

# Alendronato de sódio tópico associado ao osso bovino liofilizado no reparo ósseo

Topical alendronate associated with lyophilized bovine bone in bone repair

Laisa Kindely Ramos de OLIVEIRA<sup>a</sup>, Mariana da Silva BONATTO<sup>b</sup>,  
Stela Maris Wanderley ROCHA<sup>c</sup>, Fabiano Gonzaga RODRIGUES<sup>d</sup>,  
Roberta Moreira FRANÇA<sup>e</sup>, Daniela Nascimento SILVA<sup>f\*</sup>,  
Francisco de Assis LIMEIRA JÚNIOR<sup>g</sup>

<sup>a</sup>UFES – Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Vitória, ES, Brasil

<sup>b</sup>UFU – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Uberlândia, MG, Brasil

<sup>c</sup>UFAL – Universidade Federal de Alagoas, Departamento de Odontologia, Alagoas, AL, Brasil

<sup>d</sup>UFPB – Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Odontologia Clínica e Social, João Pessoa, PB, Brasil

<sup>e</sup>UFPB – Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Odontologia Restauradora, João Pessoa, PB, Brasil

<sup>f</sup>UFES – Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Clínica Odontológica, Vitória, ES, Brasil

<sup>g</sup>UFPB – Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Morfologia, João Pessoa, PB, Brasil

**Como citar:** Oliveira LKR, Bonatto MS, Rocha SMW, Rodrigues FG, França RM, Silva DN et al. Alendronato de sódio tópico associado ao osso bovino liofilizado no reparo ósseo. Rev Odontol UNESP. 2022;51:e20220023. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.02322>

## Resumo

**Introdução:** O osso bovino inorgânico é o enxerto mais utilizado na Odontologia, tendo como desvantagem longo tempo de integração ao leito receptor. Os bifosfonatos têm sido utilizados para modular a quantidade e a qualidade do osso regenerado e diminuir o tempo de integração do enxerto. **Objetivo:** Avaliar o efeito do bifosfonato alendronato de sódio (ALN) 0,5%, associado ou não ao osso bovino inorgânico, na reparação de defeitos ósseos. **Material e método:** Dois defeitos ósseos foram confeccionados na calvária de 12 coelhos, sendo a cavidade esquerda/experimental preenchida com: GI = osso bovino inorgânico (Bio-Oss®); GII = Bio-Oss® + ALN 0,5%; GIII = ALN 0,5%; e a cavidade direita por coágulo sanguíneo (controle). Os animais foram mortos aos 60 dias pós-operatórios. Por meio de análise histomorfométrica calculou-se o percentual de osso neoformado e remanescente do biomaterial em relação à área total do defeito. **Resultado:** Osso neoformado: GI = 38,16 ± 15,44%; GII = 55,77 ± 16,75%; GIII = 60,28 ± 11,45%. Controle = 45,11 ± 11,09%. Remanescente do enxerto: GI = 7,02 ± 5,36% e GII = 16,59 ± 9,56%. Não houve diferença quanto ao percentual de osso neoformado entre os grupos (ANOVA p = 0,15512; teste de Tukey F = 2,089). O percentual de remanescente do enxerto também foi estatisticamente semelhante entre os grupos GI e GII (teste de Tukey F = 5,019). **Conclusão:** O uso tópico da solução de ALN 0,5% isoladamente ou associado ao osso bovino liofilizado não alterou o percentual de neoformação óssea nem a degradação dos grânulos do enxerto.

**Descritores:** Bifosfonatos; alendronato; calvária; regeneração óssea; coelhos; tecido ósseo; substitutos ósseos.

## Abstract

**Introduction:** Inorganic bovine bone is the most used graft in dentistry, with the disadvantage of long integration time into the receptor bed. Bisphosphonates have been used to modulate the quantity and quality of regenerated bone and decrease graft integration time. **Objective:** To evaluate the effect of alendronate sodium bisphosphonate (ALN) 0.5%, associated or not with Inorganic bovine bone, in the repair of bone defects. **Material and method:** Two bone defects were made in the calvaria of 12 rabbits, and the left/experimental cavity was filled with: GI = Inorganic bovine bone (Bio-Oss®); GII = Bio-Oss® + 0.5% ALN; GIII = 0.5% ALN; and the right cavity/blood clot control. The animals were killed at 60 days after surgery. Through histomorphometric analysis, the percentage of newly formed bone and remnant biomaterial relative to the total area of the defect was calculated. **Result:** Neoformed bone: GI = 38.16 ± 15.44%, GII = 55.77 ± 16.75%; GIII = 60.28 ± 11.45%; Control = 45.11 ± 11.09%. Graft remnant: GI = 7.02 ± 5.36% and GII = 16.59 ± 9.56%. There was no difference in the percentage of newly formed bone between the groups (ANOVA p = 0.15512; Tukey's test F = 2.089). The percentage of graft remnant was also statistically similar between groups GI and GII (Tukey's test F = 5019). **Conclusion:** Topical use of 0.5% ALN solution alone or associated with lyophilized bovine bone did not change the percentage of bone neoformation, nor the degradation of graft granules.

**Descriptors:** Diphosphonates; alendronate; skull; bone regeneration; rabbits; bone and bones; bone substitutes.



## INTRODUÇÃO

No intuito de melhorar a quantidade e a qualidade do osso a ser regenerado, mediadores biológicos têm sido associados aos substitutos ósseos<sup>1</sup>. Os bisfosfonatos (BFs) compreendem um grupo de medicamentos que se ligam fortemente ao tecido ósseo e têm a capacidade de inibir a reabsorção óssea, cujo principal mecanismo de ação está relacionado à diminuição da atividade osteoclástica. Os BFs são mediadores do metabolismo ósseo que agem diretamente sobre os osteoclastos, diminuindo sua atividade e causando apoptose dessas células; e indiretamente sobre os osteoblastos, que passam a produzir um inibidor do recrutamento dos osteoclastos; este mecanismo de ação ainda não perfeitamente esclarecido<sup>2</sup>.

O alendronato de sódio (ALN) é um BF de terceira geração, com maior potência de ação quando comparado aos BFs das gerações anteriores. O ALN melhora a proliferação e diferenciação dos osteoblastos, promovendo assim a regeneração óssea<sup>3</sup>. Uma de suas propriedades é a redução da perda de tecido ósseo em doenças caracterizadas pela elevada ação dos osteoclastos ou por um desequilíbrio na relação osteoblasto-osteoclasto<sup>2</sup>. Como desvantagens, os ALN possuem baixa biodisponibilidade e apresentam efeitos colaterais quando administrados sistemicamente, seja por via oral ou intravenosa, como irritação gástrica e osteonecrose dos maxilares<sup>3</sup>. Portanto, o uso tópico de ALN torna-se uma opção atrativa, pois busca atingir altas concentrações locais do fármaco, eliminando ou minimizando os efeitos adversos indesejados<sup>4</sup>.

O osso bovino inorgânico é o material de enxertia mais pesquisado e amplamente utilizado na Odontologia. Nessa categoria, um dos enxertos mais comercializados no Brasil é o Bio-Oss®, constituído por uma apatita de carbono de cálcio com propriedades físicoquímicas idênticas ao osso humano. Sua alta porosidade aumenta a área de superfície do material, provendo substrato para maior angiogênese e representando arcabouço para a formação de osso<sup>5-7</sup>. Uma das desvantagens do Bio-Oss® é o tempo entre a enxertia e sua integração ao leito receptor, que pode variar de 6 a 10 meses, o que justifica estudos acerca de sua associação com mediadores do metabolismo ósseo no intuito de acelerar o processo de reparo, com osso de qualidade<sup>8,9</sup>.

Muitas pesquisas investigaram a ação tópica do ALN no processo de reparo ósseo, no entanto poucas associadas ao Bio-Oss®<sup>2,10-12</sup>. Möller et al.<sup>13</sup> apresentaram resultados promissores, por vezes contraditórios, o que estimula novas pesquisas para testar o ALN topicamente em outras concentrações e em outros sítios ósseos. Assim, o presente trabalho tem por objetivo analisar o efeito do uso tópico do ALN 0,5%, utilizado isoladamente ou em associação com o Bio-Oss®, no processo de reparação óssea de defeitos críticos.

## MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), nº 0409/11.

### Amostra e Distribuição dos Grupos

A amostra foi constituída por 12 coelhos machos brancos da raça Nova Zelândia, adultos, com idade de aproximadamente seis meses, não portadores de patologias sistêmicas, com massa corporal variando de 3 a 4 kg. Antes e durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas individuais e tradicionais, em temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , com 50 a 60% de umidade e ciclo circadiano de 12 horas. A dieta padrão após o desmame foi constituída por 150 g/dia de ração balanceada na forma peletizada (Coelhil "R", Socil, João Pessoa/PB, Brasil) e água *ad libitum*.

Os 12 coelhos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos ( $n = 4$  cada): **GI** = osso bovino liofilizado (Bio-Oss®, Geistlich-Pharma, Wolhusen, Suíça); **GII** = Bio-Oss® + ALN 0,5%; **GIII** = ALN 0,5%; **Grupo Controle** = coágulo sanguíneo do leito cirúrgico (Quadro 1). Para otimização do número de animais para a pesquisa, a cavidade direita dos animais do grupo GI foi utilizada como

controle. As cavidades também foram confeccionadas no osso parietal direito nos grupos GII e GIII para que todos os animais fossem submetidos ao mesmo estresse cirúrgico. No entanto, devido à possível ação sistêmica do ALN, essas cavidades não foram utilizadas como controle.

**Quadro 1.** Distribuição dos animais nos grupos

Grupos	n	Condição experimental	Cavidade parietal
Grupo controle	4	Coágulo sanguíneo	direita
GI		Bio-Oss®	esquerda
GII	4	Bio-Oss® +ALN 0,5%	esquerda
GIII	4	ALN 0,5%	esquerda

### Procedimento Cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia geral. Os coelhos foram pesados em balança digital de precisão para cálculo da dose/kg de peso e submetidos à anestesia por via intramuscular na região medial do membro pélvico, com 5 mg/kg de cloridrato de xilazina 2% (Rompun®, Bayer Ltda., São Paulo/SP, Brasil) e 20 mg/kg de cloridrato de ketamina 1% (Dopalen, Vetbrands Ltda., São Paulo/SP, Brasil), conforme recomendação do fabricante. Os animais foram submetidos à tricotomia entre os pavilhões auriculares externos e antisepsia da região com clorexidina 2%. Para hemostasia e analgesia trans e pós-operatória, foi feita infiltração local com cloridrato de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepiadre DFL, Rio de Janeiro/RJ, Brasil). Incisão sagital linear de 4 cm de extensão foi realizada na região frontoparietal, seguida de dermoperiosteal descolamento do retalho para exposição da superfície externa da calvária. Dois defeitos de 10 mm de diâmetro foram confeccionados na porção central dos ossos parietais, utilizando-se uma broca trefina de 10 mm de diâmetro interno (Neodent, Curitiba, Brasil), sem lesar a dura-máter, e sob irrigação constante com solução fisiológica a 0,9%.

Nas cavidades experimentais foram inseridas as substâncias-teste correspondentes a cada grupo experimental, enquanto a cavidade controle foi preenchida por coágulo sanguíneo autógeno do leito cirúrgico.

No GI, grânulos de 1 a 2 mm do Bio-Oss® foram umidificados com solução salina 0,9% e inseridos nos defeitos delicadamente de forma que não fossem comprimidos excessivamente e mantivessem espaço suficiente para a formação de novo osso. No GII, os defeitos experimentais foram preenchidos com o Bio-Oss® embebido em 0,15 mL de ALN na concentração de 0,5%. No GIII, as cavidades foram preenchidas apenas por 0,15 mL ALN 0,5%, e no grupo controle, o defeito ósseo foi preenchido somente com coágulo sanguíneo. Em seguida, todas as cavidades foram cobertas por um recorte de membrana biológica de cortical óssea bovina liofilizada (GenDerm 30x30, Baumer®, Mogi Mirim/SP, Brasil), o perióstio foi reposicionado e realizadas as suturas interna (poligalactina 910 - Vicryl® 4-0) e externa (Mononylon® 5-0, Ethicon, São José dos Campos/SP, Brasil).

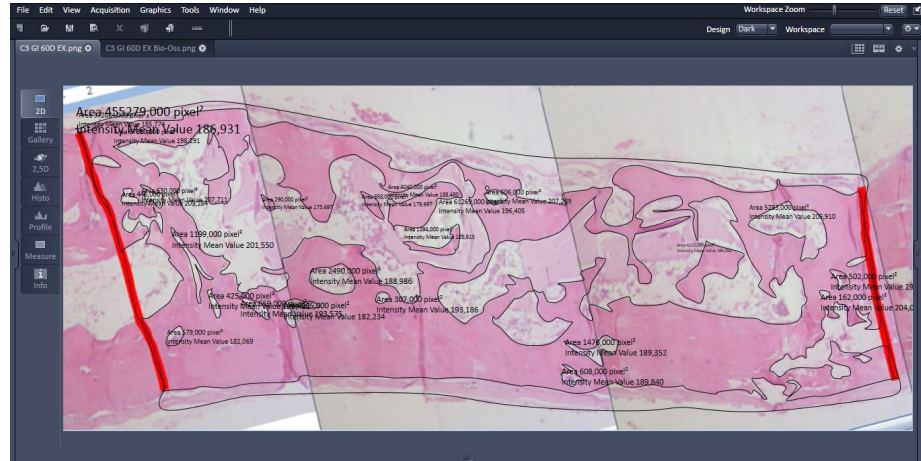
Os animais foram eutanasiados aos 60 dias após a cirurgia. Para obtenção das peças operatórias, foi realizada uma incisão trapezoidal de espessura total, abrangendo os tecidos moles da região parietal da calvária. A porção da calvária que continha os defeitos foi removida e fixada em formalina tamponada a 10% (pH 7,0).

### Análise Histomorfométrica

Após fixadas, as peças operatórias foram cortadas no sentido longitudinal da calvária, na porção central de cada defeito, ou seja, no maior diâmetro, e submetidas a processamento histológico para obtenção dos cortes histológicos com espessura de 6 µm. As lâminas foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE).

A análise histomorfométrica foi realizada a partir de 24 lâminas histológicas, uma de cada defeito ósseo, distribuídas igualmente entre os grupos experimentais e controle.

As imagens das lâminas foram capturadas com auxílio de um fotomicroscópio óptico (Primo Star, Zeiss®), na objetiva de 4x, com câmera acoplada (AxioCam ERc5s, ZEISS®). As imagens foram transferidas para o computador e analisadas através do *software* ZenLite 2011 (Axiovision®). A mensuração foi realizada a partir da ferramenta *contour (spline)* na função *graphics*. Foram mensuradas, em pixel<sup>2</sup>, a área total do defeito, osso neoformado e grânulos de Bio-Oss® (Figura 1).



**Figura 1.** Delimitação da área total do defeito (linhas vermelhas nos limites laterais) e do osso neoformado (contorno com linha preta) em um corte histológico do grupo I, utilizando o *software* ZenLite 2011 Axiovision®.

### Análise Estatística

Os dados foram transferidos para uma planilha do programa Microsoft Excel®, para obtenção da área de neoformação óssea ou grânulos de Bio-Oss® em porcentagem, que foi calculada com base na área total do defeito, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de osso neoformado ou remanescente de Bio-Oss}^{\circledR} = (\text{Média da área de osso neoformado ou Bio-Oss}^{\circledR} \times 100) / \text{Média da área total do defeito.}$$

Os dados foram registrados na forma de banco de dados do *software* SPSS® Statistics e analisados através de estatística descritiva apresentadas por medidas de tendência central e de variabilidade (média, desvio padrão e intervalos de confiança). Para identificar as diferenças entre grupos, foi realizada a análise de variância (ANOVA), com teste de comparações múltiplas de Tukey, utilizando nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADO

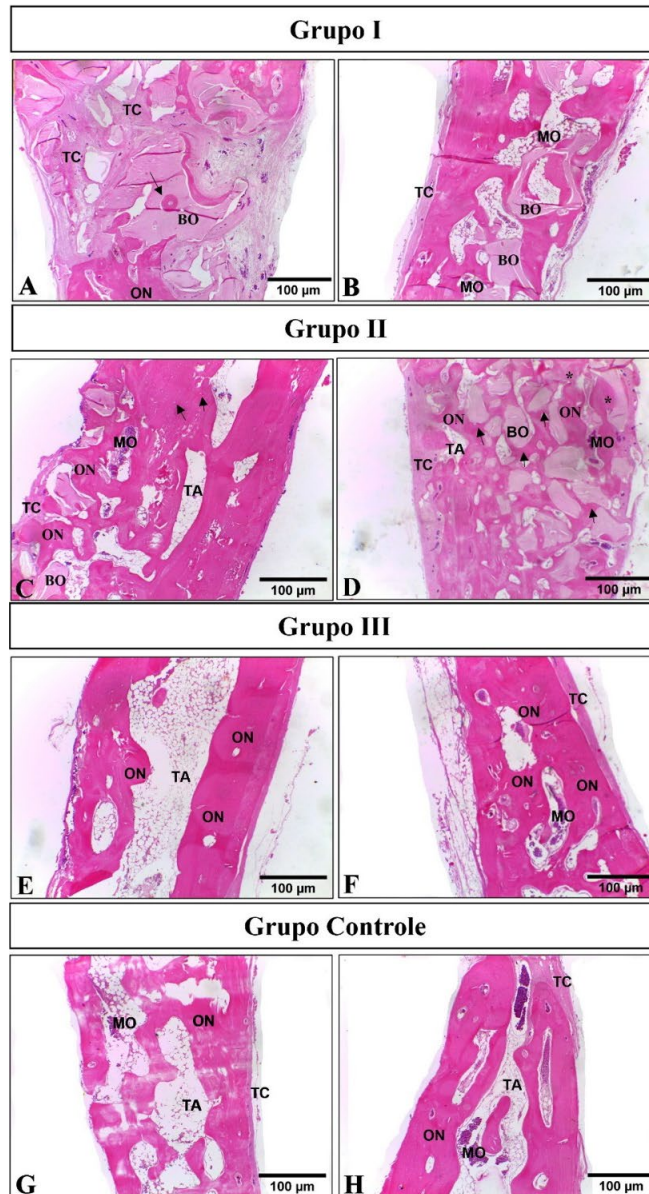
Na análise histológica descritiva, as fotomicrografias do GI mostram grânulos de Bio-oss® no interior do defeito ósseo, circundado por tecido ósseo neoformado predominantemente medular, como também tecido ósseo no interior dos grânulos. Há medula hematopoiética ativa de permeio ao tecido adiposo. Observam-se grandes áreas preenchidas por tecido conjuntivo fibroso, bastante celularizada, uma estreita faixa de tecido conjuntivo fibroso no limite externo da cavidade adjacente ao periósteo, enquanto no limite interno voltado para as meninges, nota-se maior quantidade de vasos sanguíneos de grande calibre (Figuras 2A e 2B).

No GII, as fotomicrografias apresentam múltiplos grânulos do enxerto Bio-oss®, com menores dimensões que os observados no GI. Esses grânulos de osso bovino estão envolvidos por tecido ósseo imaturo, com diferentes áreas de mineralização. Exuberante presença de osteócitos em suas respectivas lacunas e grande quantidade de tecido adiposo na região medular central do defeito. Há tecido conjuntivo fibroso celular nas bordas do defeito. Na região central vê-se maior volume ósseo neoformado do defeito. Há medula óssea hematopoiética e grandes áreas preenchidas por tecido adiposo (Figuras 2C e 2D).



As fotomicrografias do GIII mostram a presença de tecido ósseo neoformado, no interior do defeito ósseo, com diferentes estágios de mineralização. Observam-se tecido conjuntivo revestindo o limite superior do defeito e grandes áreas centrais preenchidas por medula óssea adiposa (Figuras 2E e 2F).

Enquanto no grupo controle os defeitos ósseos se constituem de numerosas trabéculas ósseas neoformadas de permeio a áreas de tecido conjuntivo fibroso altamente celularizado e grandes áreas de tecido adiposo. O tecido ósseo é imaturo, com presença de medula óssea hematopoiética ativa (Figuras 2G e 2H).



**Figura 2.** Fotomicrografias dos defeitos ósseos em HE. Aumento de 4x. **A) GI:** presença de grânulos de Bio-oss® (BO) e grandes áreas de tecido conjuntivo (TC) fibroso celular próximo ao BO e ao tecido ósseo neoformado (ON); ON no interior do grânulo de BO (seta). **B) GI:** ON circundando grânulos de BO e áreas de tecido adiposo (TA) na medula óssea (MO). **C) GII:** numerosos osteócitos (setas); estreita faixa de TC fibroso no limite interno da calvária; MO hematopoiética predominantemente preenchida por TA. **D) GII:** BO justaposto ao ON imaturo (setas); áreas irregulares de mineralização (\*) com numerosos grânulos de BO envolvidos por ON; MO hematopoiética com predomínio de TA. **E) GIII:** ON com extensa área de TA no centro do defeito. **F) GIII:** ON preenchendo o defeito ósseo; MO com predomínio de TA; estreita faixa de TC fibroso no limite interno do defeito. **G e H) Grupo controle:** ON imaturo altamente celularizado envolto por TC fibroso; MO hematopoiética ativa e áreas de TA.

O percentual médio ( $\pm$  desvio padrão) de osso neoformado e remanescente de Bio-Oss® nos defeitos ósseos está descrito na Tabela 1. Considerando que o teste ANOVA não apontou diferenças quanto ao percentual de osso neoformado nos grupos ( $p = 0,15512$ ), foram realizadas comparações múltiplas pareadas pelo teste de Tukey, confirmando a semelhança entre os grupos ( $F = 2,089$ ). Também não foram encontradas diferenças em relação ao percentual de remanescentes de enxerto entre os grupos GI e GII ( $F = 5,019$ ).

**Tabela 1.** Percentual (média e desvio padrão) de neoformação óssea e remanescentes de grânulos de Bio-Oss®, nos defeitos de calvária de coelhos, aos 60 dias pós-operatórios.

Grupos	OSSO NEOFORMADO		REMANESCENTE DE BIO-OSS®	
	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP
GI - Bio-Oss®	38,16 <sup>a</sup>	15,44	16,59 <sup>a</sup>	9,56
GII - Bio-Oss® + ALN 0,5%	55,77 <sup>a</sup>	16,75	7,02 <sup>a</sup>	5,36
GIII - ALN 0,5%	60,28 <sup>a</sup>	11,45		
Controle	45,11 <sup>a</sup>	11,09		
ANOVA	F (2,089)	$p = 0,15512$	F (5,019)	

ALN = alendronato de sódio; M = média; DP = desvio padrão. F = estatística de teste ANOVA. Diferença estatisticamente significativa para  $p \leq 0,05$ . Letras iguais indicam semelhanças entre os grupos (teste de Tukey).

## DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o ALN na dose de 0,5% e utilizado de forma tópica isoladamente e em associação ao Bio-Oss® no reparo de defeitos ósseos. Estudos mostram efeitos semelhantes do ALN utilizado tanto local quanto sistemicamente na redução da reabsorção óssea e na melhora do reparo ósseo<sup>14,15</sup>. No entanto, a segurança da administração sistêmica em longo prazo ainda é questionada, seja por via oral ou injetável, em virtude da possibilidade de efeitos colaterais como ocorrência de osteonecrose dos maxilares, fazendo com que a administração sistêmica dessas drogas seja de difícil aceitação pelos pacientes<sup>4</sup>. Por outro lado, a aplicação tópica de BFs por um transportador degradável tem o potencial de alcançar altos níveis locais e evitar a toxicidade sistêmica, visto que os efeitos colaterais relacionados ao uso de longo prazo podem ser mínimos ou ausentes<sup>15</sup>.

A concentração de 0,5% utilizada foi definida com base na literatura que menciona um efeito bifásico do ALN sobre os osteoblastos, considerando que baixas doses estimulam a proliferação celular e a formação de tecido osteoide, enquanto em altas concentrações esse processo é inibido<sup>16,17</sup>. Krüger et al.<sup>16</sup> observaram que as concentrações mais baixas do ALN (5  $\mu$ M) aumentaram a proliferação de osteoblastos humanos, enquanto o ALN em alta concentração (100  $\mu$ M) estimulou a secreção de fatores imunológicos de osteoblastos, e assim diminuiu as taxas de proliferação e diferenciação celular; isso sugere que altas doses ou acúmulo do BF podem levar a alterações locais indesejáveis no osso. Nos estudos de Toker et al.<sup>18</sup>, 1mg/mL de ALN aplicado localmente promoveu aumento da atividade osteoblástica e da formação de novo osso nos enxertos autógenos. Naidu et al.<sup>19</sup> também demonstraram que o ALN em altas concentrações (10<sup>-4</sup> mol/L) diminuiu significativamente a viabilidade celular; enquanto em baixas concentrações (10<sup>-6</sup> mol/L) mostrou benefícios terapêuticos, sem citotoxicidade. O estudo de Yaffe et al.<sup>20</sup>, um dos pioneiros sobre a ação local do ALN sobre a reabsorção óssea, testou o ALN em três concentrações diferentes (0,15, 0,75 e 1,5 mg); como resultado, o ALN não inibiu a reabsorção óssea ocasionada pela elevação de retalho mucoperiosteal em nenhuma das doses testadas. Posteriormente, Yaffe et al.<sup>21</sup> avaliaram a utilização do ALN em alta dose (20 mg), observando uma redução estatisticamente significativa da reabsorção óssea alveolar. De modo contrário, Jaime et al.<sup>22</sup> demonstraram que o medicamento quando administrado localmente não contribui para a reparação óssea utilizando o ALN 20 mg/mL em defeitos ósseos em calvária de ratas. Esses autores observaram escassa neoformação apenas nas bordas dos defeitos, o que pode ser justificado pela inibição da proliferação celular em altas concentrações de ALN. Özer et al.<sup>23</sup> utilizaram a concentração de 1 mg de ALN por 1 mL de solução salina e os resultados apontaram melhora na qualidade do novo osso.

A análise histomorfométrica utilizada neste e em estudos outros experimentais relacionados representa uma técnica precisa para avaliar as alterações de remodelação óssea, pois analisa de forma direta os mecanismos teciduais envolvidos<sup>15</sup>, sendo uma das mais utilizadas em pesquisas de doenças metabólicas ósseas<sup>23,24</sup>.

O percentual médio de osso neoformado nas cavidades preenchidas apenas com Bio-Oss® não apresentou diferença em relação ao controle – dados semelhantes foram encontrados por Su-Gwan et al.<sup>7</sup>. É importante ressaltar que 16,59% da cavidade experimental encontram-se preenchidos por grânulos do enxerto ósseo, conferindo-lhe maior volume e manutenção do contorno do defeito ósseo. A reabsorção da matriz óssea bovina e sua substituição por tecido ósseo é bastante discutida na literatura, pois têm sido relatados diferentes graus de reabsorção, e ainda é controverso se o Bio-Oss® é completamente reabsorvível ou só biodegradável<sup>6,7</sup>. A dificuldade de reabsorção desse biomaterial pode estar relacionada ao seu alto conteúdo de cálcio e à ausência de proteínas, o que também influenciaria na atividade dos osteoclastos<sup>5</sup>.

No grupo Bio-Oss® + ALN 0,5%, o percentual de neoformação óssea não apresentou diferença em relação aos demais grupos. Resultados semelhantes aos de Golami et al.<sup>12</sup>. Do mesmo modo, deve-se considerar que os grânulos remanescentes do Bio-Oss® conferem maior volume à cavidade experimental quando comparada ao controle. Nam et al.<sup>25</sup> demonstraram que quando o ALN se associa a materiais de enxertos e são aplicados localmente podem afetar positivamente a regeneração óssea por meio de modificações microestruturais no osso circundante. Houshmand et al.<sup>15</sup> encontraram resultados positivos do reparo ósseo em mandíbulas de ovelhas, como melhora das propriedades de osteocondução e regeneração óssea quando o Bio-Oss® foi associado a outro BF, o pamidronato de sódio. Möller et al.<sup>13</sup> investigaram a adição do ALN 1 mg/mL ao Bio-Oss® ou à membrana Bio-Gide® associados a blocos de enxertos ósseos autógenos em mandíbula de porcos e observaram uma redução na reabsorção do enxerto autógeno. Devido à capacidade de o Bio-Oss® em absorver o BF ser muito maior que a de uma membrana, o ALN pode mostrar menos remodelação óssea quando em combinação com Bio-Oss®. Entretanto, os autores constataram sinais de osteonecrose na parte inferior dos enxertos ósseos autógenos, sugerindo dose elevada do ALN, e a necessidade de adaptação da dose. Segundo Nam et al.<sup>25</sup>, é importante a aplicação tópica de concentrações apropriadas de BFs, pois podem prevenir a reabsorção precoce de enxertos ósseos autógenos ou artificiais, permitindo resultados favoráveis no tratamento de reconstrução de defeitos ósseos.

O percentual de neoformação óssea quando do uso tópico isoladamente do ALN 0,5% não apresentou diferença em relação ao controle, semelhante aos achados de Yaffe et al.<sup>20</sup>, que estudaram a ação do ALN 0,75 mg/mL (0,5%), por meio de radiomicrografia de alta resolução, e não observaram diferença na inibição da reabsorção do osso alveolar exposto entre o grupo controle e o testado. Özer et al.<sup>23</sup> também não encontraram diferença ao comparar ALN 1 mg/ML com o coágulo sanguíneo, em defeitos ósseos de calvária.

A análise histológica sugere um possível efeito do ALN 0,5% na fragmentação dos grânulos de Bio-Oss® e maior integração do Bio-Oss® ao tecido ósseo neoformado. No entanto, os resultados da análise histomorfométrica não mostraram diferença no percentual de remanescente de grânulos do enxerto entre os grupos GI e GII.

Ainda são escassos estudos na literatura que avaliaram os efeitos da associação de BFs ao osso bovino liofilizado. Não há uniformidade quanto à dosagem, sendo os resultados contraditórios, o que estimula a realização de futuras pesquisas. Assim, torna-se necessária a avaliação do uso tópico do ALN em outras concentrações e em outros sítios ósseos, para que se possa confirmar ou excluir nossos achados, para se determinar as concentrações ideais para uso local e possibilitar sua utilização com segurança, objetivando sucesso na prática clínica. É também aconselhável considerar outras abordagens para acelerar a neoformação óssea de qualidade, que pode impactar o manejo clínico e fornecer novos tratamentos para defeitos ósseos adquiridos ou congênitos.

## CONCLUSÃO

O uso tópico da solução de ALN 0,5% isoladamente ou associado ao osso bovino liofilizado não alterou o percentual de neoformação óssea nem o percentual remanescente dos grânulos de Bio-Oss® no reparo de defeitos ósseos críticos de calvárias de coelhos.

## REFERÊNCIAS

1. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev.* 1992 Jun;32(2):160-7. <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.1080320212>. PMID:1637554.
2. Fernandes RG, Faig Leite H, Carvalho YR. Study of bone repair in the mandible of rabbits under the action of sodium alendronate and its association with hydroxyapatite. *Rev Odontol UNESP.* 2004;33(3):123-30.
3. Samirah, Budiadin AS, Mahyudin F, Khotib J. Fabrication and characterization of bovine hydroxyapatite-gelatin-alendronate scaffold cross-linked by glutaraldehyde for bone regeneration. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021 Jun.;32(4):555-60. <http://dx.doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0422>. PMID:34214349.
4. Deliberador FR, Sebastiani AM, Gerber J, Bonetto L, Tórtora G, Giovanini AF, et al. Effect of local application of alendronate and parathyroid hormone on craniofacial bone repair - a preliminary study. *Braz Dent J.* 2018 Sep;29(5):435-45. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201802120>. PMID:30517441.
5. Traini T, Valentini P, Iezzi G, Piattelli S. A histologic and histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone retrieved 9 years after a sinus augmentation procedure. *J Periodontol.* 2007 May;78(5):955-61. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2007.060308>. PMID:17470032.
6. Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/ complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol* 2000. 2008;47(1):172-92. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0757.2008.00251.x>. PMID:18412581.
7. Su-Gwan K, Hak-Kyun K, Sung-Chul L. Combined implantation particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss®) for bone regeneration in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2001 Oct;29(5):282-8. <http://dx.doi.org/10.1054/jcms.2001.0236>. PMID:11673923.
8. Tapety FI, Amizuka N, Uoshima K, Nomura S, Maeda T. A histological evaluation of the involvement of Bio-Oss in osteoblastic differentiation and matrix synthesis. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):315-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0501.2004.01012.x>. PMID:15142094.
9. Wallace SS, Froum SJ, Cho SC, Elian N, Monteiro D, Kim BS, et al. Sinus augmentation utilizing anorganic bovine bone (Bio-Oss) with absorbable and nonabsorbable membranes placed over the lateral window: histomorphometric and clinical analyses. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2005 Dec;25(6):551-9. PMID:16353530.
10. Rosa TM, Gerzon AS, Assis DSFR, Bigueti CC, Matsumoto MA, Gonçalves ES. Morphological and histomorphometric evaluation of autogenous bone graft resorption in rabbits treated with alendronate sodium. *Rev Odontol UNESP.* 2016 July-Aug;45(4):240-6. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.20315>.
11. Carvalho Dutra B, Oliveira AMSD, Oliveira PAD, Miranda Cota LO, Silveira JO, Costa FO. Effects of topical application of 1% sodium alendronate gel in the surgical treatment of periodontal intrabony defects: a 6-month randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2019 Oct;90(10):1079-87. <http://dx.doi.org/10.1002/JPER.19-0160>. PMID:31071760.
12. Golami GA, Tehranchi M, Hooshmand B, Ghanavati F, Mashhadi-Abbas F, Akbarzadeh A, et al. Effect of Bio-Gen and Bio-Oss with and without alendronate on bone formation by "Guided Bone Regeneration": a histomorphometric study in dogs. *J Dent Sch.* 2011;28(4):185-93.
13. Möller B, Wiltfang J, Acil Y, Gierloff M, Lippross S, Terheyden H. Prevention of the surface resorption of bone grafts by topical application of bisphosphonate on different carrier materials. *Clin Oral Investig.* 2014 Dec;18(9):2203-11. <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-014-1202-9>. PMID:24562699.



14. Kawata T, Tenjou K, Tokimasa C, Fujita T, Kaku M, Matsuki A, et al. Effect of alendronate on osteoclast differentiation and bone volume in transplanted bone. *Exp Anim*. 2004 Jan;53(1):47-51. <http://dx.doi.org/10.1538/expanim.53.47>. PMID:14993741.
15. Houshmand B, Rahimi H, Ghanavati F, Alisadr A, Eslami B. Boosting effect of bisphosphonates on osteoconductive materials: a histologic in vivo evaluation. *J Periodontol Res*. 2007 Apr;42(2):119-23. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00923.x>. PMID:17305869.
16. Krüger TB, Herlofson BB, Landin MA, Reseland JE. Alendronate alters osteoblast activities. *Acta Odontol Scand*. 2016 Oct;74(7):550-7. <http://dx.doi.org/10.1080/00016357.2016.1217041>. PMID:27546224.
17. Coxon FP, Thompson K, Rogers MJ. Recent advances in understanding the mechanism of action of bisphosphonates. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Jun;6(3):307-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2006.03.005>. PMID:16650801.
18. Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol*. 2012 Nov;57(11):1545-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.06.013>. PMID:22795567.
19. Naidu A, Dechow PC, Spears R, Wright JM, Kessler HP, Opperman LA. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Jul;106(1):5-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.03.036>. PMID:18504149.
20. Yaffe A, Fine N, Alt I, Binderman I. The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol*. 1995 Nov;66(11):999-1003. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1995.66.11.999>. PMID:8558403.
21. Yaffe A, Iztzkovich M, Earon Y, Alt I, Lilov R, Binderman I. Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J Periodontol*. 1997 Sep;68(9):884-9. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1997.68.9.884>. PMID:9379334.
22. Jaime APG, Anbinder AL, Lima AP, Prado FA, Balducci I, Rocha RF. Influência da administração local de alendronato sódico no reparo ósseo em calvárias de ratas ovariectomizadas. *Cienc Odontol Bras*. 2005 Abr-Jun.;8(2):70-9.
23. Özer T, Aktas A, Baris E, Çelik HH, Vatanserver A. Effects of local alendronate administration on bone defect healing. Histomorphometric and radiological evaluation in a rabbit model. *Acta Cir Bras*. 2017 Sep;32(9):781-95. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020170090000010>. PMID:29019595.
24. Quinto JHS, Sigua-Rodriguez EA, Natali MRM, Olate S, Cuman RKN, Farah GJ. Effect of alendronate on healing of bone defect and gingival tissue in osteopenic rats. *Int J Morfol*. 2020 Jun;38(3):683-8. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000300683>.
25. Nam JW, Kwon J, Hong JY, Kim HJ. The effect of two locally administered anti-resorptive agents on bone regeneration in a rat fibula model: alendronate and 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J<sub>2</sub>. *J Craniomaxillofac Surg*. 2019 Nov;47(11):1758-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2018.04.019>. PMID:31760999.

## CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## \*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Daniela Nascimento Silva, UFES – Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Clínica Odontológica, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, 29040 090 Vitória - ES, Brasil, e-mail: [daniela.silva@ufes.br](mailto:daniela.silva@ufes.br)

Recebido: Junho 16, 2022

Aprovado: Julho 1, 2022