



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022

Avaliação do Efeito do Laser de Baixa Intensidade, Associado ou não ao Enxerto Ósseo de Origem Bovina, na Reparação Óssea em Calvária de Ratos.

Gabrielle de Souza Queiroz¹; Dario Augusto Oliveira Miranda² e Alberto Consolaro³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gaby_queiroz11@hotmail.com

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: daomiranda@uefs.br

3. Participante do projeto, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: consolaro@uol.br

PALAVRAS-CHAVE: Reparação Óssea, Calvária de Ratos, Protocolo

INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um dos mais resistentes e rígidos do corpo humano. Constituído de tecido conjuntivo especializado, formado por células e material intercelular calcificado que é a matriz óssea. Quando ocorre a perda de um tecido, o organismo reage no intuito de substituí-lo de forma a assemelhar-se ao máximo com o tecido original. O tecido ósseo apresenta grande potencial de regeneração, entretanto em casos de perdas extensas, isso pode não acontecer (OLIVEIRA, et al, 2003).

Segundo Carvalho et al., (2004), o processo de neoformação decorrente dos defeitos ósseos pode apresentar dois tipos de resultados: cicatrização e a regeneração. O primeiro é caracterizado pelo reparo da ferida por um tipo de tecido diferente daquele originalmente perdido, no que diz respeito à morfologia e função, já na regeneração, o reparo ocorre por um tecido idêntico ao tecido original preexistente. Alguns defeitos ósseos sejam eles decorrentes ou não de complicações pós-traumáticas podem necessitar de um preenchimento, através da utilização de um enxerto ósseo. Trata-se de um procedimento cirúrgico que é amplamente realizado, tanto para reparar defeitos em ortopedia, em neurocirurgia e na odontologia (GIANNOUDIS, et al, 2005).

Na utilização de enxertos com a finalidade de regeneração óssea, o enxerto autógeno, pelas suas propriedades osteogênicas, osteocondutoras e osteoindutoras tem sido utilizado como “padrão ouro” ao longo dos anos (TSONIS, 2002; SCHMITT, et al, 2012). O uso deste material, no entanto, está associado a problemas no sítio doador, como dor, infecções e danos às estruturas, como também na área receptora, como a possibilidade de reabsorção do enxerto, além de ter seu uso limitado à possibilidade de existência de áreas doadoras (SCHIMMING, 2004, OHAYON, 2011; ROGERS, GREENE, 2012).

Na Odontologia o osso bovino inorgânico é o material mais utilizado e pesquisado com a finalidade de fazer enxertos, devido principalmente à sua estrutura de tecido ósseo, diferente de materiais sintéticos, e à sua semelhança com o osso humano (HOEXTER, 2002; HALLMAN, 2008).

Dentre os derivados do osso bovino, o Biooss® (Geislich Pharma AG, Wolhousen, Suíça), constituído de osso esponjoso e da cortical (TADJOEDIN et al, 2003) é um material que tem sido extensivamente estudado, tanto em animais como em seres humanos, com resultados positivos e ampla utilização na Odontologia (HAMMERLE, et al, 1998; ZITZMANN, et al, 2001; STAVROPOULOS, KARRING, 2010; SANTIS, et al, 2011).

Em pesquisas realizadas, tanto “in vivo” como “in vitro”, sinalizam que a terapia com laser de baixa intensidade parece acelerar a cicatrização de defeitos ósseos (PINHEIRO, et al, 2012). Dentre estes efeitos, observa-se um aumento da atividade osteoblástica e de vascularização, fatores que vão determinar a osteogênese e a consequente aceleração da consolidação de fraturas e a recuperação de defeitos ósseos (GARCIA, et al, 2012; BARBOSA, et al, 2012).

Os modelos de defeitos na calvaria de ratos têm sido usados por experimentos em regeneração óssea (SCHMITZ e HOLLINGER, 1986; DAHLIN et al., 1991; LINDE et al., 1993; BOSCH et al., 1995, 1998; MATZENBACHER et al., 2003). A utilização deste método é adequada visto que reduz os custos de laboratório, proporciona um controle da técnica a ser utilizada, além de ser um animal de fácil disponibilidade e manejo (AYBAR ODSTR, TERRITORIALE, E, MISSANA, E, 2005; SPICER et al, 2012).

Leahy et al (2012) propuseram uma metodologia fundamentada em critérios e parâmetros para analisar microscopicamente a organização celular e tecidual frente ao uso de materiais particulados de origem xenógena, inseridos em defeitos ósseos induzidos em calvárias murinas, distinguindo especificamente duas regiões: as reações celulares e teciduais ocorridas na superfície das partículas, e as observadas no intermeio ou ao redor destas mesmas partículas.

Essa pesquisa busca uma evidência científica acerca da utilização do laser de baixa intensidade para auxiliar o reparo ósseo associado ou não a enxertos ósseos exógenos de origem bovina através de protocolos que tornem os resultados fidedignos a realidade.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

Para este estudo serão selecionados 48 ratos *Rattus norvegicus*, machos, adultos de 4 meses de idade, da linhagem Wistar, variante albina, com peso aproximado de 400g, sem doenças clinicamente manifestadas, provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Feira de Santana – Bahia.

Os 48 ratos serão divididos em 4 grupos de 12 animais cada: grupo controle, grupo laser, grupo biomaterial e grupo laser/biomaterial, sendo que, dentro de cada grupo estudado, nova divisão será realizada onde serão destinadas 06 espécimes para cada um dos períodos experimentais que serão avaliados, 30 e 60 dias respectivamente.

Todos os 48 espécimes serão operados. No grupo A será feito apenas o defeito ósseo. No grupo B, após o procedimento cirúrgico, os animais serão submetidos ao laser de baixa intensidade. Após a calibragem do aparelho, serão emitidas cinco radiações de sessenta segundos cada, em cada ponto cardinal e na região central do defeito ósseo. No grupo C, após a cirurgia, será colocado o produto na calvária, devidamente pesado, para que não haja diferenças de quantidade. Por fim, no grupo D, serão utilizados o produto e a incidência com o laser da mesma maneira dos outros grupos (MIRANDA, 2013). Cada grupo experimental será avaliado em dois tempos diferentes: 30 e 60 dias após a implantação dos materiais nos defeitos cirurgicamente induzidos. Transcorridos estes períodos, os animais serão mortos. Todos os procedimentos operatórios, incluindo materiais utilizados, períodos de avaliação e eutanásia, tempos cirúrgicos, dentre outros, serão realizados de acordo com o protocolo específico para avaliação de processos de regeneração óssea em defeitos críticos na calvária de ratos, publicado na Revista Nature, em 2012, que padronizou este método de pesquisa (SPICER et al, 2012).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

Esperou-se constatar que a utilização do Laser de Baixa Intensidade proporcionasse um auxílio na reparação óssea para que assim, diversas falhas ósseas, ocasionadas por traumas ou não, fossem reparadas com eficácia, melhorando e diminuindo o período de pós operatórios. Dessa forma, os resultados foram apresentados de forma descritiva através da análise histomorfométrica.

Grupo A: Controle 30 e 60 dias

Aos 30 dias, microscopicamente, nota-se nas margens de corte do osso, a formação de uma discreta área em forma de lingueta com neoformação óssea. A maior parte da ferida encontra-se recoberta por periosteio. Em um dos espécimes houve formação de abscesso remanescente. Não há infiltrado inflamatório significativo na região, nem no leito nem nas margens cirúrgicas. Aos 60 dias, a linha demarcatória das margens ósseas desaparecem e têm formação óssea remodelar e arredondada nas margens cirúrgicas. No leito da ferida observa-se tecido conjuntivo fibroso periosteal. Não há infiltrado inflamatório significativo na região, nem no leito nem nas margens cirúrgicas.

Grupo B – Laser 30 e 60 dias

Aos 30 dias, neste grupo, as margens cirúrgicas apresentam com seus limites ósseos ausentes e com neoformação óssea em maior quantidade que no grupo controle. Em outras palavras, as linguetas osteogênicas nas margens ósseas cirúrgicas são maiores em extensão e espessura. Sobre a ferida cirúrgica nota-se tecido conjuntivo fibroso e fibroblastos maduros com organização periosteal. Aos 60 dias, os resultados são semelhantes ao do grupo controle. A lingueta de neoformação óssea já se confunde em continuidade com a margem óssea cirúrgica anterior, agora, não mais detectável. No leito da ferida o tecido conjuntivo fibroso periosteal está bem organizado, tal qual no grupo controle. Não há infiltrado inflamatório significativo na região.

Grupo C – Bio-oss 30 e 60 dias

Aos 30 dias houve uma osteogênese nas margens cirúrgicas com neoformação de matriz maior que no grupo controle. No leito cirúrgico da ferida, as partículas de Bio-oss® eram circundadas diretamente na superfície por macrófagos e células gigantes, além de fibroblastos e tecido conjuntivo fibroso. Em alguns espécimes notou-se osteogênese com formação de trabéculas de osso imaturo, muito discretas em suas dimensões. Na superfície, o tecido conjuntivo periosteal apresentava-se organizado tal qual o grupo controle. Neste grupo, em um espécime, havia infiltrado neutrofílico e pequenos focos de abscedação. Aos 60 dias, em todos os espécimes deste grupo as partículas de Bio-oss estavam presentes nas margens e leito, em sua maioria colonizadas por macrófagos e células gigantes em sua superfície, constituindo granuloma de corpo estranho. Na área de implantação do Bio-oss, em alguns pontos de algumas partículas notava-se o contato direto com o tecido conjuntivo fibroso e com áreas de osteogênese, como foi observado em alguns espécimes.

Grupo D – Bio-oss com Laser 30 e 60 dias

Neste grupo, aos 30 dias, as margens cirúrgicas estão em continuidade com a reação osteogênica formando linguetas tal qual o grupo controle. No leito as partículas de Bio-oss encontravam-se “revestidas” por macrófagos e células gigantes em contato direto com a superfície formando granuloma tipo corpo estranho. Em alguns pontos as partículas estavam em contato com tecido conjuntivo fibroso. Observa osteogênese na área de implante do Bio-oss sobre as partículas. Sobrejacente, o tecido conjuntivo fibroso revelava organização periosteal. Aos 60 dias, neste grupo, as margens cirúrgicas apresentavam-se com as linguetas de neoformação óssea comparáveis ao do grupo controle e o tecido periosteal bem organizado. O tecido conjuntivo do leito cirúrgico continha as partículas de Bio-oss que, em sua superfície, apresentava macrófagos e células gigantes em camada bem delineada. Havia tecido conjuntivo fibroso entre as partículas e apresentava apenas um discreto infiltrado inflamatório. No sítio de implantação do Bio-oss, por entre as partículas não se observou osteogênese. Em um dos espécimes observou-se a presença de neutrófilos e pequenos focos de abscedação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Conclui-se que o laser acelerou o processo de neoformação óssea, podendo ser considerado uma modalidade terapêutica a ser utilizada em cirurgias ósseas reconstrutivas e, ao ser associada ao biomaterial, contribui para a neoformação óssea.

REFERÊNCIAS

1. CONSOLARO, A. Inflamação e reparo; um sílabo para a compreensão clínica e implicações terapêuticas. 2ed. Maringá, Dental Press, 2015.
2. SPICER PP, KRETLOW JD, YOUNG S, JANSEN JÁ, KASPER, FK, MIKOS, AG. Evaluation of Regeneration Using the Rat Critical Size Calvarial Defect. Nature protocols, 2012 oct;7(10): 1918-29.