



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

RODRIGO ALBERTO CENCI

**ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA ATRAVÉS DA MICROTOMOGRAFIA
COMPUTADORIZADA EM CALOTA CRANIANA DE COELHOS SUBMETIDOS A
ENXERTIA DE BIO-OSS E OSSO AUTÓGENO SOB A AÇÃO DO LASER DE BAIXA
POTÊNCIA**

Porto Alegre 2016

RODRIGO ALBERTO CENCI

**ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA ATRAVÉS DA MICROTOMOGRÁFIA
COMPUTADORIZADA EM CALOTA CRANIANA DE COELHOS SUBMETIDOS A
ENXERTIA DE BIO-OSS E OSSO AUTÓGENO SOB A AÇÃO DO LASER DE BAIXA
POTÊNCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador : Prof. Dr. Rogério Miranda Pagnoncelli

Porto Alegre 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C395a Cenci, Rodrigo Alberto

Análise da neoformação óssea através de equipamentos de microtomografia em calota craniana de coelhos submetidos a enxertia de bio-oss® e osso autógeno após a terapia com laser de baixa potência / Rodrigo Alberto Cenci. – Porto Alegre, 2016.
83 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Fac. de Odontologia - PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Miranda Pagnoncelli.

1. Odontologia. 2. Lasers. 3. Materiais Biocompatíveis.
4. Tomografia Computadorizada. I. Pagnoncelli, Rogério Miranda. II. Título.

CDD 617.52

**Ficha Catalográfica elaborada por Vanessa Pinent
CRB 10/1297**

RODRIGO ALBERTO CENCI

**ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA ATRAVÉS DA MICROTOMOGRÁFIA
COMPUTADORIZADA EM CALOTA CRANIANA DE COELHOS SUBMETIDOS A
ENXERTIA DE BIO-OSS E OSSO AUTÓGENO SOB A AÇÃO DO LASER DE BAIXA
POTÊNCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Rogério Miranda Pagnoncelli

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

Profa. Dra. Helena Wilhelm de Oliveira

Profa. Dra. Cristina Baumgart

Prof. Dr. Eduardo Gonçalves Mota

Prof. Dr. Vladimir Dourado Poli (Suplente)

RESUMO

Este estudo é parte de um projeto que teve por objetivo avaliar por meio de imagens obtidas em microtomógrafos computadorizados, as diferentes tonalidades de cinza em calotas cranianas de coelhos, submetidas a ação da terapia com laser de baixa potência, após o preenchimento de defeitos ósseos com coágulo sanguíneo, osso autógeno e BIO-OSS®. Para tanto foram utilizados 29 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, pesando entre 3 e 4 Kg, clinicamente saudáveis. Em cada coelho foi realizado três defeitos ósseos, gerando um total de 87 defeitos que foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos: Três grupos experimentais (com Laserterapia) EI, EII e EIII e três grupos controle (sem Laserterapia), CI, CII e CIII. Cada defeito ósseo possuía 8 mm² de diâmetro. Os defeitos dos grupos CI e EI foram preenchidos com coágulo sanguíneo. Os defeitos dos grupos CII e EII foram preenchidos com osso autógeno. Os defeitos dos grupos CIII e EIII foram preenchidos com BIO-OSS®. Os grupos experimentais, foram submetidos a LLLT, recebendo doses pontuais de 10J por sessão enquanto no grupo controle foi simulado uma irradiação com Laser. O aparelho utilizado foi o Thera Lase®, laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs (Arseneto de Gálio e Alumínio), com comprimento de onda de 830nm. Os animais foram eutanasiados 30 dias após a cirurgia, sendo 15 dias após a última das 8 sessões de LLLT. A Laserterapia era realizada em intervalos de 48 horas. As amostras foram analisadas no aparelho de microtomografia computadorizada Skycan 1176 (Skyscan Kontich, Bélgica) do LAMIR. As amostras foram submetidas à μ TC a fim de identificar a porcentagem do osso neoformado compatível com imagem radiográfica com baixos valores de cinza, valores médios de cinza e valores altos de cinza e também, verificar a influência da irradiação com Laser no processo de neoformação óssea. Para análise da densidade óssea através dos valores de cinza, foi desenhado um cubo com 2mm³ na região central do defeito ósseo, totalmente inscrito na região do material enxertado. Os resultados obtidos demonstraram que os valores de cinza observados nas imagens foram maiores na associação entre BIO-OSS® e Laser (EIII), seguido da inserção do BIO-OSS® sem aplicação do Laser. Nos grupos onde o defeito foi preenchido com osso autógeno, os valores de cinza encontrados nas imagens foram similares entre os grupos experimentais e controle. Nos grupos onde observou-se a neoformação óssea

pelo coágulo sanguíneo, os valores de cinza observados foram baixos para os dois grupos. Concluiu-se neste estudo que a associação entre BIO-OSS® e Laser, proporcionou a formação de um tecido ósseo com alta densidade radiográfica e também que o microtomógrafo é um equipamento confiável para avaliar a densidade óssea através do dimensionamento dos níveis de cinza.

Palavras-chave: Odontologia. Lasers. Materiais Biocompatíveis. Tomografia Computadorizada.

ABSTRACT

This study is part of a project that aimed to evaluate by means of micro-computed tomography (μ CT) image analysis bone density in rabbit calvarial defects treated with low-level laser therapy (LLLT) after filling with blood clot, autogenous bone, and BIO-OSS®. Twenty-nine clinically healthy male New Zealand rabbits weighing 3 to 4 kg each were used in the study. Three bone defects were produced in each rabbit, for a total of 87 defects that were randomly divided into six groups: three experimental groups that received LLLT (EI, EII, and EIII) and three control groups that did not receive LLLT (CI, CII, and CIII). Defect size was 8 mm² in diameter. The CI and EI defects were filled with blood clot. The CII and EII defects were filled with autogenous bone. The CIII and EIII defects were filled with BIO-OSS®. The experimental groups received LLLT at spot doses of 10 J per session, while the control groups received sham irradiation. Laser irradiation was performed with an aluminum-gallium-arsenide (AlGaAs) laser diode (Thera Lase®) at a wavelength of 830 nm (infrared LLLT was performed every 48 hours after surgery for a total of eight sessions. The animals were euthanized 30 days after surgery, 15 days after the last LLLT session. μ CT analyses were conducted using the Skyscan 1176 μ CT scanner (Skyscan Kontich, Belgium). Samples were analyzed by μ CT to identify the percentage bone density compatible with a radiographic image of low, moderate, or high bone density and to evaluate the influence of LLLT on the process of new bone formation. In order to analyze bone density and thus evaluate new bone formation in the surgical site, the region of interest was delimited by drawing a cube (2 mm³) in the central area of the defect and entirely within the region filled with blood clot, autogenous bone, or BIO-OSS®. The results showed that bone density was higher in defects treated with BIO-OSS® in combination with LLLT (group EIII), followed by the nonirradiated BIO-OSS®-grafted group (CIII). In groups where the defects were filled with autogenous bone, bone density was similar for both experimental and control groups. In groups with defects filled with blood clot, bone density was low for both experimental and control groups. We conclude that the combination of BIO-OSS® with LLLT promoted the formation of bone of high radiographic density and that μ CT is a reliable technique to measure bone density.

Keywords: Dentistry. Lasers. Biocompatible Materials. Computed Tomography.

SUMÁRIO

1	ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA.....	10
1.1	Recuperação do volume ósseo	10
1.1.1	BIO-OSS®	11
1.1.2	LASER.....	12
1.1.3	MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA	13
2	CONCLUSÕES	14

1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

1.1 Recuperação do volume ósseo

Muitas vezes, nas reabilitações implantossuportadas, as cirurgias para recuperação do volume e morfologia óssea antes da instalação do implante são necessárias¹. Vários fatores podem diminuir a quantidade de osso disponível como a periodontite, perda dental e o trauma².

A presença de volume ósseo adequado que permita a inserção do implante é um importante fator associado a taxa de sucesso³. Nos casos de perda de volume ósseo, onde a instalação do implante não é possível os enxertos ósseos são a melhor forma de tratamento para recuperar o volume perdido⁴.

A escolha do material a ser enxertado baseia-se nas características deste, como por exemplo: fornecimento ilimitado sem comprometer a área doadora, promover osteogênese, rápida revascularização, não apresentar resposta imunológica no hospedeiro, estimular osteoindução, osteocondução e transformar-se em osso similar ao tecido do leito receptor⁵⁻⁷

O enxerto ósseo autógeno possui alto potencial de integração ao sítio receptor com mecanismos de formação óssea como osteogênese (presença de osteoblastos viáveis), osteocondução (seu arcabouço permite a proliferação de vasos e células), osteoindução (apresenta proteínas ósseas morfogenéticas) e osseointegração⁸⁻¹⁰.

Como desvantagem, o enxerto autógeno necessita de quantidade disponível intra ou extra-bucal para o transplante. Assim, esta técnica pode ocasionar dor, infecção local, hematoma e risco de parestesia, aumentando a morbidade cirúrgica¹¹.

Outras técnicas que visam aumentar o volume ósseo são os enxertos homogêneos e os enxertos heterogêneos. Ambos apresentam vantagens e desvantagens^{12,13}.

O enxerto homogêneo, apresenta pobre revascularização e incorporação ao leito receptor quando comparado ao enxerto autógeno. Desta forma, o tecido ósseo enxertado possui uma grande quantidade de osso não vital tornando assim imprevisível a longevidade do implante¹⁴. A presença de osso não vital também possui como desvantagem a rápida progressão de doenças como a periimplantite¹⁵.

O enxerto heterógeno é uma alternativa ao enxerto autógeno podendo substituir este tipo de enxerto nas reabilitações em que envolvem a reconstrução do tecido ósseo perdido¹⁶.

Nos enxertos heterógenos, os biomateriais utilizados apresentam como característica uma matriz óssea desmineralizada sendo composta por colágeno. Durante seu processamento o tecido é liofilizado e descalcificado^{17,18}. Os Biomateriais estão indicados em diversos tipos de recuperação de morfologia e ganho de volume ósseo como os enxertos no interior do seio maxilar, enxertos em alvéolo pós exodontia e para ganho de volume em regiões de osso alveolar^{19,20}. A matriz mineral bovina é efetiva na preservação do alvéolo e também aumenta a densidade do osso regenerado^{21,22}

Quando o implante é instalado imediatamente após uma extração dental, podem existir espaços entre o implante e o alvéolo²³. O preenchimento deste espaço com um biomaterial, além de evitar possíveis desordens aos tecidos periimplantares, garante a formação de um tecido ósseo denso ao redor do implante. Esta técnica não fornece resultados satisfatórios nos aumentos verticais de tecido ósseo²⁴.

Atualmente, um dos biomateriais mais utilizados é o BIO-OSS® (Geistlich, Wolhusen, Switzerland), que é um substituto ósseo composto de matriz mineral e por osso bovino cortical e medular^{7,26,27}.

1.1.1 BIO-OSS®

BIO-OSS® é um substituto ósseo composto por osso bovino desproteínizado e esterilizado com grande porosidade (80%) e cristais de hidroxiapatita com tamanhos aproximadamente de 10nm²⁸. Encontra-se na forma de grânulos esponjosos e corticais²⁹⁻³¹. Suas partículas são resistentes á reabsorção sendo que muitas não serão reabsorvidas^{25,32,33}. BIO-OSS® é mais efetivo que a Hidroxiapatita para recuperações ósseas alveolares³⁴ e fornece uma remodelação fisiológica incorporando-se ao tecido ósseo receptor. Além de ser um material osteocondutor, é altamente biocompatível³⁵⁻³⁷, sofrendo rápida substituição por tecido ósseo. Seu sucesso clínico e segurança em procedimentos regenerativos tem sido descrito há muitos anos²⁵. Vários estudos relatam que BIO-OSS® é um material apropriado para ser usado na recuperação de

volume ósseo prévio a reabilitação com implantes. É frequentemente utilizado sozinho ou em combinação com osso autógeno em cirurgias para ganho de volume ósseo^{4,22,38-41}.

1.1.2 LASER

A palavra *LASER* é composta pelas letras iniciais de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* cujo significado é amplificação da luz por emissão estimulada de radiação^{42,43}.

Para fins terapêuticos, os lasers não ablativos são utilizados por suas características de baixa intensidade de energia e comprimento de onda adequado para penetração nos tecidos. Essa terapia tem ação biomoduladora importante no processo de reparo tecidual e é empregada amplamente nas diversas áreas da saúde, sendo a Odontologia uma das ciências que mais faz uso desta tecnologia⁴⁴.

Sua utilização é benéfica quando utilizada para estimular a osteogênese pois a radiação da luz laser de baixa potência é absorvida pelos tecidos provocando efeitos indiretos estimulando a microcirculação, trofismo celular além de efeitos analgésicos e antiinflamatórios⁴⁵.

O emprego do laser terapêutico, de baixa intensidade ou não ablativo pode melhorar o processo reparacional em tecidos moles e ósseos. A utilização do laser pode biomodular as atividades metabólicas, reduzindo o tempo de tratamento e propiciando maior conforto aos pacientes^{44,46}.

A interação da luz laser com os tecidos ocorre de forma que: uma parte é refletida, uma parte é absorvida e também pode ser transmitida através do tecido. O laser terapêutico de baixa potência é uma terapia não térmica, capaz de promover alterações teciduais e celulares ocasionadas por diferentes tipos de avaliações metabólicas. Atua aumentando a atividade nas mitocôndrias aumentando a produção de ATPs, na bomba de sódio-potássio, aumentando a vascularização e a formação de fibroblastos, resultando em um incremento no processo de cicatrização tecidual⁴⁷.

O laser de arseneto gálio-alumínio possui uma grande profundidade de penetração tecidual. A alta penetração pode ser observada em um comprimento de onda compreendido entre 820-840 nm. A luz infravermelha atua estimulando a

proliferação de osteoblastos, na deposição de colágeno e na neoformação óssea. A forma de radiação assim como a energia total fornecida e o tempo de tratamento são importantes na atuação do laser para a regeneração óssea⁴⁸.

1.1.3 MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

A microtomografia computadorizada (μ -TC) é um método capaz de fornecer informações em volume e através dela é possível quantificar o tecido ósseo, através de um processo não destrutivo da amostra óssea⁴⁹.

O aparelho de μ -TC fornece resoluções em dezenas de micrômetros (μ m) diferente dos tomógrafos convencionais onde a resolução é em menos de um milímetro (mm)⁵⁰. Devido a isto a μ -TC é uma técnica padrão para observar a micro- arquitetura trabecular em três dimensões⁵¹. Sua resolução pode variar de 5 a 100 μ m e as amostras podem possuir entre poucos milímetros até 100 mm⁵².

A construção da imagem ocorre pela absorção e atenuação dos feixes de raios x pela matéria⁵³. Esta absorção e atenuação estará relacionada a densidade e espessura do material exposto. A capacidade de penetração dos feixes de raios X depende do comprimento de onda e esta da tensão (kV) que é aplicada ao tubo no momento do acionamento do equipamento⁵⁴.

A técnica de aquisição de imagens por meio da μ -TC é de fácil reprodução e repetição e permite avaliar a mineralização e microarquitetura óssea. Trata-se de um método não invasivo e que permite futuras análises devido a não destruição do espécime⁵⁵.

Nesta técnica é possível adquirir imagens de amostras *in vitro* assim como pequenos animais vivos também podem ser submetidos a este tipo de exame sendo considerado um método minimamente invasivo⁵⁶.

2 CONCLUSÕES

Pôde-se verificar neste trabalho, que o substituto ósseo BIO-OSS[®], fornece imagens com densidade óssea semelhantes ao enxerto autógeno. Em alguns pontos das imagens analisadas onde o BIO-OSS[®] foi enxertado foram observadas áreas com densidade elevada sendo que isto não foi observado nos outros grupos do estudo.

Os valores das densidades ósseas representadas pelos tons de cinza nas imagens foram mais elevados na associação Laser e BIO-OSS[®] mostrando que esta associação é benéfica na formação de um tecido ósseo denso podendo contribuir com a estabilidade primária do implante dentário.

A microtomografia é um método rápido e de fácil execução. Possui como vantagem não destruir a amostra que está sendo analisada. Com ela é possível fazer a análise com o animal vivo. Este equipamento permite uma análise detalhada e precisa com alta resolução espacial.