

Avaliação histológica de agentes hemostáticos implantados em mandíbulas de coelhos

Histologic Evaluation of Hemostatic Agents in the Rabbit Mandible

Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli^I

Eduardo Hochuli-Vieira^I

André Gustavo Paleari^{II}

Paulo Sérgio Cerrí^{III}

Leandro Eduardo Klüppel^{IV}

Recebido em 02/04/2008

Aprovado em 21/10/2008

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi o de avaliar histologicamente o processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas confeccionadas em mandíbulas de coelhos, sob a influência dos agentes hemostáticos Avitene[®], Surgicel[®] e Hemospon[®], comparando-os com os resultados do coágulo sanguíneo. **Metodologia:** Foram utilizados 12 coelhos, os quais receberam osteotomias mandibulares bilaterais com o auxílio de uma trefina de 6 mm de diâmetro. No Grupo I, as cavidades foram preenchidas por Avitene[®], no Grupo II, por Surgicel[®], no Grupo III, por Hemospon[®], e, no Grupo IV, por Coágulo (controle). Os animais foram sacrificados nos períodos de 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, sendo os espécimes submetidos à análise histológica. **Resultados:** Os resultados mostraram que, em todas as cavidades tratadas com os diferentes agentes hemostáticos havia algum grau de infiltrado inflamatório, porém o grupo III (Hemospon[®]) apresentou a resposta inflamatória mais intensa e prolongada, com atraso na reparação óssea. **Conclusão:** Concluímos que Avitene[®] e o Surgicel[®], de forma geral, não interferiram com o processo de reparação óssea. O Hemospon[®] foi o material implantado com resposta inflamatória mais persistente e intensa, promovendo atraso na reparação óssea da cavidade cirúrgica.

Descritores: Hemostáticos/farmacocinética. Osteotomia. Regeneração Óssea. Osteogênese.

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to histologically evaluate the process of bone regeneration in defects of the rabbit mandible in the presence of the hemostatic agents Avitene[®], Surgicel[®] and Hemospon[®], and to compare the outcomes with those of empty control defects. **Methodology:** Bilateral defects of the mandible were surgically created with a trephine burr 6 mm in diameter in 12 rabbits. In group I the defects were filled with Avitene[®], in group II with Surgicel[®] and in group III with Hemospon[®], while those in group IV served as controls. The animals were sacrificed at 15, 30 and 60 days, the specimens being submitted to histological analysis. **Results:** The results showed an inflammatory reaction in all defects in the presence of a hemostatic agent, but in group III (Hemospon[®]) this was prolonged and intense, causing

^IProfessor Assistente Doutor da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP.

^{II}Aluno do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, nível de mestrado, da Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP.

^{III}Professor Assistente Doutor da Disciplina de Histologia e Embriologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP.

^{IV}Aluno do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, nível de doutorado, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.

bone repair to be delayed. In contrast, Avitene® and Surgicel® did not influence the bone repair process. Conclusion: It was concluded that Hemospon® was the packed hemostatic that showed the most intense and prolonged inflammatory reaction, causing a delay in the repair of the bone defect.

Keywords: Hemostatics/pharmacokinetics. Osteotomy. Bone Regeneration. Osteogenesis.

INTRODUÇÃO

Sangramento pós-operatório em cirurgia oral menor e buco-maxilo-facial é bem conhecido, porém sempre preocupante e, às vezes, de difícil solução¹⁻³.

Atualmente, é significativo o número de pacientes que apresentam transtornos de coagulação, seja por patologias que alterem os fatores de coagulação, por uso de anticoagulantes ou por iatrogenias que provoquem sangramento trans e pós-operatório abundante. Em alguns casos, a simples compressão da área hemorrágica será suficiente para obter hemostasia; em outros casos, procedimentos que consomem maior tempo e manobras cirúrgicas podem ser necessários^{1,2,4}.

O uso de agentes hemostáticos é popular, especialmente aqueles absorvíveis, os quais podem ser acomodados e deixados para posterior absorção dentro de alvéolos cirúrgicos, defeitos ósseos ou tecidos moles^{1,5,6}. As características que fazem com que um agente hemostático seja considerado melhor dependem de várias considerações: da fácil aplicação e remoção, do potencial de reabsorção, da antigenicidade, da área em que estará sendo empregado e do efeito da reação tecidual^{3,7}.

A função primária dos agentes hemostáticos é iniciar a agregação de plaquetas, permitindo a coagulação sanguínea³. Diferentes materiais têm sido utilizados para essa finalidade e a maioria dos achados literários mostra algum grau de reação inflamatória durante as primeiras quatro semanas, porém com total reabsorção ou degradação destes na área implantada^{2,8}.

Alguns estudos demonstram maior possibilidade e graus mais agressivos de resposta inflamatória, dependendo do tipo de agente hemostático

utilizado^{1,4,9-11}. Nossa vivência clínica também experimenta esses mesmos resultados, independentemente da área em que sejam utilizados, como, por exemplo, em alvéolos dentários ou áreas doadoras de enxertos ósseos.

Diante disso, o objetivo deste estudo foi o de avaliar histológica e comparativamente o processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas confeccionadas em mandíbulas de coelhos, sob a influência dos agentes hemostáticos: Avitene®, Surgicel® e Hemospon®, comparando-os com os resultados do coágulo sanguíneo.

METODOLOGIA

Os agentes hemostáticos testados foram os seguintes: Avitene® - colágeno microfibrilar (Laboratório Herix AS- Montevideu- Uruguai); Surgicel® - celulose regenerada oxidada (Ethicon São José dos Campos- SP) e Hemospon® - esponja de gelatina liofilizada (Technew Comércio e Indústria Ltda- Rio de Janeiro- RJ).

Para o estudo, foram utilizados 12 coelhos *Oryctolagus cuniculus*, adultos, machos, com peso corporal variando de 2 a 2,5 kg. Para implantação dos materiais a serem testados, foram utilizadas as regiões do corpo e ângulo mandibular, bilateralmente. Quinze minutos antes da anestesia geral para realização da cirurgia, cada animal recebeu 0,5mg de Sulfato de Atropina (Laboratório Ariston- São Paulo-SP) com a finalidade de controlar os batimentos cardíacos, evitando taquicardias que pudessem levá-los a óbito. Decorridos os quinze minutos, cada animal foi induzido à anestesia geral por infiltração intramuscular de uma mistura de Cloridrato de Quetamina (Laboratório Cristália- Catanduva- SP), na dose de 10mg/Kg

e Cloridrato de Xilazina (Laboratório Coopers Brasil Ltda- Campinas- SP) – na dose de 5ml/Kg.

Após anestesia e tricotomia das regiões submandibulares, os animais foram posicionados em decúbito lateral, e realizou-se acesso cirúrgico para o corpo e ângulo mandibular por meio de incisão da pele de aproximadamente 2,0 cm, por meio de bisturi montado com lâmina 15 (BD- Huaiyin Medical Instruments Factory- China). Após este procedimento, foi realizada a divulsão das camadas musculares subjacentes à área incisada, até atingir o periósteo que foi também incisado e descolado, permitindo acesso ao osso mandibular. Com trefina (Neodente-Curitiba-PA) de 6mm de diâmetro, montada em contra-ângulo e motor de baixa velocidade, sob irrigação constante e abundante com solução salina a 0,9%, estéril, foram confeccionadas duas cavidades ósseas de diâmetro da trefina em cada hemimandíbula, com profundidade da cortical óssea vestibular, até atingir a cortical óssea lingual, porém sem transfixá-la e tomando o cuidado de respeitar uma distância de, no mínimo, 6 mm entre uma cavidade cirúrgica e outra. Após a confecção do leito receptor, o local foi abundantemente irrigado com solução salina a 0,9%, com o propósito de remover possíveis resíduos.

Os agentes hemostáticos foram posicionados no interior das lojas cirúrgicas preenchendo estas (Tabela 1). Após a adaptação do material à cavidade cirúrgica, com auxílio de uma pinça Dietrich, reposicionou-se o periósteo em seu local original, sendo os planos profundos e a pele suturados com fio Polivicryl 5-0 (Ethicon- São José dos Campos- SP). Cada animal recebeu dose única de Ampicilina Benzatina, 30mg/Kg (Eurofarma- São Paulo- SP), via intramuscular, visando evitar infecção pós-operatória e doses de 0,1ml de Dipirona Sódica (Boehringer Ingelheim do Brasil Quim. e Farmaceut. Ltda- Itapeverica da Serra- SP), via intramuscular de 6/6 horas durante dois dias, para o alívio da dor nas primeiras horas pós-operatórias.

Quatro animais foram sacrificados aos 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, por overdose de

solução anestésica. Através de incisão na borda inferior da mandíbula e osteotomia vertical na extensão vestibulo-lingual, os espécimes foram obtidos e, imediatamente, imersos em solução de formol a 10% tamponado. Após a descalcificação em solução de Morses, os espécimes foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Cortes com 6µm (micrômetros) de espessura foram obtidos e corados com Hematoxilina-Eosina (H&E) e tricrômico de Masson para análise histológica.

Tabela 1. Localização dos agentes hemostáticos nas lojas cirúrgicas.

Nº Animais	Região da Loja Cirúrgica	Material- Grupo	Período
4	Mandíbula Direita Posterior Mandíbula Direita Anterior Mandíbula Esquerda Anterior Mandíbula Esquerda Posterior	Avitene®-grupo I Coágulo-grupo IV Surgicel®-grupo II Hemospon®-grupo III	15 Dias
4	Mandíbula Direita Posterior Mandíbula Direita Anterior Mandíbula Esquerda Anterior Mandíbula Esquerda Posterior	Avitene®-grupo I Coágulo-grupo IV Surgicel®-grupo II Hemospon®-grupo III	30 Dias
4	Mandíbula Direita Posterior Mandíbula Direita Anterior Mandíbula Esquerda Anterior Mandíbula Esquerda Posterior	Avitene®-grupo I Coágulo-grupo IV Surgicel®-grupo II Hemospon®-grupo III	60 Dias

RESULTADOS

Grupo I - AVITENE®

No período pós-operatório de 15 dias, o agente hemostático Avitene® apresentou-se circundado por tecido conjuntivo, e células gigantes multinucleadas foram observadas com frequência na superfície do material. No período de 30 dias, uma faixa de tecido conjuntivo rico em células inflamatórias circundava o material, em cuja superfície foram encontradas células mononucleadas, com predomínio de linfócitos e plasmócitos penetrando para o interior

do mesmo por meio de seus poros. Na periferia da cavidade, delgadas e numerosas trabéculas ósseas em formação foram observadas (Figura 1). As trabéculas ósseas exibiam diversos osteócitos jovens com formato arredondado, ou seja, recém incorporados à matriz óssea; essas trabéculas de osso primário pareciam estar sofrendo processo de anastomose. No período de 60 dias, preenchendo quase toda a cavidade, notamos a presença de espessas trabéculas ósseas entremeadas e com numerosos osteócitos arredondados. Os espaços ocupados entre as trabéculas estavam preenchidos por tecido conjuntivo ricamente vascularizado, com menor dimensão em comparação ao período anterior. Osteoblastos em atividade foram observados nas áreas em neoformação óssea (Figura 2).

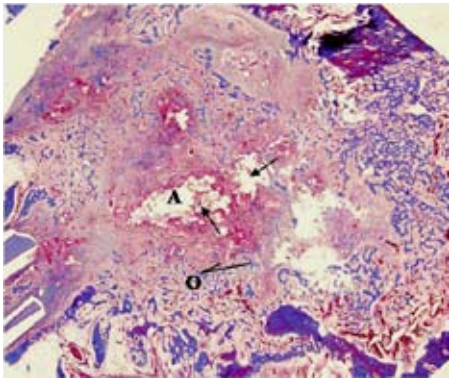


Figura 1. (Avitene 30 dias). No centro da fotomicrografia observa-se o espaço (A) ocupado pelo Avitene rodeado por células mononucleadas. Essas células penetraram no material (setas). Na porção periférica, delgadas trabéculas ósseas (O) são observadas entre o tecido conjuntivo que preenche a cavidade (Tricrômico de Masson 2,25x).

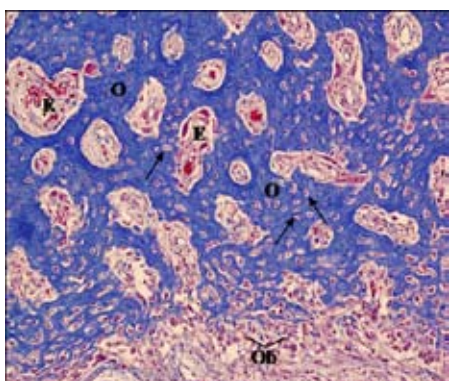


Figura 2. (Avitene 60 dias). Fotomicrografia em maior aumento evidenciando o tecido ósseo (O) com numerosos osteócitos arredondados (setas), típicos de osso imaturo, porém os espaços (E) preenchidos por tecido conjuntivo são pequenos, se comparados aos 30 dias. Osteoblastos ativos (Ob) estão dispostos na superfície óssea em formação (Tricrômico de Masson 20x).

Grupo II - SURGICEL®

Após um período pós-operatório de 15 dias, o material implantado ocupava parcialmente a loja cirúrgica e estava rodeado por numerosas células inflamatórias. Alguns plasmócitos e linfócitos foram observados invadindo o material, e tecido conjuntivo imaturo preenchia o restante da loja. No período de 30 dias, a cavidade apresentou três camadas distintas: na porção central da loja cirúrgica, notou-se a presença de remanescentes do material implantado, envolto por um intenso número de linfócitos e plasmócitos; adjacente a esta camada, observou-se tecido conjuntivo rico em vasos sanguíneos, apresentando moderado número de fibroblastos e, na periferia da loja verificou-se trabeculado ósseo em formação (Figura 3). Após 60 dias, parte do material implantado foi observado na cavidade, envolto por espículas ósseas neoformadas com tecido conjuntivo entre estas. A periferia da cavidade exibia tecido ósseo neoformado mais compacto com características mais maduras (Figura 4).

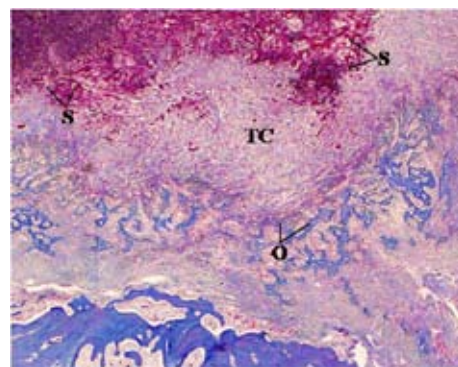


Figura 3. (Surgicel 30 dias). Fotomicrografia mostrando parte da cavidade onde se pode evidenciar a presença de três porções: a primeira, na parte superior e correspondente ao centro da cavidade, apresenta numerosas células inflamatórias entre as malhas do material, corado em vermelho (S); a segunda apresenta um tecido conjuntivo (TC), rico em vasos sanguíneos e fibroblastos. A terceira porção contém delgadas trabéculas ósseas (O) em formação (Tricrômico de Masson 4x).

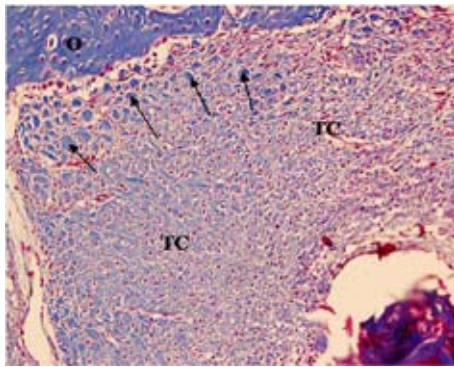


Figura 4 . (Surgicel 60 dias). Fotomicrografia mostrando o tecido conjuntivo (TC), que preenche a porção periférica da cavidade, apresentando grande quantidade de feixes de fibras colágenas (setas). Perceba à medida que se aproxima do tecido ósseo (O), os feixes de fibras colágenas são mais espessos e numerosos que no centro da cavidade (Tricrômico de Masson 25x).

Grupo III - HEMOSPON®

No período de 15 dias, o material implantado ocupava parcialmente a loja cirúrgica, e o restante da cavidade apresentou-se preenchido por tecido conjuntivo. Próximos ao material implantado, foram observados numerosos linfócitos, plasmócitos e vasos sanguíneos. Junto às bordas da loja, o tecido conjuntivo mostrou-se mais desenvolvido com feixes de fibras colágenas, dispostas concêntrica em direção ao material. Notou-se, também, a existência de duas camadas distintas de tecido conjuntivo: uma em íntimo contato com o material, exibindo inúmeras células mononucleadas e capilares sanguíneos e outra mais externamente com fibras colágenas, dispostas concêntrica em relação ao material implantado. Após 30 dias, o material mostrou-se rodeado e em íntimo contato com tecido conjuntivo rico em células inflamatórias do tipo mononucleadas. Pode também ser observada a presença de células gigantes multinucleadas em íntimo contato com a superfície do Hemospon® (Figura 5). Ainda, no tecido conjuntivo próximo ao material, fibroblastos e fibras colágenas foram observados, dispostos ao redor do implante como forma de encapsulamento. Pequenas espículas ósseas neoformadas foram encontradas junto às bordas da cavidade. No período de 60 dias, a loja cirúrgica ainda exibia o material implantado. O tecido conjuntivo próximo à superfície do material apresentou alta concentração de células mononucleadas, principalmente linfócitos que

penetraram nos poros deste, formando uma profusa rede e caracterizando um processo inflamatório. Mais distante, foram encontrados fibroblastos e fibras colágenas no tecido conjuntivo que exibia, em alguns pontos, células plasmocitárias (Figura 6).

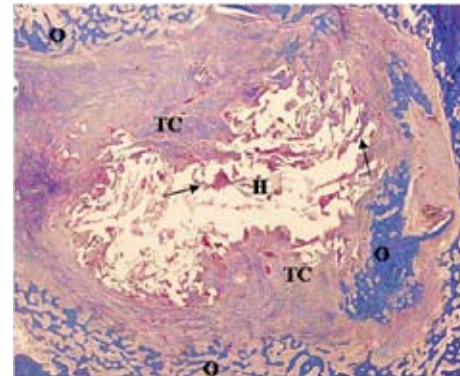


Figura 5. (Hemospon 30 dias). Fotomicrografia mostra o centro de uma cavidade ocupada quase totalmente pelo espaço do Hemospon (H). O tecido conjuntivo (TC) que envolve o material (H) contém células mononucleadas, típicas de processo inflamatório; esse tecido penetrou nos poros do material implantado (setas). Além disso, diversas células gigantes multinucleadas são observadas em íntimo contato com a superfície do Hemospon. Trabéculas ósseas (O) estão presentes em quase toda a periferia da cavidade (Tricrômico de Masson 2,5x).

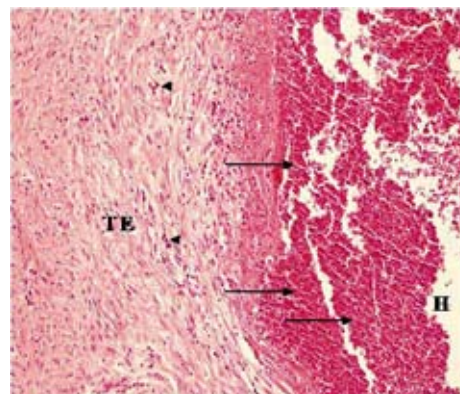


Figura 6. Hemospon 60 dias. Fotomicrografia mostra um detalhe do tecido conjuntivo que envolve o espaço (H) ocupado pelo material implantado. Note a quantidade de células inflamatórias (setas), principalmente linfócitos, em contato com o material (H). O tecido conjuntivo mais distante (TE) exhibe plasmócitos (cabeças de setas) entre os fibroblastos e as fibras colágenas (H&E 20 x).

Grupo IV - COÁGULO

No período de 15 dias, observou-se, no centro da cavidade, a presença de coágulo sanguíneo circundado por numerosos macrófagos. Adjacente a esta área, estava presente o tecido conjuntivo neo-

formado bem desenvolvido, rico em fibras colágenas e vasos sanguíneos. No período de 30 dias, o centro da cavidade encontrou-se preenchido por tecido conjuntivo, ainda sem diferenciação óssea. Ao redor desse tecido, foi observado tecido ósseo bem desenvolvido, com espículas ósseas que se projetavam para a região central da cavidade. Após 60 dias, a loja cirúrgica mostrou-se reparada por trabéculas ósseas desenvolvidas, dispersas num tecido conjuntivo rico em fibras colágenas (Figura 7).

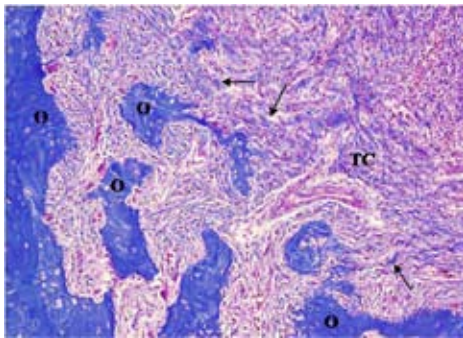


Figura 7. Controle 60 dias. Fotomicrografia mostrando um detalhe de uma porção periférica da cavidade. Perceba a presença de trabéculas ósseas (O) em formação dispersas no tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas (setas) Tricrômico de Masson (40x).

DISCUSSÃO

Embora o processo de reparo ósseo possa ser analisado por meio de diferentes métodos, acredita-se que a avaliação histológica permite seu conhecimento morfológico em nível de microscopia óptica e avaliação de seus aspectos mais significativos¹².

A preparação da loja cirúrgica realizada por meio de utilização de trefina de 6mm, como foi descrita na metodologia, teve o objetivo de confeccionar uma cavidade óssea com diâmetro compatível com limites de reparação óssea, ou seja, não tão crítica a ponto de promover uma cicatriz fibrosa nem tão pequena que pudesse facilmente ser reparada¹³.

A utilização do coágulo como grupo controle neste estudo baseou-se em dados da literatura como sendo o padrão para a reparação de cavidades ósseas, uma vez que é a organização do coágulo a base fundamental para o início e desenvolvimento do

processo de reparo ósseo^{8,14-16}. No coágulo, estão alojadas as fibrinas, plaquetas e fatores de crescimento essenciais à formação óssea. Dessa forma, pode-se avaliar o efeito de cada material em relação ao atraso na reparação, visto que, em cavidades ósseas de porte médio ou pequeno, materiais de implantes ou enxertos geralmente atrasam a reparação em grau maior ou menor, já que necessitam ser substituídos, incorporados ou eliminados, para que a reparação ocorra.

O Avitene® (colágeno microfibrilar) é um material de origem bovina, sendo esponjoso, macio e poroso. Manson & Read¹⁷ demonstraram que o Avitene® estimula a adesividade das plaquetas, produzindo uma maior aproximação entre elas. O Surgicel® é uma celulose oxidada e regenerada, tendo como elemento básico o ácido polianidroglicurônico, com pH em torno de 3. Apresenta o formato de uma malha com fios entrelaçados e, em contato com o sangue, torna-se umedecido e adere-se aos vasos sanguíneos, formando um coágulo artificial. Entretanto, não atua diretamente na via de coagulação. O Hemospon®, lançado há alguns anos no comércio nacional, é uma esponja de gelatina liofilizada de origem porcina, tendo como indicação do fabricante o seu uso em cirurgia oral como agente hemostático e cicatrizante.

Os resultados histológicos do grupo IV (controle), em que a cavidade óssea não recebeu material implantado, e o coágulo sanguíneo preencheu esta, demonstram que, no período de 15 dias de pós-operatório, em alguns espécimes, uma quantidade muito pequena de coágulo sanguíneo se localiza na porção central da cavidade, sendo este coágulo rodeado por algumas células inflamatórias, principalmente macrófagos. O restante da cavidade encontrou-se preenchido por tecido conjuntivo com numerosos fibroblastos, grande quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos em sua porção mais externa, enquanto que, na porção mais interna, que margeia o coágulo ainda existente na cavidade, esse

tecido conjuntivo apresentou-se pouco organizado com moderado número de fibroblastos em fase proliferativa, projetando-se para a região central da cavidade cirúrgica. Esses eventos biológicos são característicos da fase proliferativa e maturação tecidual, como descrevem Olsson & Ekman¹⁸, em que o coágulo da região central aos poucos é reabsorvido e substituído por tecido conjuntivo. Esse evento torna-se evidente no período de 30 dias, em que em todos os espécimes, a cavidade encontrou-se completamente preenchida por tecido conjuntivo organizado, apresentando, em sua periferia, trabéculas ósseas entremeadas com pouca quantidade de tecido conjuntivo, que se projetavam para o interior da cavidade. Também estavam presentes os eventos próprios da fase de diferenciação óssea. Aos 60 dias, o tecido conjuntivo foi praticamente todo substituído por tecido ósseo neoformado. Observamos, nesse período, a presença de trabéculas ósseas bem desenvolvidas, conforme relata Túlio¹⁵. Assim, temos que, nesse modelo de experimento do grupo controle, os resultados histológicos nos capacitam a afirmar que chegamos à fase do processo de reparação óssea e que, a partir daí, ocorrerá maturação do osso neoformado⁷.

No que diz respeito aos agentes hemostáticos testados neste trabalho, pudemos verificar por meio dos resultados histológicos obtidos que aos 15 dias de pós-operatório, o Avitene® (Grupo I-) apresentou-se preenchendo grande parte da cavidade cirúrgica. O restante dessa cavidade estava preenchida por tecido conjuntivo e, em áreas, rodeando o implante, destacaram-se células gigantes multinucleadas, caracterizando reação de corpo estranho, cujo resultado para este mesmo período não é coincidente com os achados de Alexander et al.² que testaram esse material em lesões de tecido mole, criadas na região palatina de cães, apesar de encontrarem infiltrado inflamatório, não observaram presença de células gigantes, fibrose ou reação de corpo estranho. Por outro lado, Barbolt et al.¹⁰, em estudo comparativo

entre diferentes agentes hemostáticos implantados no espaço subdural em craniotomias em coelhos, caracterizaram a reação tecidual inflamatória, variando de moderada a marcante processo granulomatoso, indicando um alto grau de irritação tecidual. Aos 30 dias de pós-operatório, havia pequena quantidade de Avitene na loja cirúrgica, e este se apresentava rodeado por linfócitos e plasmócitos, o que sugere que ainda havia infiltrado inflamatório, porém, menos intenso. Nas áreas periféricas, foram observadas delgadas trabéculas ósseas com inúmeros osteócitos, entremeadas por tecido conjuntivo, indicando neoformação de tecido ósseo imaturo e, consequentemente, que reparação óssea estava ocorrendo. Esses achados são consistentes com os encontrados por Magro-Érnica et al.⁹, que implantaram Avitene® em alvéolos dentais de ratos. Aos 60 dias de pós-operatório, em nenhum espécime, foi observada a presença do material implantado, apresentando total reabsorção. Além disso, a cavidade foi preenchida por trabéculas ósseas espessas, contendo numerosos osteócitos, característicos de osso imaturo. Entre as trabéculas ósseas, preenchendo espaços muito menores quando comparado com o período anterior, foi observado tecido conjuntivo, contendo osteoblastos ativos, margeando as superfícies ósseas em formação. Dessa forma, no período final (60 dias), os resultados foram similares ao grupo controle, e a interferência do período inicial não parece ter influenciado o resultado final.

Para o Grupo II (Surgicel®), aos 15 dias de pós-operatório, o material ocupava praticamente toda a cavidade, com grande quantidade de células inflamatórias ao seu redor, caracterizando um processo inflamatório agudo e intenso. Achados semelhantes, no período de 07 dias, foram encontrados por Alsipalan et al.⁴, que testaram diferentes hemostáticos em tecido mole do dorso de ratos e observaram a presença de infiltrado inflamatório granulomatoso, composto por linfócitos e células multinucleadas e, aos 14 dias, observaram invasão do material pelo

infiltrado inflamatório que, no período de 21 dias, promoveu supuração da loja. Da mesma forma, Ibarrola et al.¹¹, ao implantarem Surgicel® em cavidades ósseas preparadas em tíbias de ratos, nos períodos de 3 e 7 dias de pós-operatório, constataram que o material ocupou a loja cirúrgica com grande quantidade de células inflamatórias ao seu redor. Esses autores também não encontraram deposição óssea nem reabsorção do material aos 14 dias de pós-operatório e observaram a permanência de infiltrado inflamatório. Porém, ao contrário dos nossos achados, foram detectadas áreas de cartilagens, fato este interessante, pois a formação cartilaginosa está associada ao desenvolvimento de calo ósseo em fraturas.

Kaymaz et al.¹⁹, ao avaliarem do ponto de vista radiográfico e histológico a reação tecidual frente ao Surgicel® em cirurgia neurológica, no período de 24 horas, observaram degeneração tecidual moderada ao redor do espaço que recebeu o implante. Esses autores explicaram esses resultados, como sendo provavelmente decorrentes da reação tecidual, edema produzido pelo material e o próprio fator irritante em virtude do pH ácido deste.

Para o período de 30 dias, em nosso estudo, foi observada a presença de três camadas distintas na análise histológica. Na porção central, foram observados remanescentes do material, porém, em menor quantidade, quando comparado com o período anterior, acompanhado de um processo inflamatório significativo. Adjacente a esta camada, o tecido conjuntivo apresentou-se rico em vasos sanguíneos e fibroblastos. Na porção mais periférica, foram encontradas espículas ósseas e tecido conjuntivo que pareciam estar sendo substituídos por um trabeculado ósseo disperso. Comparando esses eventos com o mesmo período do grupo controle, concluímos que são semelhantes, parecendo que o fato de persistir o material implantado bem como um processo inflamatório não está alterando o processo de reparo ósseo.

No período de 60 dias, havia alguma evi-

dência do material implantado. A cavidade óssea mostrava em sua periferia um trabeculado ósseo mais espesso e compacto. Na região central, o trabeculado ósseo apresentava aspecto de formação imatura e alguns espaços preenchidos por tecido conjuntivo disposto ao redor do remanescente do Surgicel®. Diferentemente de Ibarrola et al.¹¹ e Nappi & Lehman²⁰ que descrevem, a longo prazo, ausência de total reabsorção do Surgicel® e inibição da osteogênese; no presente estudo, apesar de ter ocorrido uma resposta inflamatória exacerbada no período inicial, não podemos dizer que houve retardo na cronologia de reparação óssea, visto que os achados histológicos desse mesmo período, do grupo controle, são semelhantes. Apesar disso, concordamos com esses autores sobre a permanência de restos do material, mesmo em tempos mais tardios. Dessa forma, podemos inferir que o Surgicel® permitiu formação óssea, quando implantado dentro de espaço medular, conforme descrevem também Finn et al.²¹ em seus achados.

Quanto ao grupo III (Hemospon®), no período de 15 dias, observou-se intensa resposta inflamatória ao redor do material implantado que ocupava boa parte da cavidade cirúrgica. Neste período, notaram-se duas camadas distintas de tecido conjuntivo: a camada mais interna, em contato com o material, exibia inúmeras células mononucleares e capilares sanguíneos, e a camada mais distante do material apresentava fibras colágenas. Ao compararmos os histológicos dos outros hemostáticos estudados neste trabalho, observamos que a quantidade de infiltrado inflamatório ocorrido no grupo III é significativamente mais evidente. Com 30 dias, os resultados histológicos obtidos indicaram que quase nenhuma reabsorção do material ocorreu. Esse achado corrobora Alpaslan et al.⁴. e Santanna²² que mostraram pouca ou nenhuma reabsorção da esponja de gelatina. Ainda, neste mesmo período, as células mononucleares contidas no tecido conjuntivo que envolvia o material estavam presentes também entre os poros deste. Diversas células gigantes foram

observadas na superfície do material, sugerindo que este causou reação de corpo estranho. O mesmo resultado foi encontrado por Alpaslan et al.⁴. Todos esses eventos biológicos enumerados permitem afirmar que esse processo está atrasado com relação aos ocorridos no grupo controle, considerando o tecido conjuntivo e a quantidade de trabéculas ósseas neoformadas.

Aos 60 dias, observou-se presença do Hemospon® em considerável proporção da cavidade, acompanhado de grande quantidade de infiltrado inflamatório. O tecido conjuntivo da porção periférica da loja cirúrgica apresentou fibras colágenas e poucos fibroblastos. Assim, reafirmamos que os nossos resultados são similares aos de Alpaslan et al.⁴, que aos 45 dias de pós-operatório, observaram, nas cavidades grande quantidade do material hemostático de esponja de gelatina bem como prolongado processo inflamatório.

Dessa forma, o Hemospon® foi um material que ocupou o espaço do coágulo sanguíneo, interferindo com a sua quantidade e organização, resultando na interferência dos caminhos naturais da reparação óssea.

Assim, sugerimos que o arcabouço oferecido pelos agentes hemostáticos pode contribuir para que células possam aderir-se e iniciar os eventos comuns da reparação tecidual, tais como quimiotaxia, citodiferenciação e síntese de matriz celular. Portanto, as propriedades e a composição de cada hemostático irão determinar sua maior ou menor persistência no local implantado, a reação tecidual e sua interferência no reparo ósseo.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho e nos limites da metodologia empregada, é lícito concluir que:

1. O Avitene® e o Surgicel®, de forma geral, não interferiram com o processo de reparação óssea da cavidade cirúrgica.
2. O Hemospon® foi o material implantado com resposta inflamatória mais persistente e intensa.

3. O Hemospon® promoveu atraso na reparação óssea da cavidade cirúrgica.

REFERÊNCIAS

1. Petersen JK, Krogsgaard J, Nielsen KM, Norgaard EB. A comparison between 2 absorbable hemostatic agents: gelatin sponge (Spongostan) and oxidized regenerated cellulose (Surgicel). *Int J Oral Surg.* 1984;13:406-10.
2. Alexander JM, Rabinowits JL. Microfibrillar collagen (Avitene) as a hemostatic agent in experimental oral wounds. *J Oral Surg.* 1978;36:202-5.
3. Wagner WR, Pachence JM, Ristich J, Johnson PC. Comparative in vitro analysis of topical hemostatic agents. *J Surg Res.* 1996;66:100-8.
4. Alpaslan C, Alpaslan GH, Oygur T. Tissue reaction to three subcutaneously implanted local hemostatic agents. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997;35:129-32.
5. Halfpenny W, Fraser JS, Adlam DM. Comparison of 2 hemostatic agents for the prevention of postextraction hemorrhage in patients on anticoagulants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92:257-9.
6. Georgiade N, Mitchell T, Lemler J, Heid J. Use of a new improved hemostatic sponge in oral surgery. *J Oral Surg Anesth Hosp Dent Serv.* 1961;19:215-9
7. Chvapil M, Owen JA, DeYoung DW. A standardized animal model for evaluation of hemostatic effectiveness of various materials. *J Trauma.* 1983; 23:1042-7.
8. Carvalho AC, Okamoto T. Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Médica Panamericana; 1987.

9. Magro-Ernica N, Magro-Filho O, Rangel-Gracia I. Histologic study of use of microfibrillar collagen hemostatic in rat dental sockets. *Braz Dent J.* 2003; 14:12-5.
10. Barbolt TA, Odin M, Leger M, Kangas L. Pre-clinical subdural tissue reation and absorption study of absorbable hemostatic divices. *Neurol Res.* 2001; 23:537-42.
11. Ibarrola JL, Bjorenson JE, Austin BP, Gerstein H. Osseous reactions to three hemostatic agents. *J Endod.* 1985;11:75-83.
12. Garbin Júnior EA. Influência de solução anestésica local contendo articaína no processo de reparo em feridas de extração dental: análise histológica em ratos. [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 2001.
13. Cancian DCJ, Marcantonio Júnior E, Marcantonio RAC, Goíssis G, Lia RCC, Carvalho WM. Avaliação de membranas de colágeno com diferentes períodos de cross-linkage. Estudo histológico em subcutâneo de ratos. *Rev Odontol UNESP.* 1992;21:181-90.
14. Okamoto T, de Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev Fac Odontol Aracatuba.* 1973;2:153-69.
15. Túlio S. Enxerto autógeno livre de cartilagem hialina com e sem a remoção do processo malar de ratos: estudo histológico [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 1984.
16. Gabrielli MA, Marcantonio Junior E, Góíssis G, Okamoto T, Gabrielli MF, Vieira EH. Hydroxylapatite implants with or without collagen in the zygomatic arch of rats. *Histological study.* *Braz Dent J.* 2001; 12:9-15.
17. Manson RG, Read MS. Some effects of a micro-crystalline collagen preparation on blood. *Haemostasis.* 1974;3:31-45.
18. Olsson SE, Ekman S. Morphology and physiology of the growth cartilage under normal pathologic conditions. *Bone formation and remodeling.* 2 ed. New York: Thieme; 2002.
19. Kaymaz M, Tokgoz N, Kardes O, Ozkose Z, Ozogul C, Orbay T. Radiological and histopatological examination of early tissue reactions to absorbable hemostatic agents in the rabbit brain. *J Clin Neurosci.* 2005;12:445-8.
20. Nappi JF, Lehman JA Jr. The effects of Surgicel on bone formation. *Cleft Palate J.* 1980;17:291-6.
21. Finn MD, Schow SR, Schneiderman ED. Ós-seous regeneration in the presence of four common hemostatic agents. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 50:608-12.
22. Santanna AJ. Estudo histológico comparativo da influência dos hemostáticos Hemospon e Hemostop sobre o processo de reparação alveolar em ratos pós exodontias [dissertação]. Marília: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Marília – UNIMAR; 2006.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli
Departamento de Diagnóstico e Cirurgia
Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
Rua Humaitá, 1680 - Centro
Araraquara/SP – Brasil
CEP 14801-903
E-mail: macg@foar.unesp.br