

## Avaliação Histológica de Enxerto de Osso Bovino Inorgânico Medular Liofilizado em Bloco para Correção de Defeito Ósseo Mandibular

*Histological Evaluation of Lyophilized Inorganic Bovine Medullary Bone Graft in Block for Correction of Mandibular Bone Defect*

*Evaluación Histológica de Injerto Óseo Medular Bovino Inorgánico Liofilizado en Bloque para Corrección de Defecto Óseo Mandibular*

Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, 18618-687, Botucatu-SP, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0003-1313-6129>

Departamento de Odontologia Preventiva e Restauradora, Faculdade de Odontologia, UNESP Univ. Estadual Paulista, 16015-050, Araçatuba - SP, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0003-1439-4197>

Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, 18618-687, Botucatu-SP, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-5707-9985>

### Resumo

**Objetivo:** Realizar a análise comparativa histológica do enxerto autógeno com o de osso bovino inorgânico medular liofilizado em bloco, para correção de defeitos ósseos, em mandíbulas de coelhos. **Metodologia:** 48 coelhos albinos foram divididos em 2 grupos experimentais. Grupos A: enxerto autógeno e Grupo B: enxerto xenógeno com osso bovino inorgânico medular liofilizado em bloco. Os enxertos foram fixados com miniplacas e parafusos de titânio, no lado esquerdo do corpo mandibular. Os animais foram sacrificados aos 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias pós-operatório. Análise histológica foi realizada por meio da microscopia óptica em quatro áreas: Zona de "Transição entre Osso Primário (OP) e Enxerto"; "Periferia do Osso Primário"; "Periferia do Enxerto". Foram atribuídos pontos para os achados dos diferentes tipos de células e tecidos: inflamação, tecido conjuntivo e osso neoformado. **Resultado:** A neoformação óssea foi observada aos 15 dias pós-operatório no interior do enxerto xenógeno. A incorporação do enxerto pode ser notada a partir de 60 dias pós-operatório nos 2 grupos. Inflamação e tecido conjuntivo foram notados em ambos os grupos em diferentes graus, nas áreas estudadas. Abscessos foram observados envolvendo elementos dentários. Não houve diferenças estatísticas ( $p=0,1322$ ) ao comparar os dados do grupo do xenoenxerto com autoenxerto quanto ao osso neoformado, em todas as áreas analisadas. **Conclusão:** O enxerto com osso bovino inorgânico liofilizado em bloco não provocou reações adversas; mostrou ser biocompatível; e permitiu a neoformação óssea.

**Descritores:** Transplante Ósseo; Transplantes; Osteogênese; Reabilitação Bucal.

### Abstract

**Objective:** To perform a comparative histological analysis of autogenous graft with that of lyophilized inorganic bovine bone marrow in block, for correction of bone defects in rabbit mandibles. **Methodology:** 48 albino rabbits were divided into 2 experimental groups. Groups A: autogenous graft and Group B: xenogenous graft with lyophilized inorganic bovine medullary bone in block. The grafts were fixed with miniplates and titanium screws on the left side of the mandibular body. The animals were sacrificed at 7, 15, 30, 60, 90 and 180 days after surgery. Histological analysis was performed using optical microscopy in four areas: Zone of "Transition between Primary Bone (OP) and Graft"; "Primary Bone Periphery"; "Graft Periphery". Points were assigned for the findings of different types of cells and tissues: inflammation, connective tissue and neoformed bone. **Result:** Bone neoformation was observed 15 days after surgery inside the xenogenous graft. Graft incorporation can be noticed from 60 days after surgery in the 2 groups. Inflammation and connective tissue were noted in both groups to different degrees in the studied areas. Abscesses were observed involving dental elements. There were no statistical differences ( $p=0.1322$ ) when comparing the data from the xenograft with autograft group regarding the newly formed bone, in all areas analyzed. **Conclusion:** The lyophilized inorganic bovine bone graft did not cause adverse reactions; proved to be biocompatible; and allowed bone neoformation.

**Descriptors:** Bone Transplantation; Transplants; Osteogenesis; Mouth Rehabilitation.

### Resumen

**Objetivo:** Realizar un análisis histológico comparativo del injerto autógeno con el de médula ósea bovina inorgánica liofilizada en bloque, para la corrección de defectos óseos en mandíbulas de conejo. **Metodología:** Se dividieron 48 conejos albinos en 2 grupos experimentales. Grupos A: injerto autógeno y Grupo B: injerto xenógeno con médula ósea bovina inorgánica liofilizada en bloque. Los injertos se fijaron con miniplacas y tornillos de titanio en el lado izquierdo del cuerpo mandibular. Los animales se sacrificaron a los 7, 15, 30, 60, 90 y 180 días después de la cirugía. El análisis histológico se realizó mediante microscopía óptica en cuatro áreas: Zona de "Transición entre Hueso Primario (OP) e Injerto"; "Periferia ósea primaria"; "Periferia del injerto". Se asignaron puntos por los hallazgos de diferentes tipos de células y tejidos: inflamación, tejido conectivo y hueso neoformado. **Resultado:** se observó neoformación ósea 15 días después de la cirugía en el interior del injerto xenógeno. La incorporación del injerto se puede notar a partir de los 60 días posteriores a la cirugía en los 2 grupos. La inflamación y el tejido conectivo se observaron en ambos grupos en diferentes grados en las áreas estudiadas. Se observaron abscesos que involucraron elementos dentales. No hubo diferencias estadísticas ( $p = 0,1322$ ) al comparar los datos del grupo de xenoinjerto con autoinjerto con respecto al hueso recién formado, en todas las áreas analizadas. **Conclusión:** El injerto óseo bovino inorgánico liofilizado no provocó reacciones adversas; demostró ser biocompatible; y permitió la neoformación ósea.

**Descriptores:** Trasplante Óseo; Trasplantes; Osteogenesis; Rehabilitación Bucal.

### INTRODUÇÃO

O osso, apesar da aparência inerte, é um tecido altamente mineralizado, celularizado e vascularizado, com grande poder

regenerativo; está num incessante processo de remodelação. Nessa modelação participam células gigantes, os osteoclastos, que destroem a matriz óssea envelhecida, e células

mononucleadas, os osteoblastos, que produzem, secretam e mineralizam a nova matriz óssea<sup>1</sup>. A matriz óssea, chamada osteóide antes da mineralização, é principalmente um conjunto de fibras colágenas embebidas em substância fundamental. Esta última é um gel de água, viscoso e complexos de glicoproteína/proteína. A substância fundamental também contém numerosos fatores orgânicos que ajudam o controle da ativação celular, maturação da matriz e mineralização. Durante a mineralização, pequenos cristais de hidroxiapatita são densamente acondicionados em uma série ordenada, de acordo com orientação das fibras colágenas<sup>2</sup>.

Muitas são as situações que podem levar à perda parcial ou total da mandíbula, tais como ressecções tumorais, trauma, ferimentos por arma de fogo, infecções, entre outros fatores. A reconstrução mandibular pode envolver várias técnicas, que incluem desde reconstruções com órteses (placas metálicas de reconstrução), enxertos ósseos, retalhos vascularizados e mesmo materiais aloplásticos<sup>3</sup>. Os principais fatores que interferem na formação do tecido ósseo, após injúria são: falha na proliferação dos vasos sanguíneos para o interior do defeito; estabilização inadequada do coágulo e do tecido de granulação no defeito; crescimento de um tecido “não-ósseo” com alta capacidade proliferativa e contaminação bacteriana<sup>4</sup>. Embora o tecido ósseo mostre um grande potencial de regeneração e possa restaurar completamente sua estrutura e função, os defeitos ósseos podem frequentemente apresentar falhas no processo de cicatrização. Para facilitar e/ou promover a cicatrização, materiais de enxertos ósseos têm sido colocados no interior dos defeitos<sup>5</sup>.

Os enxertos ósseos autógenos podem ser feitos com ossos obtidos de várias áreas doadoras, tais como crista íliaca, tíbia, costela, mento do próprio paciente, no entanto, existem problemas associados com o uso desses enxertos pelo alto custo, cirurgia extra, anestesia geral e hospitalização<sup>6,7</sup>. Há décadas, o osso autógeno era o material preferido para enxertos ósseos. Ele é ainda recomendado, porém vários substitutos são usados para simplificar o procedimento cirúrgico, devido a eliminação da necessidade do aumento de osso com risco potencial de morbidade da área doadora<sup>8</sup>. Alguns materiais de enxertos ósseos estão sendo estudados como alternativa ou suplementos dos enxertos autógenos, como a matriz de osso bovino desproteínizado<sup>9</sup>.

Uma alternativa para o tratamento de lesões ósseas seria o uso de osso liofilizado humano, que seria enxerto alógeno da mesma espécie do receptor mas de genótipo diferente. Eles podem ser corticais e trabeculares, têm propriedades de osteoindução e provavelmente de osteocondução, não são osteogênicos, mas oferecem um potencial risco de rejeição e reabsorção<sup>10</sup>. Já no enxerto xenógeno o tecido transplantado é de espécie diferente do receptor<sup>11,12</sup>. O osso bovino liofilizado possui estrutura morfológica, porosidade, estrutura cristalina e composição química idênticas ao osso humano. O osso bovino liofilizado pode-se apresentar na forma de pó ou em bloco<sup>13</sup>.

A aplicação deste tipo de enxerto tem mostrado que este material pode ser utilizado para elevação do soalho de seios maxilares, induzindo, eventualmente, a formação de osso lamelar e aumento da densidade do osso<sup>14,15</sup>. Um estudo realizado em vinte e quatro pacientes para avaliar os resultados clínicos e radiográficos após a terapia regenerativa cirúrgica de lesões peri-implantite usando mineral ósseo bovino com uma membrana de colágeno concluiu que o tratamento resultou na melhora clínica da profundidade de sondagem da bolsa e do nível de inserção após um período de 6 meses<sup>16</sup>. Um ensaio clínico multicêntrico, randomizado, verificou o efeito do uso de mineral ósseo bovino desproteínizado e membrana de colágeno bicamada nativa na cicatrização de defeitos ósseos relacionados à periimplantite e demonstrou que, em 12 meses, este tratamento promoveu preenchimento de defeito radiográfico significativamente maior quando comparado ao tratamento realizado apenas com desbridamento cirúrgico<sup>17</sup>. Entretanto, nenhuma diferença foi encontrada em relação ao sangramento à sondagem, supuração, recessão, citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-6, IL-8, IL -12, IP10, PDGF-BB, TNF- $\alpha$ , VEGF) e desfechos relatados pelo paciente<sup>17</sup>.

Diante do exposto, com o intuito de dirimir dúvidas quanto a sua utilização quando comparadas, principalmente, ao enxerto autógeno, objetivou-se realizar a análise histológica do enxerto com osso bovino inorgânico medular liofilizado em bloco, para correção de defeitos ósseos, em mandíbulas de coelhos, e comparar com os resultados de enxerto autógeno.

#### **MATERIAL E MÉTODO**

Para realização deste estudo experimental, foram selecionados 48 coelhos albinos, do sexo masculino, com peso variando

de 2,5 a 3,5 Kg e divididos em 2 grupos experimentais: Grupo A - Enxerto autógeno composto por 18 animais, sendo sacrificados 3 animais em cada momento pós-operatório: 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias. Grupo B - Enxerto xenógeno composto por 30 animais, sendo sacrificados 5 animais em cada momento pós-operatório: 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias.

Durante as cirurgias os animais eram anestesiados pela via endovenosa, com 20 mg/Kg de peso corpóreo de pentobarbital sódico na veia do pavilhão auricular, e mantidos por seus membros na mesa cirúrgica em posição lateral. Em todos os animais foi realizada anestesia terminal infiltrativa com lidocaína a 2% com adrenalina, com a finalidade de complementação anestésica, bem como hemostasia. No Grupo A: O corpo mandibular foi seccionado e removido um fragmento de aproximadamente 1 cm. Em seguida, esse fragmento era fixado no mesmo local com miniplaca e de 4 furos e parafusos de titânio de 6mm de comprimento e 1,5mm de diâmetro. No Grupo B: O corpo mandibular foi seccionado, e removido um fragmento de aproximadamente 1 cm. Em seguida, colocado o enxerto do bloco de osso bovino inorgânico medular liofilizado, e fixado com miniplaca e parafusos de titânio.

Os animais no pós-operatório foram medicados com analgésico diluído em água de beber, por 1 dia. Oito animais, sendo 5 do grupo experimental e 3 do grupo controle foram sacrificados em cada momento pré-determinado: 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias pós-operatório, com dose letal de anestésico.

Após o sacrifício, foi removido o hemiarco esquerdo da mandíbula, onde foi realizado o procedimento cirúrgico, e fixado em solução aquosa de formaldeído a 10%.

A avaliação histológica foi realizada utilizando-se microscopia óptica. Para efeito de estudo quantitativo, utilizou-se o critério de “atribuição de escores” para avaliação, da atuação na cicatrização, dos diferentes tipos de células e tecidos: inflamação, tecido conjuntivo e tecido ósseo, de acordo com os seguintes critérios: 0 – ausência; 1 – leve; 2 – moderada; e 3 – forte. Em relação a inflamação foi considerada a expressão da infiltração de células polimorfonucleares, material necrótico-hemorrágico, formação de abscessos e células de corpo estranho. Quanto ao tecido conjuntivo e ósseo, foram considerados os aspectos de densidade, celularidade e imaturidade.

O exame microscópico foi esquematizado, segundo os aspectos observados nas quatro

regiões topográficas do local do enxerto: Zona de “Transição entre osso primário (OP) e Enxerto”; Periferia do osso primário; periferia do enxerto e Interior do enxerto.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se testes não paramétricos por se tratar de variáveis, com medição ordinal, ou seja, escore, bem como em função do tamanho da amostra em cada momento. Os testes utilizados foram os de Kruskal Wallis para comparação de “k” amostras independentes de Dunn’s para comparações múltiplas; de Mann Whitney, para comparação de duas amostras independentes. Todos realizados ao nível de significância de 5%.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu, Brasil (protocolo nº 280).

## RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 demonstram os escores atribuídos às variáveis: inflamação, tecido conjuntivo e osso neoformado; nos 7, 15, 30, 60, 90 e 180 dias pós-operatório, nos grupos de autoenxerto e xenoenxerto, nas quatro regiões de análise do local do enxerto, transição OP–enxerto; periferia do OP, periferia do enxerto e interior do enxerto. Nota-se, em ambas as tabelas, que já aos 7 e 15 dias pós-operatório havia tecido ósseo neoformado em todos os coelhos, nas áreas: Transição OP–Enxerto e Periferia do OP. No interior do enxerto, o osso neoformado foi observado já a partir de 7 dias no grupo de autoenxerto e a partir de 15 dias no grupo de xenoenxerto.

**Tabela 1.** Escores atribuídos às variáveis, segundo aspectos histológicos de enxertos autógenos em mandíbulas de coelho, distribuídos segundo o momento pós-operatório, área e variável. FMB-Unesp.

Dias	Coelho	Transição-OP Enxerto			Periferia do OP		Periferia do Enxerto		Interior do Enxerto	
		I	C	ON	C	ON	C	ON	C	ON
7	C6	2	3	1	2	3	3	1	1	0
	C7	0	3	3	3	3	3	1	3	3
	C8	0	3	3	3	3	3	0	1	0
15	C14	0	3	3	1	3	1	3	2	1
	C15	0	3	3	1	3	1	3	2	3
	C16	0	3	3	1	3	2	3	3	2
30	C22	0	3	3	1	3	1	2	3	2
	C23	0	0	2	1	3	3	3	3	3
	C24	0	3	3	3	3	1	0	2	3
60	C30	1	3	2	1	3	1	0	2	2
	C31	0	2	3	1	3	1	0	1	3
	C32	1	3	3	1	3	1	3	0	3
90	C38	0	1	3	1	3	1	3	3	3
	C39	2	3	1	1	3	1	3	3	3
	C40	0	2	3	1	3	1	3	1	3
180	C46	1	3	3	0	3	2	3	3	3
	C47	1	3	3	2	3	1	3	2	3
	C48	1	3	3	1	3	2	3	3	3

I: Inflamação; C: Tecido Conjuntivo; ON: Osso Neoformado

**Tabela 2.** Escores atribuídos às variáveis, segundo aspectos histológicos de enxertos xenógenos em mandíbulas de coelho, distribuídos segundo o momento pós-operatório, área e variável. FMB-Unesp.

Dias	Bovino	Transição-OP Enxerto			Periferia do OP		Periferia do Enxerto		Interior do Enxerto	
		I	C	ON	C	ON	C	ON	C	ON
7	BO 1	2	3	3	1	3	2	0	0	0
	BO 2	0	3	2	2	3	0	0	0	0
	BO 3	0	3	3	3	3	0	0	0	0
	BO 4	2	3	2	2	3	0	0	0	0
	BO 5	0	3	2	2	3	0	0	0	0
15	BO 9	0	3	3	1	3	3	2	3	1
	BO 10	0	3	3	1	3	3	3	2	0
	BO 11	0	3	3	1	3	3	3	3	2
	BO 12	1	3	3	1	3	2	3	1	0
	BO 13	1	2	3	1	3	2	3	3	1
30	BO 17	1	3	3	1	3	2	2	3	3
	BO 18	3	3	3	2	3	3	3	3	2
	BO 19	0	3	3	1	3	1	2	3	2
	BO 20	0	3	3	1	3	2	3	3	3
	BO 21	0	3	3	1	3	2	3	3	2
60	BO 25	1	2	3	1	3	1	3	3	3
	BO 26	1	3	3	0	3	3	2	3	3
	BO 27	0	2	3	0	3	1	3	3	3
	BO 28	0	2	3	0	3	1	3	3	2
	BO 29	1	3	3	1	3	1	3	3	2
90	BO 33	1	2	3	2	3	3	3	1	0
	BO 34	0	3	3	1	3	2	3	3	2
	BO 35	2	2	3	2	3	2	3	3	3
	BO 36	3	2	3	2	3	2	3	0	1
	BO 37	0	1	3	0	3	2	2	3	3
180	BO 41	1	3	3	1	3	2	3	3	3
	BO 42	3	2	3	1	3	1	3	0	3
	BO 43	1	3	3	2	3	3	3	0	0
	BO 44	0	0	3	1	3	0	3	3	3
	BO 45	3	3	2	3	3	2	3	3	0

I: Inflamação; C: Tecido Conjuntivo; ON: Osso Neoformado

Na tabela 3, grupo de autoenxerto, verifica-se que não houve diferença estatisticamente significante na área de Transição OP-Enxerto, para inflamação, tecido conjuntivo e osso neoformado, comparando-se todos os momentos de sacrifício. Isso ocorreu também nas três outras áreas de análise do enxerto.

**Tabela 3.** Resultados do teste estatístico de Kruskal-Wallis empregado para comparações entre os momentos pós-operatório, no grupo de enxerto autógeno, distribuídos segundo área e variável. FMB-Unesp.

Comparações	Valor	Probabilidade	Significância
Transição OP-Enxerto	Inflamação	6,772	0,2382
	Tecido Conjuntivo	5,843	0,3218
	Osso Neoformado	2,479	0,7796
Periferia do OP	Tecido Conjuntivo	92,002	0,1013
	Osso Neoformado	VI/SV*	ns
Periferia do Enxerto	Tecido Conjuntivo	10,578	0,0604
	Osso Neoformado	10,780	0,0559
Interior Enxerto	Tecido Conjuntivo	6,223	0,2851
	Osso Neoformado	6,678	0,2457

\*VI/SV= valores iguais/sem variação; ns= não significativo

No grupo de xenoenxerto, Tabela 4, os testes estatísticos mostraram algumas diferenças. Os momentos que diferiram foram excluídos e os resultados dos testes aplicados são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 4.** Resultados do teste estatístico Kruskal-Wallis empregado para comparações entre os momentos no grupo de xenoenxerto, sem exclusão de grupo, distribuídos segundo área e variável. FMB-Unesp, 2005.

Comparações	Valor	Probabilidade	Significância
Transição OP-Enxerto	Inflamação	3,342	0,6473
	Tecido Conjuntivo	11,267	0,0463
	Osso Neoformado	12,269	0,0313
Periferia do OP	Tecido Conjuntivo	12,535	0,0281
	Osso Neoformado	VI/SV	ns
Periferia do Enxerto	Tecido Conjuntivo	12,922	0,0241
	Osso Neoformado	18,560	0,0023
Interior Enxerto	Tecido Conjuntivo	16,332	0,0060
	Osso Neoformado	14,139	0,0148

VI/SV: valores iguais/sem variação; ns: não significativo; s: significativo. Nas comparações 2 a 2: 1-Pelo teste Dunn's não houve significância; 2-Somente o grupo de 7 dias diferiu de 60 dias; 3-Somente o grupo de 7 dias diferiu de 15 dias; 4-O grupo de 7 dias diferiu dos grupos demais (15; 30; 60; 90; 180 dias); 5-O grupo de 7 dias diferiu dos grupos de 30 e 60 dias; 6-O grupo de 7 diferiu do grupo de 60 dias.

**Tabela 5.** Resultados do teste estatístico de Kruskal-Wallis empregado para comparações entre os momentos no grupo de xenoenxerto, com exclusão dos grupos que diferiram entre si, segundo área e variável. FMB-Unesp, 2005.

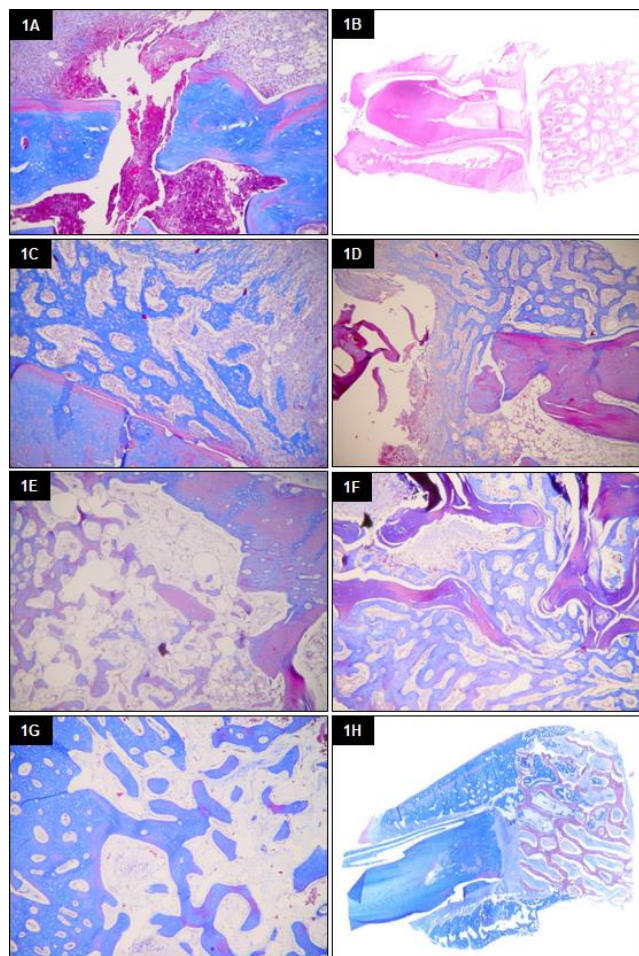
Comparações	Valor	Probabilidade	Significância
Periferia do OP	Tecido Conjuntivo	6,384	0,1722
	Osso Neoformado	VI/SV	ns
Periferia do Enxerto	Tecido Conjuntivo	6,574	0,1602
	Osso Neoformado	2,400	0,6626
Interior Enxerto	Tecido Conjuntivo	5,090	0,2782
	Osso Neoformado	6,781	0,1479

\*VI/SV= valores iguais/sem variação; ns= não significativo

A Figura 1A demonstra o resultado do autoenxerto aos 7 dias, verificando-se a zona de transição entre osso primário e enxerto, a qual apresenta acúmulo de material necro-hemorrágico, com neutrófilos e fibrina. Na figura 1C, observa-se, no autoenxerto aos 7 dias, uma intensa neoformação óssea (osso imaturo) na periferia do osso primário. A Figura 1B demonstra o resultado do xenoenxerto aos 7 dias, verificando-se à esquerda: osso primário, com dente no centro; na região periférica: osso neoformado, imaturo; na região mediana: transição entre osso primário e o xenoenxerto, com tecido conjuntivo central e inflamação; à direita: xenoenxerto (trabéculas ósseas desvitalizadas) com discreta inflamação do espaço intertrabecular. Na figura 1D, observa-se, no xenoenxerto aos 7 dias, à esquerda: xenoenxerto; à direita: osso primário, com intensa neoformação óssea periférica; na região mediana: “zona de transição”, com intensa neoformação óssea, imatura, que se continua com a periferia do “osso primário”.

A Figura 1E demonstra o resultado do autoenxerto aos 15 dias, verificando-se a região do córtex e medular do autoenxerto com degeneração do tecido adiposo. A Figura 1F demonstra o resultado do xenoenxerto aos 15 dias, verificando-se xenoenxerto com trabéculas ósseas desvitalizadas permeadas por osso imaturo neoformado.

Na figura 1G, observa-se, no autoenxerto aos 30 dias, enxerto com córtex espessado normal e trabéculas ósseas neoformadas e em formação. Na figura 1H, observa-se, no xenoenxerto aos 30 dias, à esquerda: osso primário com neoformação óssea periosteal, que continua para a superfície do xenoenxerto; na região mediana: transição com proliferação conjuntiva; à direita: xenoenxerto, com neoformação óssea revestindo as trabéculas do enxerto.



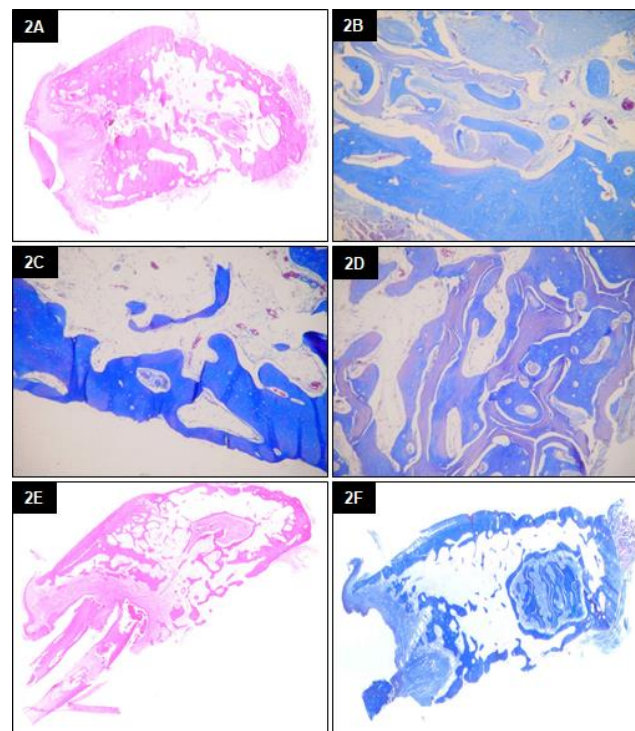
**Figura 1.** Achados histológicos nos momentos de sacrifício de 7, 15 e 30 dias nos grupos de animais de autoenxerto e xenoenxerto. 1A e 1C: Autoenxerto 7 dias; 1B e 1D: Xenoenxerto 7 dias; 1E: Autoenxerto 15 dias; 1F: Xenoenxerto 15 dias; 1G: Autoenxerto 30 dias; e 1H: Xenoenxerto 30 dias.

A Figura 2A demonstra o resultado do autoenxerto aos 60 dias, verificando-se o autoenxerto reintegrado ao osso primário. A Figura 2B demonstra o resultado do xenoenxerto aos 60 dias, verificando-se neoformação óssea da periferia e do interior do enxerto.

Na figura 2C, observa-se, no autoenxerto aos 90 dias, osso maduro, neoformado de “transição”, unindo o osso primário ao autoenxerto. Na figura 2D, observa-se, no xenoenxerto aos 90 dias, o interior do enxerto,

com neoformação entre as trabéculas do enxerto.

A Figura 2E demonstra o resultado do autoenxerto aos 180 dias, verificando-se reintegração do autoenxerto ao osso primário. A Figura 2F demonstra o resultado do xenoenxerto aos 180 dias, verificando-se reabsorção parcial do xenoenxerto com incorporação no osso primário.



**Figura 2.** Achados histológicos nos momentos de sacrifício de 60, 90 e 180 dias nos grupos de animais de autoenxerto e xenoenxerto. 2A: Autoenxerto 60 dias; 2B: Xenoenxerto 60 dias; 2C: Autoenxerto 90 dias; 2D: Xenoenxerto 90 dias; 2E: Autoenxerto 180 dias; e 2F: Xenoenxerto 180 dias.

Comparando-se o grupo de xenoenxerto com autoenxerto não houve diferença estatisticamente significativa, quanto ao osso neoformado, inflamação e tecido conjuntivo. Em alguns casos foi excluído o momento de 7 e de 60 dias no grupo de xenoenxerto, por apresentar diferença: Tecido Conjuntivo na Periferia do O.P. e Periferia do Enxerto; e Osso Neoformado na Periferia do Enxerto e Interior do Enxerto (Tabela 6).

**Tabela 6.** Resultado do teste estatístico referentes às comparações entre os grupos de autoenxerto e xenoenxerto, em mandíbulas de coelhos, distribuídos segundo local e variável. FMB – Unesp.

Comparações	Valor	Probabilidade	Significância
Transição OP-Enxerto	Inflamação	218,50	0,2709
	Tecido Conjutivo	246,00	0,6063
	Osso Neoformado	242,00	0,5387
Periferia do OP	Tecido Conjutivo	206,50	0,6517
	Osso Neoformado	VI/SV	ns
Periferia do Enxerto	Tecido Conjutivo	167,50	0,1574
	Osso Neoformado	167,50	0,1476
Interior do Enxerto	Tecido Conjutivo	145,50	0,2357
	Osso Neoformado	164,00	0,1322

VI/SV: valores iguais/semvariação; ns – não significativo; 1 – excluído o grupo de 7 dias de xenoenxerto; 2 – excluído o grupo de 60 dias de xenoenxerto

## DISCUSSÃO

Durante anos, o único método confiável de reparo de defeitos ósseos eram os enxertos autógenos, por conterem componentes celulares e moleculares viáveis e não serem imunogênicos, entretanto eles apresentam como principal desvantagem a ferida cirúrgica da área doadora, aumentando a morbidade pós-operatória. Nesse contexto, revisão sistemática sugere que a grande variabilidade dos resultados clínicos encontrados na literatura, mesmo quando se emprega o enxerto autólogo, pode ocorrer em função da falta de padronização nas técnicas de processamento<sup>18</sup>.

O osso bovino inorgânico liofilizado é um material biocompatível, não tendo sido observadas respostas imunológicas locais ou sistêmicas, no seu emprego para reparação de defeitos ósseos<sup>19</sup>. No presente estudo, foi empregado osso bovino inorgânico liofilizado em bloco, medular, pois causa menor inflamação, apresenta vascularização mais rápida e melhor potencial de osteoindução e osteocondução, e inorgânico, pois como já comprovado a matriz óssea descalcificada possibilita a neoformação óssea heterotópica<sup>19-21</sup>.

Nesta pesquisa, a neoformação óssea foi observada a partir de 15 dias pós-operatório no grupo de xenoenxerto na maioria dos casos e já aos 30 dias em todos os casos. Na periferia do osso primário, no grupo do xenoenxerto, a quantidade de osso neoformado era abundante e semelhante ao do autoenxerto, com maior tendência à maturação, comparando-se com o período de 7 dias.

Araújo et al.<sup>22</sup>, estudando enxerto de osso bovino em bloco, em mandíbulas de cães, observaram que a maior quantidade de osso neoformado encontrava-se na área em continuidade com o osso primário. Depois de 6 meses, a área de neoformação óssea era de 23% e 47% de volume do enxerto original, respectivamente nos grupos de xenoenxerto e autoenxerto. Resultados similares foram encontrados no presente estudo, inclusive com tempos de observação menores. A incorporação do enxerto pode ser notada a partir dos 60 dias pós-operatório nos 2 grupos. No grupo de autoenxerto, isso ocorreu em 2 dos 3 animais e no do xenoenxerto em 4 dos 5 animais sacrificados.

Neste estudo, tanto no grupo de autoenxerto quanto no xenoenxerto, foi observada presença de tecido conjuntivo no interior do enxerto. Este achado está de acordo

com os resultados encontrados em outros estudos<sup>23,24</sup>. Restrepo et al.<sup>25</sup>, observaram que não ocorria proliferação de tecido conjuntivo quando utilizaram membrana reabsorvível de osso bovino liofilizado para recobrir enxertos em tíbias de ratos. Outros estudos também não encontraram diferenças, tanto qualitativas como quantitativas, ao utilizarem enxertos de osso bovino material com e sem uso da membrana<sup>26,27</sup>. Na presente pesquisa, essas observações ocorreram a partir do 30º dia, para ambos os grupos, com tecido de neoformação óssea madura e abundante, promovendo a união entre a área receptora e o enxerto.

A presença de inflamação foi notada na área de transição entre OP-enxerto. Isso ocorre nos estágios iniciais do processo de reparo, como resposta do organismo ao trauma cirúrgico. É importante ressaltar que essa resposta inflamatória ocorreu da mesma forma nos grupos de xenoenxerto e autoenxerto. A hipótese mais provável é que esses abscessos possivelmente tenham sido originados devido à proximidade da área enxertada com a raiz dental, possibilitando o contato com o meio externo, através do espaço do ligamento periodontal. Aspecto muito importante foi a não formação, no presente estudo, de reação de corpo estranho, o que demonstra a biocompatibilidade do osso bovino liofilizado desmineralizado, em bloco, diferente de outros autores, que observaram alguma reação de corpo estranho<sup>28,29</sup>.

Os achados desta pesquisa demonstraram que o osso bovino liofilizado inorgânico, em bloco, apresentou bons resultados, tendo sido incorporado ao osso primário, apesar da lenta reabsorção. Essa questão da lenta reabsorção também foi observada em estudo que comparou resultados de enxerto com osso bovino liofilizado inorgânico com enxerto autógeno em maxilas e mandíbulas de coelhos e constatou que houve neoformação óssea tanto no xenoenxerto como no autoenxerto, não havendo reabsorção do material após 12 semanas<sup>30</sup>. Achados similares também foram encontrados em estudo conduzido em seres humanos, com enxerto bovino liofilizado inorgânico, que verificou lenta reabsorção desse material, após 4 semanas de acompanhamento pós-operatório<sup>31</sup>. Em ambos os estudos, o osso bovino liofilizado inorgânico foi empregado na forma granular.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que os resultados dessa pesquisa não mostraram diferenças

estatisticamente significantes entre os grupos de autoenxerto e xenoenxerto, quanto a variável osso neoformado. É possível sugerir que o uso de osso bovino em cirurgias é preferível porque dispensa cirurgias extras para obtenção de osso autógeno, no entanto, o período de cicatrização é muito longo, principalmente quando necessitasse de volumes e densidades maiores de enxerto ósseo. Em vista disso, verifica-se que o enxerto ósseo ideal ainda não existe e a busca de melhores técnicas e materiais é necessária.

#### REFERÊNCIAS

1. Park-Min KH. Metabolic reprogramming in osteoclasts. *Semin Immunopathol.* 2019;41(5):565-72.
2. Blair HC, Larrouture QC, Li Y, et al. Osteoblast differentiation and bone matrix formation in vivo and in vitro. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(3):268-80.
3. Torroni A, Marianetti TM, Romandini M, et al. Mandibular reconstruction with different techniques. *J Craniofac Surg.* 2015;26(3):885-90.
4. Winkler T, Sass FA, Duda GN, et al. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering: The unsolved challenge. *Bone Joint Res.* 2018;7(3):232-43.
5. Zhao R, Yang R, Cooper PR, et al. Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. *Molecules.* 2021;26(10):3007.
6. Kamal M, Gremse F, Rosenhain S, et al. Comparison of bone grafts from various donor sites in human bone specimens. *J Craniofac Surg.* 2018;29(6):1661-5.
7. Gjerde CG, Shanbhag S, Neppelberg E, et al. Patient experience following iliac crest-derived alveolar bone grafting and implant placement. *Int J Implant Dent.* 2020;6(1):4.
8. Fillingham Y, Jacobs J. Bone grafts and their substitutes. *Bone Joint J.* 2016;98-B(1 Suppl A):6-9.
9. Merli M, Nieri M, Mariotti G, et al. The fence technique: Autogenous bone graft versus 50% deproteinized bovine bone matrix / 50% autogenous bone graft-A clinical double-blind randomized controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2020;31(12):1223-31.
10. Faverani LP, Ramalho-Ferreira G, dos Santos PH, et al. Surgical techniques for maxillary bone grafting - literature review. *Rev Col Bras Cir.* 2014;41(1):61-7.
11. Artas G, Gul M, Acikan I, et al. A comparison of different bone graft materials in peri-implant guided bone regeneration. *Braz Oral Res.* 2018;32:e59.
12. de Azambuja Carvalho PH, dos Santos Trento G, Moura LB, et al. Horizontal ridge augmentation using xenogenous bone graft-systematic review. *Oral Maxillofac Surg.* 2019;23(3):271-9.
13. Gehrke SA, Mazón P, Pérez-Díaz L, et al. Study of two bovine bone blocks (sintered and non-sintered) used for bone grafts: Physico-chemical characterization and in vitro bioactivity and cellular analysis. *Materials (Basel).* 2019;12(3):452.
14. da Silva HF, Goulart DR, Sverzut AT, et al. Comparison of two anorganic bovine bone in maxillary sinus lift: a split-mouth study with clinical, radiographical, and histomorphometrical analysis. *Int J Implant Dent.* 2020;6(1):17.
15. Pereira RDS, Bonardi JP, Ouverney FRF, et al. The new bone formation in human maxillary sinuses using two bone substitutes with different resorption types associated or not with autogenous bone graft: a comparative histomorphometric, immunohistochemical and randomized clinical study. *J Appl Oral Sci.* 2020;29:e20200568.
16. Arab H, Shiezadeh F, Moeintaghavi A, et al. Comparison of two regenerative surgical treatments for peri-implantitis defect using natix alone or in combination with Bio-Oss and collagen membrane. *J Long Term Eff Med Implants.* 2016;26(3):199-204.
17. Renvert S, Giovannoli JL, Roos-Jansåker AM, et al. Surgical treatment of peri-implantitis with or without a deproteinized bovine bone mineral and a native bilayer collagen membrane: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2021;48(10):1312-21.
18. Gharpure AS, Bhatavadekar NB. Clinical efficacy of tooth-bone graft: A systematic review and risk of bias analysis of randomized control trials and observational studies. *Implant Dent.* 2018;27(1):119-34.
19. Titsinides S, Agrogiannis G, Karatzas T. Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review. *Jpn Dent Sci Rev.* 2019;55(1):26-32.
20. Young C, Sandstedt P, Skoglund A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(1):72-6.
21. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, et al. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(6):835-40.
22. Araújo AC, Machado IG, Isolan TMP. Avaliação histológica de implantes de osso liofilizado bovino (Bio Bone® laminado) em mandíbula de cão. *Rev Bras Cir Implant,* 2000; 7(25): 36-9.
23. Soares LG, Magalhães EB, Magalhães CA, et al. New bone formation around implants inserted on autologous and xenografts

- irradiated or not with IR laser light: a histomorphometric study in rabbits. *Braz Dent J.* 2013;24(3):218-23.
24. Barbosa Júnior SA, Maroli A, Pereira GKR, et al. Membranas de colágeno vs politetrafluoretileno expandido para regeneração óssea guiada simultânea à colocação de implante - uma revisão sistemática. *J Oral Invest.* 2019;8(2):59-72.
25. Restrepo LL, Consolaro A, Toledo Filho JL. Avaliação de implantes de osso bovino liofilizado Ósseobond® e membrana reabsorvível de osso bovino liofilizado. *Rev Bras Implant.* 1998;8-14.
26. Artzi Z, Givol N, Rohrer MD, et al. Qualitative and quantitative expression of bovine bone mineral in experimental bone defects. Part I: Description of a dog model and histological observations. *J Periodontol* 2003; 74:1143-52.
27. Artzi Z, Givol N, Rohrer MD, et al. Qualitative and quantitative expression of bovine bone mineral in experimental bone defects. Part II: morphometric analysis. *J Periodontol* 2003; 74:1153-60.
28. Van der Stok J, Van Lieshout EM, El-Massoudi Y, et al. Bone substitutes in the Netherlands—a systematic literature review. *Acta Biomater.* 2011;7(2):739-50.
29. Wu G, Hunziker EB, Zheng Y, et al. Functionalization of deproteinized bovine bone with a coating-incorporated depot of BMP-2 renders the material efficiently osteoinductive and suppresses foreign-body reactivity. *Bone.* 2011;49(6):1323-30.
30. Young C, Sandstedt P, Skogeund A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(1):72-6.
31. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, et al. Bone Reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(6):835-40.

## CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse

## AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

**Prof. Dr. Marcos Tadeu Adas Saliba**  
Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Faculdade de Medicina de Botucatu  
Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n,  
18618-687 Botucatu - SP, Brasil  
E-mail: marcos@clinicasaliba.com.br

Submetido em 01/12/2021

Aceito em 31/01/2023