das corticais e em outros dois a parede superior do defeito se encontrava levemente inclinada em relação ao longo eixo do dente localizado superiormente, sendo que em um destes dois a cortical lingual não havia sido totalmente seccionada, apresentando-se projetada para o interior do defeito.

Figura 19 - Reformatação panorâmica de defeito do grupo Controle 0

Figura 20 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Controle 0

No grupo Controle 3 observou-se em todos os defeitos a regeneração incompleta, restando um defeito côncavo na parte inferior (Figura 21). Em três defeitos o ápice dessa concavidade localizava-se no centro do defeito e em outros três deslocada para a região posterior. Em apenas um dos defeitos essa convexidade se encontrava interrompida por uma falha na regeneração que parecia representar apenas uma alteração de forma. A densidade do osso regenerado era semelhante ao osso vizinho ao defeito. Houve formação de cortical na base. Nas reformatações parassagittais observou-se uma regeneração óssea de forma convexa regular em dois defeitos (Figura 22), convexa irregular em outros dois e irregular nos defeitos restantes. Foi possível diferenciar o osso regenerado devido às suas corticais se apresentarem menos hiperdensas em relação às corticais não seccionadas. Contudo, o osso medular foi difícil de diferenciar do osso vizinho devido às suas semelhanças de densidade.

Nos cinco defeitos do grupo Controle 6 não houve regeneração completa do defeito (Figura 23). Apenas um defeito não possuía forma côncava, se apresentando irregular. Em todos os defeitos o osso medular regenerado era semelhante ao osso vizinho. Nas reformatações parassagittais observou-se a regeneração regular convexa em algumas áreas e irregular em outras áreas dos mesmos defeitos (Figura 24). As áreas regeneradas encontravam-se com corticais em toda sua extensão. Em alguns locais estas corticais possuíam espessura e densidade semelhante às corticais não envolvidas no defeito. Já em outras áreas, as corticais eram mais finas e menos densas que as corticais não envolvidas no defeito. Em dois defeitos a cortical se apresentava irregular, frequentemente interrompida. O osso medular da área regenerada possuía densidade semelhante à do osso vizinho.

Figura 21 - Reformatação panorâmica de defeito do Grupo Controle 3

Figura 22 - Reformatação parassagital de defeito do Grupo Controle 3

Figura 23 - Reformatação panorâmica de defeito do Grupo Controle 6

Figura 24 - Reformatação parassagital de defeito do Grupo Controle 6

Nas reformatações panorâmicas e parassagitais do grupo Experimental 0 foi possível observar todos os enxertos com a mesma densidade e mais densos que o osso do hospedeiro (Figuras 27 e 28). Os enxertos estavam bem adaptados ao defeito e todos em íntimo contato com a parede superior do defeito. Em nenhum dos casos houve formação de cortical.

Figura 25 - Reformatações panorâmicas dos grupos controle. De cima para baixo: mandíbula não operada, controle 0, controle 3 e controle 6

Figura 26 - Reformatações parassagittais dos grupos controle. Da esquerda para direita: mandíbula não operada, controle 0, controle 3 e controle 6

Figura 27 - Reformatação panorâmica de defeito do grupo Experimental 0

Figura 28 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Experimental 0

Com exceção de três casos, em todos os demais houve aparecimento de discreto espaço entre as paredes laterais do defeito. Em um dos casos houve deslocamento do enxerto da loja cirúrgica.

Nas reformatações panorâmicas do grupo Experimental 3 observou-se em 100% dos casos a formação de cortical separando o enxerto e o osso do hospedeiro, não sendo notado a integração dos enxertos. Nas reformatações parassagittais também observou-se a presença de cortical além, de ter havido reabsorção dos ângulos superiores do enxerto, dando um aspecto mais arredondado. Em todos os casos o enxerto manteve sua densidade assim como no grupo experimental 0.

Figura 29 - Reformatações panorâmicas de defeito do grupo Experimental 3

Nas reformatações panorâmicas do grupo Experimental 6 em dois dos enxertos houve infecção, com imagens sugestivas de abscessos (frequentes em coelhos) e reabsorção total do enxerto. Nos demais casos observa-se presença de cortical entre o enxerto e o osso do hospedeiro. E foi possível visualizar a não integração do enxerto. Nas reformatações parassagittais observou-se presença de cortical separando o osso do hospedeiro e o enxerto, além de reabsorção dos ângulos superiores do enxerto. Foi também possível notar que a densidade do enxerto não foi modificada. Em um dos casos, na reformatação parassagittal o enxerto parece ter sido reabsorvido, tendo perdido maior parte de seu volume original.

Figura 30 - Reformatação parassagittal de defeito do grupo Experimental 3

Figura 31 - Reformatação panorâmica de defeito do grupo Experimental 6

Figura 32 - Reformatação parassagital de defeito do grupo Experimental 6

Figura 33 - Reformatações panorâmicas dos grupos experimentais. De cima para baixo: mandíbula não operada, experimental 0, experimental 3 e experimental 6

Figura 34 - Reformatações parassagitais dos grupos experimentais. Da esquerda para a direita: mandíbula não operada, experimental 0, experimental 3 e experimental 6

5.2 ANÁLISE QUANTITATIVA

A Tabela 2 apresenta a descrição em milímetros das medidas obtidas por meio das reformatações parassagitais dos grupos com dados sobre a altura e espessura óssea. Enquanto as Tabelas 3, 4 e 5 trazem as médias das medidas mesiais, centrais e distais respectivamente, apontando os grupos e as variações de tempo. Após a análise estatística pode se observar que houve diferenças estatisticamente significante entre C0 e C3, e C0 e C6 quando se comparou o controle ao longo do tempo, para as medidas verticais e horizontais: mesiais, centrais e distais (Tabelas 6 a 11). Para os grupos experimentais nas comparações intra grupo houve diferenças estatisticamente significante entre E0 e E3, e não houve diferença nas medidas horizontais.

Nas comparações entre o Grupo controle e experimental para as medidas verticais mesiais houve diferenças no tempo zero e seis e nas medidas verticais centrais e distais houve diferenças nos tempos zero. Já nas comparações entre os grupos para as medidas horizontais houve diferença entre todos os tempos nas medidas mesiais, centrais e distais.

Tabela 2 - Medidas (em milímetros) obtidas nas reformatações parassagittais dos grupos controles e experimentais

Grupos	Tempo	VM	HM	VC	HC	VD	HD
C*	0	0	0	0	0	0	0
C	3	5,9	4,4	7,7	5,2	8,8	4,9
C	3	6,2	4,7	5,4	5,4	6	4,8
C	3	8	4,6	8,3	3,6	4,9	2,3
C	3	8,5	6,7	6,5	6,3	6,5	3,1
C	3	6,9	4,8	5,6	4,6	7,3	5,3
C	3	7	4,6	6,9	4,4	7	3,7
C	6	8,4	0,5	8,8	0,7	9,5	2,3
C	6	8,4	5,3	6,5	5,1	6,9	5,6
C	6	6,4	3,6	4,2	5,3	6,2	4,7
C	6	6,4	3,1	8,1	5,4	5,6	6,3
C	6	5,9	6	6,3	5,4	5,7	5,4
E	0	8,0	7,2	8,1	7,0	8,0	7,3
E	0	8,3	7,5	8,2	7,4	8,3	7,0
E	0	8,4	7,5	8,6	7,6	8,3	8,2
E	0	7,8	8,7	7,6	8,3	7,5	8,4
E	0	10,4	8,4	9,6	8,6	9,6	8,5
E	3	6,1	5,3	7,0	6,0	7,8	7,1
E	3	7,7	6,0	7,8	6,8	7,1	6,3
E	3	4,0	7,0	5,7	7,0	4,8	7,0
E	3	6,5	6,6	6,1	6,9	5,9	6,6
E	3	4,0	6,9	6,6	6,0	4,2	5,2
E	3	6,7	8,6	10,1	9,7	8,9	10,4
E	6	7,5	6,1	6,9	6,4	7,7	7,0
E	6	8,4	8,4	8,9	7,7	8,2	7,7
E	6	4,0	6,2	4,4	7,5	5,3	5,3
E	6	9,5	9,4	9,4	8,7	10,6	9,0

VM: vertical mesial; HM: horizontal mesial; VC: vertical central; HC: horizontal central; VD: vertical distal; HD: horizontal distal.

(*) O grupo Controle 0 possui média zero para todas as variáveis.

Tabela 3 - Médias (em mm) das medidas mesiais dos grupos

Grupo	Tempo	VM		HM	
		Média	EPM	Média	EPM
C	0	0	-	0	-
C	3	7,083	0,573	4,967	0,501
C	6	7,100	0,627	3,700	0,548
E	0	8,167	0,573	7,433	0,501
E	3	6,067	0,573	6,867	0,501
E	6	7,300	0,810	8,000	0,708,

Tabela 4 - Médias (em mm) das medidas centrais dos grupos

Grupo	Tempo	VC		HC	
		Média	EPM	Média	EPM
C	0	0	-	0	-
C	3	6,733	0,572	4,917	0,474
C	6	6,780	0,627	4,380	0,520
E	0	8,183	0,572	7,483	0,474
E	3	7,200	0,572	7,133	0,474
E	6	7,567	0,809	7,967	0,671

Tabela 5 - Médias (em mm) das medidas distais dos grupos

Grupo	Tempo	VD		HD	
		Média	EPM	Média	EPM
C	0	0	-	0	-
C	3	6,750	0,576	4,017	0,514
C	6	6,780	0,631	4,860	0,563
E	0	8,250	0,576	7,750	0,514
E	3	6,433	0,576	7,083	0,514
E	6	8,033	0,814	7,333	0,727

Tabela 6 - Comparação controle x tempo para as medidas verticais mesiais

Comparação	VM				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C6 x C0	7,1000	3	11,822	<0,001	Sim
C6 x C3	0,0167	3	0,0278	1	Não
C3 x C0	7,0830	3	12,370	<0,001	Sim

Tabela 7 - Comparação controle x tempo para as medidas verticais centrais

Comparação	VC				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C6 x C0	6,7800	3	11,295	<0,001	Sim
C6 x C3	0,0467	3	0,0777	0,998	Não
C3 x C0	6,7330	3	11,765	<0,001	Sim

Tabela 8 - Comparação controle x tempo para as medidas verticais distais

Comparação	VD				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C6 x C0	6,780	3	11,225	<0,001	Sim
C6 x C3	0,030	3	0,0497	0,999	Não
C3 x C0	6,750	3	11,721	<0,001	Sim

Tabela 9 - Comparação controle x tempo para as medidas horizontais mesiais

Comparação	HM				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C3 x C0	4,967	3	9,921	<0,001	Sim
C3 x C6	1,267	3	2,412	0,222	Não
C6 x C0	3,700	3	7,047	<0,001	Sim

Tabela 10 - Comparação controle x tempo para as medidas horizontais centrais

Comparação	HC				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C3 x C0	4,917	3	10,365	<0,001	Sim
C3 x C6	0,537	3	1,079	0,729	Não
C6 x C0	4,380	3	8,804	<0,001	Sim

Tabela 11 - Comparação controle x tempo para as medidas horizontais distais

Comparação	HD				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
C3 x C0	4,860	3	9,011	<0,001	Sim
C3 x C6	0,843	3	1,564	0,519	Não
C6 x C0	4,017	3	7,811	<0,001	Sim

Tabela 12 - Comparação experimental x tempo para as medidas verticais mesiais

Comparação	VM				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E0 x E3	2,100	3	3,667	0,040	Sim
E0 x E6	0,867	3	1,236	0,661	Não
E6 x E3	1,233	3	1,759	0,439	Não

Tabela 13 - Comparação experimental x tempo para as medidas verticais centrais

Comparação	VC				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E0 x E3	0,983	3	1,718	0,455	Não
E0 x E6	0,617	3	0,880	0,809	Não
E6 x E3	0,367	3	0,523	0,928	Não

Tabela 14 - Comparação experimental x tempo para as medidas verticais distais

Comparação	VD				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E0 x E3	1,817	3	3,155	0,085	Não
E0 x E6	0,217	3	0,307	0,974	Não
E6 x E3	1,600	3	2,268	0,262	Não

Tabela 15 - Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais mesiais

Comparação	HM				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E6 x E3	1,133	3	1,848	0,4045	Não
E6 x E0	0,567	3	0,924	0,792	Não
E0 x E3	0,567	3	1,132	0,706	Não

Tabela 16 - Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais centrais

Comparação	HC				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E6 x E3	0,833	3	1,4345	0,575	Não
E6 x E0	0,483	3	0,832	0,828	Não
E0 x E3	0,350	3	0,738	0,862	Não

Tabela 17 - Comparação experimental x tempo para as medidas horizontais distais

Comparação	HD				
	Dif. Médias	p	q	P	P<0,05
E6 x E3	0,667	3	1,296	0,635	Não
E6 x E0	0,417	3	0,662	0,887	Não
E0 x E3	0,250	3	0,397	0,958	Não

Tabela 18 - Comparação experimental x controle para as medidas verticais mesiais

Grupos	Tempo	VM				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	8,167	2	14,261	<0,001	Sim
E x C	3	1,017	2	1,775	0,221	Não
E x C	6	0,200	2	0,276	0,847	Sim

Tabela 19 - Comparação experimental x controle para as medidas verticais centrais

Grupos	Tempo	VC				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	8,183	2	14,229	<0,001	Sim
E x C	3	0,467	2	0,815	0,559	Não
E x C	6	0,787	2	1,087	0,449	Não

Tabela 20 - Comparação experimental x controle para as medidas verticais distais

Grupos	Tempo	VD				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	8,250	2	14,326	<0,001	Sim
E x C	3	0,317	2	0,550	0,701	Não
E x C	6	1,253	2	1,721	0,235	Não

Tabela 21 - Comparação experimental x controle para as medidas horizontais mesiais

Grupos	Tempo	HM				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	7,433	2	14,848	<0,001	Sim
E x C	3	1,900	2	3,795	0,013	Sim
E x C	6	4,300	2	6,790	<0,001	Sim

Tabela 22 - Comparação experimental x controle para as medidas horizontais centrais

Grupos	Tempo	HC				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	7,483	2	15,775	<0,001	Sim
E x C	3	2,217	2	4,673	<0,003	Sim
E x C	6	3,587	2	5,977	<0,001	Sim

Tabela 23 - Comparação experimental x controle para as medidas horizontais distais

Grupos	Tempo	HD				
		Dif. Med.	p	q	P	P<0,05
E x C	0	7,750	2	15,071	<0,001	Sim
E x C	3	3,067	2	5,964	<0,001	Sim
E x C	6	2,473	2	3,803	<0,012	Sim

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Enxertos ósseos muitas vezes são necessários para fornecer suporte, preencher lacunas e melhorar a reparação biológica em defeitos. Estratégias para o desenvolvimento de substitutos biológicos capazes de mimetizar a homeostase baseiam-se numa melhor compreensão dos acontecimentos básicos na cicatrização dos defeitos ósseos (ZHANG et al., 2010).

O osso bovino liofilizado é um dos biomateriais que mais tem se popularizado já que promove uma boa qualidade de enxerto, na sua utilização promove uma morbidade menor ao paciente uma vez que não apresenta a necessidade de um leito doador (SANADA et al., 2003; FELICE et al., 2008), e apresenta disponibilidade ilimitada mantendo similaridade físico-química com o osso humano (OLIVEIRA et al., 1999). O osso bovino inorgânico com colágeno (OBIC) é uma mistura do osso bovino inorgânico com 10% de matriz colágena suína do tipo I (HAN et al., 2011). Dentre os enxertos de osso bovino inorgânico com matriz de colágeno Bio-Oss® Collagen vem sendo relatado na literatura como um material eficiente para o preenchimento de defeitos ósseos, tanto em pesquisas laboratoriais (ARAÚJO; LINDHE, 2009; KATO et al., 2012) quanto na utilização clínica para defeitos em sítios para colocação de implantes (DEGIDI et al., 2012; HEINEMANN et al., 2012; LI et al., 2013), e até mesmo em cirurgias ortognáticas onde osteotomias são realizadas e podem gerar alguns defeitos (TREVISIOL et al., 2012).

A utilização de membrana para recobrimento do enxerto, é pautada na literatura que já é consolidada nesses termos e com trabalhos histológicos (QUEIROZ et al., 2006; BERNABÉ et al., 2012) vem mostrando melhores resultados em relação a não utilização de uma membrana sobre o enxerto em diferentes tipos de enxertos utilizados, uma vez que esta membrana tem a função de impedir a migração de tecido adjacentes a área do enxerto (FRAME, 1980; TAGA et al., 2000).

Seguindo os parâmetros ditados por Gosain et al. (2000), afirmou então que o defeito de tamanho crítico a ser considerado deveria ser aquele que não poderia ser reparado durante o período experimental, por esse estudo no grupo controle o defeito criado não foi reparado totalmente, perdendo principalmente em altura em relação ao osso original, tendo trabéculas menos densas e uma cortical menos espessa, porém parece ter reparado mais do que o mostrado por Hollinger e Kleinschmidt (1990), onde colocou que o defeito de tamanho crítico

seria um defeito no qual durante toda a vida do animal não se formaria mais de 10% do osso perdido, em uma animal esqueleticamente maduro e que possua respostas fisiológicas normais de reparo, porém considerando a definição de Schmitz e Hollinger (1986), que dizia que o defeito ósseo experimental não deve proporcionar condições para que ocorra um reparo instantâneo, pois somente assim poderá se medir o potencial do enxerto de induzir a formação óssea, portanto este deverá ser grande o suficiente para não ser reparado em toda a vida do animal.

Nos grupos de 3 e 6 meses em que notou-se diferenças estatisticamente e visualmente na análise descritiva, onde aos seis meses apresentou uma cortical mais espessa e um trabeculado ósseo mais denso, demonstra uma aparente maturação do tecido ósseo formado, o que só deve ser dado como verdade a partir de uma biópsia que demonstraria histologicamente essa formação tecidual. Nos grupos experimentais uma diferença de altura óssea foi observada nas análises quantitativas com diferenças estatisticamente significantes, uma vez que o enxerto possibilitou uma regeneração óssea lenta pela necessidade de reabsorver o enxerto que é lentamente reabsorvido, não perdendo em volume, porém em densidade. Fato observado por Sbordone et al. (2011) em enxerto de crista ilíaca em humanos, onde após um ano ainda se encontrou resquícios de uma pequena porcentagem do osso enxertado não remodelado, sugerindo que se blocos do enxerto for maior o tempo para a remodelação será maior e inversamente proporcional a área de contato com o leito do enxerto. Consequentemente, o volume final após seis meses ainda era muito semelhante ao tempo zero, apesar de no tempo seis, parte deste volume ser composto por osso regenerado e no zero nenhum osso regenerado. Esses resultados, entretanto vem de encontro a outros trabalhos recentes que por meio de exames clínicos e histológicos demonstraram a necessidade de um longo período para a completa regeneração no sítio enxertado (KIM et al., 2013), e quantidade de enxerto remanescente vai de encontro a outro trabalho realizado também em coelhos porém com osso autógenos que demonstrou que enxertos em defeitos previamente criados tem pouca perda estrutural (SUGG et al., 2013), porém quando se deseja um ganho vertical de osso um estudo realizado por Rothamel et al. (2009) mostrou pouco ganho vertical em relação ao tamanho do bloco enxertado em um trabalho com cães, resultados controversos aos encontrados por Li et al. (2013), onde com exames de imagem e histológicos por meio de biópsia em humanos, verificou um ganho significativo de osso após enxerto com blocos de Bio-Oss. A diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos controles e experimentais também se explica pela metodologia medir todo o volume ósseo nos grupos

experimentais enquanto nos grupos controles somente o osso regenerado foi medido, devido a complexa diferenciação entre o osso neoformado e o biomaterial que foi enxertado nos grupos experimentais.

Nos grupos controle houve a necessidade de um tempo zero para permitir um parâmetro de comparação tanto com os grupos experimentais em zero, quanto para os outros tempos do grupo controle para quantificar a quantidade de osso formado ao longo do tempo. Enquanto nos experimentais foi possível de se visualizar a adaptação do bloco enxertado ao leito receptor, bem como quanto denso estava ante de se dar início aos processos biológicos de incorporação do enxerto, e proporcionar fonte de comparação com os demais tempos.

Nos tempos subsequentes foi observado um arredondamento gradual das bordas sugerindo uma reabsorção do enxerto e uma neoformação tecidual que não pode ser comprovado se era uma substituição por osso, sendo necessário a realização de exames histológicos. Além de que foi observado em alguns animais, uma formação de uma cortical envolvendo o enxerto e deixando como um gap fino entre o enxerto e o osso do animal, sugerindo que apesar de ser incorporado o enxerto não foi de todo integrado ao osso e que poderia não ser reabsorvido, porém não se pode dizer que uma das funções enxerto não tenha sido cumprida, que é a manutenção do contorno.

Apesar da diferença nos tempos de observação, os resultados do presente trabalho concordam com o trabalho de Hochheim Neto (2010), onde foi observado o início da reabsorção do enxerto aos sessenta dias e aumento da regeneração óssea no mesmo período.

Esta reabsorção e substituição por osso regenerado é desejável em locais onde se planeja a reabilitação com implantes, para que eles possam ser instalados em osso vital. Já para o preenchimento ósseo em áreas estéticas, os enxertos não reabsorvíveis são mais indicados para a manutenção do volume ósseo (BUSER, 2009).

Os resultados encontrados por esse estudo pode ser comparado aos resultados encontrados por De Stavola e Tunkel (2013) em exames de tomografia utilizando-se de enxerto ósseo em bloco autógeno associado a posterior colocação de enxerto xenógeno bovino inorgânico associado a uma membrana, onde se visualizou a manutenção da altura óssea conseguida inicialmente. Em um trabalho de Felice et al. (2008), ele comparou em humanos enxertos com osso autógeno proveniente da crista ilíaca e Bio-Oss e obteve resultados semelhantes clinicamente porém com um maior grau de satisfação do paciente em

relação a morbidade do que quando se utilizou de enxertos provenientes da crista ilíaca, sendo segundo os autores sensata a utilização do enxerto xenógeno.

Somos de acordo, mais uma vez, com os achados de Buser (2009), que relatou a manutenção das formas e contornos quando se utiliza preenchimentos ósseos xenógenos. Podemos então, muito embora em alguns animais tenha sido formado uma fina membrana, acreditar que o Bio-Oss Collagen[®] se prestou para uma das propostas do nosso trabalho, o que não se pode afirmar se este tipo de enxertia seria de grande valia para a instalação de implantes osseointegrados. Sabe-se nos dias atuais que o padrão ouro para os defeitos ósseos de tamanho crítico ainda são os enxertos ósseos autógenos, vistos e estudados por Sant'Ana (1997).

Mais uma vez tocamos no ponto de que para a experiência clínica, sem dúvidas, o padrão ouro nem sempre deve ser o mais indicado, por se tratar de procedimentos cirúrgicos que geram muita morbidade em algumas situações. Com toda certeza, a avaliação microscópica irá confirmar se esse tipo de enxerto utilizado no presente trabalho se prestou às duas propostas: a substituição óssea para favorecer a osseointegração e a manutenção do contorno ósseo.

No entanto, baseado na metodologia empregada neste estudo e na proposição, podemos afirmar que tal enxerto foi de grande valia.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Através da análise tomográfica das áreas enxertadas foi possível concluir que de acordo com a metodologia proposta o enxerto de osso bovino com 10% de colágeno suíno não foi capaz de auxiliar em 100% no reparo ósseo dos defeitos de tamanho crítico criados na mandíbula dos coelhos, mostrando uma camada fina de tecido mole entre o enxerto e o leito. Tendo sido eficiente no preenchimento do espaço do defeito e manutenção do contorno ósseo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **Int J OralSurg**, Copenhagen, v. 10, n. 6, p. 387-416, Dec. 1981.

ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: A 6-month study in the dog. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 20, n. 5, p. 433-440, May 2009.

BERNABÉ, P. F. et al. Bone healing in critical-size defects treated with either bone graft, membrane, or a combination of both materials: a histological and histometric study in rat tibiae. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 23, n. 3, p. 384-388, Mar. 2012.

BRANDÃO, L. G.; ARAÚJO, V. J. F. Reconstrução mandibular. In: BRANDÃO, L. G.; FERRAZ, A. R. (Ed.). **Cirurgia de cabeça e pescoço**. São Paulo: Roca, 1989. p. 147-155.

BUSER, D. **20 years of guided bone regeneration in implant dentistry**. 2nd ed. Quintessence: Chicago, 2009. 261 p.

CASTRO-SILVA, I. I.; ZAMBUZZI, W. F.; GRANJEIRO, J. M. Panorama atual do uso de xenoenxertos na prática odontológica. **Innov Implant J, Bomater Esthet**, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 70-75, set./dez. 2009.

CHASE, S.; HERNDON, C. The fate of autogenous and homogenous bone grafts: a hitorical review. **J. Bone Joint Surg**, Cleveland, v. 37A, n. 4, p. 809, July 1955.

DE STAVOLA, L.; TUNKEL, J. A new approach to maintenance of regenerated autogenous bone volume: delayed relining with xenograft and resorbable membrane. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Padua, v. 28, n. 4, p. 1062-1067, July/Aug. 2013.

DEGIDI, M. et al. Buccal bone plate in immediately placed and restored implant with Bio-Oss(®) collagen graft: a 1-year follow-up study. **Clin Oral Implants Res**, Bologna, v. 24, n. 11, p. 1201-1205, Nov. 2012.

DONOS, N. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. **Clin Oral Implants Res**, London, v. 15, n. 1, p. 101-111, Feb. 2004.

FARDIN, A. C. et al. Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura. **Innov Implant J**, São Paulo, v. 5 n. 3, p. 48-52, set./dez. 2010.

- FELICE, P. et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional block grafts: bone from the iliac crest versus bovine anorganic bone. **Eur J Oral Implantol**, Bologna, v. 1, n. 3, p. 183-198, 2008.
- FRAME, J. W. A convenient animal model for testing bone substitute materials. **J Oral Surg**, Chicago, v. 38, n. 2, p.176-180, Mar. 1980.
- GIANNOUDIS, P. V.; DINOPOULOS, H.; TSIRIDIS, E. Bone substitutes: an update. **Injury**, Bristol, v. 36 Suppl 3, p. S20-S27, Nov. 2005.
- GOSAIN, A. K. et al. Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF-beta isoforms. **Plastic Reconstr Surg**, Baltimore, v. 106, n. 2, p. 360-371, Aug. 2000.
- HALL, E. E. et al. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. **J Periodontol**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 526-535, May 1999.
- HALLMAN, M.; THOR, A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. **Periodontology**, Copenhagen, v. 47, n. 1, p.172-192, Jun. 2008.
- HAN, J. Y. et al. The effects of bone grafting material and a collagen membrane in the ridge splitting technique: an experimental study in dogs. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 22, n. 12, p. 1391-1398, Dec. 2011.
- HEINEMANN, F. et al. Bone level change of extraction sockets with Bio-Oss collagen and implant placement: a clinical study. **Ann Anat**, San Antonio, v. 194, n. 6, p. 508-512, Nov. 2012.
- HOCHHEIM NETO, R. **Análise comparativa da regeneração óssea de diferentes arcabouços em defeitos confeccionados em fêmures de coelhos**. 2010. 98 p. Tese – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- HOLLINGER, J. O.; KLEINSCHMIDT, J. C. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. **J Craniofac Surg**, Boston, v. 1, n. 1, p. 60-68, Jan. 1990.
- KATO, E. et al. Biodegradation Property of Beta-Tricalcium Phosphate-Collagen Composite in Accordance with Bone Formation: A Comparative Study with Bio-Oss Collagen® in a Rat Critical-Size Defect Model. **Clin Implant Dent Relat Res**, San Antonio. v. 70, n. 5, p. 526-535, May 2012.

KIM, Y. K. et al. Guided bone regeneration using demineralized allogenic bone matrix with calcium sulfate: case series. **J Adv Prosthodont**, Seongnam, v. 2, n. 5, p. 167-171, Feb. 2013.

KUABARA, M. R.; VASCONCELOS, L. W.; CARVALHO, P. S. P. Surgical techniques for autogenous bone graft. **Rev Fac Odontol Lins**, Lins, v. 12, n. 1/2, p. 44-51, Jan./Dec. 2000.

LI, J. et al. Minimally invasive ridge augmentation using xenogenous bone blocks in an atrophied posterior mandible: a clinical and histological study. **Implant Dent**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 112-116, Apr. 2013.

LU, M.; RABIE, A. B. Microarchitecture of rabbit mandibular defects grafted with intramembranous or endochondral bone shown by micro-computed tomography. **Br J Oral Maxillofac Surg**, Edinburgh, v. 41, n. 6, p. 385-391, Dec. 2003.

MACEDO, C. A. D. S. et al. Comparação da resistência à compressão do osso bovino congelado e liofilizado. **Rev Bras Ortop**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 9/10, p. 529-534, set./out. 1999.

OLIVEIRA, A. C. P. et al. Comparação entre enxerto ósseo autólogo, homólogo congelado, e homólogo liofilizado em modelo experimental de cranioplastia. **Rev Soc Bras Cir Craniomaxilofacial**, Sao Paulo, v. 10, n. 4, p. 140-146, 2007.

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

QUEIROZ, T. P. et al. Use of bovine bone graft and bone membrane in defects surgically created in the cranial vault of rabbits. Histologic comparative analysis. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 21, n. 1, p. 29-35, jan./fev. 2006.

ROTHAMEL, D. et al. Vertical ridge augmentation using xenogenous bone blocks: a histomorphometric study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 24, n. 2, p. 243-250, Mar./Apr. 2009.

SANADA, J. T. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.

SANT'ANA, E. **Análise da sobrevivência a curto prazo de implantes ósseointegrados instalados sobre rebordo reconstruído com enxerto ósseo autógeno**. 1997. 165 p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1997.

SBORDONE, C. et al. Volume changes of grafted autogenous bone in sinus augmentation procedure. **J Oral Maxillofac Surg**, Naples, v. 69 n. 6, p. 1633-1641, 2011.

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

SUGG, K. B. et al. Quantitative comparison of volume maintenance between inlay and onlay bone grafts in the craniofacial skeleton. **Plast Reconstr Surg**, Michigan, v. 131, n. 5, p. 1014-1021, May 2013.

SUNDARAMURTHI, P.; SURYANARAYANAN, R. Calorimetry and complementary techniques to characterize frozen and freeze-dried systems. **Adv Drug Deliv Rev**, Amsterdam, v. 64, n. 5, p. 384-395, Apr. 2012.

SWEENEY, T. M. et al. Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels. **J Neurosurg**, Chicago, v. 83, n. 4, p. 710-715, Oct. 1995.

TAGA, E. M. et al. Regeneração óssea guiada de alvéolos de extração dentária: por quê fazê-la?. **Revista Brasileira de Implantodontia**, Rio de Janeiro, p. 9-12, 2000.

TREVISIOL, L. et al. Grafting of large mandibular advancement with a collagen-coated bovine bone (Bio-Oss Collagen) in orthognathic surgery. **J Craniofac Surg**, Verona, v. 23, n. 5, p. 1343-1348, Sep. 2012.

ZHANG, J. C. et al. The repair of critical-size defects with porous hydroxyapatite/polyamide nanocomposite: an experimental study in rabbit mandibles. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, v. 39, n. 5, p. 469-477, May 2010.

ANEXO

ANEXO A – Aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da FOB-USP

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 35/2011

Bauru, 06 de novembro de 2013.

Senhor Professor,

Em atenção à solicitação de Vossa Senhoria para alteração no título da pesquisa "*Análise tomográfica da formação óssea em defeito segmentar na mandíbula de coelhos preenchido com osso bovino liofilizado particulado com colágeno*", para "*Análise tomográfica da formação óssea em defeito segmentar na mandíbula de coelhos preenchido com osso bovino liofilizado em bloco com colágeno*", de autoria de Maria Fernanda Conceição Madeira, sob sua orientação, informamos a **APROVAÇÃO ad referendum** desta Comissão.

Lembramos que ao término da pesquisa as autoras deverão enviar um relatório final com os resultados obtidos para análise e emissão de parecer, o qual poderá ser utilizado para publicação em revistas científicas.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet

Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Eduardo Sant'Ana

Docente do Departamento de Estomatologia