

Utilização de matriz óssea desmineralizada para reparo de falhas ósseas

Use of demineralized bone matrix in the repair of bone defects

Carlos Augusto Galvão BARBOZA^a, Lucas XAVIER^a, Gabriel Lamak Almeida da SILVA^a,
Diego Moura SOARES^b, José Sandro Pereira da SILVA^b

^aDepartamento de Morfologia, Centro de Biociências, UFRN – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59072-970 Natal - RN, Brasil

^bDepartamento de Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, UFRN – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59056-000 Natal - RN, Brasil

Resumo

Introdução: Diversos biomateriais têm sido propostos como substituto do osso autógeno em procedimentos cirúrgicos, destacando-se a Matriz Óssea Desmineralizada (MOD). **Objetivo:** O presente trabalho consiste em uma revisão sistemática da literatura sobre a utilização da MOD aplicada à regeneração óssea. **Material e método:** Realizou-se uma busca nas bases de dados PubMed e Science Direct, limitada a artigos publicados em inglês, utilizando-se quatro descritores relacionados ao tema. **Resultado:** A literatura mostra que a MOD é um tipo de aloenxerto constituído principalmente por colágenos e diversos fatores de crescimento, e que apresenta um melhor desempenho quando comparado com o autoenxerto, pois proporciona uma boa capacidade osteoindutiva e não exige outro sítio cirúrgico para a sua obtenção. A MOD é considerada menos imunogênica do que o osso homólogo mineralizado e sua preparação promove a eliminação efetiva de vírus, como o HIV. Tem sido utilizada no reparo de falhas ósseas estáveis, como cavidades císticas, e no tratamento de fraturas maxilares, dentre outras. Note-se que seu desempenho depende de um bom estado geral de saúde do paciente. **Conclusão:** A MOD tem um amplo espectro de utilização clínica por suas características biológicas favoráveis; todavia, o entendimento de suas propriedades é necessário para determinar a escolha da MOD nos procedimentos cirúrgicos reparadores.

Descritores: Transplante ósseo; matriz óssea; osseointegração.

Abstract

Introduction: Several biomaterials have been proposed as a substitute for autogenous bone in surgical procedures, highlighting the demineralized bone matrix (DBM). **Objective:** The paper consists of a systematic review of the literature on the use of DBM in the repair of bone defects. **Material and method:** The literature search was performed on PubMed and Science Direct databases, limited to papers published in English, using four search terms. **Result:** The literature shows that DBM is a type of allograft consisting of collagen and various growth factors, and it presents a better performance when compared to autograft - once it provides a good osteoinductive capacity and does not require another surgical site. DBM is considered less immunogenic than the mineralized bone and the preparation process promotes the effective elimination of viruses such as HIV. It has been used to repair stable bone defects as cystic cavities and for the treatment of jaw fractures, among others, and their performance depends on the patient's general state of health. **Conclusion:** Due to its favorable biological characteristics, DBM has a broad spectrum of clinical use; however, the understanding of its properties is required to base their choice on surgical repair.

Descriptors: Bone transplantation; bone matrix; osseointegration.

INTRODUÇÃO

Um dos principais objetivos da cirurgia óssea reconstrutiva é o restabelecimento do arcabouço ósseo perdido, utilizando técnicas que simulem os mecanismos biológicos de reparo e remodelação óssea. Sabe-se que o osso autógeno é o material mais adequado

para atingir esse objetivo em função das suas propriedades biológicas favoráveis¹. O uso de autoenxertos diminui os riscos de transmissão de doenças infecciosas e conserva as propriedades de osteocondução, osteoindução e osteogênese, que são ideais para

um bom resultado clínico. Além disso, não há resposta imune depois da implantação, reforçando a habilidade de integração ao local receptor².

Entretanto, esse tipo de enxerto possui limitações de uso, como quantidade insuficiente em fontes doadoras escassas - como em regiões intraorais - e em crianças e pacientes já submetidos a cirurgias anteriores, que exauriram áreas potencialmente doadoras de osso³. Diversos materiais têm sido propostos como substitutos do osso autógeno. Para ser considerado um substituto ósseo ideal, o biomaterial necessita apresentar algumas características importantes, tais como: ser quimicamente inerte, para que, dessa forma, não venha a gerar reações inflamatórias indesejadas; não causar modificação física no tecido; não provocar reação alérgica ou do tipo corpo estranho, e ser obtido na quantidade e na forma necessárias para preencher o defeito ósseo. Além disso, deve apresentar resistência mecânica, preparo simples, baixo custo e fácil estocagem e transporte⁴.

Um dos materiais de enxerto que vêm adquirindo maior destaque nas pesquisas é a matriz óssea desmineralizada (MOD), a qual é composta por diversos tipos de colágenos e fatores de crescimento, apresentando assim características osteoindutivas. É processada por métodos de liofilização e descalcificação, além de ser indicada como substituto ósseo para o preenchimento de cavidades ósseas e reconstruções faciais, com bons resultados. Várias técnicas e substâncias têm sido propostas como métodos de desmineralização do tecido ósseo²⁻⁴. A escolha do método de processamento da matriz óssea influencia diretamente nas propriedades e na composição dessa matriz. Muitas das substâncias utilizadas, se não bem manipuladas, podem afetar negativamente a estrutura do colágeno remanescente, bem como os fatores de crescimento presentes, interferindo nas propriedades de osteocondução e osteoindução da matriz.

O presente trabalho constitui uma revisão sistemática da literatura referente à utilização da MOD no reparo de falhas ósseas. São abordadas algumas características importantes do material, como a sua composição, o processamento, as propriedades e as aplicações clínicas.

METODOLOGIA

Este estudo caracterizou-se por uma busca bibliográfica nas bases de dados eletrônicas PubMed e Science Direct, limitando-se a artigos publicados no período de 1990 a 2011. Os termos utilizados para seleção dos artigos foram: *Demineralized bone matrix* AND *Bone defects*; *Demineralized bone matrix* AND *Bone regeneration*, e *Demineralized bone matrix* AND *Osseointegration*. Foram incluídos os artigos publicados em inglês e que apresentavam como tema principal a matriz óssea desmineralizada.

Após aplicação das estratégias de busca, foram encontradas 713 referências, cujos resumos foram analisados independentemente por três autores. A partir da leitura dos resumos, os artigos foram classificados como elegíveis (estudos que apresentaram relevância e tinham possibilidade de ser incluídos na revisão) e não elegíveis (estudos sem relevância,

sem possibilidade de inclusão na revisão). Dentre os critérios observados para a escolha dos artigos, foram considerados os seguintes aspectos: disponibilidade do texto integral do estudo; clareza no detalhamento metodológico utilizado; estudos clínicos e pré-clínicos que se propuseram a avaliar as propriedades da MOD, e artigos que abordavam as propriedades e características biológicas da MOD.

Após avaliação dos artigos completos, os autores chegaram a um consenso de 27 trabalhos para utilização na presente revisão. Foram acrescentadas ainda três referências de trabalhos clássicos sobre o tema, obtidas por meio da busca manual em listas de referências dos artigos selecionados e que seguiram os mesmos critérios de inclusão.

DESENVOLVIMENTO

1. Composição da Matriz Óssea Desmineralizada

Os componentes orgânicos e inorgânicos da MOD são divididos em: a) colágenos, que constituem 93% da MOD, sendo mais de 90% destes representados por colágeno tipo I, e o restante representado por colágenos III, V e fibrilas heterotípicas, que são mantidos após o processo de desmineralização, fornecendo uma superfície osteocondutora; b) proteínas não colágenas, como as proteínas morfogenéticas ósseas ou BMPs (com capacidade osteoindutora) e as proteínas de crescimento sinérgico (fator de crescimento transformador- β , fator de crescimento semelhante à insulina, fator de crescimento derivado de plaquetas e fator de crescimento de fibroblastos), que são produzidas pelos osteoblastos e incorporadas na matriz extracelular durante a formação óssea, representando cerca de 5% da MOD, e c) uma matriz mineralizada residual, que constitui os 2% restantes da MOD⁵.

O principal componente da MOD responsável pela sua atividade óssea indutiva é um grupo de glicoproteínas de baixo peso molecular contidas dentro da fase orgânica, das quais as mais importantes são as BMPs. Quando o osso cortical é descalcificado, essas proteínas osteoindutoras, que estão incrustadas dentro da matriz mineralizada, ficam expostas, aumentando assim o processo de formação óssea⁶.

2. Processamento da Matriz Óssea Desmineralizada

Um dos métodos de processamento mais comuns da MOD consiste na liofilização e na descalcificação com ácido hidrocloreto. A pulverização e a descalcificação, que normalmente são realizadas com ácido hidrocloreto, resultam na perda da maior parte do componente mineralizado, mas retêm colágeno do tipo I, proteínas não colágenas e fatores de crescimento osteoindutivos. Dentre estes, figuram as proteínas ósseas morfogenéticas ósseas (BMPs), os fatores de diferenciação e, possivelmente, outros fatores de crescimento transformantes (TGF-b1, TGF-b2, TGF-b3). Tal potencial osteoindutivo vem sendo identificado em estudos in vitro por meio de marcadores radiológicos e químicos⁵.

Nade, Burwell⁷ demonstraram que diferentes ácidos usados para desmineralizar o osso, antes da implantação, afetaram suas propriedades químicas e bioquímicas. Os enxertos mineralizados promoveram a formação de células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranhas; diversamente, nos desmineralizados em HCl, não houve formação dessas células. Após a desmineralização, Tuli, Singh⁸ sugeriram que o etanol a 70% pode ser um bom agente preservador, pois evita a desnaturação das proteínas osteoindutoras.

Normalmente, os aloenxertos ósseos são preparados para ser usados por congelamento, liofilização ou descalcificação. O método de congelamento simples de aloenxerto ósseo é conhecido por ser mais antigênico do que a liofilização ou a descalcificação. Todas essas formas de preparação destroem a viabilidade dos osteócitos vivos dentro do enxerto, eliminando assim todas as propriedades osteogênicas. Quando se utiliza MOD, o método de descalcificação nesses espécimes consegue manter suas propriedades condutoras indutivas e preservar os fatores de crescimento, BMPs, colágeno e proteoglicanos da matriz⁹.

A técnica de liofilização em tecido ósseo, adequada a biomateriais de enxertos homogêneos, consiste na retirada de umidade do osso previamente desengordurado, o que permite a possibilidade de estocagem por longos períodos, além de reduzir a carga antigênica dos biomateriais, diminuir o risco de infecções e possuir propriedades osteopromotoras¹⁰.

Um estudo realizado por Pietrzak et al.¹¹ investigou o potencial osteoindutivo da MOD por meio de dois bioensaios e um estudo de caso clínico. Fragmentos ósseos de um doador foram liofilizados e desmineralizados. Ensaio bioquímico revelaram quantidades significativas de BMP-2, BMP-4 e BMP-7, evidenciando a permanência desses fatores de crescimento na matriz após o processamento e a desmineralização. A MOD liofilizada foi utilizada para a preparação de uma pasta (Osteostim DBM Putty), que foi aplicada como implante intramuscular em ratos. A análise histológica após 28 dias de enxertia revelou uma significativa formação óssea ($6.7\% \pm 3.5\%$ de neoformação óssea, com $49\% \pm 17\%$ da área do implante associada a osso neoformado). A pasta, em associação com fixação interna, foi utilizada em uma falha óssea de tornozelo. Após 12 semanas de pós-operatório, foi observada a união radiográfica com excelente incorporação do enxerto. A manutenção de um resultado clínico aceitável foi observada até 14 meses de seguimento da paciente.

Dentre as características de uso da MOD, destaca-se a variabilidade da atividade osteoindutiva (potencial osteoindutor) por doador. Essa variabilidade é evidente tanto em avaliações in vitro como in vivo da atividade da MOD, a qual também pode ser influenciada significativamente pelo processamento do tecido. Portanto, a American Association of Tissue Banks (AATB) e a Food and Drug Administration (FDA) exigem que cada lote de MOD deve ser obtido de um único doador humano¹².

O processo de desmineralização destrói os materiais antigênicos do osso e, por essa razão, a MOD é considerada menos imunogênica do que o osso homólogo mineralizado¹³. Por tratar-se de um produto alogênico, há o risco teórico de transmissão do vírus HIV, além de outros vírus e infecções bacterianas¹⁴. Todavia, a seleção do tecido que posteriormente

será utilizado como enxerto é bastante rigorosa e o processo de descalcificação e esterilização tem mostrado inativar e eliminar o HIV, bem como outros micro-organismos, reduzindo o risco de transmissão substantivamente. De acordo com a American Association of Tissue Banks, nenhum caso de transmissão viral foi registrado em mais de dois milhões de cirurgias usando aloenxerto ósseo no período de cinco anos¹⁵.

Swenson, Arnoczky¹⁶ avaliaram a eficiência do processo de desmineralização na inativação de um retrovírus semelhante ao HIV. Gatos foram infectados com o vírus da leucemia felina (FeLV) por inoculação intravenosa e, após oito semanas, os animais foram submetidos à eutanásia para retirada dos ossos longos. Um segmento de osso cortical de cada animal foi utilizado como controle positivo e outro segmento (grupo experimental) foi submetido à desmineralização com uma solução de Triton X-100, 0.6 N HCl e, posteriormente, submerso em etanol 70%. Os fragmentos de osso cortical mineralizado e de MOD foram enxertados no canal medular da tíbia de novos animais. Após oito semanas, os resultados demonstraram que todos os animais que receberam osso mineralizado foram considerados positivos para a infecção viral até a segunda semana, persistindo a infecção em alguns deles nas semanas seguintes. Já no grupo teste (matriz óssea desmineralizada) não houve resultado positivo para infecção em nenhum dos animais estudados em todos os períodos analisados (até oito semanas), demonstrando que o vírus foi inativado pelo processo de desmineralização.

Embora vários estudos tenham mostrado que o comportamento clínico e o potencial osteoindutor da MOD estão relacionados com a presença ou a ausência da atividade das BMPs - a qual sofre influência por diversas características, como idade e gênero do doador -, ainda não há evidências suficientes que confirmem esse fato⁶.

3. Tipos e Indicações da Matriz Óssea Desmineralizada

A MOD é uma das primeiras alternativas comercialmente disponíveis para os enxertos ósseos autógenos¹⁷ e tem sido usada como material de enxertia para defeitos esqueléticos estáveis, como cistos e cavidades ósseas¹⁸, defeitos na união de ossos longos¹⁹, defeitos ósseos agudos provocados por fraturas¹⁴, correção de grandes defeitos ósseos causados pela retirada de tumores malignos²⁰, intervenções cirúrgicas na coluna vertebral²¹, falhas ósseas relacionadas à implantodontia²² e aumento do seio maxilar²³.

Com relação à forma de apresentação, a MOD é comercialmente disponível nas formas de pó, gel e pasta. Além disso, a formulação pode ser suplementada com fragmentos de osso, matriz extracelular processada e outros substitutos de enxerto, como grânulos de sulfato de cálcio. Nos últimos dez anos, o uso da MOD em conjunto com um transportador tem se tornado um tratamento mais popular de enxerto ósseo. Os transportadores mais comumente utilizados nessa combinação são glicerol, gelatina, ácido hialurônico e sulfato de cálcio, os quais ajudam na retenção do enxerto na localização anatômica desejada, embora a utilização destes não forneça osteoindutividade adicional²².

Os transportadores também podem evitar a difusão de fatores de crescimento a partir do tecido implantado. Para aumentar a disponibilidade de fatores osteogênicos e células pluripotentes, pode-se combinar também a MOD com células mesenquimais da medula óssea²⁴.

Orthoblast II (Isotis Orthobiologics, Irvine, CA, EUA) é uma MOD composta de 19,5% de osso desmineralizado e 12,5% de enxerto esponjoso, capaz de prover tanto a osteoindutividade como a osteocondutividade. Apresenta uma mudança de solidez, na qual é macia à temperatura ambiente e rígida à temperatura corporal, característica que possibilita ao profissional uma fácil manipulação do material e garante que a estrutura se mantenha estável no ambiente oral^{19,25}.

4. Propriedades da Matriz Óssea Desmineralizada

Os fatores de crescimento exercem importantes funções durante o processo de reparação óssea, tanto na iniciação quanto na manutenção da diferenciação e da proliferação das células osteoprogenitoras e dos osteoblastos, que contribuem para a neoformação óssea. As BMPs são expressas durante as fases precoces da reparação óssea e atuam estimulando as células mesenquimais indiferenciadas do local a se transformarem em osteoblastos (osteoindução) e as estruturas colágenas das partículas de MOD permitem ainda a migração de tecido para o local do implante (osteocondução)²⁶.

A capacidade osteoindutora da MOD é o resultado da mobilização de vários fatores de crescimento presentes na matriz extracelular durante o processo de desmineralização, assim tornando essas potentes moléculas bioativas disponíveis no ambiente hospedeiro⁵. A indução mais provável ocorre pela interação desses fatores osteoindutivos com as células-tronco, resultando na transformação tecidual¹⁷. A função da matriz se deve à imobilização da proteína osteoindutora em um sítio particular por um tempo suficiente para que ocorra a indução óssea²². Na medida em que a MOD não apresenta atividade osteogênica, a formação óssea que ocorre se deve à influência osteoindutora exercida pela matriz implantada⁸.

Estudos com a MOD *in vitro* e *in vivo* mostram resultados diferentes. Esse fato pode estar relacionado com os modelos de estudo empregados, sendo difícil reproduzir *in vitro* algumas características biológicas, tais como vascularização e recrutamento celular. O sucesso clínico da MOD está diretamente relacionado a um ambiente tecidual bem vascularizado, capaz de promover o recrutamento de células-tronco e a diferenciação celular. Nesse sentido, ambientes teciduais anóxicos ou avasculares promovem uma diminuição das propriedades de osteocondução e osteoindução da MOD²⁵.

Os fenômenos indutivos promovidos pela MOD foram caracterizados por Lane, Sandhu²⁷ como uma cascata sequencial de eventos inter-relacionados, semelhante ao que ocorre durante a ossificação endocondral. Os autores observaram que, histologicamente, a formação óssea intramembranosa pareceu ser o evento predominante, com áreas de ossificação endocondral na interface osso receptor e implante.

A cicatrização óssea normal ocorre em um ambiente relativamente hipóxico. À medida que o influxo de células inflamatórias chega ao local da fratura/osteotomia, o aumento da acidez diminui a tensão de oxigênio e estimula células-tronco osteoprogenitoras. Em uma fratura simples, essas células-tronco osteoprogenitoras são encontrados principalmente no endósteo e na camada do periósteo. É nessa fase que BMPs transportadas pela MOD podem ajudar na fusão óssea por sinalizarem células-tronco, principalmente por meio da transformação do fator de crescimento da superfamília β , para se tornarem células osteoprogenitoras e então iniciar-se o processo de criação de um novo osso^{22,25,27}.

Recentes evidências sugerem que a saúde geral do paciente pode ser importante para a atividade da matriz óssea desmineralizada. Sua atividade osteoindutiva tem-se mostrado ser dependente do nível de estrógeno, uma importante consideração para mulheres pós-menopáusicas e sua relação com fraturas causadas pela osteoporose. Adicionalmente, a MOD pode ter sua atividade secundária reduzida pelo uso da nicotina, pois esta retarda a osteogênese e inibe o crescimento vascular. Extratos de fumaça também causam resistência à calcitonina, aumentam a reabsorção final da fratura e promovem a diminuição da função dos osteoblastos. Isso é significativo como um resultado da alta taxa de não uniões ósseas em usuários de tabaco¹⁹.

5. Ensaios Clínicos Utilizando Matriz Óssea Desmineralizada

Hierholzer et al.²⁸ publicaram um estudo retrospectivo de tratamentos em fraturas de úmero, comparando dois tipos de enxertos: autógeno, derivado da crista ilíaca, e MOD. Ao analisar as uniões bem sucedidas nas avaliações clínica e radiológica após quatro meses da intervenção, verificou-se que 97% dos pacientes tratados com MOD obtiveram cura, enquanto que, no grupo tratado com enxerto autógeno, a consolidação das falhas ósseas ocorreu em 100% dos pacientes. Essa diferença é observada em função da manutenção do microambiente ósseo que é mantido no enxerto autógeno. A ausência desse microambiente (microvascularização, células mesenquimais indiferenciadas, fatores de crescimento) pode ser amenizada quando se utilizam aloenxertos combinados com compostos osteoindutores, como células mesenquimais e plasma rico em plaquetas (PRP).

Na Odontologia, a MOD vem sendo utilizada tanto em cirurgias de reconstruções faciais associadas ao trauma quanto em cirurgias orais aplicadas à implantodontia e ao tratamento de doenças. Com o objetivo de avaliar o efeito da MOD em cirurgias de levantamento de seio maxilar, Sohn et al.²³ utilizaram MOD como meio de enxertia em cinco pacientes que necessitavam de um aumento no seio maxilar para posterior implante. Após um período de seis meses, a análise por meio de biópsia mostrou que a MOD foi favorável à osseointegração, proporcionando, além do travamento inicial dos implantes, uma união e uma neoformação óssea entre osso e implante. Tal ocorrência possibilitou a restauração final sem maiores complicações; inclusive, a análise histológica mostrou a reabsorção e a integração do material

enxertado ao tecido ósseo neoformado sem reação alérgica ou do tipo corpo estranho.

Em um estudo realizado por Kim et al.²⁹ com o objetivo de avaliar a regeneração óssea em implantodontia utilizando MOD, 14 pacientes foram enxertados com MOD e Ossix (membrana de colágeno que tem um maior grau de biocompatibilidade, além de promover a diferenciação e a proliferação de fibroblastos, com capacidade de aumentar a espessura da gengiva), para verificar a regeneração de defeitos de deiscência ao redor de implantes. Os pacientes foram divididos em dois grupos: o primeiro foi submetido à biópsia de fragmentos ósseos quatro meses após a cirurgia de enxertia; o segundo grupo, após seis meses. A avaliação após quatro meses mostrou uma estabilidade da formação de novo osso, com variável formação de trabéculas ósseas e de osso lamelar. No grupo de seis meses, todos os aspectos analisados mostraram-se favoráveis. A análise histomorfométrica revelou uma média de neoformação óssea de 45% aos quatro meses e 61,7% aos seis meses, mostrando uma regeneração óssea favorável em um período de seis meses, além de apresentar sinais de remodelação óssea e reabsorção dos materiais de enxerto.

Com a finalidade de avaliar clinicamente a utilização da MOD em aumento de seio maxilar seguido de colocação de implantes, Irrinakakis, Perio³⁰ (2011) selecionaram 49 pacientes, os quais foram submetidos a aumento de seio e colocação de implante unitário. No grupo controle (n = 27), foi utilizado como material

de enxerto o osso alógeno particulado e, no grupo teste (n = 22), a MOD alógena em forma de pasta injetável. Seis meses após o procedimento cirúrgico, foram colocados os pilares e, decorridas duas semanas, os implantes receberam carga. Foram realizados acompanhamentos clínico e radiográfico em um período de até 24 meses após a cirurgia. Observou-se um tempo cirúrgico significativamente menor nos pacientes do grupo teste e ausência de complicação em ambos os grupos, com 100% de sucesso no acompanhamento de dois anos. Os autores concluíram que a MOD em forma de pasta, quando utilizada para o aumento de seio, apresenta comportamento clínico semelhante ao do osso alógeno particulado, com a vantagem de requerer um menor tempo cirúrgico.

CONCLUSÃO

De acordo com os artigos analisados, pode-se afirmar que a MOD tem um grande potencial como material de enxerto, apresentando perspectivas importantes no reparo de falhas ósseas e resultados semelhantes àqueles obtidos com fragmentos ósseos mineralizados. Além disso, o comportamento menos imunogênico e a preservação dos fatores de crescimento após o processo de desmineralização tornam a MOD uma opção viável para utilização nos procedimentos cirúrgicos que visam a regeneração óssea.

REFERÊNCIAS

1. Tsonis PA. Regenerative biology: the emerging field of tissue repair and restoration. *Differentiation* 2002; 70: 397-409. PMID:12366377. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1432-0436.2002.700802.x>
2. Bostrom MP, Seigerman DA. The clinical use of allografts, demineralized bone matrices, synthetic bone graft substitutes and osteoinductive growth factors: a survey study. *HSS J*. 2005; 1(1): 9-18. PMID:18751803 PMID:2504134. <http://dx.doi.org/10.1007/s11420-005-0111-5>
3. Leite FR, Ramalho LT. Bone regeneration after demineralized bone matrix and castor oil (*Ricinus communis*) polyurethane implantation. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16: 122-6. PMID:19089203. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572008000200008>
4. Zheng L, Wang Q. The current situation and future of extracellular matrix materials for bone tissue engineering. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2001; 18: 470-4 PMID:11605519.
5. Kale AA, Di Cesare PE. Osteoinductive agents. Basic science and clinical applications. *Am J Orthop*. 1995; 24: 752-61. PMID:8593557.
6. Traianedes K, Russel JL, Edwards JT, Stubbs HA, Shanahan IR, Knaack D. Donor age and gender effects on osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004; 70: 21-9. PMID:15199579. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.30015>
7. Nade S, Burwell RG. Decalcified bone as a substrate for osteogenesis. An appraisal of the interrelation of bone and marrow in combined grafts. *J Bone Joint Surg Br*. 1977; 59: 189-96. PMID:406261.
8. Tuli SM, Singh AD. The osteoinductive property of decalcified bone matrix. An experimental study. *J Bone Joint Surg Br*. 1978; 60: 116-23. PMID:342532.
9. Kado K, Gambetta L, Perlman M. Uses of Grafton for reconstructive foot and ankle surgery. *J Foot Ankle Surg*. 1996; 35(1): 59-66. [http://dx.doi.org/10.1016/S1067-2516\(96\)80014-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1067-2516(96)80014-7)
10. Helder MN, Karg H, Bervoets TJ, Vukicevic S, Burger EH, D'Souza RN, et al. Bone morphogenetic protein-7 (osteogenic protein-1, OP-1) and tooth development. *J Dent Res*. 1998; 77: 545-54. PMID:9539457. <http://dx.doi.org/10.1177/00220345980770040701>
11. Pietrzak WS, Perns SV, Keyes J, Woodell-May J, McDonald NM. Demineralized bone matrix graft: a scientific and clinical case study assessment. *J Foot Ankle Surg*. 2005; 44:345-53. PMID:16210154. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jfas.2005.07.006>
12. Russell JL, Block JE. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact of processing techniques and study methodology. *Orthopedics*. 1999; 22: 524-33. PMID:10348114.
13. Guizzardi S, Di Silvestre M, Scandroglio R, Ruggeri A, Savini R. Implants of heterologous demineralized bone matrix for induction of posterior spinal fusion in rats. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1992; 17: 701-7.
14. Newman JT, Smith WR, Ziran BH, Hasenboehler EA, Stahel PF, Morgan SJ. Efficacy of composite allograft and demineralized bone matrix graft in treating tibial plateau fractures with bone loss. *Orthopedics*. 2008; 31: 649. <http://dx.doi.org/10.3928/01477447-20080701-17>

15. Gamradt SC, Lieberman JR. Bone graft for revision hip arthroplasty: biology and future applications. *Clin Orthop Relat Res.* 2003; 417: 183-94. PMID:14646716.
16. Swenson CL, Arnoczky SP. Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone. *J Bone Joint Surg Am.* 2003; 85A:323-32.
17. Kinney RC, Ziran BH, Hirshorn K, Schlatterer D, Ganey T. Demineralized bone matrix for fracture healing: fact or fiction? *J Orthop Trauma.* 2010; 24(Suppl 1): 52-5. PMID:20182237. <http://dx.doi.org/10.1097/BOT.0b013e3181d07ffa>
18. Killian JT, Wilkinson L, White S, Brassard M. Treatment of unicameral bone cyst with demineralized bone matrix. *J Pediatr Orthop.* 1998; 18: 621-4. PMID:9746413.
19. Ziran B, Cheung S, Smith W, Westerheide K. Comparative efficacy of 2 different demineralized bone matrix allografts in treating long-bone nonunions in heavy tobacco smokers. *Am J Orthop (Belle Mead NJ).* 2005; 34: 329-32. PMID:16130350.
20. Jin DD. Bone matrix gelatin. Clinical application in 38 cases. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 1991; 29: 312-5. PMID:1914695.
21. Morone MA, Boden SD. Experimental posterolateral lumbar spinal fusion with a demineralized bone matrix gel. *Spine (Phila Pa 1976).* 1998; 23: 159-67.
22. Kim YK, Yun PY, Kim SG, Kim BS, Ong JL. Evaluation of sinus bone resorption and marginal bone loss after sinus bone grafting and implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107: 21-8. PMID:19138634. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.09.033>
23. Sohn DS, Bae MS, Choi BJ, An KM, Shin HI. Efficacy of demineralized bone matrix paste for maxillary sinus augmentation: A histologic and clinical study in humans. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108: 30-5. PMID:19836711. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.06.042>
24. Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005; 13(1): 77-86. PMID:15712985.
25. Babbush C. Histologic evaluation of human biopsies after dental augmentation with a demineralized bone matrix putty. *Implant Dent.* 2003; 12: 325-32. PMID:14752969. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ID.0000095466.18042.31>
26. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing: effects on osteoblasts, osteotomies, and implants fixation. *Acta Orthop Scand.* 1998; 283: 2-37.
27. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 213-25. PMID:3550572.
28. Hierholzer C, Sama D, Toro JB, Peterson M, Helfet DL. Plate fixation of ununited humeral shaft fractures: effect of type of bone graft on healing. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88: 1442-7. PMID:16818968. <http://dx.doi.org/10.2106/JBJS.E.00332>
29. Kim YK, Kim SG, Lim SC, Lee HJ, Yun PY. A clinical study on bone formation using a demineralized bone matrix and resorbable membrane. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109: 6-11. PMID:20417135. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.01.012>
30. Irrinakis T, Perio D. Efficacy of injectable demineralized bone matrix as graft material during sinus elevation surgery with simultaneous implant placement in the posterior maxilla: clinical evaluation of 49 sinuses. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011; 69: 134-41. PMID:21050634. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joms.2010.07.028>

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Carlos Augusto Galvão Barboza
Av. Salgado Filho, 3000, Campus Universitário, 59072-970 Natal - RN, Brasil
e-mail: cbarboza@cb.ufrn.br

Recebido: 08/10/2011
Aprovado: 16/03/2012