



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DO GENOX[®] E BIO-GEN[®] ASSOCIADOS OU NÃO AO
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM ALVEOLOS PÓS-EXTRAÇÃO: UM
ESTUDO MICROSCÓPICO EM CÃES.**

BRUNAMÉLIA DE OLIVEIRA

MARINGÁ

2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DO GENOX[®] E BIO-GEN[®] ASSOCIADOS OU NÃO AO
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM ALVEOLOS PÓS-EXTRAÇÃO: UM
ESTUDO MICROSCÓPICO EM CÃES.**

BRUNAMÉLIA DE OLIVEIRA

Orientador: Edevaldo Tadeu Camarini

MARINGÁ

2012

BRUNAMÉLIA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO GENOX[®] E BIO-GEN[®] ASSOCIADOS OU NÃO AO
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM ALVEOLOS PÓS-EXTRAÇÃO: UM
ESTUDO MICROSCÓPICO EM CÃES.**

Artigo científico apresentado como requisito para conclusão do curso de pós-graduação de mestrado em Clínica Integrada da Universidade Estadual de Maringá (UEM), orientado pelo Professor Dr. Edevaldo Tadeu Camarini

Prof^o Dr. José Roberto Pinto

Universidade Estadual de Londrina

Prof^o Dr. Ângelo José Pavan

Universidade Estadual de Maringá

Prof^o Dr. Edevaldo Tadeu Camarini

Universidade Estadual de Maringá

**AVALIAÇÃO DO GENOX[®] E BIO-GEN[®] ASSOCIADOS OU NÃO AO
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM ALVEOLOS PÓS-EXTRAÇÃO: UM
ESTUDO MICROSCÓPICO EM CÃES¹.**

**ASSESSMENT OF GENOX[®] AND BIO-GEN[®] ASSOCIATED OR NOT TO
PLATELET-RICH PLASMA IN POST-EXTRACTION ALVEOLUS: A
MICROSCOPIC STUDY IN DOGS.**

OLIVEIRA, Brunamélia*
CAMARINI, Edevaldo Tadeu **

¹Trabalho como requisito de Conclusão do Curso de pós-graduação de Mestrado em Clínica Integrada da Universidade Estadual de Maringá

*Pós-Graduanda em Odontologia pela Universidade Estadual de Maringá

**Professor Adjunto da Área de Cirurgia do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a **DEUS**, a quem sempre entrego a minha vida. Sempre iluminando o meu caminho e trazendo clareza nos momentos em que encontrei dificuldades.

Dedico aos meus pais, **José Antônio e Claudia**, pela dedicação, amor, amizade e apoio que sempre me deram. Posso dizer que meus pais são meus melhores amigos e sou uma pessoa ainda mais abençoada por ter essa relação com eles. Gostaria que soubessem que amor maior dentro de mim não há! Meu amor por vocês é incondicional e rezo para que os dois sejam eternos, pois o medo de perdê-los em um momento da minha vida me assusta enormemente. Aos meus irmãos **Átila, Caroline e Victoria** por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, cada recordação que guardo das nossas infâncias são mágicos! É tão bom quando estamos todos juntos e rindo dos momentos que passamos. Amo vocês pela ajuda e força que sempre me deram.

A Minha sobrinha **Laura**, que é tão labreca e me alegra com tantas descobertas. Mesmo a madrinha sendo brava, ama você.

Aos meus avós, que amo por terem cuidado de mim com tanto zelo. Sei que cheguei onde eles não esperavam.

A família **Maeda** por serem minha segunda família, vocês são únicos! Amo todos vocês.

Ao meu marido **Marcio**, por estar comigo o tempo todo, não sei o que seria de mim sem você. Obrigada pela dedicação, zelo, amor e apoio. Amo construir os sonhos junto com você. Ao seu lado descobri o que é um amor de verdade! TE AMO.

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Dedico em especial ao meu pai. Espero ter realizado mais um sonho seu e ter alcançado as suas expectativas. Cada passo que dou é pensando em você e na mãe.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. **Edevaldo Tadeu Camarini** por me orientar e tornar essa jornada mais brilhante. Te admiro pela coragem, lealdade e sinceridade que sempre leva consigo. Obrigada por estar ao meu lado todo esse tempo, me apoiando e aceitando minhas dúvidas! Espero te encontrar brevemente em um Doutorado para seguirmos com a nossa linha de pesquisa.

A **Universidade Estadual de Maringá e Departamento de Odontologia** por fornecerem toda a estrutura necessária para o avanço da odontologia e dos alunos. “um bom filho sempre à casa torna” .

As técnicas de laboratório **Eurides e Maria do Anjos**, sem vocês essa pesquisa não seria viável e não sairia dos blocos de parafina. Vou levar as duas sempre no pensamento, serei eternamente grata pela ajuda.

Ao meu cunhado **Rodrigo** por fazer minha irmã feliz e realizada.

Aos companheiros de mestrado, em especial Kelly e Ana Luiza. Obrigada pelas boas risadas. Ter vocês por perto tornou o caminho menos árduo.

Resumo

Para melhorar a qualidade da reparação dos alvéolos após extrações podem ser utilizados biomaterias. O objetivo deste trabalho é comparar o processo de reparo ósseo entre Bio-gen[®] e GenOx[®]. Foram utilizados 6 cães da raça *Beagle*. Realizaram-se extrações bilaterais dos três pré-molares inferiores. Do lado direito, no primeiro alvéolo foi aplicado Bio-Gen[®], no segundo foi mantido apenas coágulo e no terceiro Genox[®]. Do lado esquerdo, no primeiro alvéolo foi aplicado Bio-Gen[®] + PRP, no segundo coágulo + PRP e no terceiro Genox[®] + PRP. Após 30, 60 e 90 dias os cães foram submetidos à eutanásia, as mandíbulas dissecadas e submetidas ao processo histológico para análise da neoformação óssea através do programa *Image Pro-Plus*. Dentre os grupos avaliados o Bio-Gen[®] + PRP foi o que apresentou os melhores resultados, sendo uma opção para a reparação do alvéolo.

Palavras-chaves: Genox; Biogen e biomaterial

Abstract

To improve the quality of the repair of alveoli after extractions can be used biomaterial. The objective of this study is to compare the bone healing process between Bio-gen GenOx ® and ®. We used six Beagle dogs. There were bilateral extraction of three premolars. On the right in the first well was applied Bio-Gen ®, was maintained only in the second and third clot Genox ®. On the left side was applied in the first well Bio-Gen ® + PRP clot + PRP in the second and third Genox ® + PRP. After 30, 60 and 90 days the dogs were euthanized, the jaws were dissected and submitted to the process for histological analysis of bone formation using the Image-Pro Plus. Among the groups studied Bio-Gen ® + PRP showed the best results, with an option for the repair of the alveolus.

Keywords: Genox, Biogen and biomaterial

SUMÁRIO

Introdução.....	9
Materiais e Métodos.....	110
Preparação do PRP.....	121
Procedimento Cirúrgico.....	13
Cuidados Pós-Extração.....	15
Análise Histológica.....	15
Estudo histomorfométrico.....	16
Análise estatística.....	18
Resultado.....	18
Discussão.....	21
Conclusão.....	24
Referências.....	25
Anexo 1.....	29

Introdução

A reconstrução de defeitos ósseos nos maxilares tem sido amplamente estudada^{1,2}, com o principal objetivo de uma futura reabilitação bucal com o uso de implantes. Atualmente para as correções dos defeitos ósseos tem se utilizado alguns tipos de biomateriais, podendo ser qualquer substância, droga ou combinações de origem natural ou sintética indicada para reposição de tecido³, sendo os mais utilizados na atualidade os enxertos homogêneos, xenógenos, e autógenos.

Os enxertos homogêneos são retirados de um doador da mesma espécie. São grandes as restrições que alguns países fazem em relação ao comércio de tecido humano pela preocupação de um comércio ilegal e a grande necessidade da criação de uma rede de bancos de tecidos orgânicos. Pode haver o risco de infecção hospitalar e moléstias transmissíveis, como hepatite, que em alguns casos limitam sua utilização⁴⁻⁶. O enxerto xenógeno é obtido de um doador de espécie diferente. De origem equina podemos citar o Bio-gen® (Bioteck- Arcugnano Vicenza, Itália), este material osteocondutivo natural e sem colágeno, apresenta elevada capacidade osteogênica devido à ausência do processo de calcinação na fase de manipulação, preservando a grande maioria das propriedades biológicas do material. O tempo de reabsorção completa pode variar de 4 a 12 meses. De origem bovina podemos citar o Genox® (Baumer- Mogi-Mirim, Brasil), com matriz inorgânica, liofilizado e esterilizado com radiação gama. Atua como osteocondutor, conferindo resistência ao leito ósseo à medida que é reabsorvido.

Os enxertos autógenos podem ser considerados padrão ouro^{7,8}, pois não desencadeiam reações imunológicas, não oferecem risco para transmissão de doenças e apresentam propriedades osteogênicas, osteoindutivas e osteocondutivas⁹. Apresentam como desvantagem a necessidade de uma segunda intervenção cirúrgica, além do risco de infecção^{10,11}.

Dentre as substâncias autógenas, podemos citar o plasma rico em plaqueta (PRP). O mesmo é utilizado em forma de gel de plaquetas que é extraído pela centrifugação de um composto de trombina bovina, cloreto de cálcio 10% e sangue venoso¹². O PRP apresenta uma concentração significativa de fatores de crescimento que podem aumentar a formação e a mineralização óssea, induzir células indiferenciadas mesenquimais a diferenciar-se em osteoblastos, diminuir a reabsorção óssea, promover angiogênese e produzir colágeno pela ativação de fibroblastos^{13,14}.

O objetivo terapêutico da utilização de fatores de crescimento é melhorar a capacidade de regeneração tecidual. Alguns trabalhos demonstram que o PRP associado à biomateriais apresenta melhores resultados no processo de reparação óssea comparado aos grupos que não utilizaram PRP¹⁵⁻¹⁸. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é comparar o processo de neoformação óssea em alvéolos de cães pós-extração entre Bio-gen[®] e Genox[®] sem associação ao PRP, além disso, avaliar se quando acrescido o PRP aos biomateriais se o mesmo acelera esse processo.

Materiais e Métodos

Todos os procedimentos envolvendo o uso dos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (UEM) (protocolo n° 046/2010).

Durante todo o experimento, 6 cães fêmeas da raça *Beagle* com média de 2 anos, pesando aproximadamente 10 kg foram mantidos em confinamento apropriado para a espécie, 2 animais por canil, em local fresco e com água e alimento *ad libitum*.

Preparação do PRP

De cada animal foi obtido 20 ml de sangue venoso, retirado da veia jugular, e o anticoagulante utilizado foi o citrato de sódio 10%. O sangue foi homogeneizado e centrifugado a 1200 rpm por 10 minutos (Sin centrifuga- SIN sistema de implantes – São Paulo – Brasil). A primeira centrifugação resultou em uma separação total do sangue em duas camadas, a inferior de células vermelhas e a superior de plasma. Na parte superior deste encontra-se a maior concentração de plasma pobre em plaquetas (PPP) que corresponde a aproximadamente 75%. A parte inferior tem a maior concentração de plasma rico em plaquetas (PRP) correspondendo a 25%. (Figura 1A).

Primeiramente, o total do plasma (contendo o PPP e o PRP) foi pipetado e movido para um novo recipiente. Esse tubo foi centrifugado a 1200 rpm por 10 minutos para realizar uma separação mais minuciosa entre PPP e PRP. Depois dessa segunda centrifugação, a porção inferior foi pipetada, correspondendo à região PRP, rica em fatores do crescimento (Figura 1B).

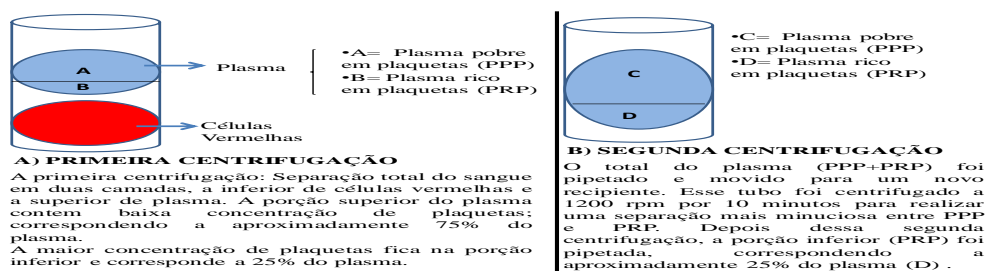


Figura 1: Obtenção do plasma rico em plaquetas. A) Primeira centrifugação. B) Segunda centrifugação.

Após a pipetagem do PRP iniciou-se o protocolo de geleificação. Utilizou-se uma seringa de 10 ml para cada mistura, o qual é acrescido 6ml de PRP, trombina, gluconato de cálcio e ar para auxiliar na mistura. A seringa é agitada de forma manual,

entre 6 a 10 segundos até o gel ser formado. O gel obtido é acrescido aos enxertos em um segundo momento¹⁹.

Procedimento Cirúrgico

Os animais foram pré-medicados para indução de anestesia com acepromazina 0.2% na dose de 0.03mg/kg associado à citrato de fentanila na dose de 3microgramas/kg por via intravenosa com administração de solução de ringer lactato em um volume de 10ml/kg/hora para manutenção do acesso venoso. A indução foi realizada com propofol na dose de 3mg/kg associado a 2 mg/kg de ketamina, por via intravenosa. A manutenção foi realizada com isofluorano em vaporizador universal e bloqueio local com bupivacaína 0.5% com dose estipulada pelo cirurgião. Foi realizado o monitoramento da pressão arterial sistólica por meio de doppler vascular. A intubação dos cães foi realizada com sonda número 7.5, onde o fluxo de oxigênio foi mantido em 1 litro por kg/hora.

Em todos os cães foram realizadas extrações via alveolar com fórceps bilaterais na mandíbula dos três pré-molares, sem o comprometimento das cristas alveolares. Do lado direito, no primeiro alvéolo foi aplicado Bio-Gen®, no segundo foi mantido coágulo e no terceiro Genox®. Do lado esquerdo, no primeiro alvéolo foi aplicado Bio-Gen® + PRP, no segundo Coágulo + PRP e no terceiro Genox® + PRP (Figuras 2 e 3). Os alvéolos foram preenchidos totalmente com os biomateriais, sendo que quando houve acréscimo de PRP aos enxertos, os mesmos foram misturados individualmente. A sutura foi realizada com Vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson e Johnson, Somerville, NJ) (Figura 4).

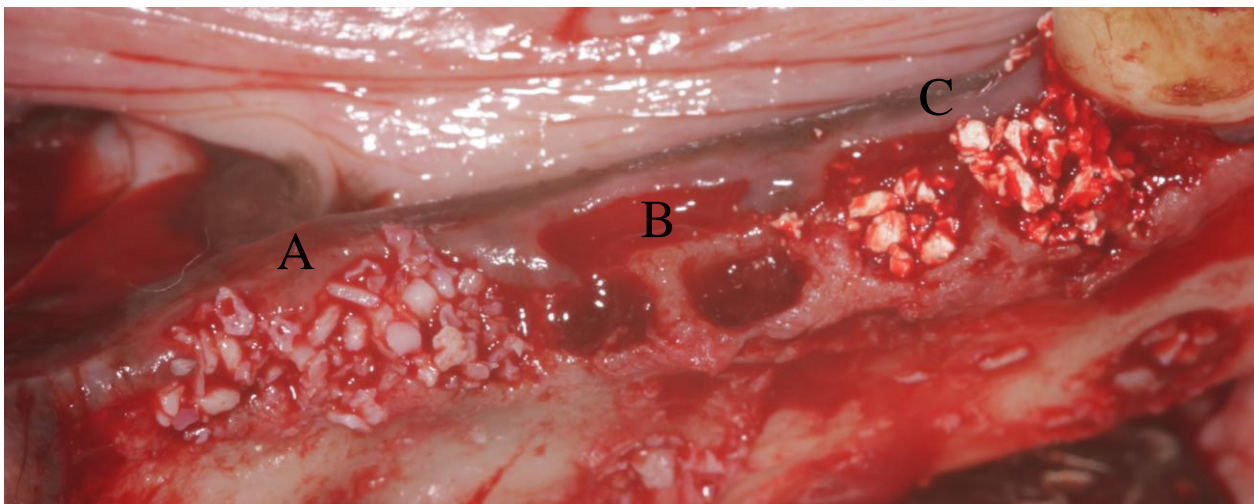


Figura 2: Hemi-mandíbula do lado esquerdo de cão *Beagle*- A) Primeiro alvéolo: Bio-gen®+PRP. B) Segundo alvéolo- Coágulo+ PRP. C) Terceiro alvéolo- Genox®+PRP.

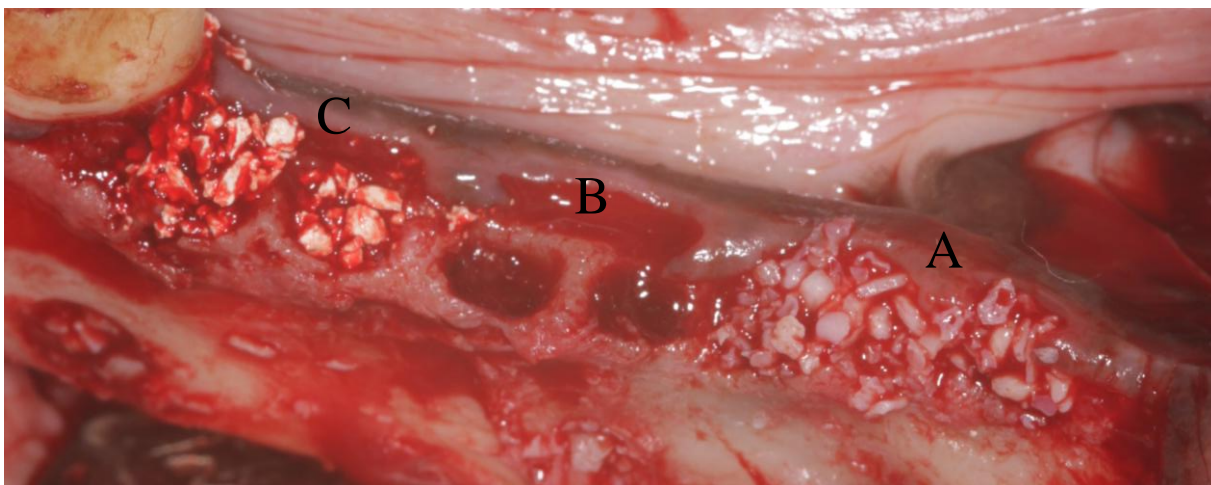


Figura 3: Hemi-mandíbula do lado direito de cão *Beagle*- A) Primeiro alvéolo: Bio-gen®+PRP. B) Segundo alvéolo- Coágulo+ PRP. C) Terceiro alvéolo- Genox®+PRP.

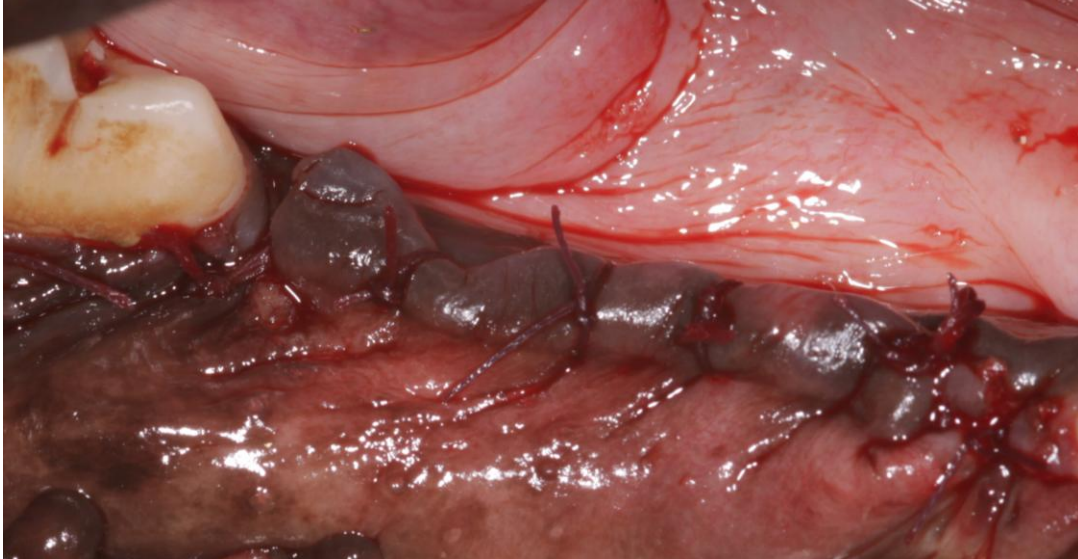


Figura 4: Sutura em ponto simples na mandíbula de cão *Beagle*.

Cuidados Pós-Extração

Em seguida aos procedimentos cirúrgicos, aos animais foram administrado via intramuscular, 1 ml de solução injetável de Enrofloxacina 5% (5mg/kg, Baytril®). Além disso, os animais receberam uma dose de 5 ml de solução de 50 % de dipirona sódica endovenosa e durante os 3 dias seguintes, receberam 1ml/10 kg de dipirona sódica 50%, 3 vezes ao dia por via oral.

Após 30°, 60° e 90° dia os cães foram submetidos à eutanásia, sendo 2 animais por período, com dose endovenosa de Tiopental 25miligramas/kg, Fentanil 3 microgramas/kg e Cloreto de Potássio 20 ml por animal, estando de acordo com protocolo do comitê de ética adotado no Brasil. Após as secções de cada alvéolo na mandíbula, iniciou-se o processamento.

Análise Histológica

As amostras obtidas foram fixadas em *bouin* (750ml de ácido pícrico+250ml formol+50ml ácido acético) por 48 horas, em seguida desmineralizadas com ácido fórmico e citrato de sódio com duração média de 45 dias. Após este período todos os alvéolos de ambas as hemi-mandíbulas foram separadas e submetidos ao preparo histológico.

Foram realizados cortes semi-seriado de 5 com 6µm no sentido longitudinal, mesio-distal de cada alvéolo. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE).

Estudo histomorfométrico

Para as análises de neoformação óssea foram selecionados 4 cortes/alvéolo/tempo/animal. De cada corte foram obtidas 5 imagens, através da centralização dentro do alvéolo, seguindo o seu longo eixo, tendo como guia o osso alveolar adjacente (Figura 5). Essas imagens, com área total de 5,56 mm², foram capturadas através de um microscópio óptico BX41 (Olympus, Tóquio, Japão), em objetiva de 4X, com câmera acoplada QColor3 (Olympus Tóquio, Japão). As medidas do estudo histomorfométrico foram feitas com auxílio do *software Image Pro Plus*®, versão 4.5 (Media Cybernetics, USA). A avaliação de cada imagem foi realizada com a ferramenta de mensuração poligonal, delimitando a área de osso maduro. (Figura6)

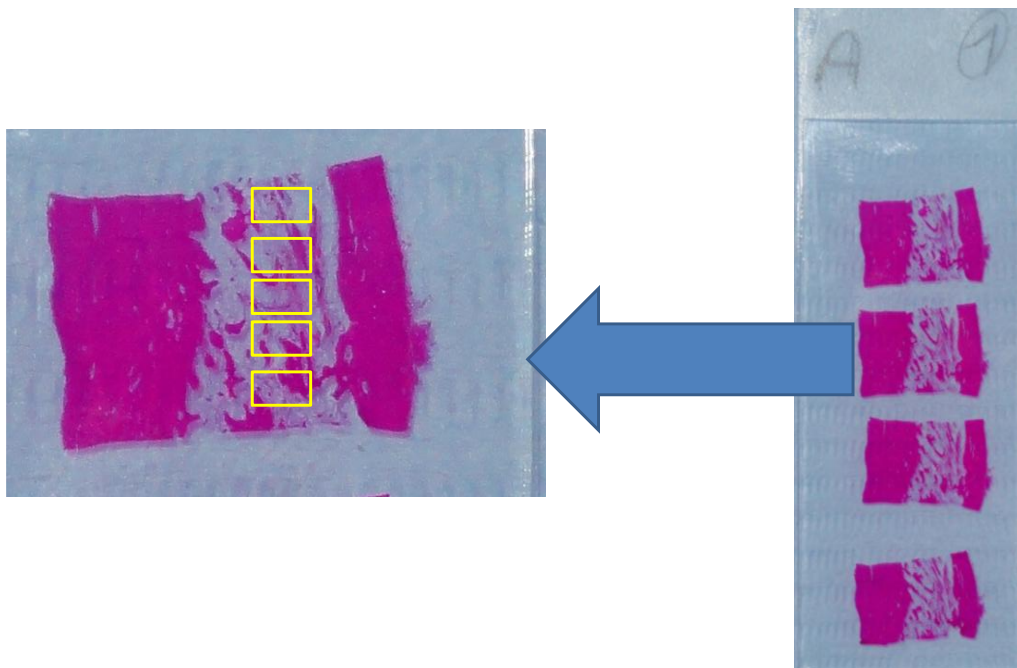


Figura 5: As imagens foram obtidas através da centralização do alvéolo, tendo como parâmetro o osso alveolar adjacente, em sentido com o longo eixo.

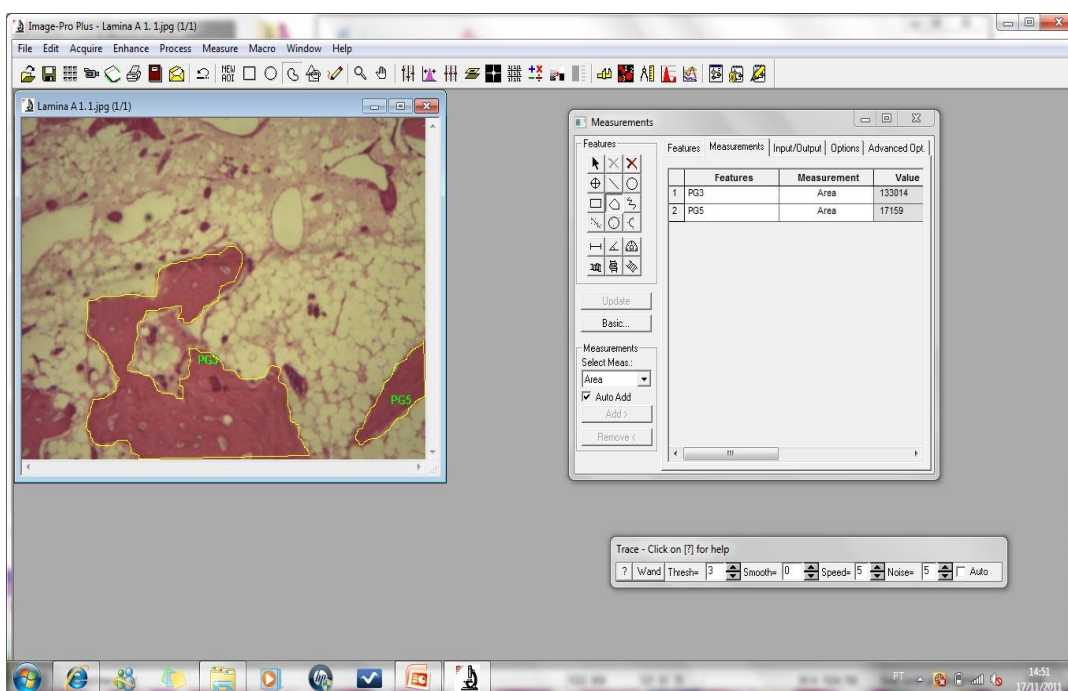


Figura 6: Representação das telas do *software Image Pro Plus*®, versão 4.5 ilustrando as medidas das áreas de osso maduro neoforado.

Análise estatística

Foi realizada a média de osso neoformado de cada corte. Esses resultados foram analisados com o *software GraphPad Prism R 3.1* aplicado o teste não paramétrico ANOVA *one-way*. O pós-teste de *Tukey* foi empregado para comparação entre as médias. O nível de significância adotado para todos os testes foi $P < 0,05$.

Resultado

A figura 7 representa a média em mm^2 da área delimitada no alvéolo de neoformação óssea após 30 dias entre os grupos avaliados. (Coágulo, Bio-gen[®], Genox[®], Coágulo +PRP, Bio-gen[®] +PRP e Genox[®] + PRP). Em todos os grupos observou-se uma maior neoformação óssea em comparação ao grupo controle (Coagulo), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) para os grupos: Genox[®], Genox[®] +PRP e Bio-gen[®] + PRP. A maior taxa de neoformação foi encontrada no grupo Bio-gen[®] + PRP, sendo esta diferença significativa ($P < 0,05$) em comparação aos grupos: Coagulo, Coágulo + PRP e Bio-gen[®].

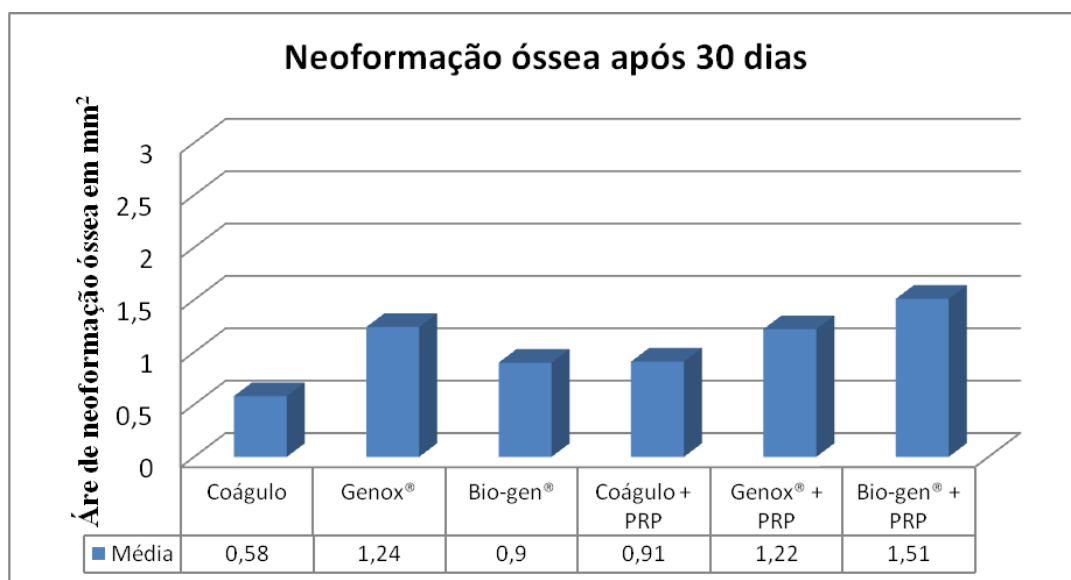


Figura7: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 30 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo, Genox[®], Bio-gen[®], Coágulo + PRP, Genox[®] +PRP e Bio-gen[®] + PRP.

Após 60 dias houve um aumento na taxa de neoformação óssea em todos os grupos em relação ao período de 30 dias (Figura 8), porém a diferença existente entre os grupos testados neste período não foi significativa. (Figura 9).

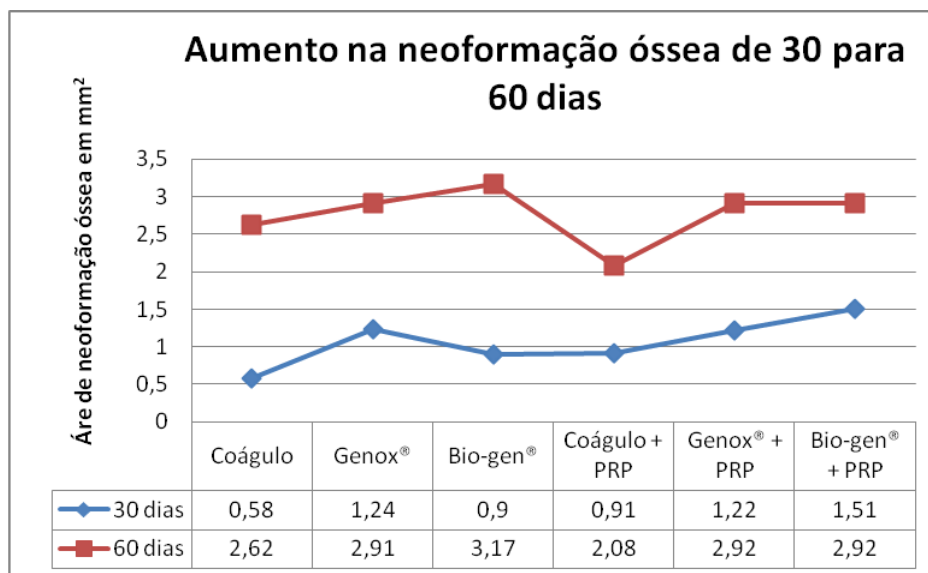


Figura 8: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 30 e 60 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo, Genox®, Bio-gen®, Coágulo + PRP, Genox® +PRP e Bio-gen® + PRP.

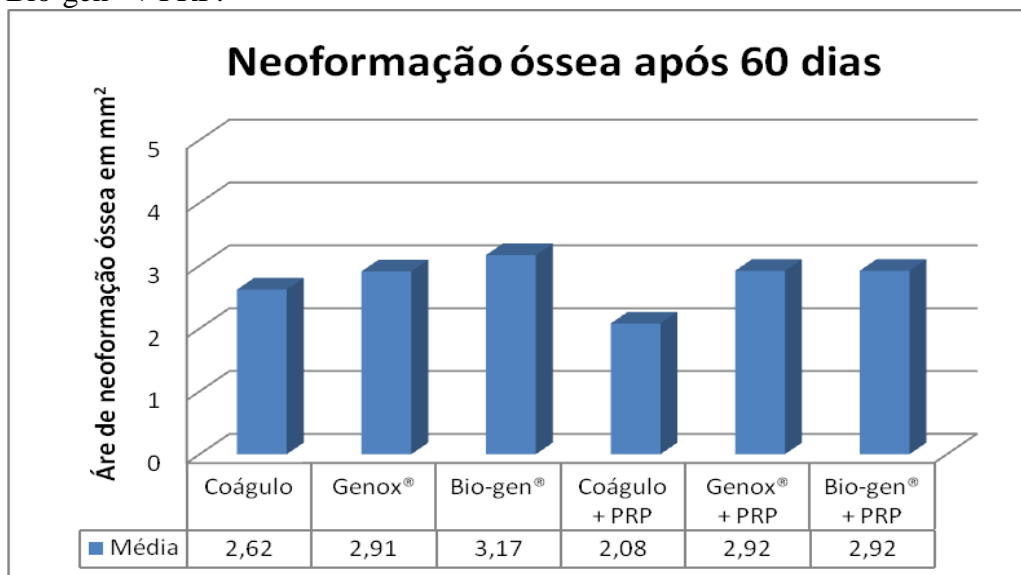


Figura 9: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 60 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo, Genox®, Bio-gen®, Coágulo + PRP, Genox® +PRP e Bio-gen® + PRP.

A figura 10 representa a média em mm^2 da área delimitada no alvéolo de neoformação óssea após 90 dias entre os grupos avaliados. Neste período a menor taxa

de neoformação óssea foi observada no grupo Coágulo + PRP, sendo estatisticamente significativa ($P < 0.05$) em relação aos grupos: Genox[®], Bio-gen[®], e Biogen[®] +PRP. A maior taxa de neoformação óssea foi observada para o grupo Bio-gen[®] + PRP, sendo esta diferença significativa ($P < 0.05$) em relação a todos os grupos testados exceto ao grupo Bio-gen[®].

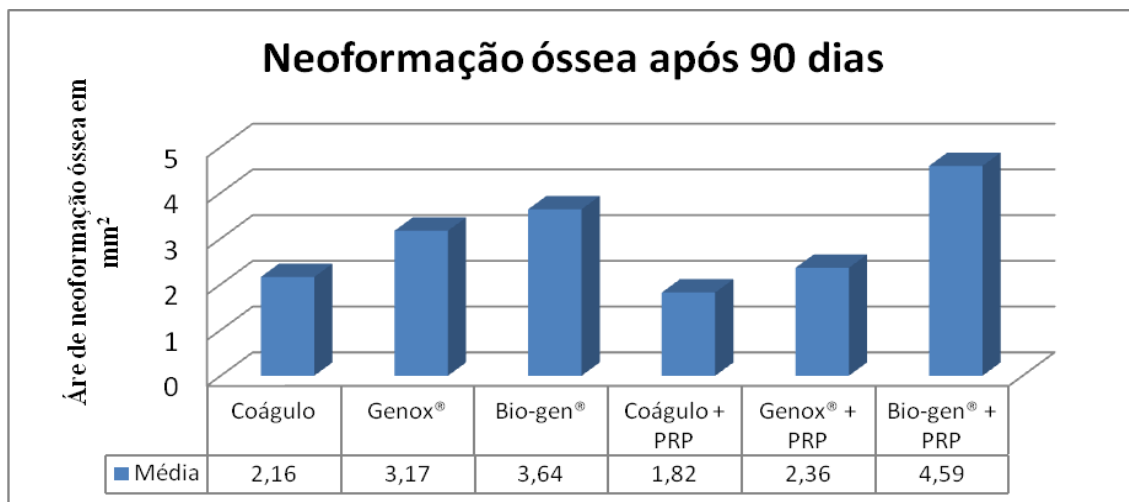


Figura 10: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 90 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo, Genox[®], Bio-gen[®], Coágulo + PRP, Genox[®] + PRP e Bio-gen[®] + PRP.

A figura 11 mostra a evolução na taxa de neoformação óssea dos biomateriais associados ao PRP durante os períodos experimentais. Pode-se observar que o Bio-gen[®] + PRP apresentaram melhores resultados em comparação ao Coágulo + PRP e Genox[®] + PRP, porém com 90 dias essa diferença foi estatisticamente significativa ($P < 0.05$). Já a figura 12 apresenta a comparação dos grupos não associados ao PRP durante os períodos experimentais.

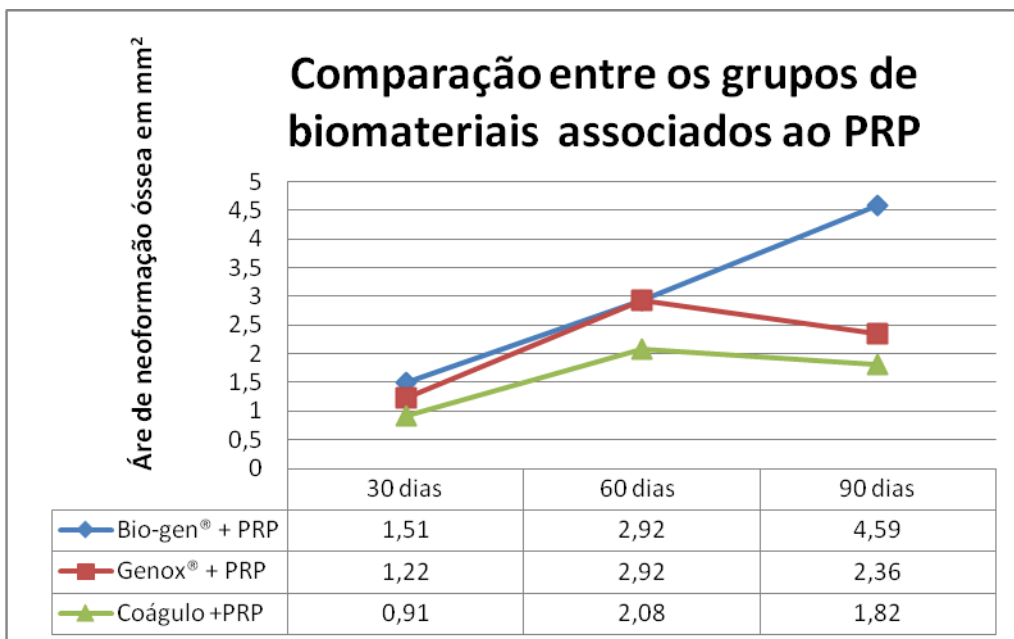


Figura 11: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 30, 60 e 90 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo + PRP, Genox® + PRP e Bio-gen® + PRP.

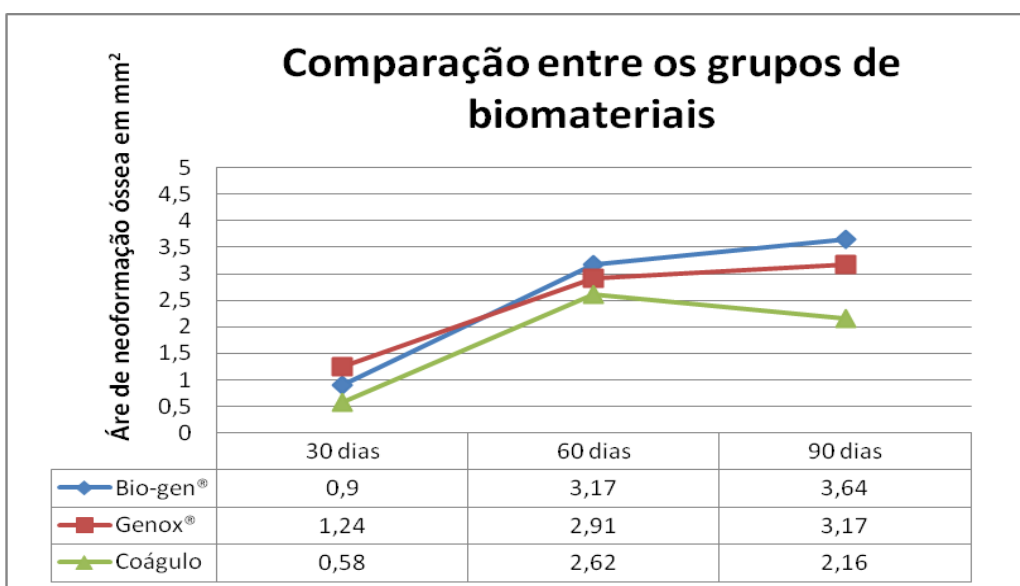


Figura 12: Representa a média de neoformação óssea em mm^2 após 30, 60 e 90 dias de uma área delimitada no alvéolo de cães *Beagle* após a extração dentária de pré-molares inferiores dos grupos: Coágulo, Genox® e Bio-gen®.

Discussão

Uma reparação espontânea do alvéolo pode levar a deformidade do leito receptor do implante. Os biomateriais xenógenos tem sido amplamente estudados, com o intuito de preservar ou reconstruir alvéolos pós-extração. Os enxertos ósseos

derivados de animais tem estrutura similar ao osso humano, e apresentam a hidroxiapatita que tem propriedades osteocondutivas e de biocompatibilidade²⁰, além de proporcionarem um menor tempo cirurgico, pois o material a ser enxertado já se encontra preparado, necessitando apenas de um sítio receptor^{21,22}.

Diversos trabalhos na literatura tem mostrado a biocompatibilidade da matriz desproteinizada de animais sendo utilizada como material de enxerto ósseo^{4, 23-25}, o qual, além de prover estrutura para osteocondução, tem íons de cálcio e fosfato, essenciais para osteogênese⁵. Desta forma tanto o Genox[®] como o Bio-gen[®] podem ser utilizados como enxerto ósseo.

O Genox[®] é de origem bovina e é obtido através da desproteinização com altas temperaturas (entre 950 e 1000°C). A crescente elevação de temperatura aumenta o material cristalino da matriz óssea^{6,23}. Essa alta temperatura é capaz de modificar a resposta biológica e esse processo favorece o reparo ósseo²⁵. Por outro lado, gera modificações permanentes, tornando-a rica em compostos insolúveis²⁶ o que pode reduzir sua absorção no local de enxerto. Nesta pesquisa o PRP associado ao Genox[®] não apresentou aumento na neoformação óssea em relação ao grupo Genox[®]. Esses achados histológicos estão de acordo com os resultados encontrado por Rocha et al. (2010)²⁷. Nos períodos de tempos maiores, proporcionalmente, não houve uma melhora no desempenho do Genox[®], que apresentou apenas no período de 30 dias uma quantidade de osso significativamente maior do que o grupo com coágulo. Cavenago (2010)²⁸ também comparou o desempenho do Genox[®] com o coágulo e pode observar que em 90 dias o biomaterial apresentou uma área de osso neoformado de 3,21mm² enquanto o coágulo formou 2,59mm², não sendo essa diferença estatisticamente significante.

O Bio-gen[®] um enxerto inorgânico, derivado de equino, tratado por um processo enzimático de remoção de contaminação a 37°C, é hidrofílico e sua esterilização se dá pela aplicação de radiação- β ^{29,30}. Pode-se notar que o PRP associado ao Bio-gen[®] aumentou a taxa de neoformação óssea se comparado ao grupo Bio-gen[®], assim como quando comparado aos demais grupos. Aos 90 dias, o Bio-gen[®] + PRP mostrou uma formação de osso significativamente maior que os demais grupos. Smieszek-Wilczewska et al.,(2010)³¹ realizaram uma comparação do Bio-gen[®] com Bio-oss[®] e Coágulo, onde demonstraram que o Bio-gen[®] apresentou um aumento estatisticamente significativo na densidade radiológica em relação aos outros grupos, confirmando a eficácia do biomaterial de origem equina.

Os grupos controle, com coágulo associado ou não ao PRP, mostraram piores resultados ao longo de 30, 60 e 90 dias em comparação aos grupos com biomateriais, podendo estar relacionado à atrofia progressiva do processo alveolar que ocorre após a extração dentária³². Esses mesmos resultados foram encontrados por Nevins et al (2006)³³, que avaliaram a largura do alvéolo após a extração em 30 e 90 dias, em corte transversal, através de tomografia computadorizada, demonstrando um progressivo processo de atrofia do osso, concluindo que uma das formas de se evitar esse quadro é através do preenchimento do alvéolo pós-extração com biomaterial.

Uma diferença entre o Genox[®] e o Bio-gen[®] é que o osso bovino desmineralizado, é hidrofóbico, composto somente pela matriz inorgânica e alguns autores sugerem que possa apresentar um potencial osteoindutor devido à presença de fatores de crescimento solúveis em sua composição^{34,35}. Já Bio-gen[®] se apresenta hidrofílico, e graças a sua estrutura, dá a possibilidade de migração e angiogênese, facilitando a regeneração óssea, é produzido em baixa temperatura, o que permite eliminar partes orgânicas sem que ocorra mudança na estrutura do trabeculado ósseo³⁶.

Conclusão

Dentro dos limites do atual trabalho, podemos concluir que:

- Aos 30 dias observou-se melhores resultados no grupo Bio-gen[®]+PRP e a seguir Genox[®]+PRP. Sendo que nos grupos não acrescido o PRP, o Genox[®] apresentou leve tendência a melhor formação óssea.
- Aos 60 dias os grupos Bio-gen[®]+PRP e Genox[®]+PRP mostraram semelhança de resultados. Nos grupos Bio-gen[®], Genox[®] e coagulo aos 60 dias não houve diferença significativa na formação óssea.
- Aos 90 dias observa-se uma diferença estatisticamente significativa do grupo Bio-gen[®]+PRP em relação à neoformação óssea, comparado aos demais. Aos 90 dias, o grupo Bio-gen[®] apresentou melhor resultado que os demais grupos sem o acréscimo de PRP.
- Mais estudos necessitam ser realizados a fim de esclarecer a eficácia destes biomateriais.

Referências

- 1) Camarini ET, Janoni JN, Leite PCC, Boos FBD. Use of Biomaterial With or without Platelet-Rich Plasma in Postextraction Sites: A Microscopic Study in Dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24: 432-438.
- 2) Barbosa DZ, Assis WF, Shirato FB, Moura CCG, Silva JC, Dechichi P. Autogenous Bone Graft With or Without Perforation of the Receptor Bed: Histologic Study In Rabbit Calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24: 463-468.
- 3) Carvalho PSP, Luppini F, Bassi APF. Biomateriais Utilizados em Implantodontia. *Implantes Osseointegrados: Técnica e arte*. São Paulo: Santos; 2002: 77-92
- 4) Taga MLL. Análise histológica e radiográfica do potencial osteopromotor da membrana de cortical óssea bovina no reparo de defeito ósseo de tamanho crítico na calvária de cobaia (*Cavia porcellus*) [Dissertação de Mestrado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.
- 5) Sciadini MF, Dawson JM, Johnson KD. Evaluation of bovine-derived bone protein with a natural coral carrier as abone-graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Res*. 1997; 15(6):844-57.
- 6) Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterization of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials*. 2004; 25(6):987-94.
- 7) Coradazzi LF, Garcia IR, manfrin TM. Evaluation of autogenous boné grafts, particulate or collected during osteotomy with implant burs: Histological and Histomorphometric analysis in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007; 22: 201-201.
- 8) Faria PEP, Okamoto R, Bonilha-Neto RM, Xavier SP, Santos AC, Salata LA. Immunohistochemical, tomographic, and histological study on onlay iliac grafts remodeling. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19: 393-401.
- 9) Misch CE. *Implante odontológico contemporâneo*. 1. Ed. São Paulo: editora Pancast; 1996.

- 10) Rossi RJ, Arun KG; *Implantodontia- Bases Clínicas e Cirúrgicas*. Robe Editora, 1996; 225
- 11) H, Kurashina K, Bruijn JD, Li Y, De groot K; Zhang X; *Biomat.*, 1999; 20: 1799-1806.
- 12) Freireich EJ, Kliman A, Gaydos LA, et al. Response to repeated platelet transfusion from the same donor. *Ann Intern Med* 1963; 59:277-287.
- 13) Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt R, et al. Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral radiol Endod* 1998; 85:638-646.
- 14) Kevy S, Jacobson M. Preparation of growth factors enriched autologous platelet gel. *Proceeding of the 27th Annual Meeting of Service Biomaterials*, April 2001.
- 15) Anitua E. Plasma rich in growth factor: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac implants* 1999; 4(3-4); 529-534.
- 16) Becker W, Lynch SE, Leckholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K, et al. A comparison of eptfe membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors an insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol*. 1992; 63: 929-940.
- 17) Buckley RC, Breazeale EE, Edmond JA, Brzezienski MA. A simple preparation of autologous fibrin glue for skin-graft fixation. *Plast Rec Surg*. 1999; 103: 202-206.
- 18) Zechner W, Tangl S, Tepper G, Furst G, Bernhart T, Haas R, Mailath G, et al. Influence of platelet-rich plasma on osseus healing of dental implantes: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *Intl J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18: 15-22.
- 19) Mello EDA, Mello GPS, Silva LA, Freitas MAC, Oliveira MG. As bases biológicas do plasma rico em plaquetas [Biological basis of platelet-rich plasma]. *Ver Fac Odontol Univ Passo Fundo* 2006; 11:91-95.



- 20) Kostopoulos L, Karring T. Regenerations of the sagittal suture by GTR and its impact on growth of the cranial vault. *J Craniofac Surg.* 2000; 11(6): 553-61.
- 21) Crus GA, Sallum EA, Toledo S. Estudo da morfologia de diferentes substitutos ossos por microscopia eletrônica de varredura. *Ver Period.* 2005; 19 (3): 21-28.
- 22) Oliveira RC, Sicca CM, Silva TL, Cestari TM, Kina JR, Oliveira DT ET AL. Avaliação histológica e bioquímica da resposta celular ao enxerto de osso cortical bovino previamente submetido a altas temperaturas. Efeito da temperatura no preparo de enxerto xenógeno. *Ver Bras Ortop.* 2003; 38(9): 551-61.
- 23) Le Geros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. Basel: Karger; 1991. Monographs in oral science. V.15.
- 24) Masters DH. Implants. Bone and bone substitutes. *CDA J.* 1988; 16(1): 56-65.
- 25) Oliveira RC, Sicca CM, Silva TL, Cestari TM, Oliveira DT, Buzalaf MAR *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. *Rev FOB.* 1999; 7(3/4):85-93.
- 26) Luna-Zaragoza D, Romero-Guzmán ET, Reyes-Gutiérrez LR. Surface and physicochemical characterization of phosphates vivianite, $Fe_2(po_4)_3$ and hidroxyapatite. $Ca_5(Po_4)_3OH$. *J min mat charact Engin.* 2009; 8(8): 591-609.
- 27) Rocha F, Ramos L, Batista J, Ferro E, Zanetta-Barbosa D, Dechichi P. Bovine anorganic bone graft associated to PRP: histologic analysis in rabbit calvaria. *J Oral Implantol.* 2010.
- 28) Cavenago, Bruno Cavalini. Estudo do processo de reparo ósseo em função de quatro biomateriais. Avaliação microscópica em tíbias de coelho. Bauru: USP-Bauru, 2011.170p. Dissertação (mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, 2011.
- 29) De Biase AF, Guerra L, Cipriano L, Lamazza and Tucci E. Subantral filling by deantigenated heterologous bone and immediate fixture placement. *Minerva Stomatol.* 2005; 54:99-108.
- 30) Stievano DA, Di Stefano M, Ludovichetti S, Pagnutti F, Gazzola C, Boato ES. Maxillary sinus lift through heterologous bone grafts and simultaneous acid-etched implants placement. Five year follow-up. *Minerva Chir.* 2008; 63:79-91.

- 31) Smieszek-Wilczewska J, Koszowski R, Pajak J. Comparison of postoperation bone defects healing of alveolar processes of maxilla and mandible with the use of bio-gen and bio-oss. *J Clin Exp Dent*. 2010; 2(2): 62-68.
- 32) Cawood JI, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. *Int J oral Maxillofac Surg*. 1988; 17: 232-6.
- 33) Nevins M, Camelo M, De Paoli S, Friedland B, Schenk RK, Parma- Benefati S, et al. A study of the fate of the buccal wall of extraction sockets of teeth with prominent roots. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006; 26: 19-29.
- 34) Kalkura SN, Anee TK, Ashok M, Betzel C. Investigations on the synthesis and crystallization of hydroxyapatite at low temperature. *Biomed Mater Eng*. 2004; 14(2): 581-92.
- 35) Wener J, Linner-Krcmar B, Friess W, Greil p. Mechanical properties and in vitro cell compatibility of hydroxyapatite ceramics with graded pore structure. *Biomaterials*. 2002; 23 (21): 4285-94.
- 36) Carotenuto G, Spagnuolo G, Ambrosio L, Nicolais. Mac-roporous hydroxyapatite as alloplastic material for dental applications. *J master Sci Master med*. 1999; 10(10/11): 671-6.

Anexo 1



Parecer emitido após reunião realizada em: 6/7/2010 Parecer nº 046/2010

Pesquisador: Edevaldo Tadeu Camarini	Setor: DOD
Título:	Protocolo nº 017/2010
O uso de biomateriais com ou sem plasma rico em plaqueta em sítios pós-extração: um estudo microscópico em cães	
Entrada: 17/5/2010	Início: 15/6/2010
	Término: 15/10/2010
Situação do Projeto:	Aprovado
Relatório Final:	Aguarda finalização do projeto
<p>ATENÇÃO: este parecer, quando a situação do projeto constar "aprovado", autoriza os proponentes a executarem o protocolo em questão. O certificado será emitido após aprovação e a p r o v a ç ã o d o r e l a t ó r i o f i n a l .</p>	
<p>Considerações e Parecer:</p> <p>Diante da avaliação das respostas do pesquisador, quanto aos questionamentos solicitados pelo relator, entendemos que todos os esclarecimentos foram prestados. Assim, como o projeto observa os Princípios Éticos na experimentação animal, soma de parecer favorável à execução do projeto.</p>	
	
 Dr. Fábio Augusto Presidente do CEAE/UEM	
<p>Artigo 10 da Resolução nº 032/2006-CEP. Os projetos analisados serão enquadrados em uma das seguintes categorias:</p> <p>I - aprovado;</p> <p>II - pendente, quando o CEAE considerar o protocolo e o projeto como aceitáveis, porém com problemas no protocolo, no projeto ou em ambos, e houver recomendação de uma revisão específica, ou solicitação de modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em até 60 dias, após o recebimento da comunicação, pelo coordenador do projeto;</p> <p>III - arquivado, quando o protocolo permanecer pendente, transcorridos 30 dias, após o prazo previsto no inciso II do recebimento da comunicação;</p> <p>IV - não aprovado</p>	