

## “TECNICAS DE TRATAMENTO UTILIZADAS NO REPARO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS DE RATOS - REVISÃO DE LITERATURA”

**Machado, N.C.S.<sup>1</sup>, Gama.S.A.S<sup>2</sup>, Cecílio R. A. F<sup>3</sup>, Conceição,V.G.B<sup>4</sup> Nicolau, R. A<sup>5</sup>, Arisawa, E.A.<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>,UNIVAP/ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [nataliasallessantos@hotmail.com](mailto:nataliasallessantos@hotmail.com)

<sup>2</sup>, UNIVAP/ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [essergama@hotmail.com](mailto:essergama@hotmail.com)

<sup>3</sup> UNIVAP/ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D),Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [raquelc@univap.br](mailto:raquelc@univap.br)

<sup>4</sup> UNIVAP/ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [viviborio@yahoo.com.br](mailto:viviborio@yahoo.com.br)

<sup>5</sup> UNIVAP/ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [rani@univap.br](mailto:rani@univap.br)

<sup>n</sup> UNIVAP/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Av. Shishi Hifume, 2911-Urbanova, [arisawa@univap.br](mailto:arisawa@univap.br)

**Resumo-** A reparação de defeitos ósseos é hoje um grande desafio para muitos profissionais da área da saúde. O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica dos estudos que vêm sendo realizados sobre diversas substâncias com a intenção de adquirir novos conhecimentos que possam auxiliar em cirurgias de reconstrução, implantes e reparações ósseas guiadas. Este trabalho foi elaborado a partir de revisão de literatura, usando como base de dados os sistemas Medline, Lilacs e Scielo, confrontando assim a utilização de diversas substâncias na reparação óssea. De acordo com literatura, essas técnicas de tratamento promovem um reparo ósseo, porém, cada uma promove uma cicatrização com características histológicas diferentes, algumas com resultados satisfatórios, outras, inadequadas para esse fim.

**Palavras-chave:** defeitos ósseos, reparação óssea, osteogênese, ratos.

**Área do Conhecimento:** V- Ciências da Saúde

### Introdução

O reparo de defeitos ósseos constitui um desafio hoje por possuir pouca capacidade de regeneração. Os diversos estudos vêm sendo realizados há anos, com a intenção de adquirir novos conhecimentos, que possam auxiliar em cirurgias de reconstrução, reparações ósseas guiadas, e implantes (ALMEIDA et al. 2000)

Vários tipos de biomateriais e suas associações experimentais com diversas substâncias vêm sendo estudados no processo de reparação óssea. Contudo, a reconstrução tecidual de defeitos ósseos causados por traumas, processos infecciosos, neoplasias ou anomalias do desenvolvimento, ainda representa um desafio em procedimentos ortopédicos e odontológicos, direcionando os estudos à investigação de substitutos do osso autógeno e de agentes farmacológicos que facilitem sua integração (SASSIOTO et al. 2003)

O mecanismo deste padrão de reparação é considerado uma recapitulação da osteogênese que ocorre no embrião e durante o período de crescimento. Para que não ocorram distúrbios na mineralização, existem requisitos básicos, como uma concentração adequada de íons cálcio e fosfato, presença da matriz a ser calcificada, agente

de nucleação e controle de agentes reguladores (promotores e inibidores). Além destes, a formação óssea depende de dois pré-requisitos indispensáveis: suporte sanguíneo amplo e suporte mecânico. Tendo em vista o interesse pela reparação óssea é necessário estabelecer, através de cortes histológicos, como se processa a neoformação óssea em defeitos semelhantes aqueles realizados em procedimentos cirúrgicos (ALMEIDA et al. 2000).

Juntamente ao comportamento mecânico excelente, o osso revela potencial único para regeneração, sendo capaz de reparação de fraturas ósseas sem que seja observada qualquer cicatriz. (BUSER, 1999).

### Materiais e Métodos

Este trabalho foi elaborado a partir de uma revisão de literatura realizada através do uso da base de dados *Medline*, *Lilacs* e *Scielo* relacionados à área. Foram selecionados e impressos artigos de interesse para o estudo que faziam referência sobre a reparação óssea em animais experimentais utilizando substâncias e relatando as alterações que podem estar presentes nestes processos.

## Revisão de Literatura

O estudo da reparação de defeitos ósseos é muito importante visto ser um desafio para muitos profissionais da área de saúde. Os trabalhos relacionados têm sido realizados há anos, com a intenção de adquirir novos conhecimentos que possam auxiliar em cirurgias de reconstrução, reparações ósseas guiadas e implantes.

Vários estudos envolvendo a utilização de substâncias com prováveis atividades osteogênicas têm sido desenvolvidos.

Foi realizado o experimento do efeito da *Casearia sylvestris* no reparo ósseo com matriz bovina desvitalizada em ratos.

A estrutura química da *Casearia sylvestris* é bastante complexa; suas folhas contêm fotoquímicos (diterpenos) com ação antitumoral, antifúngica, antibiótica e inibidora da replicação do vírus HIV e sua ação antiinflamatória foi considerada similar à do piroxicam e meloxicam, em ratos.

Considerando os aspectos acima, julgou-se pertinente o estudo experimental do reparo de defeitos ósseos preenchidos com matriz óssea bovina desvitalizada, em ratos tratados com decocto 5% de *Casearia sylvestris*.

A matriz bovina desvitalizada é uma hidroxiapatita natural de composição química e porosidade semelhante à humana, que quando utilizada de forma isolada ou em associação com fármacos para preencher defeitos ósseos, comporta-se como arcabouço para as células mesenquimais do osso hospedeiro invadem e se diferenciarem em tecido ósseo (SASSIOTO, et al, 2004). No decorrer do experimento todos os animais ganharam peso e não houve nenhuma morte.

A análise histológica por microscopia óptica mostrou progressiva neoformação óssea adjacente às margens do defeito operatório e aos fragmentos de matriz óssea bovina desvitalizada

Com o resultado concluíram que a utilização de decocto 5% de *Casearia sylvestris* promove atraso na cronologia do processo de reparação óssea e menor osteogênese em defeitos ósseos preenchidos com matriz óssea bovina desvitalizada, em ratos, na dose e período estudados.

Ferreira et al. (2004), avaliaram a capacidade de um pool de proteínas morfogenéticas bovinas ligada a hidroxiapatita sintética absorvível microgranular (BMPb-HA) em estimular a reparação óssea, em defeito de tamanho crítico em calvária de rato. Foram produzidos defeitos de 8 mm de diâmetro na calvária de 25 ratos, sendo 15 preenchidos com BMPb-HA homogeneizada com sangue; sendo este o grupo experimental, e 10 somente com coágulo sanguíneo, formando o grupo controle. Após 1, 3 e 6 meses de cirurgia foram coletadas as calvárias dos animais dos grupos experimental e controle. Os resultados morfométricos obtido nas imagens

radiográficas apresentaram ausência de formação óssea nos períodos de 1 e 3 meses, histologicamente, os defeitos estavam preenchidos por tecido conjuntivo fibroso e inúmeros focos de reação granulomatosa, tipo corpo estranho, ao redor de aglomerados de hidroxiapatita. Após 6 meses o foco de reação granulomatosa diminuiu em número e tamanho e os defeitos diminuíram a sua área em 22% em relação ao controle 0 hora, devido neoformação óssea nas suas bordas. No entanto apresentaram área semelhante ao controle de 6 meses.

Verificou-se neste estudo que a utilização de BMPb-HA no tratamento de defeitos ósseos cranianos em ratos, promove a formação de reação granulomatosa tipo corpo estranho que inibe profundamente a neoformação óssea, sugerindo que a hidroxiapatita sintética microgranular não é um bom carreador para as BMPs expressarem o seu potencial indutor.

ALMEIDA et al (2006) realizou um estudo para verificar o efeito do *plumbum metallicum* 30ch, um medicamento homeopático a base de chumbo, na reparação óssea em mandíbulas de ratos sem utilização de barreira mecânica, como resultado foi verificado que houve presença de tecido muscular em muitos cortes histológicos confirmando relatos de outros autores de que a interposição de células não osteogênicas na área de um defeito cirúrgico impedem a migração de células com potencial osteogênico, interferindo no processo de reparo (DAHLIN et al. 1998; LINDE et al., 1993; ALMEIDA et al. 2000); verificou-se ainda no referido estudo que o *plumbum metallicum* favoreceu a reparação de defeitos óssea em mandíbula de ratos.

LANDIM et al (2002) realizou um estudo com a utilização de Sinvastatina, sendo essa, um medicamento da classe das Estatinas que possuem ação comprovada no tecido ósseo.(SUGIYAMA et al.,2000). No referido estudo foi administrado a Sinvastatina por via oral em 25 ratas as quais tiveram suas mandíbulas lesadas e recoberta por barreira de politetrafluoretileno e sacrificadas posteriormente para análise de suas mandíbulas através de radiografias, densidade óptica e histologia; nas análises verificou-se que a sinvastatina não teve efeito no processo de reparação óssea, porém que a quantidade de neoformação óssea aumentou de acordo com o tempo pós lesão.

NICCOLI-FILHO et al. (2001), realizou um estudo para avaliar os efeitos da radiação laser de dióxido de carbono em tecido ósseo, neste estudo foram utilizados 12 ratos os quais foram irradiados com laser de CO2 com potência de 1, 3 e 5 watts, em modo contínuo, diâmetro do feixe de 0,6 mm, através de fibra de vidro "Hdlow Fider", sob aspiração constante, logo após a irradiação 4 animais foram sacrificados se removido o osso irradiado para avaliação; os demais animais foram

sacrificados 3, 7, e 15 dias após a irradiação. A avaliação foi realizada através de lupa estereoscópica com aumento de 14, 25 e 40 vezes.

Na análise dos animais com irradiação de 1 watt, com 3 dias foi verificado que a cronologia do reparo apesar de atrasada apresentava evidências de normalidades sendo que nos tempos de 7 e 14 dias ocorreram reparação em curso normal; com irradiação de 3 watts observaram-se áreas de características semelhantes à avaliação feita no tempo de 3 dias, porém, com comprometimento acentuado na cronologia do reparo e nos animais que receberam 5 watts permanece o atraso cronológico do reparo tecidual verificado anteriormente. Em todos os tempos, foi então concluído que a cronologia de reparo foi comprometida indiferentemente das potências utilizadas, sendo bem mais acentuada quando usado 3 e 5 watts de potência, sendo que com potência de 1 watt sua cronologia de reparo foi compatível com os padrões de normalidade.

Outro estudo utilizando-se ratos realizado em 2004. Nesse trabalho o objetivo foi avaliar e comparar por meio da histologia, a osteointegração e antigenicidade dos enxertos homólogos e heterólogos conservados por meio de congelamento e liofilização. O enxerto ósseo homólogo tem sido utilizado como método de tratamento de várias afecções do esqueleto.

Foi realizado um estudo experimental com 40 ratos adultos machos de raça Wistar (*Rattus norvegicus*) divididos aleatoriamente, os quais receberam dois tipos de enxerto ósseo conservado de duas maneiras diferentes. A saber: enxerto homólogo congelado e liofilizado e enxerto heterólogo congelado e liofilizado. No fêmur esquerdo de cada animal foi implantado osso liofilizado e, no fêmur direito, osso congelado. A análise dos resultados não mostrou diferença estatisticamente significativa no que se refere à resposta inflamatória, bem como no que diz respeito à capacidade de osteointegração entre enxertos ósseos homólogos e heterólogos. Evidenciou também não haver diferença significativa quanto à forma de preservação desses enxertos. O osso bovino possui composição química, porosidade, tamanho, forma e comportamento fisiológico durante a regeneração óssea semelhantes ao osso humano. Além dessas características, fornece.

Estrutura de suporte, osteocondução e alto conteúdo de cálcio e fósforo, essenciais para a neoformação do tecido ósseo.

Existem basicamente duas maneiras de armazenamento dos enxertos ósseos em bancos de ossos: congelamento profundo e liofilização. A esterilização é feita, preferencialmente, por autoclavagem ou irradiação (GALIA, 2005).

Este estudo tem como objetivo verificar a capacidade de osteointegração e infiltrado inflamatório entre enxertos homólogo e heterólogo

congelados e liofilizados em modelo animal (GALIA, 2005).

Foram utilizados 40 ratos machos da raça Wistar foram divididos em dois grupos, que receberam enxerto ósseo homólogo e heterólogo respectivamente.

Por sua vez, o enxerto ósseo heterólogo congelado foi obtido em sala cirúrgica, envolto em embalagens plásticas e mantido em congelação profunda a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da enxertia. O enxerto ósseo liofilizado foi obtido do Banco de Ossos do HCPA. A técnica de liofilização consistiu,

basicamente, na retirada da umidade de osso, o qual deve ser previamente desengordurado, o que permite a sua estocagem por longos períodos. Os enxertos homólogos foram retirados da cabeça e cêndilos femorais de ratos doadores, utilizados especificamente para esse fim (GALIA, 2004).

Com o objetivo de avaliar a neoformação óssea e intensidade do infiltrado inflamatório utilizaram-se os seguintes critérios:

1) Quanto ao infiltrado inflamatório – presença de células como linfócitos, plasmócitos, macrófagos, neutrófilos e outras, quantificadas individualmente em quatro categorias (ausente, menos de cinco por campo, entre cinco e 10 por campo e mais de 10 por campo);

2) Quanto à osteointegração, foi verificada a presença ou não dos seguintes elementos histológicos: osso neoformado, fibrose e tecido ósseo necrótico. Neste estudo, foi utilizado o teste de qui-quadrado ( $p > 0,05$ ) para o cálculo das variáveis lineares. Esta pesquisa foi analisada e aprovada pela Comissão de Ética e Pesquisa do HCPA e baseia-se nas diretrizes para uso de modelos animais em experimentação do HCPA. Soccol et al. (2006)

## Resultados e Discussão

Após a realização deste trabalho verificou-se a intensa busca de materiais que levem à osteogênese necessária ao reparo de defeitos ósseos. Diversos tipos de biomateriais e suas associações experimentais com diversas substâncias vêm sendo estudadas.

Contudo a reconstrução tecidual de lesões ósseas causadas por traumas, processos infecciosos, neoplasias ou anomalias no desenvolvimento ainda têm sido um desafio em procedimentos ortopédicos e odontológicos direcionando os estudos à investigação de substitutos do osso autógeno e agentes farmacológicos que facilitem sua integração (SASSIOTTO, 2004).

A matriz óssea bovina desvitalizada foi selecionada para preenchimento das cavidades ósseas e facilitação da formação óssea por proteção contra a invasão de tecidos não-osteogênicos competidores. E o efeito da Casearia

sylvestris na integração da matriz óssea bovina desvitalizada conclui que a associação citada anteriormente causou atraso na cronologia de reparação no processo de reparação óssea e menor osteogênese em defeitos ósseos preenchidos com matriz óssea bovina desvitalizada na dose e período estudados (SASSIOTO e col, 2005).

No estudo sobre haloenxertos na prática ortopédica apresenta em teoria, inúmeras vantagens sobre o auto enxerto. Os aloenxertos podem fornecer grande capacidade estrutural, ser obtidos em larga escala, e não ocorrem em dor no sítio doador. No entanto, seu uso não é isento de riscos, podendo haver intensa reação imunológica contra as células presentes no enxerto. Para isso, os haloenxertos são preparados para diminuir os riscos. Devido a perda de células os haloenxertos não possuem propriedades osteogênicas como os auto enxertos.

Os processos envolvidos na incorporação dos haloenxertos são qualitativamente semelhantes ao auto-enxerto não vascularizado, no entanto, ocorrem mais lentamente e são acompanhados de quantidade variável de inflamação em muito atribuída à resposta imunológica do hospedeiro. Outros estudos devem ser feitos para comprovar os resultados (GIORDANO et al, 2006).

No estudo de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise de ratos observou-se:

Enxertos ósseos homólogos necessitam de armazenamento em banco de ossos e por isso maior risco de contaminação. Os enxertos autólogos têm a vantagem de minimizar o risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas. Os enxertos homólogos podem ser obtidos facilmente e estocados por longos períodos, possibilitam menor tempo cirúrgico e menor morbidade. A utilização de enxerto heterólogo liofilizado mostrou-se como outra alternativa ao enxerto autólogo.

A utilização de outro modelo experimental e o aperfeiçoamento da investigação anatomopatológica talvez possa modificar esses resultados.

Considerando os resultados de enxertos ósseos homólogos congelados e liofilizados e heterólogos liofilizados embora necessite de mais pesquisas pode ser boa alternativa à reparação óssea (GALIA, 2005).

## Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, J. D; CARVALHO Y. R; ROSILENE F. R; ARISAWA A. L. Estudo da reparação óssea e mandíbula de ratos. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, v.3, n.1, jan./jun., 2000.

- ALMEIDA, J. D; CARVALHO Y. R; ROCHA F. R; ARISAWA A. L; LIMA, A. P. Estudo do efeito do *Plumbum metallicum* 30ch na reparação óssea em mandíbula de ratos sem barreira mecânica. **Rev.**

**Cienc. Odontol. Bras**, v 9, n. 1, p 69-76, jan./mar., 2006.

- FERREIRA, G. R. et al . Lack of repair of rat skull critical size defect treated with bovine morphometric protein bound to microgranular bioabsorbable hydroxyapatite. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n. 3, 2004.

- GALIA, C. R. et al. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. **Rev. Bras. Ortop.** v. 40, n.3, março, 2005.

- GIORDANO, V. et al. Estudo histomorfológico da incorporação de haloenxerto fresco e da hidroxiapatita de alta porosidade em defeito ósseo produzido em fêmures de ratos. **Rev. Bras. Ortop**, v.41, n.9, p.384-91, 2006.

- LANDIM, K. T; JUNQUEIRA, J. C; ROCHA, F. R. Influência da sinvastatina na reparação óssea de mandíbulas de ratas. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, v.5, n.1. jan/abr, 2002.

- NICCOLI-FILHO, W.; SAMPAIO, T. A.; GUIMARÃES-FILHO, R. Efeitos da radiação laser de dióxido de carbono em tecido ósseo: estudo macroscópico em ratos. **Pesqui. Odontol. Bras**, v. 15, n. 2, p. 127-132, abr./jun, 2001.

- SASSIOTO M.C.P. et al. Estudo morfológico do reparo de defeito ósseo preenchido com enxerto ósseo autógeno ou matriz óssea bovina, em ratos. **Ensaio Cient.** v.7, p.543-50, 2003.

- SASSIOTO, M. C. P. et al. Efeito da *Casearia sylvestris* no reparo ósseo com matriz óssea bovina desvitalizada em ratos. **Acta Cir. Bras.**, v. 19, n. 6, 2004.

- SOCCOL, A. T. et al. Comparação entre os bioenxertos de hidroxiapatita de cálcio e submucosa de intestino delgado porcino no preenchimento de defeitos ósseos criados em mandíbula de ratos. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 72, n. 2, 2006