

Efeito da matriz dentinária humana no reparo alveolar de ratos: avaliação histológica e imunohistoquímica¹

Effect of human dentin matrix on alveolar repair of rats: histological and immunohistochemical study

Julianna Magalhães de ALMEIDA²

José Bento ALVES³

RESUMO

Objetivos: A dentina pode ser considerada um tecido mineralizado que exibe muitas similaridades com o osso, dentre elas a presença de fatores de crescimento e proteínas morfogenéticas do osso. A capacidade de osteoindução da matriz dentinária parece ser devido à presença das proteínas morfogenéticas do osso. O presente estudo avaliou o efeito da matriz dentinária no reparo alveolar de ratos.

Métodos: Dezesete ratos da raça Holtzman, adultos, do sexo feminino fizeram parte da pesquisa. Os primeiros molares maxilares direito e esquerdo foram extraídos e os alvéolos do lado esquerdo preenchidos com matriz dentinária humana desmineralizada, os alvéolos direitos foram os controles. A amostra foi dividida em quatro grupos. O grupo I era composto por dois animais, sacrificados imediatamente após a exodontia, enquanto os demais grupos II, III e IV por cinco animais cada sacrificados no tempo cinco, dez e vinte e um dias, respectivamente. Após a fixação e desmineralização, os espécimes foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo com 6mm de espessura, corados em H.E. e analisados a microscopia de luz.

Resultados: No grupo de cinco dias, a matriz dentinária reduziu a reação inflamatória e o tecido conjuntivo estava mais organizado, quando comparado ao grupo controle. A dentina implantada possuía células aderidas à superfície bem como no interior dos canalículos dentinários. Entretanto, em alguns animais desse grupo, ocorreu uma resposta inflamatória intensa que levou à expulsão da matriz dentinária, caracterizando o processo de rejeição do material de implante. Nestes casos realizou-se a técnica imunohistoquímica para células sugestivas de macrófagos e células gigantes. No grupo de dez dias, essa matriz parecia estar promovendo a angiogênese e no grupo de vinte e um dias a dentina estava incorporada na matriz óssea.

Conclusão: Esses resultados sugerem que a matriz dentinária possui propriedades compatíveis com a redução da reação inflamatória e de acelerar o processo de reparo comportando-se como material osteocondutor e osteoindutor.

Termos de indexação: dentina; proteínas morfogenéticas óssea; imunohistoquímica; ratos.

ABSTRACT

Objectives: Dentin may be regarded as a mineralized connective tissue that exhibits a lot of similarities with bone, such as growth factors and bone morphogenetic protein in its composition. The osteoinduction capability of dentin matrix seems to be due to bone morphogenetic protein.

Methods: Seventeen female adult Holtzman rats were used. The right and left first upper molars were extracted and the left dental sockets were filled with demineralized human dentin and the right sockets were the control group. The sample was divided in four groups. Group I was comprised of two animals, sacrificed immediately after extraction, whereas groups II, III e IV of five animals each sacrificed five, ten and twenty-one days later, respectively. After fixation and decalcification, tissues were embedded in paraffin, sliced 6mm thick, stained with H.E. and analyzed under light microscopy.

Results: In the group of five days, the dentin matrix decreased the inflammatory reaction and the connective tissue was more organized, when compared to control side. The dentin graft showed cells attached to its surface as well as inside dentinal tubules. However, in some animals of this group, intense inflammatory response was present that resulted in expulsion of dentin matrix, characterizing rejection process of the graft. In these cases, Immunohistochemistry technique was employed in which macrophage and multinucleated giant cells were detected. In the group of ten days, the matrix seemed to be promoting angiogenesis and in the twenty-one days group, the dentin was incorporated into new bone matrix.

Conclusion: These results suggest that human dentin matrix has consistent proprieties with reduction of inflammatory reaction and acceleration of wound healing process behaving like osteoconductor and osteoinductor material.

Indexing terms: dentin; bone morphogenetic proteins; immunohistochemistry; rats.

² Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia. R. Rio Grande do Norte, 694, conjunto 802, Funcionários, 30131-130, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³ Universidade de Uberaba, Faculdade de Odontologia. Uberaba. MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

A utilização de enxertos ósseos é uma prática comum na ortopedia, neurocirurgia, odontologia, cirurgias plásticas e cirurgias de reconstrução cuja aplicabilidade tem crescido nas últimas décadas. Diversos materiais podem ser utilizados como enxerto em áreas com pouca sustentação óssea, especialmente nos sítios de extração, dentre eles o enxerto autógeno, alógeno, xenógeno e materiais sintéticos. Assim, os materiais de enxerto surgiram devido à necessidade de se restabelecer a função e a estética de áreas comprometidas resultantes da perda do elemento dentário. Esses materiais devem ter a capacidade de induzir a regeneração óssea através dos mecanismos de osteogênese, osteocondução e osteoindução.

O enxerto de osso autógeno, seja de origem intra ou extra-oral, tem sido amplamente utilizado em cirurgias orais e maxilo-faciais. Representa o material ideal de escolha, pois não provoca resposta imune e pode conter as propriedades de osteogênese, osteoindução e osteocondução^{1,2}. Entretanto, os materiais autógenos são obtidos com certos custos para o paciente: áreas cirúrgicas adicionais, morbidade pós-operatória aumentada, enfraquecimento dos sítios doadores¹⁻⁴.

A dentina pode ser considerada um tecido conjuntivo mineralizado cuja composição e modo de formação exibe muitas similaridades com o osso⁵. Há evidência de que a dentina, como o osso, contém proteínas morfogenéticas do osso (BMPs). As BMPs são moléculas que atuam sobre as células mesenquimais indiferenciadas levando à diferenciação de células secretoras de matriz óssea^{6,7}.

Vários autores têm relatado as propriedades indutoras da dentina na formação de tecido ósseo ou de cartilagem em sítios heterotópicos, em defeitos ósseos cirúrgicos e em alvéolos dentais⁸⁻¹⁷. Contudo, não há consenso se a matriz dentinária humana desmineralizada acelera o processo de reparo ósseo.

Pretendemos no presente estudo avaliar com técnicas histológicas o processo de reparo alveolar de ratos preenchidos com matriz dentinária humana desmineralizada.

MÉTODOS

Utilizaram-se 17 ratos da raça Holtzman, adultos, do sexo feminino, com peso variando de 94,0g a 240,0g. Os animais permaneceram acondicionados em gaiolas plásticas e receberam alimentação sólida (ração da marca comercial Labina-Purina®) e água *ad libitum*.

A amostra foi dividida em quatro grupos. O grupo

I constituído por dois animais, sacrificados imediatamente após a exodontia dos primeiros molares superiores direito e esquerdo. Os grupos II, III e IV constituídos por cinco animais cada, onde se realizou a exodontia dos primeiros molares superiores e o preenchimento do alvéolo do lado esquerdo com matriz dentinária humana desmineralizada. O alvéolo direito foi o lado controle.

A matriz dentinária humana foi obtida a partir de raízes de dentes extraídos no Departamento de Cirurgia da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (Puc-Minas). Após desmineralização em solução de ácido fórmico a 45% e citrato de sódio a 20%, as raízes foram cortadas em criostato com 15mm de espessura e armazenadas em mistura de 5ml de álcool etílico 70% e 0,2 mL de gentamicina¹⁸.

Sob anestesia com pentobarbital sódico, da marca comercial Nembutal® (Abbott Laboratórios do Brasil), diluído em água destilada, na dosagem de 30 mg/kg peso, os primeiros molares superiores foram extraídos utilizando-se um instrumento de Hollembach para sindesmotomia e uma pinça dente de rato para luxação e remoção do dente. Os alvéolos do lado esquerdo foram preenchidos com matriz dentinária humana desmineralizada e, após este procedimento, executou-se a sutura das bordas mucosas com fio agulhado Surlene 7.0 da Biosut® de polipropileno para cirurgias cardiovasculares. O lado direito foi usado como controle e, após a exodontia, o alvéolo recebeu a sutura para contenção do coágulo.

Os animais foram sacrificados com overdose de Nembutal. O palato envolvendo as áreas experimentais e controle foi removido e imediatamente fixado em formalina neutra tamponada a 10%, por 48 horas e desmineralizado em solução de EDTA a 10% tamponada.

Após inclusão em parafina, secções de 6mm de espessura foram coradas com H.E. e avaliadas ao microscópico BX 50 da Olympus. Para a análise imunohistoquímica as amostras foram submetidas à recuperação antigênica e inibição da peroxidase endógena. Os cortes foram incubados com soro suíno diluído (1:50) em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4 (Tris-hidroxi-metil-aminometano, Sigma Chemical, St. Louis, USA) por trinta minutos. Posteriormente, os cortes foram novamente incubados, por dezoito horas a 4°C com o anticorpo primário MCP-1 (Santa Cruz Biotechnology Inc.) de origem de rato, diluídos em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4 (1:50). Esse anticorpo apresenta especificidade para MCP-1 de rato e camundongo. O controle negativo da técnica imunohistoquímica foi feito por omissão do anticorpo primário. O anticorpo secundário e o complexo Streptavidina-HRP (*Goat ImmunoCruz Staining System* – Santa

Cruz Biotechnology Inc.) foram utilizados, permanecendo nos cortes por trinta minutos cada a 37°C. A reação foi revelada pelo emprego de solução de diaminobenzidina (DAB) por três minutos e contracorados com hematoxilina de Mayer. Posteriormente, os cortes foram desidratados, diafanizados e montados em Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, USA).

RESULTADOS

Análise microscópica descritiva

Os cortes foram analisados procedendo-se à leitura em varredura longitudinal, utilizando-se um microscópio da marca Olympus, BX 50.

Grupo I

Os alvéolos dos animais sacrificados imediatamente após a exodontia dos primeiros molares superiores apresentavam-se com numerosas células sanguíneas resultantes da hemorragia, precursoras do coágulo no alvéolo. Puderam-se observar também remanescentes do ligamento periodontal aderidos à superfície do osso alveolar.

Grupo II

A análise histológica dos alvéolos do lado direito (lado controle), dos animais do grupo de cinco dias, apresentava na região média e apical, tecido conjuntivo frouxo com extensa proliferação celular. Tecido ósseo em formação já podia ser visualizado ao longo das margens endosteais do osso pré-existente. As áreas de hemorragia ocupavam a região central do alvéolo. Na porção cervical notou-se tecido de granulação com infiltrado inflamatório intenso (Figura 1).

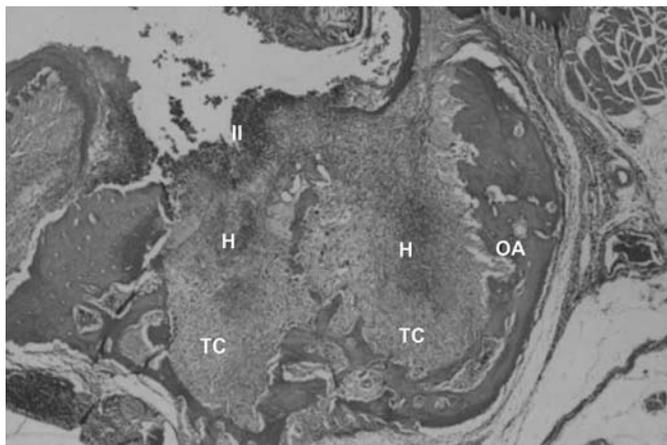


Figura 1. Corte longitudinal do alvéolo direito, lado controle. Tempo: 5 dias.
Nota: H – área de hemorragia; OA – osso alveolar; TC – tecido conjuntivo; II – infiltrado inflamatório. Coloração: H.E. Aumento: 4x.

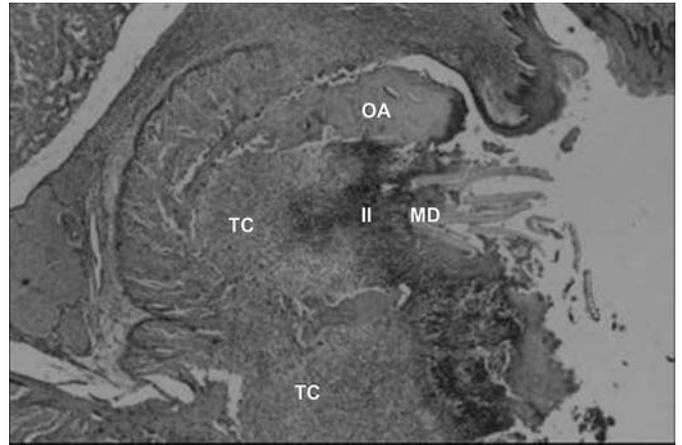


Figura 2. Corte longitudinal do alvéolo esquerdo, lado experimental. Tempo: 5 dias.
Nota: II – infiltrado inflamatório; MD – matriz dentinária; OA – osso alveolar; TC – tecido conjuntivo. Coloração: H.E. Aumento: 4x.

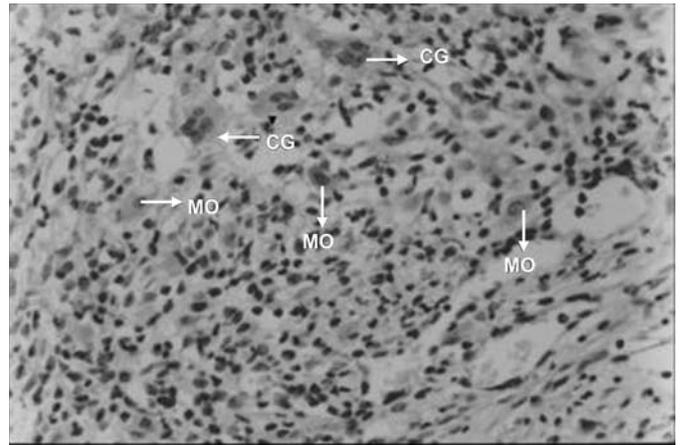


Figura 3. Corte longitudinal do alvéolo esquerdo, lado experimental. Tempo: 5 dias.
Nota: MO – macrófagos; CG – células gigantes. Coloração: H.M. Aumento: 40x.

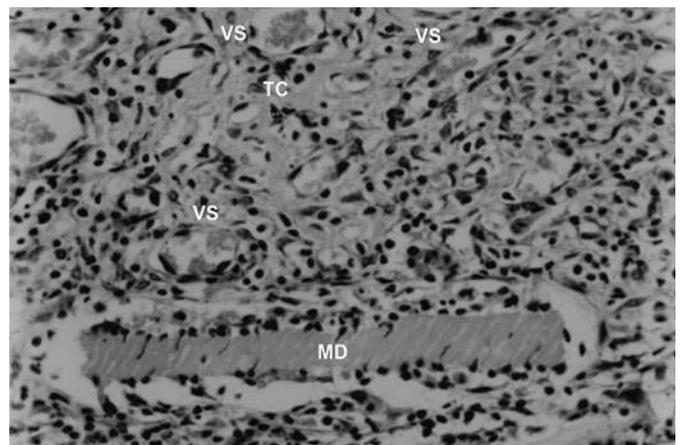


Figura 4. Corte longitudinal do alvéolo esquerdo, lado experimental. Tempo: 10 dias.
Nota: MD – matriz dentinária; TC – tecido conjuntivo; VS – vasos sanguíneos. Coloração: H.E. Aumento: 40x.

No lado experimental do grupo de cinco dias, havia uma grande quantidade de lâminas remanescentes da matriz dentinária no interior do alvéolo. Em alguns animais, ocorreu uma resposta inflamatória intensa adjacente a essa matriz que levou à expulsão da dentina, caracterizando o fenômeno da rejeição do material de enxerto (Figura 2). Nestes casos realizou-se a identificação imunohistoquímica para células sugestivas de macrófagos e células gigantes (Figura 3). Nas amostras onde a matriz dentinária foi mantida no alvéolo, o tecido conjuntivo estava mais organizado e a reação inflamatória foi mais suave, quando comparado ao lado controle. A dentina implantada apresentava células no interior dos canalículos dentinários, bem como ao longo das superfícies externas, e extensas áreas de reabsorção foram observadas. Não houve evidência de neoformação óssea ao redor do material de enxerto nesse tempo experimental.

Grupo III

Nos animais do grupo de dez dias, o tecido conjuntivo que preenchia o alvéolo do lado controle, na região mais central, apresentou-se mais organizado quando comparado aos animais do grupo de cinco dias. O infiltrado inflamatório ainda estava presente, porém na região mais superior e em um grau mais leve em relação ao grupo de cinco dias. Na região inferior notava-se tecido ósseo neoformado adjacente às paredes alveolares e certa proximidade entre as bordas do epitélio.

No lado experimental, lâminas da matriz dentinária ainda estavam presentes no interior do alvéolo. Células no interior dos canalículos produzindo reabsorção da matriz e uma cadeia de células alinhadas no longo eixo da superfície dentinária foi também observada. Havia uma quantidade significativa de capilares ao redor da matriz dentinária (Figura 4).

Grupo IV

No grupo de 21 dias, no lado controle, observou-se maior nível de organização dos tecidos que compunham o alvéolo. O epitélio mostrava início de fusão e havia uma quantidade significativa de tecido ósseo no terço inferior do alvéolo.

No lado experimental, o processo de reparo se apresentava em um estágio mais avançado com tecido conjuntivo altamente organizado preenchendo a maior parte do alvéolo. Foi observada a presença de matriz dentinária incorporada ao tecido ósseo neoformado (Figura 5).

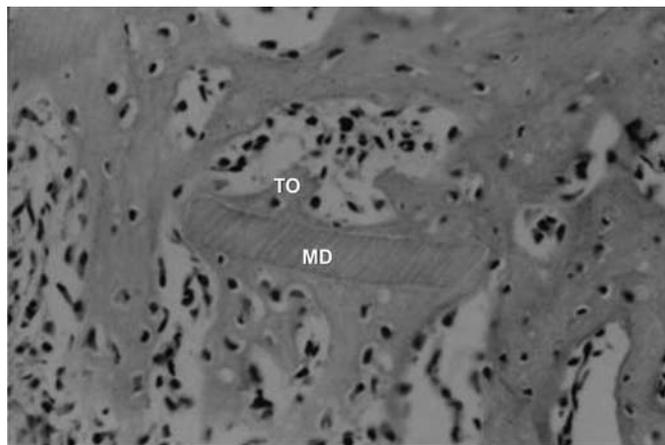


Figura 5. Corte longitudinal do alvéolo esquerdo, lado experimental. Tempo: 21 dias.

Nota: MD – matriz dentinária; TO – tecido ósseo. Coloração: H.E. Aumento: 40x.

DISCUSSÃO

Os materiais de enxerto têm uma ampla aplicabilidade na medicina e na odontologia. Eles surgiram devido à necessidade de se restabelecer a função e a estética de áreas comprometidas, tais como aquelas resultantes da perda do elemento dentário. Esses materiais devem possuir capacidade de induzir a regeneração óssea através dos mecanismos de osteogênese, osteoindução e osteocondução^{1,2}.

A matriz dentinária desmineralizada possui as propriedades desejadas como material de implante ideal em defeitos ósseos nos maxilares, uma vez que ela é bem tolerada, facilmente obtida e exibe capacidade osteocondutora e osteoindutora^{9,15,16}.

A matriz dentinária pode ser empregada em defeitos sob a forma de partículas ou fatias. Entretanto, Guimarães¹⁵ demonstrou maior capacidade osteoindutora e um processo de reparo ósseo mais eficiente dessa matriz quando sob a forma de fatias. De acordo com a autora, essa resposta se deve ao maior contato das células mesenquimais do hospedeiro com a superfície da matriz dentinária implantada, o que possibilita uma citodiferenciação mais rápida¹⁹. No presente estudo, verificamos que, quando mantida no alvéolo, em 21 dias estava incorporada ao tecido ósseo neoformado.

Em nosso estudo, observamos em alguns animais do grupo de cinco dias, aproximadamente 40%, uma grande quantidade de matriz dentinária associada a uma reação inflamatória intensa, sugerindo fenômeno de rejeição que resultava na expulsão do material de enxerto. Os enxertos alógenos e xenógenos são reconhecidos como *nonself* ao passo

que o autógeno é reconhecido como *self*. Esse reconhecimento de *nonself* é a consequência da histocompatibilidade entre o doador e o hospedeiro. Os antígenos de histocompatibilidade são presumivelmente as proteínas, glicoproteínas e lipoproteínas nas superfícies celulares, podendo ou não evocar a rejeição do enxerto³. Assim, os enxertos xenógenos são imunogênicos por natureza^{1,4}.

O grau de resposta do hospedeiro a um enxerto pode também estar relacionado à concentração do antígeno e a dose total⁵. Apesar dos molares de ratos assemelharem-se aos molares humanos²⁰, as dimensões do alvéolo são muito reduzidas o que, possivelmente, dificultou na padronização da quantidade de matriz dentinária inserida no interior do alvéolo. Assim, alguns animais podem ter recebido uma maior quantidade de matriz enquanto em outros, essa concentração foi mínima induzindo uma resposta inflamatória diferenciada.

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições ambientais durante todo o período experimental. Entretanto, não podemos esquecer das características individuais. Alguns animais podem ser mais “sensíveis” do que outros quando submetidos a um mesmo estímulo. Não podemos afirmar a extensão na qual o sistema imune de cada animal interferiu nesta resposta inflamatória diferenciada.

Outro fator que poderia estar relacionado com esta resposta inflamatória diferenciada entre os animais do grupo I foi a ausência de uma relação de continuidade entre as bordas epiteliais da mucosa gengival, expondo assim os tecidos do alvéolo dentário aos microorganismos da cavidade oral. Benoit & Hunt²¹ e Carvalho & Okamoto²² observaram intenso processo inflamatório nos alvéolos durante os estágios iniciais do reparo alveolar, interpretado como decorrente da inevitável contaminação oral.

Nossos resultados imunohistoquímicos mostraram nas amostras com reação inflamatória intensa macrófagos e células gigantes nas proximidades da matriz dentinária. Estes achados estão de acordo com os resultados de Bang⁹, segundo o qual a dentina xenógena desmineralizada obtida de rato, coelho e da raça humana implantada em porcos induziu uma reação inflamatória severa caracterizada pela presença de células gigantes multinucleadas, células gigantes tipo corpo estranho, localizadas a alguma distância da dentina xenógena.

Por outro lado, 60% da amostra do grupo de cinco dias mostraram matriz dentinária ainda presente no interior do alvéolo e reação inflamatória discreta. Adicionalmente, o tecido conjuntivo apresentava-se com um maior nível de organização, quando comparado ao lado controle. É possível que a liberação de fatores de crescimento da matriz dentinária desmineralizada, tais como fator

de crescimento semelhante à insulina (IGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e proteínas morfogenéticas do osso (BMPs), sejam responsáveis pelas propriedades de osteocondução e osteoindução da matriz dentinária²³.

No presente estudo, a dentina implantada possuía células no interior dos canalículos dentinários, com extensas áreas de reabsorção, bem como células ao longo das superfícies externas. Estes dados confirmam dados da literatura, como os de Guimarães¹⁵, Gould *et al.*¹⁶, Gomes *et al.*¹⁷ e Catanzaro-Guimarães *et al.*¹⁹. Nossos resultados histológicos fornecem bases para acreditar que o processo de reabsorção na superfície da matriz dentinária e no interior dos canalículos produz lacunas que são preenchidas por células mesenquimais em proliferação e brotos capilares. Posteriormente, as células mesenquimais indiferenciadas transformam-se fenotipicamente em células osteoprogenitoras e osteoblastos. A reabsorção do material implantado precede e é essencial para a fase osteogênica subsequente. Entretanto, o processo de reabsorção não deve ser tão rápido a ponto de impedir um contato ideal entre as células moduláveis e a matriz indutora¹⁵.

Nos animais do grupo de dez dias, a matriz dentinária quando presente no interior do alvéolo, estava envolvida por um tecido conjuntivo organizado altamente vascularizado, sugerindo um efeito sobre a angiogênese. Estes resultados estão de acordo com Bang⁹, Gould *et al.*¹⁶ e Schmid *et al.*²⁴ que demonstraram uma correlação íntima entre a angiogênese e a formação óssea, indicando que a formação de brotos capilares precede a formação do tecido ósseo. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é um dos principais fatores de crescimento envolvidos na angiogênese. A expressão do VEGF é estimulada por certas citocinas e fatores de crescimento, tais como o fator de transformação de crescimento beta (TGF- β) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Vários fatores de crescimento presentes no tecido ósseo foram também isolados da dentina e podem atuar como material osteoindutor. Os resultados do nosso estudo sugerem que essa matriz possa estar auxiliando e/ou promovendo a formação de novos brotos capilares.

No grupo de 21 dias, a matriz dentinária estava incorporada ao osso neoformado. Estes achados corroboram com dados da literatura, como os de Gomes *et al.*¹⁷ e Catanzaro-Guimarães *et al.*¹⁹. Estes autores observaram que a dentina desmineralizada induziu a formação óssea e que foi incorporada pelo tecido ósseo recém formado sem, contudo, perder sua individualidade, sugerido que essa matriz seja osteoindutora e osteocondutora. Entretanto, Gonçalves *et al.*¹⁸ observaram uma completa incorporação das fatias da matriz dentinária pelo tecido ósseo neoformado, tornando-as indistinguíveis após um período de 120 dias.

CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que a matriz dentinária possui propriedades compatíveis com a redução da reação inflamatória bem como de acelerar o processo de reparo, comportando-se como material osteocondutor e osteoindutor.

Pesquisas adicionais são necessárias a fim de elucidar o fato de que alguns animais, de uma mesma espécie, terem induzido uma resposta inflamatória severa que culminou com a rejeição da matriz dentinária, enquanto que em outros, ela foi bem tolerada, comportando-se como material osteoindutor e osteocondutor. Estas possibilidades estão sendo investigadas.

REFERÊNCIAS

- Caffesse RG, Krauser JT, Saadoun AP. Commentary and analysis. *Implant Dent.* 1999; 8(4): 347-53.
- Su-Gwan K, Hak-Kyun K, Sung-Chul L. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2001; 29(5):282-8.
- Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1983; (174): 28-42.
- Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18(2): 213-23.
- Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcification. *Anat Rec.* 1989; 224(2): 154-66.
- Wozney JM. The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. *J Periodontol.* 1995; 66(6): 506-10.
- Lee MB. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. A review. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(6): 355-65.
- Urist MR. Bone histogenesis and morphogenesis in implants of demineralized enamel and dentin. *J Oral Surg.* 1971; 29(2): 88-102.
- Bang G, Nordenram A, Anneroth G. Allogenic demineralized dentin implants in jaw defects of Java monkeys. In *J Oral Surg.* 1972; 1(3): 126-36.
- Bang G. Induction of heterotopic bone formation by demineralized dentin in guinea pigs: relationship to time. *Acta Pathol Microbiol Scand [A].* 1973; 236: 60-70.
- Bang G. Induction of heterotopic bone formation by demineralized dentin in rats and guinea pigs. *Scand J Dent Res.* 1973; 81(3): 230-9.
- Butler WT, Mikulski A, Urist MR. Noncollagenous proteins of a rat dentin matrix possessing bone morphogenetic activity. *J Dent Res.* 1977; 56(3): 228-32.
- Bessho K, Tanaka N, Matsumoto J, Tagawa T, Murata M. Human dentin-matrix-derived bone morphogenetic protein. *J Dent Res.* 1991; 70(3): 171-5.
- Ike M, Urist MR. Recycled dentin root matrix for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein. *J Oral Implantol.* 1998; 24(3): 124-32.
- Guimarães BPNC. Capacidade ósteo-indutora da matriz dentinária autógena, utilizada sob a forma de partículas e fatias, em defeitos ósseos experimentais em cães [dissertação]. Bauru: Universidade de São Paulo; 1979.
- Gould TRL, Westburg L, Tillman J. Dentin matrix gelatin (DMG) as a possible "universal" grafting material in periodontics. *J Periodontol.* 1982; 53(1): 22-5.
- Gomes MAM. Avaliação do comportamento biológico da matriz orgânica dentinária humana após implantação em alvéolos dentários de ratos [dissertação]. Belo Horizonte: Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais; 2001.
- Gonçalves EAL, Pavan AJ, Tavano O, Guimarães SAC. Atividade morfogenética da matriz dentinária desmineralizada: estudo em cães. *Rev Fac Odontol Bauru.* 2002; 10(1): 51-6.
- Catanzaro-Guimarães SA, Guimarães BPNC, Garcia RB, Alle N. Osteogenic potential of autogenic demineralized dentin implanted in bony defects in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986; 15(2): 160-9.
- Macapanpan LC, Weinmann JP, Brodie AG. Early tissue changes following tooth movement in rats. *Angle Orthod.* 1954; 24(2): 79-95.
- Benoit PW, Hunt LM. Comparison of a microcrystalline collagen preparation and gelatin foam in extraction wounds. *J Oral Surg.* 34(12): 1079-83.
- Carvalho ACP, Okamoto T. A histological study of cartilage autografts and allografts placed in dental sockets of rats. *J Oral Surg.* 1979; 37(1): 11-5.
- Gomes MF, Anjos MJS, Nogueira TO, Guimarães SAC. Histologic evaluation of the osteoinductive property of autogenous demineralized dentin matrix on surgical bone defects in rabbit skulls using human amniotic membrane for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16(4): 563-71.
- Schmid J, Wallkamm B, Hämmerle CHF, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res.* 1997; 8(3): 244-8.

Recebido em: 16/3/2006
Aprovado em: 21/10/2006