PATRÍCIA ZANATTA ARANHA CONEGLIAN

***AVALIAÇÃO DO PROCESSO EVOLUTIVO DE REPARO ÓSSEO
FRENTE AO SULFATO DE CÁLCIO E À HIDROXIAPATITA. ESTUDO
MICROSCÓPICO EM ALVÉOLOS DENTÁRIOS DE RATOS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de Endodontia.

BAURU

2007

PATRÍCIA ZANATTA ARANHA CONEGLIAN

***AVALIAÇÃO DO PROCESSO EVOLUTIVO DE REPARO ÓSSEO
FRENTE AO SULFATO DE CÁLCIO E À HIDROXIAPATITA. ESTUDO
MICROSCÓPICO EM ALVÉOLOS DENTÁRIOS DE RATOS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

BAURU

2007

C765a

Coneglian, Patrícia Zanatta Aranha

Avaliação do processo evolutivo de reparo ósseo frente ao sulfato de cálcio e à hidroxiapatita. Estudo microscópico em alvéolos dentários de ratos / Patrícia Zanatta Aranha Coneglian. -- Bauru, 2007. 254 p. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru . Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura da autora:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Processo n.º: 22/2005

Data: 17 de novembro de 2005

Data: 01 de novembro de 2006

DADOS CURRICULARES

Patrícia Zanatta Aranha Coneglian

21 de maio de 1977

Nascimento

Siqueira Campos/PR

Oscar Aranha e

Filiação

Maria Alice Zanatta Aranha

1995-1999

Curso de Odontologia na Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba - PR

2003-2004

Curso de Especialização em Endodontia na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo

2005-2007

Curso de Pós-Graduação em Endodontia, em nível de Mestrado na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo

Associações

CRO/MS – Conselho Regional de Odontologia de Mato Grosso do Sul

ABO/MS – Associação Brasileira de Odontologia de Mato Grosso do Sul, Seção Campo Grande

SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

Dedicatórias

Ao amor da minha vida,
meu esposo **Olivar Augusto**.

Como expressar com palavras tudo que sinto por você?
No começo achei que não fosse conseguir. Eu, iniciando meu Mestrado, precisando estar em Bauru a semana toda e você, já cursando o seu, podendo nos encontrar somente nos finais de semana. Ficar longe era meu maior sofrimento.
Mas como sempre, com sua inteligência, você me incentivava, e dizia que não nos arreperderíamos pelo que passávamos, pois sabia o quanto eu queria estar aqui.
Hoje, no final do curso, vejo que fizemos o que era certo. Valeu a pena!
Conseguimos superar todas as dificuldades, saudades, momentos de impaciência, pois vibrávamos também com cada hora de alegria.
E assim foi possível chegar ao final dessa etapa.
Seu amor, suas palavras e seu exemplo de garra fizeram com que eu vencesse todos os obstáculos.
Tenho certeza de que ainda vamos continuar na luta, pois adoramos aquilo que fazemos e somos persistentes.
E assim seremos também com nossa filha **Laura**, que está prestes a chegar.
Com certeza seremos bons exemplos, e saberemos mostrar para ela que tudo nessa vida deve ser conquistado com esforço e dedicação.

Obrigada por tudo,

T e A mo!

*“Eu só quero que você saiba
que eu estou pensando em você
agora e sempre mais
...que eu te adoro cada vez mais...”*
(Marisa Monte)

Aos meus pais

Oscar e Maria A lice

Pai e mãe não se escolhe, se é presenteado por Deus.

E que presente lindo eu recebi.

Acho que em nenhum dia vocês se esqueceram de mim, estavam sempre presentes, cada um da sua maneira, lutando para que tudo em minha vida ocorresse da melhor forma possível.

Meu pai sempre extremamente dedicado ao seu trabalho, preocupado em fazê-lo de forma correta e honesta, mostrando que isso é primordial naquilo que se realiza; tenho certeza que foi por tal motivo que conseguiu tudo de que precisou nessa vida.

Minha mãe, querendo sempre que eu e meus irmãos estudássemos, procurando escolas que nos dessem um ensino de qualidade, para sermos bons naquilo que realizássemos, é também minha eterna e melhor conselheira e companheira de todas as horas.

Espero ter merecido tudo o que fizeram por mim, me amparando, amando, fortalecendo e estimulando. Saibam que tudo o que sou hoje tem influência de vocês, que se preocuparam em me passar valores que se levam para toda a vida.

Agradeço todos os dias a Deus por vocês existirem e me amarem.

Hoje lhes dedico essa vitória, pois foram vocês que plantaram a semente para que isso fosse possível.

“Há momentos na vida em que se deveria calar ... e deixar que o silêncio falasse ao coração; pois há sentimentos que a linguagem não expressa... e há emoções que as palavras não sabem traduzir” (autor desconhecido).

A mo-os Muito!

Ao meu orientador,

Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Acho que sou mesmo uma pessoa de muita sorte. Ter um orientador como o senhor não é para qualquer um.

Desde o momento que passei na prova do Mestrado tinha a intenção de fazer um trabalho biológico, mesmo sabendo que seria mais demorado e trabalhoso, pois nunca havia feito pesquisa em animais antes, e tudo o que é novo é mais difícil. Então, quando soube que o senhor seria meu orientador e conhecendo seu gosto por trabalhos desse tipo, vi que tudo se encaixava.

Em todos os momentos senti sua preocupação e dedicação, desde a escolha do tema e metodologia, realização do projeto piloto e do próprio experimento, processamento histológico, análise e fotografia das lâminas. Realmente posso dizer que o senhor foi surpreendente. Mesmo nas horas de medo e insegurança tinha sua presença e apoio, me passando calma, coragem e determinação.

Além disso, o senhor, junto com a sua esposa Stela, mostraram ser, para mim, pessoas especiais, sempre atenciosos, educados e preocupados tanto com o meu bem-estar quanto com o do Guto.

Desejo ao senhor, Dona Stela, Roberta, Alexandre, Leandra, Mariana e Gilberto muita alegria e saúde em suas vidas.

Muito Obrigada!

“O homem superior é modesto em seu discurso, mas excede em suas ações”.
(Confúcio)

Meu Deus,

A vida é um desafio diário. Contudo, dentro desse caminho, o que posso dizer é que o Senhor é muito generoso, pois, além de ter dado saúde a mim e a minha família, o que me reservou fora sua companhia, me iluminando, guiando e fortalecendo nas horas difíceis, protegendo nas incontáveis viagens e, principalmente, colocando pessoas maravilhosas ao meu redor, fazendo minha vida tão feliz.

“Senhor, eu sei que tu me sondas...

conheces meus pensamentos...

sabes todos os meus passos...

eu sei que tu me amas.”

(Salmo 139)

A gradecimentos

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso, existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”
(Fernando Sabino)*

Aos Professores do Departamento de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru, **P**rof. **D**r. **C**lóvis **M**onteiro **B**ramante, **P**rof. **D**r. **I**valdo **G**omes **d**e **M**oraes, **P**rof. **D**r. **N**orberty **B**ernandineli, **P**rof. **D**r. **R**oberto **B**randão **G**arcia.

Na graduação, tinha um sonho: fazer especialização em Endodontia na FOB. Mestrado, era algo muito distante.

Por vezes a vida nos abre caminhos que não podemos deixar de seguir. Hoje estou aqui, especialista, e agora concluindo o mestrado na Faculdade de Odontologia de Bauru.

Quando do início dos meus sonhos, já ouvia falar dos senhores, e agora, já com quase quatro anos de convivência, o que posso afirmar é que, mais do que profundos conhecedores da especialidade, tenho-os verdadeiramente como exemplos de professores; isso não só pela dedicação à docência e preocupação com a qualidade, mas pelo fato de mostrarem a todo momento que, por trás de um jaleco, sempre existe um ser humano.

Assim, não posso deixar de lembrar a forma carinhosa e fraternal com que me receberam e trataram durante esses anos.

Os meus sinceros agradecimentos e minha profunda admiração.

À direção da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor **Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro**, pelas condições oferecidas por essa unidade que fizeram possível a realização desse trabalho.

À Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa da Presidente **Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - **Capes**, pelo incentivo por meio da concessão da bolsa de estudos.

À minha querida e sempre professora de Endodontia **Profa. Dra. Vânia Portela Ditzel Westphalen**, pelos ensinamentos passados durante a graduação, pela atenção dispensada, e por despertar em mim o amor por essa Disciplina.

Aos amigos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, **Prof. Dr. Ulisses Xavier da Silva Neto** e **Prof. Dr. Everaldo Carneiro**, por trilharem um caminho na Faculdade de Odontologia de Bauru, que está sendo por mim seguido, pelo apoio, confiança e conselhos.

Aos professores dos cursos de Aperfeiçoamento e Especialização em Endodontia da Associação Brasileira de Odontologia de Campo Grande/MS, **Prof. Dr. Celso Kenji Nishiyama** e **Rogério Pereira Becegato**, por fazerem parte do meu aprimoramento profissional, por serem sempre atenciosos, receptivos e pela confiança depositada.

Aos meus amados irmãos **Marco** e **César** e à minha querida cunhada **Stefânia**, que sempre se preocuparam comigo, ajudaram-me e torceram por mim.

Aos meus lindos afilhados **Hellen**, **Vinícius** e **Giovanna** e aos meus compadres, por sempre entenderem os momentos em que eu não podia estar presente. Tenho vocês sempre na minha mente e no meu coração.

Aos meus sogros **Olivar** e **Ruth**, e às minhas cunhadas **Fabíola** e **Fabiana**, por acreditarem nesse sonho, pela dedicação e pela força.

À toda a família **Stoppa**, em especial à **Tia Rosa**, **Geraldo**, **Tia Isa**, **Cibele**, **Cilene**, **João** e **Cileide**, por serem tão carinhosos, pela lembrança em todos os momentos e por estarem sempre prontos para me ajudar.

A **F ernando A ccorsi Orosco.**

Pessoa que posso chamar de GRANDE AMIGO que, com sua generosidade, estimulava-me e ajudava em tudo que fosse preciso, mesmo sem, às vezes, eu pedir e, com seu jeito alegre, me fazia rir nos momentos de tristeza. Agradeço a dedicação e a amizade incondicional.

Às amigas **A drian a L ustosa P ereira e R oberta D ias Garcia,**

pelos momentos divertidos que passamos juntas, pelo apoio e pela ajuda incansável nos experimentos.

A **B runo V asconcelos, Carla S ipert, Márcia Magro e R amiro**

Oropeza não só colegas de turma, mas amigos, pois juntos enfrentamos esta difícil

etapa da vida na busca do conhecimento; em especial à **Clarice E loy,**

companheira, conselheira e, com sua alegria, divertida e entusiasmante; e **R onan**

D elgado, pessoa simples e transparente, dedicado e solícito em todos os momentos.

Às amigas do Departamento de Histologia

D aniele S anti Ceolin e T ânia Mary Cestari.

Pessoas excepcionais. Obrigada pela amizade, pela preocupação, pela generosidade, pelos ensinamentos tão valiosos e imprescindíveis para que fosse possível a realização do processamento histológico desse trabalho, além de toda a ajuda e por serem tão dedicadas em tudo que realizam. Foi uma enorme alegria e satisfação trabalhar ao lado de vocês.

Aos professores do Departamento de Histologia, **Prof. Dr. Rumio Taga**, **Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis**, **Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet** e aos funcionários e estagiários desse Departamento, por permitirem que fosse realizada uma grande parte dessa pesquisa em seu local de trabalho, por me receberem tão bem e pela cortesia.

Aos funcionários do Departamento de Endodontia, **Suely Regina Bettio**, **Neide Leandro**, **Edimauro de Andrade** e **Patrícia Fernanda Vital Lopes**, por ajudarem em tudo o que fosse preciso, pela preocupação, pelo companheirismo e pela convivência durante esses anos.

Aos funcionários do Biotério, **José Carlos Silva** e **Erasmão Gonçalves Da Silva**, pela atenção dispensada durante a realização tanto das cirurgias como do sacrifício dos animais e pelo cuidado com meus ratos.

Aos professores da Disciplina de Cirurgia, **Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior** e **Prof. Dr. Eduardo Sant'ana**, por emprestarem os instrumentos usados para a realização das extrações dentárias nos animais.

Ao colega **Moacyr Tadeu Vicente Rodrigues**, do Mestrado em Estomatologia, por me ensinar a realizar as cirurgias e remover as hemimaxilas após a morte dos animais.

À empresa **Baumer S.A.**, pelo apoio e incentivo ao fornecer a Hidroxiapatita BTCP GenPhos para ser testada nessa pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Eulázio Mikio Taga**, consultor científico de empresa Baumer S.A., pelo interesse no desenvolvimento desse trabalho.

Ao **Prof. Dr. Rodrigo Cardoso de Oliveira**, do Departamento de Bioquímica, por sanar minhas dúvidas de forma tão receptiva e educada nos momentos em que precisei.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica **Ovídio dos Santos Sobrinho** e **Thelma Lopez Silva**, por serem sempre prestativos e medirem o pH dos materiais usados nesse trabalho.

Ao **Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris**, do Departamento de Saúde Coletiva, pela atenção e ajuda na realização da análise estatística desse trabalho.

Aos funcionários da biblioteca dessa Universidade, em especial à **Cybele Fontes,**
Rita Paglione, Valéria Ferraz, Vera Boccato, Ademir Padilha,
Ana Paula Moço, César Campos e Allan Dias, por sempre se
mostrarem dispostos a ajudar e desempenharem suas funções com dedicação.

A todas aquelas pessoas que, de uma forma ou de outra, estiveram presentes na
minha vida e fizeram possível a realização desse sonho,

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RESUMO

1	INTRODUÇÃO	61
2	REVISÃO DA LITERATURA	69
2.1.	TECIDO ÓSSEO	69
2.1.1	Características	69
2.1.2	Processo de reparo	71
2.2	SULFATO DE CÁLCIO	74
2.3	HIDROXIAPATITA	93
3	PROPOSIÇÃO	113
4	MATERIAIS E MÉTODOS	117
4.1	ANIMAIS	117
4.2	MATERIAIS UTILIZADOS	117
4.2.1	Sulfato de cálcio di-hidratado	117
4.2.2	Hidroxiapatita BTCP GenPhos	118
4.3	ANESTESIA	118
4.4	INTERVENÇÃO CIRÚRGICA	121
4.5	GRUPOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE	122
4.6	OBTENÇÃO DAS PEÇAS	129
4.7	PROCESSAMENTO LABORATORIAL	133
4.8	FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	134
4.8.1	Análise descritiva	134
4.8.2	Análise quantitativa	137
4.8.2.1	Infiltrado inflamatório	137
4.8.2.2	Densidade de fibroblastos	138
4.8.2.3	Densidade angioblástica	138

4.8.2.4	Neoformação de tecido ósseo	139
4.8.3	Análise estatística	140
5	RESULTADOS	143
5.1	ANÁLISE DESCRITIVA	143
5.1.1	Grupo I – Controle – 7 dias	143
5.1.2	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 7 dias	149
5.1.3	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 7 dias	155
5.1.4	Grupo I – Controle – 15 dias	161
5.1.5	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 15 dias	165
5.1.6	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 15 dias	171
5.1.7	Grupo I – Controle – 30 dias	177
5.1.8	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 30 dias	181
5.1.9	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 30 dias	187
5.2	ANÁLISE QUANTITATIVA	191
5.2.1	Infiltrado inflamatório	191
5.2.2	Densidade de fibroblastos	193
5.2.3	Densidade angioblástica	195
5.2.4	Neoformação de tecido ósseo	197
5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	199
6	DISCUSSÃO	209
6.1	DA METODOLOGIA	209
6.2	DOS RESULTADOS	216
7	CONCLUSÕES	231
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	235
	ABSTRACT	253
	APÊNDICE	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sulfato de cálcio di-hidratado – Carlo Erba Reagenti	119
Figura 2 -	Hidroxiapatita BTCP GenPhos – Baumer S.A.	119
Figura 3 -	Sedativo e relaxante muscular Anasedan e anestésico Dopalen	119
Figura 4 -	Anti-sepsia do campo operatório	123
Figura 5 -	Sindesmotomia	123
Figura 6 -	Luxação do incisivo superior direito	123
Figura 7 -	Extração do incisivo superior direito	123
Figura 8 -	Incisivo superior direito extraído	123
Figura 9 -	Instrumentos cirúrgicos	125
Figura 10 -	Detalhe dos instrumentos cirúrgicos	125
Figura 11 -	Hidroxiapatita BTCP GenPhos manipulada	125
Figura 12 -	Sulfato de cálcio di-hidratado manipulado	125
Figura 13 -	Micro-porta-amálgama metálico	125
Figura 14 -	Inserção do material no alvéolo	125
Figura 15 -	Cone de guta-percha encurvado e calibrado	127
Figura 16 -	Compactação do material no alvéolo	127
Figura 17 -	Sutura	127
Figura 18 -	Dente antagonista desgastado	127
Figura 19 -	Pentabiótico Veterinário e antiinflamatório Ketofen 1%	127
Figura 20 -	Luxação da mandíbula	131
Figura 21 -	Incisão ao nível do plano sagital mediano	131
Figura 22 -	Incisão tangenciando a face distal do molar superior direito mais posterior	131
Figura 23 -	Hemimaxila direita	131
Figura 24 -	Hemimaxila direita após a remoção do tecido muscular localizado em sua parte externa	131
Figuras 25 -	Grupo I (controle) – 7 dias	145

Figura 25a -	Visão panorâmica do alvéolo exibindo áreas com coágulo sangüíneo (♦)	145
Figura 25b -	Tecido de granulação jovem (TG) e cortical óssea vestibular (CV)	145
Figura 25c -	Terço médio do alvéolo. Cortical óssea lingual (CL), trabéculas de tecido ósseo neoformado (★), tecido de granulação jovem (TG) e cortical óssea vestibular (CV)	147
Figura 25d -	Visão aproximada do tecido ósseo neoformado (★) e da cortical óssea lingual (CL)	147
Figuras 26 -	Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 7 dias	151
Figura 26a -	Área necrótica (AN) apresentando um de seus lados circundado por CGMN (→)	151
Figura 26b -	Terço médio do alvéolo. Área necrótica (AN), infiltrado neutrofílico (●), tecido de granulação em organização (TG) e focos de coágulo sangüíneo (♦)	151
Figura 26c -	Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e tecido de granulação em organização com intensa atividade fibroangioblástica (TG)	153
Figuras 27 -	Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 7 dias	157
Figura 27a -	Terço médio e parte do terço cervical do alvéolo com espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●). Entre os espaços, presença de tecido de granulação (TG)	157
Figura 27b -	Detalhe da figura anterior, evidenciando a cortical óssea vestibular (CV), espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●), e tecido de granulação jovem e em organização (TG) entre os espaços	157
Figura 27c -	Detalhe da figura anterior. Tecido de granulação em organização (TG) e macrófagos (→) em contato com a partícula de HA	159

Figura 27d -	Terço médio do alvéolo evidenciando a cortical óssea lingual (CL), neoformação óssea (★), tecido de granulação jovem e em organização (TG) e espaços deixados pelas partículas de HA (●)	159
Figuras 28 -	Grupo I (controle) – 15 dias	163
Figura 28a -	Terço cervical e parte do terço médio do alvéolo com intensa neoformação óssea (★) e presença de coágulo sangüíneo (♦)	163
Figura 28b -	Terço médio evidenciando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação em organização (TG)	163
Figuras 29 -	Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 15 dias	167
Figura 29a -	Terço cervical do alvéolo com neoformação óssea (★) a partir da cortical óssea lingual (CL)	167
Figura 29b -	Terço cervical. Áreas amorfas sugerindo focos de calcificação distrófica (►)	167
Figura 29c -	Terço cervical do alvéolo com áreas de aspecto basofílico granular, sugerindo resíduos do material implantado (▲)	169
Figura 29d -	Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação com intensa vascularização (TG) e coágulo sangüíneo (♦)	169
Figuras 30 -	Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 15 dias	173
Figura 30a -	Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●) e cortical óssea vestibular (CV)	173
Figura 30b -	Espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●), tendo, de permeio, tecido ósseo neoformado (★)	173
Figura 30c -	Detalhe da figura anterior mostrando áreas de neoformação óssea (★) e células macrofágicas (→) em contato com as partículas de HA (●)	175
Figura 30d -	Partícula de HA (●) apresentando em sua periferia células macrofágicas mono e multinucleadas (→)	175

Figuras 31 -	Grupo I (controle) – 30 dias	179
Figura 31a -	Terço cervical e parte do terço médio do alvéolo evidenciando neoformação óssea do tipo intensa (★)	179
Figura 31b -	Terço médio do alvéolo com neoformação de tecido ósseo (★), e cortical óssea lingual (CL)	179
Figuras 32 -	Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 30 dias	183
Figura 32a -	Terço cervical evidenciando tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação com intensa vascularização (TG)	183
Figura 32b -	Terço cervical apresentando tecido de granulação em organização (TG) e focos basofílicos compatíveis com calcificação distrófica (■)	183
Figura 32c -	Detalhe da figura anterior mostrando as áreas sugestivas de calcificação distrófica (■) envolvidas por osso neoformado (★), e áreas basofílicas de aspecto granular, sugerindo resíduos do material implantado (▲)	185
Figura 32d -	Terço cervical do alvéolo mostrando áreas de aspecto granular sugerindo resíduos do material implantado (▲)	185
Figuras 33 -	Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 30 dias	189
Figura 33a -	Terço cervical do alvéolo evidenciando os espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●) e, de permeio, tecido ósseo neoformado (★)	189
Figura 33b -	Partícula de HA (●) apresentando parte de sua superfície em contato com o osso neoformado (★) e outra parte circundada por tecido de granulação com macrófagos e CGMN (→)	189
Figura 34 -	Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à intensidade do infiltrado inflamatório conforme os períodos pós-operatórios e os grupos	192
Figura 35 -	Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à densidade de fibroblastos conforme os períodos pós-operatórios e os grupos	194

Figura 36 -	Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à densidade angioblástica conforme os períodos pós-operatórios e os grupos	196
Figura 37 -	Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo, nos terços cervical e médio, conforme os períodos pós-operatórios e os grupos	198

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados observados nos espécimes dos grupos experimentais e controle em cada período pós-operatório	136
Tabela 2 -	Escores atribuídos aos espécimes dos grupos experimentais e controle conforme os critérios estabelecidos na análise quantitativa, dentro de cada período pós-operatório	140
Tabela 3 -	Grupo I – Controle – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados	144
Tabela 4 -	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados	150
Tabela 5 -	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados	156
Tabela 6 -	Grupo I – Controle – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados	162
Tabela 7 -	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados	166
Tabela 8 -	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados	172
Tabela 9 -	Grupo I – Controle – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados	178
Tabela 10 -	Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados	182
Tabela 11 -	Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados	188
Tabela 12 -	Escores atribuídos quanto ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 7 dias	192
Tabela 13 -	Escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 15 dias	192
Tabela 14 -	Escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 30 dias	192

Tabela 15 -	Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 7 dias	194
Tabela 16 -	Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 15 dias	194
Tabela 17 -	Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 30 dias	194
Tabela 18 -	Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados – período de 7 dias	196
Tabela 19 -	Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados – período de 15 dias	196
Tabela 20 -	Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados – período de 30 dias	196
Tabela 21 -	Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 7 dias	198
Tabela 22 -	Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 15 dias	198
Tabela 23 -	Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 30 dias	198
Tabela 24 -	Teste de Kruskal-Wallis - comparação entre os três grupos (I, II e III), nos períodos de 7, 15 e 30 dias, para cada um dos critérios da análise quantitativa	199
Tabela 25 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três grupos, no período de 15 dias, quanto à neoformação de tecido ósseo	200
Tabela 26 -	Teste de Kruskal-Wallis - comparação entre os três períodos pós-operatórios (7, 15 e 30 dias), nos grupos I, II e III, para cada um dos critérios da análise quantitativa	200
Tabela 27 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo I, quanto à densidade de fibroblastos	201

Tabela 28 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo I, quanto à neoformação de tecido ósseo	202
Tabela 29 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto ao infiltrado inflamatório	202
Tabela 30 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto à densidade de fibroblastos	203
Tabela 31 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto à neoformação de tecido ósseo	203
Tabela 32 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto ao infiltrado inflamatório	204
Tabela 33 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto à densidade de fibroblastos	204
Tabela 34 -	Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto à neoformação de tecido ósseo	205

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

β:	beta
BCP ou cerâmica BCP:	cerâmica bifásica de fosfato de cálcio
BMP:	proteína óssea morfogenética
BOP:	biocompatible osteoconductive polymer (polímero osteocondutor biocompatível)
BTCP:	fosfato beta tricálcico
βTCP:	fosfato beta tricálcico
°C:	grau celsius/centígrado
CGMN:	célula gigante multinucleada
cm:	centímetro
DFDBA:	desmineralized freezed dried bone allograft (osso alógeno desidratado congelado desmineralizado)
DMB:	matriz óssea desmineralizada
EDTA:	ácido etilenodiaminotetracético
e-PTFE:	politetrafluoretileno expandido
FDBA:	freezed dried bone allograft (osso alógeno desidratado congelado)
FOB-USP:	Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo
g:	grama
HA:	hidroxiapatita
HE:	hematoxilina e eosina
ml:	mililitro
mm:	milímetro
μm:	micrômetro
MN:	monucleado ou mononuclear
MTA:	agregado de trióxido mineral
NaOH:	hidróxido de sódio
%:	por cento
pH:	potencial hidrogênico

PGLA:	ácido poliglicólico
PMN:	polimorfonucleado ou polimorfonuclear
PVPI:	polivinilpirrolidona-iodado
S.A.:	sociedade anônima
SC:	sulfato de cálcio
Super EBA:	óxido de zinco e eugenol do tipo III com ácido etoxi- benzóico
TCP:	fosfato tricálcico
TGF-β3:	fator de crescimento transformante beta 3

RESUMO

A evolução do processo de reparo ósseo foi avaliada, em alvéolos dentários de ratos, frente ao coágulo sangüíneo, bem como ao implante de sulfato de cálcio di-hidratado e da hidroxiapatita BTCP GenPhos. Foram utilizados 48 ratos machos, divididos em três grupos, nos quais foi realizada a extração do incisivo superior direito. No grupo I, os alvéolos foram preenchidos com coágulo sangüíneo, permanecendo dessa forma como controle. No grupo II, implantou-se no alvéolo sulfato de cálcio di-hidratado e, no grupo III, realizou-se a inserção da hidroxiapatita BTCP GenPhos nos alvéolos. Após 7, 15 e 30 dias dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram mortos, as hemimaxilas direitas removidas e processadas histologicamente para a realização das análises microscópicas descritiva e quantitativa, cujos resultados foram submetidos aos testes estatísticos de Kruskal-Wallis e Dunn. Foi possível concluir que o processo de reparo alveolar, aos 7, 15 e 30 dias, ocorreu de forma semelhante entre os grupos do coágulo sangüíneo, do sulfato de cálcio di-hidratado e da hidroxiapatita BTCP GenPhos, destacando-se a diferença significativa quanto à neoformação óssea, aos 15 dias, entre os grupos controle e hidroxiapatita BTCP GenPhos; e que, aos 30 dias, a evolução da neoformação óssea foi igual para todos os grupos analisados.

Palavras-chave: Alvéolo dental. Sulfato de cálcio. Substitutos ósseos.

1 | Introdução

1 INTRODUÇÃO

O reparo de uma cavidade óssea desenvolve-se a partir da formação do coágulo sangüíneo e, conseqüentemente, da reação inflamatória. Neste contexto, a rede de fibrina atua como um andaime para que a proliferação fibroangioblástica se estabeleça, oferecendo condições para que as células mesenquimais osteoprogenitoras possam invadir a região e promover a neoformação de tecido ósseo (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982, OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994).

Embora o osso mostre um grande potencial de reparo, o que torna possível a completa restauração de sua estrutura e função, os defeitos ou cavidades ósseas podem apresentar falhas no processo de reparo (LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005), principalmente quando se tem grandes cavidades ósseas. Em tais situações é mais comum ocorrer degeneração ou retração do coágulo sangüíneo, não havendo assim sustentação para a proliferação de fibroblastos e novos capilares, bem como para o influxo de células; podendo ocorrer também proliferação de tecido fibroso para dentro do defeito.

Visando evitar tais falhas, várias pesquisas vêm sendo realizadas em busca de materiais que apresentem características biológicas aceitáveis e que possam ser usados como substitutos dos tecidos ósseos, auxiliando no reparo dos mesmos. Segundo DAMIEN et al.²⁶, 1990, essas pesquisas têm como objetivo encontrar um material osteogênico, osteoindutor ou osteocondutor do processo de reparo de lojas cirúrgicas ósseas de grandes proporções.

Os materiais para enxerto com função osteogênica estimulam a formação de osso a partir dos osteoblastos (MARX; SAUNDERS⁷², 1986, TAGA¹¹², 1996). Os osteoindutores podem induzir a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos (URIST; STRATES¹¹⁴, 1970, TAGA¹¹², 1996, LIND; BÜNGER⁶⁸, 2001, ALBREKTISSON; JOHANSSON³, 2001). Por sua vez, os materiais osteocondutores servem como um arcabouço, recebendo em sua superfície a aposição de um novo tecido ósseo, necessitando de um pré-existente como fonte de células osteoprogenitoras (MASTERS⁷³, 1988; TAGA¹¹², 1996, LIND; BÜNGER⁶⁸, 2001, ALBREKTISSON; JOHANSSON³, 2001).

Além disso, deve-se considerar também o princípio da osteopromoção, o qual utiliza uma barreira física de biomaterial em forma de membrana para recobrir o defeito ósseo, evitando a proliferação de epitélio para o seu interior, e permitindo o ingresso seletivo de células mesenquimais indiferenciadas das paredes remanescentes do defeito ósseo (DAHLIN²⁴, 1996, ANSON⁴, 1996).

Os materiais para enxerto ósseo podem, ainda, ser classificados, quanto à origem, em autógenos, alógenos, heterógenos ou xenógenos, e aloplásticos (LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005).

O enxerto de osso autógeno - transplantado de um lugar para o outro em um mesmo indivíduo - tem sido considerado o de melhor qualidade por ser completo, proporcionando osteogênese, osteoindução e osteocondução, porém apresenta desvantagens como a quantidade limitada de material, e a necessidade de uma área doadora, que pode ser intra ou extra-oral (MOORE; GRAVES; BAIN⁷⁷, 2001, GUNZBURG et al.⁴⁶, 2001, ORSINI et al.⁸⁹, 2004).

Os enxertos alógenos - aqueles transplantados entre indivíduos da mesma espécie, porém de genótipos diferentes - são osteoindutores e osteocondutores, tendo-se utilizado o osso trabecular e medular disponíveis, o osso desidratado congelado (FDBA), ou o osso desidratado congelado desmineralizado (DFDBA) (LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005). A vantagem do osso alógeno é a sua

disponibilidade, bem como o fato de que evita o estado doloroso associado com a coleta de osso autógeno (MOORE; GRAVES; BAIN⁷⁷, 2001). Porém, segundo relatos de JENSEN et al.⁵², 1996, possuem a desvantagem de uma resposta imune incerta e o risco de transmissão de doenças infecciosas.

Os hetero ou xenoenxertos são oriundos de espécies animais diferentes e não são osteogênicos, mas são osteocondutores, podendo apresentar alguma característica indutora, e, como exemplo, há o osso bovino liofilizado. Os aloplásticos são materiais de implante inertes que podem ser utilizados como substitutos dos enxertos ósseos e são osteocondutores, citam-se como exemplo dos mesmos o sulfato de cálcio, a hidroxiapatita, os polímeros, o fosfato beta tricálcico, o carbonato de cálcio e a cerâmica de vidro bioativa (ERBE et al.³⁰, 2001, LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005).

Os materiais utilizados para enxerto ósseo que não são autógenos podem ser chamados de biomateriais. Segundo WILLIAMS^a (1987 apud TUNES¹¹³, 1999, p. 297) são definidos como uma substância ou combinação de duas ou mais, biologicamente inertes, de natureza sintética ou natural, representando um instrumento auxiliar poderoso para o profissional que atua cirurgicamente no tecido ósseo (TAGA¹¹², 1996).

O material ideal para tal uso deve ser biocompatível, gradualmente substituído por osso neoformado, e preferencialmente possuir propriedades osteoindutivas e/ou osteocondutivas (JENSEN et al.⁵², 1996). Além disso, um grande benefício para os cirurgiões seria um material que fosse, além de completamente reabsorvível, protetor da ferida, de baixo custo, ainda atuasse como um reservatório de íons cálcio, agisse como uma barreira para criar um espaço protegido para a organização do coágulo sangüíneo e para a migração de células osteoprogenitoras para dentro do defeito (ORSINI et al.⁸⁹, 2004).

Apesar de não haver um material que apresente todas essas características, existe uma grande variedade de opções quanto aos biomateriais, os

^a Willians, DF. Definitions in biomaterials. New York: Elsever, 1987 apud TUNES (1999), p. 297.

quais diferem com relação à composição, tamanho e formato de partículas, bem como da capacidade de serem ou não reabsorvidos.

Dentro da gama de materiais utilizados como substitutos ósseos, optou-se, no presente estudo, por testar biologicamente os materiais aloplásticos sulfato de cálcio e hidroxiapatita.

Com relação ao sulfato de cálcio, são numerosos os estudos clínicos e laboratoriais já realizados com o objetivo de demonstrar sua aceitação e rápido grau de reabsorção, sendo que o primeiro a relatar o uso de gesso Paris, que é uma forma hemi-hidratada do material, foi Dressman, em 1892 (PELTIER⁹⁵, 1961).

Em Odontologia, várias formas de mistura de sulfato de cálcio têm sido tentadas com resultados promissores, e recentemente tal material tem sido disponibilizado comercialmente em uma forma estéril e reabsorvível (AL RUHAIMI², 2000). Outras vantagens do material em questão são o baixo custo, não induzir reação inflamatória, não propiciar complicações pós-operatórias, possibilidade de seu uso mesmo em meio ambiente séptico, estabilização do coágulo sangüíneo, adesão à superfície da raiz, biocompatibilidade (PECORA et al.⁹², 1997), e servir como uma barreira reabsorvível à proliferação de epitélio (RANKOW; KRASNER¹⁰⁰, 1996).

Por sua vez, a hidroxiapatita também tem sido muito estudada por ser o principal constituinte da fase inorgânica do osso (MAVROPOULOS⁷⁴, 1999). Dessa forma, materiais à base de fosfato de cálcio, principalmente a hidroxiapatita e o fosfato β -tricálcico, são utilizados como substitutos ósseos, podem ser reabsorvíveis ou não-reabsorvíveis, apresentar suas partículas de forma densa ou porosa, sendo que o tamanho das mesmas e de seus poros é também variável (TAGA¹¹², 1996, TUNES¹¹³, 1999, SCHNETTLER et al.¹⁰⁴, 2004). Segundo JARCHO⁵⁰, 1981, e KAWACHI et al.⁵⁵, 2000, as cerâmicas de fosfato de cálcio apresentam ausência de toxicidade local e sistêmica, ausência de respostas do tipo corpo estranho ou inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao tecido do

hospedeiro. Tais vantagens são explicadas pelo fato de esses materiais serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato.

Neste contexto, o uso desses biomateriais, com o objetivo de auxiliar o reparo de cavidades ósseas, mais especificamente em cirurgias parodontodônticas, justifica a realização desse trabalho, no qual será avaliada a evolução do processo de reparo ósseo frente ao sulfato de cálcio di-hidratado e à hidroxiapatita BTCP GenPhos.

2 R evisão da L iteratura

2 REVISÃO DA LITERATURA

Antes de tratar especificamente dos materiais para enxerto utilizados no presente trabalho, far-se-á uma breve descrição a respeito das características do tecido ósseo, bem como do seu processo de reparo. Por isso, esta revisão da literatura será dividida em três partes: tecido ósseo; sulfato de cálcio; e hidroxiapatita.

2.1 TECIDO ÓSSEO

2.1.1 Características

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, constituído por células e por um material extracelular mineralizado, a matriz óssea (ROSENBERG¹⁰¹, 2000). Além disso, todos os ossos são revestidos em suas superfícies externas e internas por membranas conjuntivas que possuem células osteogênicas, o periósteo e o endósteo, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO⁵⁴, 2004).

O osso é formado por partes sem cavidades visíveis, chamado de osso compacto ou cortical, e por partes com muitas cavidades intercomunicantes, o osso esponjoso. Tanto as cavidades do osso esponjoso quanto o canal medular da diáfise dos ossos longos são ocupados pela medula óssea, a qual, no recém-

nascido é ativa na produção de células do sangue, diminuindo essa atividade com o passar da idade (JUNQUEIRA; CARNEIRO⁵⁴, 2004).

As células que compõem o tecido ósseo são os osteoblastos, osteócitos, osteoclastos, e as osteoprogenitoras. Os osteoblastos ficam dispostos nas superfícies ósseas, sintetizam a parte orgânica da matriz óssea, e participam também da mineralização da mesma, representando, assim, as células que produzem tecido ósseo. Os osteócitos, células maduras oriundas dos osteoblastos, ficam aprisionados na matriz óssea, dentro de uma lacuna, depositando pequenas quantidades de matriz, e têm um papel importante no controle da homeostasia do cálcio. Os osteoclastos, por sua vez, se localizam na superfície óssea exposta e apresentam a função de reabsorver tecido ósseo. Por fim, as células osteoprogenitoras têm o objetivo de se multiplicarem por mitose e se diferenciarem em osteoblastos, desempenhando um importante papel no crescimento e reparo ósseo. Elas são encontradas na medula óssea, no perióstio, no endóstio, e em todas as estruturas dentro da cavidade medular (JUNQUEIRA; CARNEIRO⁵⁴, 2004).

A matriz óssea é uma estrutura bifásica, englobando uma porção orgânica e outra inorgânica. A parte orgânica representa cerca de 35% da matriz óssea, é formada por fibras colágenas (95%), constituídas por colágeno do tipo I, e por pequena quantidade de proteoglicanas e glicoproteínas. Na parte inorgânica, que compõe os 65% restantes da matriz óssea, os íons mais encontrados são o cálcio e o fósforo, juntamente com menores quantidades de bicarbonato, citrato, magnésio, sódio, e potássio. O cálcio e o fósforo existem basicamente sob a forma de cristais de hidroxiapatita, mas o fosfato de cálcio também está presente sob a forma amorfa. A associação da hidroxiapatita com as fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência do tecido ósseo (GARTNER; HIATT³⁹, 2003, JUNQUEIRA; CARNEIRO⁵⁴, 2004).

2.1.2 Processo de reparo

Toda agressão sofrida por um tecido resulta em uma reação inflamatória, a qual destrói, dilui e isola o agente nocivo, além de desencadear uma série de eventos que tentam curar e reconstituir o tecido danificado. Dessa forma, a resposta inflamatória está intimamente ligada ao processo de reparo, que pode ocorrer por meio da regeneração ou da cicatrização, mas somente após a eliminação do agente flogógeno (KUMAR; ABBAS; FAUSTO⁶¹, 2004).

A regeneração é a restauração completa da perda tecidual, com reconstituição da estrutura e função originais, e se desenvolve por meio da proliferação e diferenciação celular. Dentre os tecidos dotados da capacidade de regeneração tem-se, como exemplo, os epitélios cutâneo-mucosos de revestimento, o fígado, e os linfonodos (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982, KUMAR; ABBAS; FAUSTO⁶¹, 2004).

Por outro lado, a cicatrização é um processo fibroproliferativo, e o tecido destruído é substituído por tecido de granulação, ocorrendo, ao seu término, alteração da estrutura e função originais do mesmo. Como exemplo dessa modalidade do processo de reparo há as feridas excisionais profundas e o infarto do miocárdio (KUMAR; ABBAS; FAUSTO⁶¹, 2004).

O osso é um dos poucos órgãos cujo processo de reparo se realiza por meio da regeneração. Apesar disso, a mesma pode ser limitada em alguns casos como, por exemplo, a remoção da metade de um osso longo, visto que não haverá a reconstituição total do tecido. Porém, embora limitada, ainda se configura como uma autêntica regeneração, já que o osso neoformado apresentará características idênticas ao destruído após a remodelação estar concluída (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982).

Para explicar o processo de reparo de um defeito ósseo, pode-se considerar o mecanismo de cura do alvéolo pós-extração dental (JOHANSEN⁵³, 1970, LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005), o qual difere apenas pelo fato de o

mesmo conter restos do tecido do ligamento periodontal, que funciona como uma fonte de fibroblastos (OKAMOTO⁸³, 1964, JOHANSEN⁵³, 1970, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, LIN; McCULLOCH; CHO⁶⁷, 1994).

Frente à extração dentária, inicia-se o processo de regeneração óssea intra-alveolar, a qual ocorre em três estágios, quais sejam, a formação e organização do coágulo sangüíneo, a maturação do tecido de granulação, e a neoformação e remodelação ósseas (OKAMOTO⁸³, 1964, CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973).

A formação do coágulo sangüíneo é a primeira ocorrência a se observar. Na superfície desse coágulo, há focos de coagulação de fibrina e, no seu interior, as delgadas trabéculas de fibrina formam uma “malha”, onde se alojam hemácias, granulócitos, linfócitos e monócitos, sendo que os últimos, por meio da diferenciação, dão origem aos macrófagos. Ao mesmo tempo, ocorre proliferação e diferenciação dos fibroblastos e das células endoteliais, caracterizando o tecido de granulação, e invasão por células osteoprogenitoras, utilizando as trabéculas de fibrina como um andaime (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982). Os macrófagos, além de serem os principais responsáveis pela digestão e remoção dos detritos celulares e da fibrina coagulada, liberam citocinas e fatores de crescimento que, posteriormente, promoverão a migração, proliferação e diferenciação das células osteoprogenitoras (LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005).

A formação do tecido de granulação inicia-se a partir das regiões periféricas do coágulo sangüíneo e evolui gradativamente para o centro do mesmo, até o momento em que há a total substituição do coágulo pelo tecido de granulação neoformado, rico em alças vasculares, fibroblastos e células inflamatórias (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982).

Após isso, começa a haver a maturação desse tecido, caracterizada pelo predomínio da fase fibroblástica, a qual é representada pela deposição de fibras colágenas paralelamente ao desaparecimento das trabéculas de fibrina, formando assim o calo fibroso intra-alveolar. Essa maturação segue também uma orientação

centrípeta, sendo mais adiantada na periferia do que no centro do tecido de granulação, onde ainda se pode ter resíduos de coágulo sangüíneo. No início da fase fibroblástica, parece não haver grande modificação da população celular; todavia, à medida que ocorre a organização das fibras colágenas, a população de fibroblastos é reduzida, assim como a de vasos sangüíneos (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982).

A osteogênese intra-alveolar, da mesma forma que a organização do coágulo, a formação e maturação do tecido de granulação, ocorre da periferia para o centro do calo fibroso. Essa atividade osteogênica resulta, inicialmente, num tecido denso fibroso eosinófilo, rico em células osteoblásticas, o qual evolui para uma estrutura trabecular imatura denominada calo ósseo intra-alveolar, que apresenta estrutura trabecular irregular, fibras colágenas desorganizadas, concentração elevada de osteócitos, e menor índice de calcificação. Com o processo de remodelação, esse tecido ósseo imaturo é gradualmente reabsorvido e substituído pelo tecido ósseo maduro ou lamelar, onde as fibras colágenas organizam-se em lamelas paralelas umas às outras, tendo-se então um tecido ósseo bem organizado e mineralizado (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982).

Porém, segundo LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005, existem fatores que podem interferir negativamente na formação do tecido ósseo após uma injúria como a falha na proliferação de vasos sangüíneos para o interior do defeito, a estabilização inadequada do coágulo e do tecido de granulação, o crescimento de um tecido “não-ósseo” com alta atividade proliferativa, e a proliferação bacteriana. Nesta linha, apesar da capacidade de regeneração do tecido ósseo, em cavidades muito grandes, locais onde tais falhas podem ocorrer com maior freqüência, faz-se, muitas vezes, necessário utilizar um biomaterial que auxilie o processo de reparo, seja por meio da osteogênese, osteoindução, osteocondução ou osteopromoção.

2.2 SULFATO DE CÁLCIO

A gipsita ou sulfato de cálcio di-hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) é um mineral encontrado em várias partes do mundo, muito embora também possa ser obtido como subproduto resultante de alguns processos químicos. Tal mineral é utilizado para fins odontológicos após passar pelo processo de calcinação, isto é, trituração e aquecimento a temperaturas que variam de 110° a 120°C , tendo como objetivo retirar parte da água de sua cristalização, formando assim o sulfato de cálcio hemi-hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) (ANUSAVICE⁵, 2005).

O sulfato de cálcio hemi-hidratado, ou gesso Paris, tem uma história documentada de uso seguro em ortopedia de mais de 100 anos, e, em odontologia, de mais de 30 anos. Com o passar do tempo, seu uso tornou-se mais comum, havendo um aumento na quantidade de literatura a seu respeito (SOTTOSANTI¹⁰⁷, 1992).

O gesso Paris, quando utilizado com o objetivo de reparo ósseo, é considerado uma substância de baixo custo e que oferece vantagens como disponibilidade e possibilidade de esterilização. Além disso, é bem tolerado pelos tecidos duros e moles, tem um rápido grau de reabsorção (PELTIER⁹⁵ 1961, BAHN¹⁰, 1966), não induz reação inflamatória, não propicia complicações pós-operatórias, há a possibilidade de seu uso mesmo em meio ambiente séptico, estabiliza o coágulo sangüíneo, adere à superfície da raiz, e impede a proliferação de epitélio para o interior dos defeitos ósseos (FRAME³⁴, 1975, PECORA et al.⁹², 1997, SOTTOSANTI¹⁰⁷, 1992); sendo também de fácil manuseio e aplicável em diferentes situações (STUBBS et al.¹¹⁰, 2004). Por outro lado, tal material parece não ter efeito osteoindutivo, mas tem função como mantenedor de espaço (PELTIER⁹⁵, 1961, KIM et al.⁵⁶, 1998).

O primeiro relato de uso do gesso Paris para preenchimento de defeitos ósseos foi publicado em 1892 por Dreesman^b (apud Peltier⁹⁵, 1961). Tal autor utilizou o material para o preenchimento de defeitos ósseos em oito pacientes.

^b Dreesman, H. Ueber knochenplombierung. Beitr Klin Chir. 1892; 9: 804-10 apud Peltier (1961), p.1.

Seis desses tinham cavidades ósseas causadas por tuberculose; em três o defeito foi preenchido por tecido ósseo, em dois houve falha no reparo, e, no último, que apresentava 2 cavidades, uma reparou e a outra não. Nos outros dois pacientes, um apresentando uma cavidade devido à osteomielite, e o outro causada pela remoção de um tumor, houve completo reparo ósseo após o implante de gesso Paris.

Dois anos depois, STACHOW^c (apud Peltier⁹⁵, 1961) utilizando o gesso Paris para o implante em defeitos de ossos longos em ovelhas, verificou a ocorrência de reabsorção do material e reparo normal do osso, sendo que o autor notou apenas uma leve reação inflamatória causada pelo implante.

Em 1958, PELTIER; ORN⁹⁶ relataram o efeito da adição de gesso Paris em materiais para enxerto ósseo, usados para reconstruir defeitos criados no osso rádio de cães. Na ocasião, 4 diferentes materiais foram empregados: osso autógeno, osso autógeno adicionado de sulfato de cálcio, osso alógeno, e osso alógeno adicionado de sulfato de cálcio. Os autores verificaram que não houve nenhuma evidência de que o gesso Paris tenha afetado adversamente a regeneração óssea. Porém, ele não melhorou a ação do osso autógeno, e, quando adicionado ao osso alógeno, resultou em um pequeno aumento do número de defeitos completamente preenchidos por tecido ósseo.

Com o objetivo de estudar o grau de reabsorção de vários materiais para enxerto e substitutos ósseos, BELL¹¹, 1960, examinou radiografias de implantes, colocados entre os músculos gastrocnêmios de cães. Os implantes de gesso Paris foram os mais rapidamente absorvidos, sendo que tal ocorrência se deu em uma média de 4,7 semanas. A reabsorção de implantes de osso autógeno aconteceu em 7 semanas, de alógeno em 10 semanas, e de xenógeno em 11,5 semanas. Os implantes de osso inorgânico desidratado congelado foram reabsorvidos lentamente, mostrando mínima ou nenhuma alteração radiográfica após 16 meses.

^c Stachow, V. Versuch über knochenplombierung bei hohlenförmigen defekten des knochens. Beitr Klin Chir. 1894; 12: 389-408 apud Peltier (1961) p. 1.

CALHOUN; GREENE; BLACKLEDGE¹⁵, 1962, realizaram um estudo em cães em que, após a extração do quarto pré-molar inferior esquerdo e seccionamento do tecido ósseo adjacente igual a aproximadamente o diâmetro médio-distal do dente extraído, havia uma fratura cirúrgica da mandíbula. As extremidades do tecido ósseo fraturado eram mantidas com uma esplintagem extra-oral com fio de aço. Nos animais do grupo A, um bloco estandardizado e esterilizado de gesso Paris era colocado no defeito ósseo, sendo o mesmo mantido com um fio de aço. Por outro lado, nos animais do grupo B, o defeito era preenchido com coágulo sanguíneo. A obtenção dos resultados permitiu verificar que 50% dos animais do grupo A apresentaram evidências de união óssea da mandíbula, nos períodos pós-operatórios de 60, 90 e 120 dias. Já, nos animais do grupo B, ocorreu a neoformação óssea em zero, 25 e 25%, respectivamente, em cada intervalo de tempo analisado.

A utilização do gesso Paris em bolsas infra-ósseas, criadas no processo alveolar de 10 cães, foi proposta por RADENTZ; COLLINGS⁹⁹, 1965. Foram feitas três bolsas em cada animal; duas foram preenchidas com gesso Paris associado ao soro fisiológico, e uma não foi preenchida, funcionando como controle. Os resultados mostraram que o osso alveolar respondeu ao implante de gesso Paris com a absorção e substituição do mesmo por tecido ósseo. A regeneração óssea foi similar nos grupos experimentais e controle, exceto pelo fato de que, quando se utilizou gesso Paris, a mesma ocorreu de forma mais rápida e uniforme. Segundo os autores, essa melhora no padrão de cura pode ser atribuída ao efeito selador do gesso Paris, o qual pode, provavelmente, impedir a entrada de materiais estranhos e o crescimento de epitélio para dentro da ferida. Além disso, o grau de cura de um defeito ósseo em cães parece ser diretamente proporcional à severidade e duração da inflamação, e houve reparo mais rápido quando se teve mínima inflamação.

Posteriormente, CALHOUN; NEIDERS; GREENE¹⁶, 1967, propuseram um estudo do gesso Paris como um material para a reconstrução do processo alveolar em defeitos cirúrgicos criados na mandíbula de cães. Os autores utilizaram 24 animais, criando defeitos do lado esquerdo e direito da mandíbula. Os do lado esquerdo foram preenchidos com gesso Paris e os do lado direito serviram

como controle. Os resultados mostraram que o gesso Paris produziu pouca ou nenhuma reação tecidual, sendo que nos cães sacrificados 3 dias após a cirurgia a quantidade de reação inflamatória do lado experimental não pôde ser diferenciada daquela do lado controle e, aos 30 dias, não se verificou inflamação em nenhum dos lados. Quanto à reabsorção do material implantado, a mesma ocorreu dentro de 15 dias, sendo que aos 30 dias não foram encontradas evidências de gesso Paris nem em radiografias, nem em exame microscópico. Por outro lado, os autores concluíram que o gesso Paris nem acelerou nem diminuiu a velocidade do processo de reparo. Não houve, entretanto, nenhum efeito prejudicial aparente causado pelo implante de gesso na mandíbula de cães.

Em 1971, SHAFFER; APP¹⁰⁵ realizaram uma avaliação do comportamento clínico do gesso Paris no tratamento de defeitos infra-ósseos em humanos. Cinco pacientes adultos foram selecionados para o estudo e um total de dez defeitos foram tratados. Para a análise, foram realizadas radiografias pré-operatórias, imediatamente e seis meses após a cirurgia. Além disso, seis meses pós-operatoriamente, um retalho mucoperiósteo foi realizado e o local do implante foi medido e fotografado. Com a obtenção dos resultados, os autores concluíram que o gesso Paris foi bem tolerado pelos tecidos e reabsorvido rapidamente, porém não foi substituído por osso neoformado.

Já o implante de gesso Paris em alvéolos dentários de ratos, com o objetivo de avaliar a possibilidade do emprego desse material em cirurgias parendodônticas, foi realizado por VICTOR et al.¹¹⁷, 1975. Cinquenta e seis ratos foram divididos em dois grupos de vinte e oito animais, um controle e outro experimental. Os incisivos superiores direitos dos ratos foram extraídos. No grupo controle procedeu-se apenas a sutura da mucosa após a exodontia. Para os animais do segundo grupo, o gesso Paris foi previamente preparado na proporção pó-líquido de 100g de gesso para 50ml de água destilada, sendo que o formato do gesso se aproximou ao da morfologia da raiz do incisivo superior extraído. Após a esterilização, o material foi introduzido nos alvéolos com o auxílio de uma pinça clínica, imediatamente após as extrações; procedendo-se de imediato à sutura da mucosa. Os animais, em número de quatro para cada grupo, foram sacrificados no

período de 1, 6, 12, 18, 24, 30 e 40 dias após o ato operatório. A análise microscópica demonstrou que o material se comportou como irritante aos tecidos, não permitiu a neoformação óssea nas suas adjacências, retardou a cronologia do processo de reparo e provocou reação do tipo corpo estranho nos últimos estágios analisados. Por isso, os autores concluíram que tal material não deve ser empregado em cirurgias ósseas na cavidade bucal.

FRAME³⁴, 1975, investigou o sulfato de cálcio di-hidratado como uma possível alternativa ao enxerto de osso autógeno para restaurar defeitos ósseos na mandíbula. Para isso, implantou o material subcutaneamente em ratos com o objetivo de determinar o grau de degradação do mesmo *in vivo*, e a reação tecidual provocada. Segundo técnica estandardizada, foram produzidos cilindros de sulfato de cálcio di-hidratado estéril, de pureza e porosidade conhecidas. Uma incisão similar à realizada para o implante do material foi feita em cada animal como controle, sem a colocação de nenhum implante. O autor realizou radiografias dos implantes semanalmente, e os animais foram mortos após 1, 2, 4 e 8 semanas. O exame radiográfico demonstrou que o material implantado iniciou sua degradação dentro de uma semana. Por outro lado, conforme a análise microscópica, houve uma reação inflamatória localizada de acordo com a degradação do material no tecido, proliferação de tecido de granulação, o qual, com o passar do tempo, tornou-se mais maduro, ocorrendo também a diminuição da reação tecidual no tecido circunvizinho. Tal análise permitiu verificar também que, 8 semanas após a cirurgia, ainda havia resquícios do material no local. Além disso, o autor desenvolveu também uma técnica para retardar o grau de reabsorção do gesso, revestindo-o com *n*-butil-2-cianoacrilato. Nesse experimento, os animais foram também observados radiograficamente, e mortos 1, 2, 4 e 8 semanas após o implante, sendo que um outro grupo de animais foi radiografado em intervalos de seis meses. Radiograficamente, não houve evidência de degradação dos implantes depois de seis meses. Quanto à reação tecidual, o sulfato de cálcio di-hidratado impregnado com *n*-butil-2-cianoacrilato foi bem tolerado pelos tecidos, provocando muito pouca reação histológica. O autor concluiu que espécimes porosas de sulfato de cálcio di-hidratado são reabsorvidas rapidamente no tecido subcutâneo, podendo ser efetivas em induzir a substituição por osso e o grau de degradação pode ser controlado revestindo-se parcialmente o implante com um polímero reabsorvível.

Em 1980, FRAME³⁵ implantou sulfato de cálcio di-hidratado poroso cobrindo sua superfície com *n*-butil-2-cianoacrilato, em cavidades circulares na calota craniana de coelhos. O autor teve como objetivo determinar a extensão da substituição do material por osso neoformado e examinar a reação tecidual provocada pelo mesmo. Para isso, nos animais do grupo teste, as cavidades receberam uma variedade porosa de sulfato de cálcio di-hidratado na qual foi aplicada uma fina camada de *n*-butil-2-cianoacrilato em sua superfície superior e inferior, sendo que a circunferência ficou descoberta. Já, nos animais do grupo controle, foram preenchidas com coágulo sangüíneo. Os resultados permitiram concluir que os implantes foram bem tolerados pelos tecidos, e o osso neoformado, depositado diretamente na estrutura dos implantes porosos, apresentou-se estruturalmente normal. Por outro lado, comparando-se os defeitos do grupo experimental com os do controle, verificou-se que o sulfato de cálcio não interferiu no processo de reparo. Desse modo, o autor propõe que, frente à necessidade de um implante ou enxerto, o sulfato de cálcio di-hidratado poroso e o cianoacrilato pareceram ser uma opção considerável.

O experimento realizado, em 1987, por FRAME; ROUT; BROWNE³⁸ teve o objetivo de testar materiais a serem utilizados para o aumento do rebordo alveolar. Os autores compararam a quantidade relativa de neoformação óssea em rebordos alveolares atróficos criados em cães, usaram HA na forma porosa e densa, misturaram fragmentos de osso autógeno às partículas de HA, com especial referência à sua habilidade em induzir osteogênese, e também combinaram gesso Paris com os dois tipos de HA. Os resultados mostraram que os rebordos aumentados somente com partículas porosas de HA tiveram maior quantidade de neoformação óssea do que quando se utilizaram as partículas densas desse material, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre esses dois grupos. Além disso, a adição de fragmentos de osso autógeno às partículas de HA não aumentou a neoformação óssea, e, depois de 24 semanas, não havia evidência da presença de enxerto autógeno. Com relação à adição do gesso Paris, os autores verificaram que o material poderia funcionar como um veículo para facilitar a manipulação das partículas de HA durante a sua colocação no rebordo alveolar, bem como inibir a migração inicial das partículas de HA, porém não houve aumento na quantidade de osso neoformado com essa associação. O exame radiográfico

indicou que a maior parte do gesso foi reabsorvido dentro de 4 semanas, e nenhum resíduo foi observado depois de 24 semanas. Os autores concluíram que a adição de gesso Paris às partículas de HA não apresentou evidências de interferência no reparo e consolidação do aumento de rebordo alveolar.

O sulfato de cálcio foi examinado por SOTTOSANTI¹⁰⁷, 1992, para o uso em regeneração tecidual guiada. Nesse trabalho, o autor relatou quatro casos clínicos em que se fez necessária a utilização de um enxerto ósseo e uma barreira. O primeiro foi uma associação de osso alógeno desidratado congelado desmineralizado (80%) e sulfato de cálcio hemi-hidratado (20%). Sobre esse material era colocada então uma barreira de sulfato de cálcio adicionado à água destilada esterilizada. Segundo o autor, a razão para se usar o sulfato de cálcio como barreira é que se trata de um material biocompatível, reabsorvido completamente dentro de 2 a 4 semanas, denso o suficiente para impedir a invasão de tecido conjuntivo e de epitélio, abundante e relativamente de baixo custo, além de não causar um desconforto adicional ao paciente. Após o relato dos casos, o autor concluiu que o sulfato de cálcio, quando utilizado como barreira em regeneração tecidual guiada, juntamente com o enxerto de osso alógeno desidratado congelado desmineralizado associado ao sulfato de cálcio, retarda a invasão dos tecidos epitelial e conjuntivo, permitindo um prognóstico favorável para o reparo ósseo.

O efeito do sulfato de cálcio hemi-hidratado e de grânulos polissacarídeos de elevado peso molecular, como aceleradores do reparo em defeitos na calota craniana de ratos, foi avaliado por SNYDERS JR et al.¹⁰⁶, 1993. Nos animais do grupo A, os defeitos do lado direito foram preenchidos com sulfato de cálcio hemi-hidratado, enquanto os do lado esquerdo foram preenchidos com sulfato de cálcio hemi-hidratado misturado com grânulos polissacarídeos de elevado peso molecular. Nos do grupo B, os defeitos do lado direito foram preenchidos somente com grânulos polissacarídeos de elevado peso molecular, enquanto os do lado esquerdo não foram preenchidos e serviram como controle. Todos os materiais foram manipulados adicionando-se aos mesmos soro fisiológico a 0,9%. Os animais foram mortos após 45, 90 e 135 dias da cirurgia. Os resultados revelaram que o melhor reparo ocorreu nos defeitos preenchidos com sulfato de cálcio associado aos

grânulos polissacarídeos de elevado peso molecular. Por outro lado, os defeitos preenchidos com sulfato de cálcio ou grânulos polissacarídeos isoladamente, tiveram pior qualidade do tecido de reparo, mostrando concavidades, espaços vazios e menor espessura de tecido ósseo. Os defeitos não preenchidos, controle, mostraram uma camada de tecido conjuntivo de reparo fina, friável e translúcida. Porém, em nenhum grupo experimental ocorreu o completo fechamento do defeito ósseo.

MAZE et al.⁷⁵, 1994, realizaram um estudo clínico para comparar a capacidade de reparo ósseo através do procedimento de regeneração tecidual guiada, utilizando-se de osso alógeno desidratado congelado desmineralizado associado à membrana e-PTFE, bem como o mesmo tipo de osso associado ao sulfato de cálcio hemi-hidratado. Foram avaliados treze pares de defeitos de furca classe II em molares inferiores de 12 pacientes. As dimensões dos defeitos infra-ósseos foram mensuradas antes do procedimento cirúrgico, no qual foram aplicados os materiais em questão, bem como 6 meses após o mesmo. Os resultados mostraram que o tratamento proporcionou um efeito similar e significativo em ambos os grupos com relação à diminuição da profundidade de sondagem, largura de gengiva queratinizada e aumento do nível de inserção. Portanto, os autores concluíram que o reparo ósseo, utilizando-se o osso alógeno desidratado congelado desmineralizado associado ao sulfato de cálcio hemi-hidratado, foi comparável ao uso do mesmo osso associado à membrana e-PTFE.

PECORA et al.⁹¹, 1997, avaliaram o efeito osteopromotor do sulfato de cálcio quando usado como uma barreira, impedindo a proliferação do tecido conjuntivo para dentro da cavidade óssea e permitindo assim a regeneração óssea. Foram realizados defeitos ósseos de tamanho crítico, bilaterais, do tipo túnel, com o uso de uma trefina de 5mm de diâmetro, no ângulo da mandíbula de ratos. Os defeitos do lado direito foram cobertos, tanto lingual quanto bucalmente por um disco esterilizado de sulfato de cálcio, o qual tinha 9mm de diâmetro e 2mm de espessura. Já, os defeitos do lado esquerdo, foram recobertos apenas pelo retalho. Os resultados mostraram que, nos defeitos do grupo experimental, houve uma alta porcentagem de amostras com crescimento ósseo, demonstrando então a vantagem

no uso do sulfato de cálcio como uma barreira para impedir a invaginação de tecido conjuntivo para dentro do defeito ósseo, promovendo, desse modo, a formação óssea. Os autores ainda sugerem o uso do sulfato de cálcio sozinho ou em combinação com outros materiais absorvíveis para o tratamento de defeitos ósseos, e confirmam a segurança do uso do gesso Paris como material para enxerto por não encontrarem resposta inflamatória no local onde o mesmo foi utilizado.

O potencial regenerativo do sulfato de cálcio foi avaliado por KIM et al.⁵⁶, 1998, no tratamento de defeitos infra-ósseos em cães. Para isso, dois meses após a extração dos primeiros e segundos incisivos superiores, foram criados defeitos infra-ósseos mesialmente aos terceiros incisivos superiores. Nos defeitos do lado experimental, foi realizado o implante de sulfato de cálcio associado à água destilada esterilizada, e, os do lado controle, foram somente preenchidos com sangue. Com base nos resultados obtidos, os autores puderam concluir que o sulfato de cálcio pode ser efetivo no reparo do cemento e osso, bem como na prevenção da migração apical do epitélio juncional, fornecendo um meio adequado para a cura e manutenção da estabilidade da ferida.

Após o estudo exposto anteriormente, no mesmo ano, KIM et al.^{57,58} realizaram duas avaliações a respeito da consequência do implante cirúrgico de uma matriz óssea alógena desidratada congelada desmineralizada em associação com o sulfato de cálcio (DBM+SC), utilizando sobre o mesmo uma barreira de sulfato de cálcio.

A primeira foi realizada, também, em cães (KIM et al.⁵⁷, 1998). Para isso, dois meses após realizarem a extração dos segundos pré-molares superiores e inferiores, confeccionaram, cirurgicamente, defeitos infra-ósseos na porção distal dos primeiros pré-molares, e mesial dos terceiros pré-molares, também superiores e inferiores. Os defeitos do grupo 1 receberam implante de DBM+SC, e, sobre o mesmo, uma barreira de sulfato de cálcio; os do grupo 2, somente de DBM; os do grupo 3, somente de sulfato de cálcio; e os do grupo 4 não receberam nenhum tipo de implante (controle). Os resultados demonstraram que, nos grupos em que foram utilizados os implantes, ocorreu aumento na formação de osso alveolar e cemento

em comparação ao grupo controle. Nos grupos 1 e 2 houve maior formação de osso alveolar, quando comparados com o grupo 3. Quanto à reabsorção dos materiais, não foi encontrada nenhuma evidência de resíduos de sulfato de cálcio após 8 semanas, porém, no mesmo período, as partículas de DBM ainda estavam presentes. Sendo assim, os autores concluíram que o implante de DBM e SC, sozinho ou combinado, pode melhorar significativamente o reparo do osso alveolar e cimento.

A segunda avaliação foi então realizada em humanos (KIM et al.⁵⁸, 1998). Para a análise em questão, foram selecionados 26 pacientes. Treze deles receberam tratamento com a utilização de implante de DBM+SC, e os outros treze não receberam nenhum tipo de implante (controle). A preservação foi realizada 6 e 12 meses após a cirurgia. Os resultados permitiram os autores concluir que o implante de DBM+SC associado a uma barreira de sulfato de cálcio, resultou em redução da profundidade de sondagem e melhora com relação à inserção e nível ósseo em bolsas periodontais profundas, após seis meses do procedimento cirúrgico. Com relação aos períodos de preservação, não houve diferença estatisticamente significativa entre os mesmos.

Enxertos experimentais combinando sulfato de cálcio com osso autógeno resultaram num processo de reparo mais intenso quando comparado com enxertos de cerâmicas bioativas, de hidroxiapatita, de osso autógeno e de coágulo sangüíneo (MacNEILL et al.⁷⁰, 1999). Esses autores implantaram os referidos enxertos em tíbias de ratos e avaliaram por meio de microscopia o percentual médio de formação óssea: controle negativo, 41,95%; controle positivo, 50,4%; cerâmica BioGran, 41,81%; cerâmica PerioGlas, 40,35%; hidroxiapatita, 41,81%; sulfato de cálcio combinado com osso autógeno, 58,82%. Os resultados mostraram que a cura diferiu conforme o material utilizado, sendo que não houve diferença estatística entre o controle negativo e os grupos em que se usou BioGran, PerioGlas e hidroxiapatita; entretanto, a cura no controle positivo foi significativamente maior do que no negativo. A evolução do reparo com sulfato de cálcio combinado com osso autógeno foi consideravelmente maior, talvez devido ao mais rápido grau de reabsorção desse material quando comparado com os demais, permitindo um ingresso mais rápido de

células osteoprogenitoras. Além disso, o uso combinado do osso autógeno resultou em um efeito osteoindutivo/osteogênico, e o sulfato de cálcio também funcionou como uma barreira que bloqueou o crescimento de tecido conjuntivo do periósteo adjacente para dentro do defeito ósseo.

GOLDMAN et al.⁴⁰, 2000, avaliaram, através de parâmetros clínicos e radiográficos, o comportamento do sulfato de cálcio no preenchimento de cavidades patológicas na maxila e mandíbula, bem como em cavidades maiores do uso do sulfato de cálcio associado ao osso bovino liofilizado. Nesse estudo, foram operados 14 pacientes portadores de lesões no periápice em maxila e mandíbula. O sulfato de cálcio foi utilizado em 10 cavidades, as quais apresentavam um diâmetro de aproximadamente 1,5cm, e o mesmo material associado ao osso bovino liofilizado foi implantado nas cavidades restantes, por essas terem em média 2,0cm de diâmetro. Os controles clínico e radiográfico foram realizados durante seis meses após o procedimento cirúrgico. Trinta dias após, a epitелização era normal em todas as áreas operadas, e não havia dor nem edema. Por meio do exame radiográfico, notou-se que a radiopacificação ocorria da periferia para o centro da lesão durante o período de controle, sendo que o aspecto radiográfico manteve-se inalterado a partir do quarto mês, quando a radiopacidade e o trabeculado ósseo apresentavam-se compatíveis com a normalidade. Com isso, os autores indicam tais materiais para o tratamento dos defeitos ósseos.

No mesmo ano, PECORA et al.⁹⁴ realizaram, também, um estudo clínico, em 20 pacientes, com o objetivo de avaliar o sulfato de cálcio quando utilizado como material para enxerto em lesões endodônticas do tipo II, que seriam aquelas que se estendem sobre a raiz residual. Para o controle dos casos foram realizadas radiografias imediatamente, 3, 6, 9, e 12 meses após a cirurgia. Em seis meses, o grupo em que foi utilizado o sulfato de cálcio mostrou cura completa em 70% dos casos, incompleta em 20%, incerta em 5%, e insatisfatória em 5%. Por outro lado, o grupo controle apresentou cura em 30% dos casos, dentro do mesmo período de tempo. Com base no exposto, os autores deduziram que os melhores resultados dos casos teste devem ser devidos à presença de sulfato de cálcio.

O potencial osteogênico causado pela adição de sulfato de cálcio a outros materiais para enxerto foi analisado por AL RUHAIMI², 2000. O autor utilizou para esse estudo 12 coelhos, sendo que 10 animais formaram o grupo experimental e 2 o grupo controle. Foram criadas cavidades no côndilo mediano de cada fêmur dos animais. As 20 cavidades do grupo experimental foram divididas em 5 grupos, conforme o material para enxerto utilizado. Os materiais testados foram a hidroxiapatita Osteograf sozinha, o BOP (Biocompatible Osteoconductive Polymer) sozinho, o sulfato de cálcio Capset sozinho, uma mistura de Osteograf e Capset (proporção 4:1), e uma mistura de BOP e Capset (proporção 4:1). Nos animais do grupo controle, as cavidades foram preenchidas por coágulo sangüíneo. Os resultados dessa pesquisa mostraram que a mistura do sulfato de cálcio com a Osteograf e o BOP melhoraram o potencial de osteogênese desses materiais, aumentando a calcificação e a quantidade de novo osso formado em um curto período de tempo. Por outro lado, quando o sulfato de cálcio foi utilizado sozinho, observou-se uma neoformação óssea inadequada. O autor acredita que tal fato tenha ocorrido em decorrência da rápida reabsorção do material, resultando na ausência de um andaime para o processo de remodelação óssea. Tal fato fez com que o sulfato de cálcio não fosse recomendado sozinho para o uso como osteopreenchedor.

Em 2001, PECORA et al.⁹³ avaliaram clinicamente o sulfato de cálcio atuando como barreira e material preenchedor de lesões ósseas que se estendiam da cortical vestibular à lingual (tipo túnel). Vinte e quatro pacientes foram divididos em dois grupos, sendo um experimental e o outro controle. No grupo experimental realizou-se apicetomia, retrobturação com Super EBA, e preenchimento da lesão óssea com três camadas de sulfato de cálcio. Já, no grupo controle, as lesões ósseas foram preenchidas com coágulo sanguíneo. O exame radiográfico foi feito antes da cirurgia, logo após a mesma, e seis e doze meses após o procedimento. Os resultados mostraram que o uso de enxerto de sulfato de cálcio na terapia cirúrgica convencional de lesões endodônticas que se estendem da lâmina óssea vestibular até a lingual pode contribuir para a melhora dos resultados clínicos.

Os efeitos de membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis e do sulfato de cálcio na regeneração óssea, foram avaliados por YOSHIKAWA et al.¹²³, 2002. Para o estudo em questão, realizou-se pulpectomia no terceiro e quarto pré-molares de cães dos dois lados da mandíbula. Subsequentemente, as apicetomias foram realizadas, as cavidades retrógradas preparadas e obturadas com Super EBA. Os defeitos ósseos foram divididos em cinco grupos. Nos grupos A, B e C utilizaram-se membranas e-PTFE, membranas PGLA, e membranas colágenas, respectivamente. No grupo D, os defeitos ósseos foram preenchidos com sulfato de cálcio; e o grupo E serviu como controle (as cavidades não receberam nenhum tratamento). Os animais foram divididos em três grupos de quatro nos quais se observou a cura 4, 8 e 16 semanas após a cirurgia, respectivamente. O grupo experimental com a membrana e-PTFE apresentou um volume ósseo significativamente maior e a concavidade da cortical neoformada foi menor do que no grupo controle. A membrana colágena não foi efetiva para a regeneração óssea comparada com o grupo controle. O sulfato de cálcio foi reabsorvido em quatro semanas, a regeneração óssea foi similar àquela do grupo com membrana e-PTFE e superior ao controle. Sendo assim, concluiu-se que a membrana e-PTFE foi a mais efetiva na regeneração dos defeitos ósseos em conjunto com apicetomia. Além disso, as membranas reabsorvíveis usadas não foram efetivas quando comparadas com os grupos controle, e o sulfato de cálcio poderia ser um substituto para a membrana e-PTFE.

No mesmo ano, MURASHIMA et al.⁷⁹, realizaram um estudo em cães com o objetivo de investigar o efeito do sulfato de cálcio quando usado em conjunto com a apicetomia. Nesse trabalho, foram preparados três tipos de defeitos ósseos de ambos os lados da mandíbula. Os defeitos tipo 1 comunicavam-se com a bolsa periodontal na raiz mesial do terceiro pré-molar; os tipo 2 envolviam a raiz distal do terceiro pré-molar e a raiz mesial do quarto pré-molar; e os tipo 3 eram realizados na raiz distal do quarto pré-molar estendendo-se da cortical óssea vestibular até a lingual (defeitos do tipo túnel). As raízes dos terceiros e quartos pré-molares sofreram apicetomia e obturação retrógrada com Super EBA. Os defeitos ósseos do lado experimental foram preenchidos com sulfato de cálcio (Surgiplaster – Classimport-Italy) e aqueles do lado oposto não foram preenchidos e atuaram como controle. Os animais foram mortos oito e dezesseis semanas após a cirurgia. Os

resultados desse estudo permitiram aos autores concluir que o sulfato de cálcio foi efetivo para a regeneração óssea de defeitos extensos e também daqueles do tipo túnel, porém não daqueles que se comunicavam com o sulco gengival, sugerindo que a regeneração óssea após cirurgia parendodôntica poderia ser acelerada através do uso do sulfato de cálcio como material preenchedor.

Um fator de grande importância em todo processo regenerativo é a angiogênese, visto que a diferenciação do tecido ósseo está relacionada com a presença de vasos sanguíneos no local. Com base nesse fato, STROCCHI et al.¹⁰⁹, 2002, realizaram uma pesquisa avaliando comparativamente a densidade de microvasos em locais tratados com sulfato de cálcio e osso autógeno, com ou sem o uso de membranas e-PTFE, em coelhos. Para isso, foram criadas três cavidades com 6mm de largura em cada metáfise das tíbias de 9 animais, totalizando 54 defeitos. Os defeitos do grupo 1 foram preenchidos com grânulos de sulfato de cálcio (Surgiplaster – Classimport, Itália) e recobertos com a membrana e-PTFE; os do grupo 2 foram preenchidos com grânulos de sulfato de cálcio; e os do grupo 3, com osso autógeno. O método utilizado para avaliar a presença de vasos sanguíneos e para contar os microvasos foi o DVM (densidade de microvasos). Os resultados demonstraram diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos, sendo que a quantidade de vasos sanguíneos foi maior no grupo 1 do que no grupo 2, e neste do que no grupo 3. Dessa forma, os autores concluíram que a angiogênese é mais uma ação do sulfato de cálcio, explicando os bons resultados relatados na literatura com o uso de tal material.

CLOKIE et al.²³, 2002, avaliaram o processo de regeneração óssea em defeitos de tamanho crítico em coelhos, utilizando-se de alguns materiais para enxerto ósseo. Para o estudo em questão foram usados 30 animais divididos em 3 grupos, criando-se dois defeitos ósseos na calota craniana de cada animal. Nos animais do grupo 1, um dos defeitos foi preenchido com Osteoset (sulfato de cálcio em grânulos), e o outro não foi preenchido, permanecendo como controle. Nos do grupo 2, um defeito foi preenchido com gel poloxâmico, e o outro com DBM Putty (matriz óssea desmineralizada misturada com gel poloxâmico). E, nos animais do grupo 3, cada defeito foi preenchido com um cimento de fosfato de cálcio, sendo

eles o Norian CRS e o Bone Source. A análise morfométrica dessa pesquisa mostrou que a porcentagem de tecido ósseo, após 12 semanas do procedimento cirúrgico, foi de 95,5% para o DBM Putty, 31,9% para o sulfato de cálcio, 17,11% para o Bone Source, 14,5% para o gel poloxâmico, 13,2% para o grupo controle, e 11,6% para o Norian CRS. Os autores concluíram que a quantidade de tecido ósseo formado foi significativamente maior quando se utilizou o DBM Putty (95,5%) em relação ao sulfato de cálcio (31,9%) e aos cimentos Bone Source (17,11%) e Norian CRS (11,6%).

Em 2003, APAYDIN; TORABINEJAD⁶ se propuseram a avaliar o efeito do sulfato de cálcio no processo de reparo de tecidos duros após cirurgia parendodôntica em cães. Para isso foram realizadas apicetomias em 24 raízes de segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores de cães, tanto do lado direito como do esquerdo da mandíbula. Após a apicetomia foi realizado o preparo apical com ultrassom, e as cavidades foram preenchidas com MTA. Os defeitos ósseos do lado direito foram preenchidos com sulfato de cálcio hemi-hidratado (Capset, Lifecore Biomedical) e os do lado esquerdo permaneceram com controle, sendo preenchidos com coágulo sangüíneo. Os resultados mostraram que a colocação do sulfato de cálcio nos locais de osteotomia, após cirurgia parendodôntica, não intensificam o reparo alveolar ou dentoalveolar, entretanto, o material não apresentou efeitos negativos. Verificou-se também que o sulfato de cálcio não altera significativamente as propriedades do MTA.

No mesmo ano, WALSH et al.¹¹⁸ examinaram a resposta biológica de pastilhas de sulfato de cálcio sozinhas (Osteoset^R) ou combinadas com osso autógeno em defeitos ósseos bilaterais de tamanho crítico no côndilo distal do fêmur de ovelhas. Esses defeitos foram divididos em 3 grupos experimentais, os quais eram preenchidos com pastilhas de sulfato de cálcio, osso autógeno, sulfato de cálcio associado ao osso autógeno, e um grupo controle, em que os defeitos permaneciam apenas com o coágulo sangüíneo. Após 12 semanas foram realizadas as análises por meio de tomadas radiográficas, tomografia computadorizada, histomorfometria e imunohistoquímica. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que a quantidade de tecido ósseo neoformado foi maior nos grupos

experimentais do que no controle. Por outro lado, entre os grupos experimentais não houve diferença estatisticamente significativa, embora no grupo em que se utilizou o sulfato de cálcio associado ao osso autógeno, a quantidade de osso neoformado tenha sido maior. Além disso, os resultados da análise imunohistoquímica sugeriram que as pastilhas de sulfato de cálcio podem estimular a formação óssea, não atuando somente como um material osteopreenchedor e facilitador da regeneração tecidual guiada.

O mecanismo de reposição óssea frente ao sulfato de cálcio também foi avaliado por ORSINI et al.⁸⁹, 2004, utilizando-o na forma de grânulos e cimento. Foram utilizados 8 coelhos, nos quais criou-se dois defeitos de 6 mm em cada tíbia. Os defeitos das tíbias direitas foram preenchidos com cimento de sulfato de cálcio (Surgiplaster – Classimport-Italy), e os das tíbias esquerdas foram preenchidos com grânulos de sulfato de cálcio (Surgiplaster – Classimport-Italy). Quatro animais foram sacrificados após duas semanas, e os outros quatro após quatro semanas. Depois de duas semanas, ambas as formas de sulfato de cálcio ainda estavam presentes, havia 10% dos defeitos preenchidos com tecido ósseo neoformado, sendo este localizado ao redor do material. Após quatro semanas, o sulfato de cálcio, tanto em grânulos como em cimento, foi quase completamente reabsorvido e substituído por tecido ósseo, e aproximadamente 34% dos defeitos estavam preenchidos por osso neoformado. Além disso, não foram encontradas células inflamatórias e não houve diferença estatisticamente significativa entre as formas de apresentação do material. O sulfato de cálcio mostrou-se, portanto, um material reabsorvível, osteocondutor, e bem tolerado pelo hospedeiro, e pode representar uma alternativa razoável no preenchimento de defeitos ósseos.

STUBBS et al.¹¹⁰, 2004, avaliaram a resposta do sulfato de cálcio isolado e como um veículo para a hidroxiapatita em defeitos ósseos criados na tíbia de coelhos. Esses defeitos foram preenchidos com uma cerâmica porosa reabsorvível (Pro Osteon 200R), a mesma combinada com o sulfato de cálcio formando uma pasta fluida, com o sulfato de cálcio em forma de pasta fluida, e com esferas de sulfato de cálcio (seis esferas por defeito). Os espécimes para exame foram obtidos 3, 6, 12, 24, 36 e 52 semanas após a cirurgia e analisados

radiograficamente (radiografia ântero-posterior e lateral) e por meio da microscopia eletrônica. Os resultados revelaram que o sulfato de cálcio, na forma de pasta fluida ou de esferas, realmente suporta a formação de novo osso sozinho; entretanto, um completo preenchimento do defeito ósseo não foi observado. Além disso, o sulfato de cálcio na forma de pasta fluida melhora a manipulação de partículas de enxertos ósseos substitutos como o Pro Osteon 200R, o qual permaneceu como um suporte osteocondutivo durante as 52 semanas, podendo ter uma função importante no fechamento final da cortical óssea.

Também em 2004, AICHELMANN-REIDY; HEATH; REYNOLDS¹, compararam a eficácia clínica do sulfato de cálcio di-hidratado, como um veículo ou barreira, do osso alógeno desidratado congelado desmineralizado (DFDBA) e da membrana e-PTFE para o tratamento de defeitos periodontais em humanos. Dois defeitos infra-ósseos foram comparados em 19 pacientes que apresentavam periodontite crônica. Os defeitos do grupo 1 receberam preenchimento com DFDBA e uma proteção com a membrana e-PTFE; já, os do grupo 2 foram preenchidos com uma mistura de DFDBA/SC (proporção 4:1) e protegidos com uma barreira de sulfato de cálcio. Os resultados desse estudo mostraram que o sulfato de cálcio, quando usado como veículo e barreira em combinação com DFDBA, ajuda significativamente a melhora clínica de defeitos infra-ósseos, sendo o mesmo evidenciado pela redução na profundidade de sondagem, ganhos no nível de inserção clínica e preenchimento dos defeitos. Por isso, os autores concluíram que o sulfato de cálcio representa uma alternativa à membrana e-PTFE, quando usado em combinação com o osso alógeno, para o tratamento de defeitos infra-ósseos.

HARRIS⁴⁷, 2004, avaliou a efetividade de um composto para enxerto ósseo recoberto por uma barreira de sulfato de cálcio em humanos. Para o estudo foram selecionados 100 pacientes apresentando defeitos infra-ósseos periodontais, os quais foram preenchidos com o composto contendo 75% de DFDBA, 15% de SC, 5% de HA e 5% de tetraciclina e, após isso, foram protegidos com uma barreira de sulfato de cálcio de aproximadamente 2,0mm. Antes do procedimento cirúrgico, bem como durante o período pós-operatório, realizado durante uma média de 5,2 meses, foram mensuradas a profundidade de sondagem, o nível de inserção e a recessão

do tecido marginal. Os resultados mostraram que o uso do composto em questão, associado à barreira de sulfato de cálcio, melhorou significativamente os parâmetros clínicos observados durante o período pós-operatório.

Em 2005, MAEDA⁷¹ avaliou o comportamento de três formulações diferentes de sulfato de cálcio: Capset (Lifecore-USA), Surgiplaster (Classimport-Italy) e o sulfato de cálcio di-hidratado (Merck do Brasil), utilizando-os como material para enxerto ósseo em cavidades cirúrgicas de tamanho não crítico em coelhos. Para isso, foram confeccionados 40 defeitos, sendo dois em cada epífise dos fêmures dos animais. Os mesmos foram divididos em 4 grupos, conforme o preenchimento realizado, sendo 24 preenchidos com sulfato de cálcio di-hidratado da Merck do Brasil, 24 com Capset, 24 com Surgiplaster e 8 com coágulo sangüíneo. Os animais foram sacrificados 30, 60, 90 e 180 dias após as cirurgias. Por meio dos resultados encontrados, o autor pôde concluir que os defeitos ósseos tratados com sulfato de cálcio mostraram ocorrência de neoformação óssea em todos os grupos estudados, indiferente da marca comercial do produto utilizado e o processo de reparo foi melhor no grupo preenchido somente com coágulo sangüíneo que nos experimentais.

No mesmo ano, MELO et al.⁷⁶ analisaram histologicamente a influência do vidro bioativo e/ou da barreira de sulfato de cálcio no reparo de defeitos ósseos criados na tíbia de ratos. Esses animais foram então divididos em 4 grupos. No grupo C (controle), as cavidades foram preenchidas com coágulo sangüíneo, no grupo CS, também, porém protegidas com uma barreira de sulfato de cálcio (pasta de sulfato de cálcio Biomet^R Inc., USA), no grupo BG, com vidro bioativo (Biogran, Orthovita^R, USA) e no grupo BG/CS, com vidro bioativo, mas utilizando-se uma barreira de sulfato de cálcio. Nos animais mortos 10 dias após a cirurgia, os defeitos do grupo controle apresentaram maior formação óssea do que os grupos experimentais, não havendo diferença estatística significativa entre os últimos. Quando o sacrifício foi realizado 30 dias após a cirurgia, os defeitos do grupo controle também apresentaram maior formação óssea do que os dos grupos experimentais, havendo consideravelmente maior potencial de cura quando se utilizou a barreira de sulfato de cálcio do que somente o preenchimento do defeito

com vidro bioativo. Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos CS e BG/CS. Os autores atribuíram esses achados ao fato de o sulfato de cálcio ter um grau de reabsorção mais rápido que o vidro bioativo, permitindo um ingresso mais rápido de células osteoprogenitoras.

GUARNIERI et al.⁴⁴, 2005, investigaram a influência do sulfato de cálcio (Surgiplaster) no padrão de regeneração óssea intra-alveolar. Para isso, os autores apresentaram um caso clínico em que, após a extração de um segundo pré-molar superior, o alvéolo foi preenchido com sulfato de cálcio. Três meses depois, o alvéolo foi acessado novamente para a colocação de um implante. Realizou-se, então, a osteotomia utilizando-se uma trefina com 3,0mm de diâmetro externo retirando-se, assim, a parte central do tecido ósseo neoformado o qual foi preparado e submetido à análise histológica e histomorfométrica. Os resultados mostraram um alvéolo totalmente preenchido por tecido ósseo e também indicaram que o sulfato de cálcio foi completamente reabsorvido. Por isso, os autores concluíram que o sulfato de cálcio teve um desempenho aceitável para um material a ser usado, como enxerto, para regeneração óssea intra-alveolar em razão de sua disponibilidade, completa e rápida reabsorção e biocompatibilidade.

A capacidade do enxerto de sulfato de cálcio em promover neoformação óssea, em comparação com o enxerto de osso autógeno e alógeno, foi avaliada por PETERS et al.⁹⁷, 2006. Os autores criaram dois defeitos metafisários de tamanho crítico na tíbia e dois no fêmur de 5 ovelhas, os quais foram divididos em 4 grupos, conforme o enxerto utilizado. Havia três grupos experimentais, nos quais foram usados o sulfato de cálcio em pastilhas (Osteoset), osso autógeno e osso alógeno, e um grupo controle, no qual os defeitos foram preenchidos por coágulo sangüíneo. Três meses após a cirurgia, os animais foram sacrificados para que fossem realizadas as análises dos espécimes. Quanto ao volume de osso formado, o sulfato de cálcio foi equivalente ao osso autógeno e alógeno, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos experimentais; porém, nesses houve formação de tecido ósseo significativamente maior do que no grupo controle. A partir desses achados, os autores concluíram que o sulfato de cálcio pode ser usado como substituto ao enxerto ósseo em defeitos metafisários.

No mesmo ano, GUARNIERI et al.⁴⁵ testaram o uso do sulfato de cálcio como um material para enxerto, utilizado para levantamento de seio maxilar, em 10 pacientes. Para isso, após o levantamento da membrana, o sulfato de cálcio (Surgiplaster) foi colocado preenchendo a porção mais interna do seio. O material para enxerto continuou a ser condensado, camada por camada, até que toda a área fosse preenchida. As radiografias foram realizadas antes da cirurgia, mensalmente até 6 meses após o procedimento cirúrgico, 9 e 12 meses após e anualmente durante dois anos; além disso, seis meses após a cirurgia, foram realizadas biópsias ósseas de todos os pacientes para avaliação histológica e histomorfométrica. Os resultados mostraram que o sulfato de cálcio pode conduzir uma osseointegração dos implantes, poderia ser usado para criar um volume adequado de osso antes da colocação de implantes, e sofreu uma completa reabsorção, sendo substituído por tecido ósseo. Assim, os autores concluíram que o sulfato de cálcio poderia ser usado como um substituto ósseo nas cirurgias para levantamento do soalho do seio maxilar.

2.3 HIDROXIAPATITA

Os biomateriais à base de fosfato de cálcio têm sido, desde a década de 70, amplamente estudados como substitutos ósseos, em função de seus íons serem os constituintes da fase inorgânica do osso, principalmente na forma de hidroxiapatita (KAWACHI et al.⁵⁵, 2000, VERCIK et al.¹¹⁵, 2003). Dentre esses biomateriais, destacam-se as cerâmicas, as quais são formadas basicamente por hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, fosfato tricálcico $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ usualmente na forma estrutural beta, ou então por uma combinação dos mesmos, formando as cerâmicas bifásicas (JARCHO⁵⁰, 1981, LeGEROS⁶⁴, 1988, ERBE et al.³⁰, 2001).

As biocerâmicas podem ser reabsorvíveis ou não-reabsorvíveis, e se apresentar na forma densa ou porosa, sendo que o tamanho de suas partículas e de seus poros é variável (TAGA¹¹², 1996, TUNES¹¹³, 1999, SCHNETTLER et al.¹⁰⁴, 2004). As porosas podem ser de três tipos, quais sejam, a macroporosa (100-

300µm), a microporosa (1-5µm), ou uma forma contendo os dois tamanhos de poros (DE GROOT²⁷, 1980). Já quanto à forma de obtenção, as cerâmicas de hidroxiapatita podem derivar de produtos sintéticos ou naturais (LeGEROS⁶⁴, 1988).

A cerâmica densa, advinda do pó de HA, pode ser obtida, segundo DENISSEN et al.²⁹, 1980, por meio de dois métodos: o da aplicação de calor e prensagem de forma contínua, ou de forma estática. Na primeira, aplica-se simultaneamente calor (acima de 900°C) e pressão (500 Kg/cm²); já, na segunda, o pó é primeiramente comprimido com uma pressão acima de 1000 Kg/cm², e então sinterizado em uma temperatura ao redor de 1200°C.

Já, para a obtenção da cerâmica de HA porosa, o método mais frequentemente usado é a mistura do pó de fosfato de cálcio com um componente orgânico, como naftalene ou peróxido de hidrogênio, seguida pela aplicação de pressão sobre a mistura. A remoção do componente orgânico é realizada por meio da sublimação, processo químico em que ocorre a passagem do estado sólido para gás sem passar pelo estado líquido, deixando poros cuja integridade é mantida durante o processo de sinterização (JARCHO⁵⁰, 1981).

Por sua vez, a HA de coral é obtida convertendo-se o esqueleto de carbonato de cálcio de corais em fosfato de cálcio por meio de uma reação de substituição hidrotérmica, obtendo-se um material composto por hidroxiapatita com a mesma estrutura porosa do coral. Além disso, as condições químicas e térmicas da reação destroem qualquer resíduo orgânico do material, resultando em material atóxico e biocompatível (WHITE; SHORS¹²⁰, 1986).

No início do século passado (1920) ALBEE^d (apud DE GROOT²⁷, 1980) sugeriu e testou a possível aplicação do pó de fosfato tricálcico, na forma de uma pasta, no reparo de fraturas ósseas, sendo o material bem tolerado e substituído por osso neoformado.

^d Albee, FH. Ann surgery; 1920, 71, 32 apud De Groot (1980). p. 47.

Em 1971, BHASKAR et al.¹² utilizaram uma cerâmica de fosfato tricálcico na tíbia de ratos com o objetivo de testar esse material para o preenchimento de defeitos ósseos. Os resultados demonstraram que ela foi bem tolerada, ocorrendo o crescimento de tecido conjuntivo no interior dos poros da cerâmica dentro de 4 dias após a cirurgia, e, uma semana depois, iniciou-se a formação de tecido ósseo. Além disso, verificaram que o material sofreu reabsorção, a qual progrediu com o aumento dos tempos pós-operatórios. Após 14 semanas, a cortical óssea do defeito estava reparada, porém, na área central, parte do material implantado ainda podia ser reconhecido.

Os primeiros a testarem uma cerâmica de fosfato de cálcio para uso em odontologia foram LEVIN et al.⁶⁶, 1974. Os autores criaram defeitos periodontais em cães, os quais apresentavam 2 a 3mm de diâmetro e 3 a 4mm de profundidade. Eles foram preenchidos com cerâmica de fosfato tricálcico reabsorvível e com poros de 100 a 300µm, porém um defeito, em cada animal, não era preenchido, atuando como controle. Os animais foram mortos em 1, 2, 3, 4, 6, 8, 11, 13, 19 e 22 semanas após o procedimento cirúrgico. Os resultados mostraram que, somente nas primeiras três semanas ocorreu o aparecimento de células inflamatórias, atribuídas, pelos autores, ao procedimento cirúrgico. Além disso, as partículas de cerâmica foram continuamente reabsorvidas por células gigantes multinucleadas, sendo que nos espécimes examinados 22 semanas após a cirurgia não foram encontrados traços do material. Por outro lado, os autores afirmaram que a deposição de tecido ósseo ocorreu após a cerâmica ser reabsorvida, sendo que a mesma se deu de forma mais rápida nos defeitos do grupo controle, mesmo no período de 22 semanas. Foi observada também a deposição de novo cemento e ligamento periodontal, sendo o material muito bem tolerado pelos tecidos.

Após isso, NERY et al.⁸², 1975, também estudaram a aplicação de um material biocerâmico à base de fosfato tricálcico em defeitos periodontais infra-ósseos, em cães. O material utilizado pelos autores foi uma cerâmica de fosfato tricálcico com 50% de porosidade e apresentando poros de 800 a 1000µm de diâmetro, e os resultados foram avaliados após 1, 2, 4, 8 e 16 semanas. Verificou-se que o material foi bem tolerado pelos tecidos, não se apresentando como tóxico e

permitiu o crescimento ósseo no interior de seus poros, demonstrado pelo reparo do periodonto. Dessa forma, concluíram que tal material teria potencial para ser utilizado como substituto ósseo.

HENCH et al.^e (1977, apud DENISSEN e DE GROOT²⁸, 1979), mostraram, em trabalho realizado, que a superfície da hidroxiapatita forma uma união química com o osso, sugerindo que os sais de fosfato de cálcio seriam biocompatíveis e capazes de unir-se firmemente ao tecido ósseo. Assim, em 1979, DENISSEN e DE GROOT²⁸ realizaram um estudo em que implantaram blocos de hidroxiapatita sinterizada e não reabsorvível em alvéolos de cães e humanos com o objetivo de preservar o rebordo alveolar após a extração. Os resultados desse experimento demonstraram que o implante manteve a altura e espessura do rebordo alveolar, foi bem tolerado pelos tecidos, não houve presença de imagem radiolúcida, e ocorreu formação óssea ao redor do mesmo. Além disso, ao tentarem remover os implantes colocados em cães, os mesmos mostraram-se aderidos ao osso, sendo possível remover apenas pedaços dos mesmos.

Em 1980, DENISSEN et al.²⁹ avaliaram macroscopicamente e histologicamente a resposta do tecido muscular e da tíbia de ratos ao implante de hidroxiapatita sintética. Os resultados mostraram, seis meses após a cirurgia, que no tecido muscular os implantes foram circundados por uma fina cápsula de tecido fibroso e não havia sinais de inflamação nem da presença de mineralização. Por outro lado, o implante do material no tecido ósseo permitiu a neoformação de osso diretamente sobre o implante e o mesmo apresentou-se firmemente aderido ao tecido ósseo, não demonstrando, entretanto a reabsorção do material.

Uma comparação radiológica e histológica do comportamento da hidroxiapatita em relação ao do osso autógeno, quando implantados na mandíbula de cães, foi realizada por FRAME; BROWNE; BRADY³⁷, 1981. Nesse estudo, três meses após a extração dos terceiros e quartos pré-molares e primeiros molares dos

^e Henche, LL, Paschall, HA, Allen, WC, Piotrowski, G. An investigation of bonding mechanisms at the interface of a prosthetic material. Report n. 8, 1977. Document published by the Department of Materials Science and Engineering, University of Florida, Gainesville, Fla, apud Denissen e De Groot (1979) p. 552.

animais, as partes edêntulas da mandíbula foram divididas horizontalmente. Entre as porções de tecido ósseo, implantou-se, de um lado, hidroxiapatita e, do outro, osso autógeno retirado da crista ilíaca. Após 12 semanas de observação, os animais foram mortos. Em ambos os lados houve um bom reparo ósseo, sendo que, o osso formado sobre a superfície da hidroxiapatita uniu-a firmemente aos tecidos adjacentes. Os resultados histológicos demonstraram uma boa biocompatibilidade da HA, e a ausência de tecido fibroso entre o implante e o osso. Quanto à reabsorção do materiais, em nenhum dos espécimes houve evidências de reabsorção ou desintegração da HA, enquanto o osso autógeno sofreu rápida remodelação e incorporação ao tecido do hospedeiro. Os autores concluíram, então, que a HA é um material inerte e permanece como um “preenchedor de espaço”, podendo ser utilizada como substituta ao osso autógeno em cirurgias da região maxilo-facial.

PIECUCH⁹⁸, 1982, realizou um trabalho com o objetivo de avaliar se a cerâmica de hidroxiapatita teria propriedade osteoindutora, ou se funcionaria apenas como uma matriz para o crescimento ósseo. Para isso colocou implantes do material em tecido subcutâneo de cães. Os animais foram mortos oito semanas após o procedimento cirúrgico e a análise macroscópica e microscópica dos espécimes demonstrou que os locais onde os implantes foram colocados repararam normalmente, verificando-se a união do material com o tecido, sem a presença de células gigantes ou de resposta inflamatória. Por outro lado, no interior dos poros, notou-se a presença de tecido conjuntivo, porém não de tecido ósseo. O autor concluiu que, apesar de a hidroxiapatita ser bem tolerada pelos tecidos, não apresenta capacidade osteoindutora.

Em 1989, DALCUSI et al.²⁵ avaliaram a capacidade de cerâmicas bifásicas macroporosas de fosfato de cálcio serem reabsorvidas em defeitos infra-ósseos criados em cães. Os materiais utilizados tinham proporções variadas de β TCP/HA, quais sejam 15/85, 35/65, 85/15. Seis meses após os procedimentos cirúrgicos os animais foram mortos. Os resultados mostraram que houve uma diminuição da média de tamanho das partículas, bem como um aumento no tamanho das microporosidades tanto na superfície quanto no centro das mesmas,

indicando a ocorrência de dissolução do material. Tal capacidade reabsortiva dependeu da proporção β TCP/HA, sendo que quanto maior a proporção de β TCP em relação à HA, maior a sua capacidade de ser reabsorvida. Os autores relataram ainda que houve a formação de microcristais com as mesmas características dos cristais de apatita do tecido ósseo, podendo a mesma ser devido à precipitação de íons cálcio e fosfato durante a dissolução do material. Sendo assim, os autores concluíram que um dos meios de aumentar a capacidade de reabsorção das cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio é através da variação da proporção β TCP/HA.

Segundo BAGAMBISA e JOOS⁹, 1990, a osteomorfogênese está associada com os fenômenos de ação das células (ancoragem, inserção, adesão, e crescimento) e a formação e deposição de osso diretamente sobre o implante requer uma superfície que não seja somente atóxica, mas que também favoreça a ação celular. Sendo assim, esses autores avaliaram o comportamento de osteoblastos quando cultivados diretamente sobre a superfície de partículas porosas e densas de hidroxiapatita sintética, durante o período de 4 a 28 dias. Os resultados mostraram que os osteoblastos se uniram e se aderiram à superfície da hidroxiapatita, cresceram, proliferaram, e secretaram matriz extracelular, sem nenhum prejuízo à fisiologia das células. Não foi verificado também nenhum sinal de toxicidade, favorecendo assim a osteomorfogênese e o reparo ósseo.

Em 1992, GRANJEIRO et al.⁴³ avaliaram algumas hidroxiapatitas para uso clínico com relação às características físico-químicas, utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura, espectrometria de infra-vermelho, difração e fluorescência de raios X, e determinação da concentração de íons cálcio e fosfato. As hidroxiapatitas testadas foram a Biohidroxi (Inodon), Osteosynt (Einco Ltda), HA 40 (Homus Ind. Com. Ltda), Osteogen (GBD Marketing Group Inc.), HA-Padrão (Sigma Corporation). Os resultados demonstraram que, quanto à pureza, todos os materiais apresentaram alto grau, semelhantes à HA-Padrão, com exceção da HA 40, que mostrou impurezas quando analisada pela espectrometria de infra-vermelho e fluorescência de raios X. Com relação à granulação, a Biohidroxi foi a única que apresentou granulação de 10 a 50 micrômetros, portanto, a única que

permitiria sua reabsorção pelo mecanismo da fagocitose. E, quanto à liberação de íons cálcio, a Biohidroxi também foi a única que, no estudo de dissolução ácida, liberou totalmente esses íons. Além disso, todos os materiais apresentaram superfície irregular, e a Osteosynt apresentou poros de 1 a 5 micrômetros de diâmetro.

BONACHELA et al.¹³, 1992, avaliaram clínica e radiograficamente o implante intra-alveolar, pós-extração, de uma hidroxiapatita microgranular (Biohidroxi, Inodon) com o objetivo de testá-la como um material a ser utilizado para a manutenção de rebordos alveolares. O paciente apresentava comprometimento periodontal dos dentes incisivos inferiores, bem como dos pré-molares inferiores direitos. Assim, após a extração dos referidos dentes, foi realizada a implantação da hidroxiapatita nos alvéolos, homogeneizando-a com o próprio sangue do paciente. Sete dias após a cirurgia, a região apresentava-se em processo normal de reparo e, 3 meses depois, a mucosa apresentava-se firme à palpação, com coloração normal e ausência de ulceração. Radiograficamente, notou-se aumento da radiopacidade na região apical dos alvéolos, e manutenção do nível ósseo original. Dessa forma, os autores consideraram que o material demonstrou um sucesso clínico significativo.

A resposta do tecido ósseo com relação ao implante de osso bovino inorgânico reabsorvível, bem como a duas hidroxiapatitas densas não-reabsorvíveis, com tamanhos diferentes de partículas foi avaliada e comparada por KLINGE et al.⁵⁹, 1992. Os autores realizaram 4 cavidades nas calvárias de 13 coelhos, e as mesmas foram divididas em 4 grupos. No grupo 1, eram preenchidas com osso bovino inorgânico (Bio-Oss); no grupo 2, com partículas densas de hidroxiapatita de 0,3 a 0,6mm; no grupo 3, com partículas de HA densas de 0,6 a 1,0mm; e, os do grupo 4 permaneceram como controle. Os animais foram mortos 4 e 14 semanas após a cirurgia, e os resultados foram obtidos por meio de análise radiográfica, microscópica, e histomorfométrica. A biocompatibilidade de todos os implantes foi comprovada, uma resposta inflamatória leve foi encontrada nas primeiras 4 semanas, porém a mesma diminuiu quase completamente em 14 semanas. Nenhuma tendência de osteoindução foi observada, embora o reparo ósseo, 4 semanas após a cirurgia, tenha ocorrido primeiramente no grupo do Bio-Oss.

Naqueles animais mortos 14 semanas após a cirurgia, o padrão de regeneração óssea foi o mesmo, independente do material implantar.

No mesmo ano, NERY et al.⁸¹ realizaram um estudo com o objetivo de determinar a proporção ideal de HA e β TCP em cerâmicas de fosfato de cálcio porosas e bifásicas. Foram, então, criados defeitos infra-ósseos periodontais em cães, sendo os mesmos preenchidos com as cerâmicas em questão em diferentes proporções. Para o grupo controle, a proporção utilizada foi 0HA/0 β TCP, havendo também 7 grupos experimentais, nos quais as cerâmicas apresentavam-se da seguinte maneira: 100HA/0 β TCP, 85HA/15 β TCP, 65HA/35 β TCP, 50HA/50 β TCP, 35HA/65 β TCP, 15HA/85 β TCP, 0HA/100 β TCP. O ganho no nível de inserção foi analisado por meio das medidas da profundidade de sondagem realizadas antes e seis meses após o enxerto, assim como os espécimes foram avaliados histologicamente. A análise estatística demonstrou que, em todos os grupos experimentais, a melhora foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. Já, quanto aos grupos experimentais, naqueles em que a proporção foi de 85HA/15 β TCP e 65HA/35 β TCP, a melhora foi significativamente maior do que nos demais. Por outro lado, a avaliação histológica mostrou que a regeneração óssea e o nível de inserção foram maiores quando se utilizou a proporção de 85HA/15 β TCP, pois esse grupo mostrou os melhores resultados.

OLIVEIRA et al.⁸⁷, 1993, analisaram a resposta tecidual frente ao implante de micropartículas de HA sintética, de 10 a 50 micrômetros, em tecido subcutâneo de ratos. Nas primeiras horas (3 e 24 horas) após a cirurgia, observou-se uma intensa reação inflamatória aguda. A partir do sétimo dia ocorreu a formação de granulomas do tipo corpo estranho ao redor das partículas, e aos 60 dias houve redução do volume dos mesmos e maior dispersão das células inflamatórias, não sendo visualizado envolvimento imunológico exacerbado. Os autores concluíram que não houve rejeição do material, reforçando sua biocompatibilidade e possibilitando seu uso clinicamente.

Segundo KOHRI et al.⁶⁰, 1993, muitos fatores influenciam a biodegradação do material, dentre eles o tamanho das partículas, a proporção de

TCP e HA e as condições em que o mesmo é sinterizado. Esses autores examinaram in vitro a estabilidade de cerâmicas de fosfato de cálcio em água destilada deionizada e soluções fisiológicas. Quatro tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio foram testadas, quais sejam, TCP puro, HA pura, e duas cerâmicas bifásicas, uma contendo 38% de TCP (38TCP), e a outra contendo 80% de TCP (80TCP). Tais cerâmicas foram imersas nas soluções citadas acima durante 1, 4 e 12 semanas para que as mudanças sofridas fossem avaliadas por meio de difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que o TCP puro, bem como aquele presente nas cerâmicas bifásicas, foram convertidos em apatita. Além disso, cristais de apatita com um formato semelhante a agulhas foram observados na superfície desses materiais, podendo ser resultado da hidrólise do material, bem como da precipitação de íons cálcio e fosfato por sua dissolução. Por outro lado, a HA pura não mostrou nenhuma mudança em sua estrutura. Por isso, os autores concluíram que o TCP é menos estável que a HA em solução aquosa.

Em 1995, YAMAGUCHI et al.¹²² observaram clinicamente o reparo ósseo ao redor de blocos de hidroxiapatita sintética, bem como a degradação dos mesmos durante um longo período de tempo. Sete pessoas, que tinham cavidades ósseas causadas por tumores ósseos ou remoção de osso para enxerto, e nas quais realizou-se o implante de blocos de HA porosa, foram acompanhadas radiograficamente por mais de seis anos. Com os resultados, os autores verificaram que a formação de tecido ósseo ao redor dos blocos de HA foi máxima 1 ano após o implante, e também que o mesmo resistiu à degradação durante todo o período de acompanhamento. Tais fatos demonstraram, como características dos blocos de HA, a biocompatibilidade e a resistência à degradação.

NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996, avaliaram a biocompatibilidade do Hapset^R, material composto pela associação do sulfato de cálcio com hidroxiapatita densa, através da inserção de tubos de polietileno em alvéolos de ratos após extrações, contendo em suas extremidades Hapset e guta-percha. Os animais foram mortos 7, 15, 21 e 30 dias após a cirurgia, e os espécimes processados e submetidos à análise histológica. Com os resultados obtidos, constatou-se um comportamento menos irritante da gutapercha, já a irritação local

provocada pelo Hapset^R foi importante, visto que não permitiu a organização do tecido conjuntivo próximo ao material mesmo nas fases mais tardias de observação, ocorrendo atraso na organização dos tecidos próximos ao Hapset^R, com persistência do infiltrado inflamatório e atraso na formação do trabeculado ósseo. Além disso, nesse estudo também não se observou qualquer indício de absorção do material até o período de 30 dias.

Em 1998, YUAN et al.¹²⁵ estudaram a absorção de BMP bovina por cerâmicas de fosfato de cálcio por meio de testes in vitro e in vivo, bem como investigaram o aumento da osteogênese pelas mesmas cerâmicas associadas à BMP bovina. No estudo in vitro foi testada a capacidade de absorção de diferentes cerâmicas de fosfato de cálcio porosas (HA, 22TCP/78HA, 37TCP/63HA) à BMP bovina. Os resultados mostraram que a HA pura teve um maior poder absorvivo que as outras duas cerâmicas bifásicas. O estudo in vivo foi realizado em duas espécies animais: porcos e cães. Nos primeiros, 4 espécimes de 30TCP/70HA porosas foram implantadas de um lado do músculo dorsal, e, 15 dias depois, mais 4 espécimes da mesma cerâmica, do outro lado. As amostras foram colhidas 30 dias após a última cirurgia. Os resultados mostraram que a cerâmica pode induzir a formação de tecido ósseo, sendo que a análise imunohistoquímica detectou uma alta concentração de BMP no interior dos implantes cerâmicos antes de ter ocorrido a formação de tecido ósseo. No estudo in vivo realizado em cães, realizaram implantes da cerâmica porosa com 30TCP/70HA saturada com BMP bovina ou não (controle) também no músculo dorsal, colhendo as amostras 50 e 100 dias após o procedimento cirúrgico. Os resultados comprovaram a neoformação óssea com ambos os implantes, nos dois períodos experimentais, sendo que a mesma foi maior quando se utilizou os implantes tratados com BMP bovina. Dessa forma, os autores concluíram que as cerâmicas de fosfato de cálcio têm capacidade de absorver BMP dos fluidos corpóreos, da mesma forma que sugerem que tal fato tem uma importante função durante a osteogênese.

A propriedade osteoindutiva de dois tipos de cerâmica de hidroxiapatita porosa, fabricadas por diferentes produtores, foi testada, em cães, por YUAN et al.¹²⁴, 1999. Uma das cerâmicas (J-HA), era macroporosa (poros de

200µm), foi sinterizada a 1200°C, e a superfície de seus poros era densa. Por outro lado, a cerâmica S-HA, apresentava macroporos de 400µm, foi sinterizada a 1100°C, tendo microporos na superfície de seus poros. Tais cerâmicas foram implantadas intramuscularmente em 4 cães, sendo que 2 deles foram mortos 3 meses após o implante, e os outros dois, 6 meses depois. Os resultados do estudo mostraram que ocorreu formação de tecido ósseo junto a todos os implantes de S-HA nos dois períodos experimentais; tal fato não foi observado em nenhum dos espécimes de J-HA, já que havia, dentro de seus poros, apenas tecido fibroso, células e vasos sanguíneos. Com base nos achados, os autores puderam concluir que a osteoindução junto aos biomateriais de fosfato de cálcio é material-dependente, acreditam que o fator chave para as diferenças encontradas foram os microporos presentes na superfície dos macroporos, e sugerem também que os mesmos poderiam auxiliar na absorção de mais BMP pelo material.

ORR et al.⁸⁸, 2001, avaliaram propriedades mecânicas (resistência à compressão e módulo de elasticidade) de defeitos ósseos medulares tratados com partículas de hidroxiapatita ou de osso bovino inorgânico (Bio-Oss). Para isso, foram criados defeitos no côndilo femoral de coelhos, os quais foram divididos em três grupos conforme o material de preenchimento utilizado, sendo um deles o grupo controle, onde os defeitos não foram preenchidos. As análises foram realizadas 6 e 26 semanas após o procedimento cirúrgico. Os resultados mostraram que, quanto à resistência à compressão, nos defeitos tratados com HA houve um aumento de 1,7 dentro de 6 semanas e de 5,7 dentro de 26 semanas, quando comparados aos do grupo controle. Os valores relativos a essa mesma propriedade do Bio-Oss foram mais próximas, porém maiores, daqueles obtidos pelo osso neoformado nos defeitos do grupo controle. Quanto ao módulo de elasticidade, o grupo da HA mostrou um aumento de 2 vezes em 6 semanas, e de 9 vezes em 26 semanas, quando comparado ao controle; não havendo diferença significativa entre o grupo controle e do Bio-Oss em nenhum dos períodos experimentais. Por outro lado, os autores relataram também os resultados obtidos com uma análise histomorfométrica realizada 26 semanas após o implante, apenas nos grupos experimentais, mostrando que a quantidade de partículas de Bio-Oss ocupou dois terços a menos do espaço que as de HA, com a mesma quantidade de material implantado, sugerindo assim uma reabsorção das partículas de Bio-Oss.

VERDONSCHOT et al.¹¹⁶, 2001, também testaram as propriedades mecânicas de partículas de biomateriais com diferentes proporções TCP/HA, tamanho e porosidade, em comparação com partículas de osso humano. O estudo foi constituído de sete grupos: (1) osso cortical e medular humano, partículas de 2,1 a 1,3mm; (2) 80TCP/20HA, 0% de porosidade, partículas de 3 a 5 mm; (3) 20TCP/80HA, 0% de porosidade, partículas de 3 a 5mm; (4) 80TCP/20HA, 50% de porosidade, partículas de 3 a 5mm; (5) 80TCP/20HA, 0% de porosidade, partículas de 6 a 8mm; (6) mistura dos grupos 1 e 2; (7) mistura dos grupos 1 e 4. Quanto à deformação após a aplicação de carga, as partículas de osso mostraram o maior valor, enquanto os menores foram encontrados nas partículas dos biomateriais. Entre os biomateriais, quanto maior a partícula e a porosidade, maior a deformação; enquanto que a proporção TCP/HA não influenciou tal parâmetro. Quanto ao módulo de elasticidade, o osso humano demonstrou o menor valor, enquanto os maiores foram alcançados pelos grupos 2 e 4, sendo ainda maior quanto maior a porosidade. Nos grupos onde foram feitas as misturas (6 e 7), os resultados foram intermediários, porém se aproximaram mais daqueles obtidos com o osso humano. Os autores concluíram que o uso dos biomateriais deve ser realizado com cuidado, visto que os resultados obtidos foram muito diferentes daqueles do osso humano. Além disso, eles indicam que, quanto maior o tamanho da partícula e a porosidade, mais os resultados relativos às propriedades mecânicas se aproximam daqueles do osso humano, e acreditam que a mistura dos biomateriais com o osso é válida, pois melhora as propriedades mecânicas do material e diminui a quantidade de osso requerida para o enxerto.

No mesmo ano, STEFFEN et al.¹⁰⁸ implantaram blocos porosos de β TCP, impregnados ou não com TGF- β 3, em defeitos ósseos criados na porção anterior de duas vértebras da coluna vertebral de macacos. O sacrifício dos animais foi realizado 3 e 6 meses após a cirurgia. Os resultados mostraram que os blocos de β TCP foram completamente osseointegrados dentro de seis meses, com abundante aposição de tecido ósseo em contato direto com a superfície porosa do material, bem como no seu interior, porém os blocos sofreram mínima reabsorção. Por outro lado, mostrou-se que, apesar de os blocos impregnados com TGF- β 3 apresentarem também osseointegração, não houve vantagens quanto a esse fator, porém, observou-se reabsorção das partes periféricas do material, sendo o mesmo

substituído por tecido ósseo, o que, segundo os autores, seria resultado da intensa angiogênese mediada pelo TGF- β 3.

Em 2002, KURASHINA et al.⁶² compararam a atividade osteoindutiva de cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio, modificando a proporção de HA e TCP. Para isso, os autores implantaram intramuscularmente, em coelhos, cilindros das referidas biocerâmicas nas proporções de 7HA/3TCP (HT 73), 2HA/8TCP (HT 28) e 0HA/10TCP (HT 010). Seis meses após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram mortos e as peças obtidas foram submetidas à análise microscópica e microrradiográfica. Os resultados mostraram que a formação óssea foi detectada somente nos espécimes em que se utilizou a HT 73, sendo que os outros implantes não foram capazes de induzir a formação de tecido ósseo. Com relação à reabsorção dos implantes, após o período experimental de seis meses, a HT 73 não demonstrou modificação na sua estrutura; por outro lado, tanto a HT 28 quanto a HT 010, mostraram significativa mudança no formato e também diminuição de tamanho, evidenciando a ocorrência de reabsorção. Os autores comprovam que o TCP é mais degradável que a HA e, além disso, que a manutenção do material implantado no local do enxerto pode auxiliar a ocorrência de osteoindução.

No mesmo ano, GOSAIN et al.⁴¹ também avaliaram a capacidade osteoindutiva de biomateriais derivados de hidroxiapatita, implantando-os no tecido subcutâneo e intramuscular de ovelhas. Foram utilizados dois materiais cerâmicos, um deles contendo 100% de HA, e o outro 60% de HA e 40% de β TCP; três na forma de cimento, contendo (1) 100% de HA, (2) 60% de HA e 40% de β TCP, (3) 20% de HA e 80% de β TCP e, como controle, utilizou-se de osso autógeno. Um ano após os implantes, foram realizadas as análises, por meio de tomografia computadorizada e microscopia eletrônica. Quanto à reabsorção, o osso autógeno e o cimento contendo 20% de HA e 80% de β TCP, mostraram significativa redução de volume, sendo que o mesmo não foi observado nos outros materiais. Quanto ao potencial de osteoindução, uma significativa formação óssea foi observada quando a arquitetura dos poros foi mantida, sendo assim maior no caso das cerâmicas. Por outro lado, com relação aos cimentos, os autores constataram maior formação óssea quando havia maior porcentagem de β TCP, em virtude de que a reabsorção do

mesmo levaria a um aumento da porosidade do material, apesar da diminuição do volume do mesmo.

BRANDÃO et al.¹⁴, 2002, estudaram, por meio de análise histológica e histométrica, o potencial osteoindutivo da hidroxiapatita, sozinha ou combinada com proteínas ósseas morfogenéticas (HA/BMPs), quando implantada em alvéolos dentais de ratos. Foram utilizados 45 animais, divididos em três grupos: controle, onde os alvéolos não receberam tratamento; HA, nos quais utilizou-se a hidroxiapatita pura; e HA/BMPs, implantando-se a hidroxiapatita acrescida de BMPs. Após 7, 21 e 42 dias da cirurgia, os ratos foram mortos para que fossem realizadas as análises histológica e histométrica. Os resultados mostraram que ambos os materiais produziram atraso na cronologia do reparo alveolar em comparação aos animais controle, principalmente nos períodos de 21 e 42 dias. No período de 21 dias, houve maior formação óssea no grupo da HA pura do que no da HA/BMPs, havendo diferença estatística entre eles. Já 42 dias após o procedimento cirúrgico, houve uma inversão, pois havia mais tecido ósseo neoformado no grupo HA/BMPs do que no da HA pura, porém sem diferenças estatísticas entre os mesmos. Assim, os autores concluíram que os materiais não trouxeram benefícios à formação óssea no período normal de reparação alveolar e que a HA/BMPs não apresentou propriedades osteoindutoras nas condições em que foi enxertada ou tendo como veículo a hidroxiapatita em formato granular.

Em 2004, FERREIRA et al.³³ realizaram um estudo com o objetivo de verificar a capacidade osteoindutiva de proteínas ósseas morfogenéticas bovinas unidas à HA microgranular sintética de 5 μ m (GenPro, Baumer). Para isso, confeccionaram cavidades de tamanho crítico na calota craniana de 25 ratos. Esses animais foram divididos em um grupo experimental, composto de 15, os quais foram mortos 1, 3, e 6 meses após a cirurgia, e um grupo controle, composto de 10 animais, os quais foram mortos zero hora e 6 meses depois do procedimento cirúrgico. Os resultados mostraram que 1 e 3 meses após a cirurgia não houve formação de tecido ósseo, as cavidades foram preenchidas com tecido conjuntivo fibroso e ocorreu reação granulomatosa do tipo corpo estranho ao redor dos aglomerados de HA. No final de seis meses, no grupo experimental, o tamanho dos

focos granulomatosos diminuiu e a área do defeito reduziu 22% quando comparada à do grupo controle zero hora, devido à deposição de tecido ósseo nas bordas do mesmo; porém, esse resultado foi similar ao encontrado no grupo controle seis meses após a cirurgia. Os autores concluíram que o material utilizado provocou a ocorrência de reação granulomatosa do tipo corpo estranho, a qual inibiu a neoformação óssea, sugerindo que a HA microgranular sintética não seria um bom carreador para a BMP induzir formação óssea.

No mesmo ano, GOSAIN et al.⁴² testaram biomateriais à base de HA com o objetivo de avaliar seu potencial osteogênico, quando implantados, durante 1 ano, na calvária de ovelhas. Os materiais utilizados foram uma cerâmica contendo 60% de HA e 40% de β TCP, e três cimentos contendo (1) 100% de HA, (2) 60% de HA e 40% de β TCP, (3) 20% de HA e 80% de β TCP. Nos defeitos preenchidos com a cerâmica, ou com o cimento de 60% de HA e 40% de β TCP houve aumento significativo de volume tecidual, indicando que a deposição óssea no interior dos implantes excedeu a reabsorção do material. Por outro lado, nos defeitos preenchidos com os outros cimentos não houve aumento significativo de volume tecidual. Além disso, houve uma correlação inversa entre a concentração de HA e a quantidade de substituição de material por osso. Segundo os autores, isso ocorreu em virtude de que, com o aumento da concentração de β TCP, aumentou a presença de macroporos, causada pela reabsorção do mesmo. Assim, a presença deles poderia otimizar a neoformação óssea, o que, segundo os autores, poderia ser conseguido pelo aumento na concentração de um componente rapidamente reabsorvível como o β TCP.

SUBA et al.¹¹¹, 2004, compararam o efeito de partículas de β TCP e de osso autógeno a serem utilizados para levantamento de seio maxilar em 20 pacientes. Seis meses após a cirurgia de enxerto, foram obtidos cilindros do tecido ósseo neoformado na região e colocados implantes no local. Os autores utilizaram oitenta amostras ósseas para avaliar histologicamente a osseointegração dos enxertos, bem como com o objetivo de mensurar a densidade óssea por meio de histomorfometria. Os resultados mostraram que o β TCP foi um material osteocondutivo e que o mesmo sofreu uma desintegração gradual, fornecendo

espaço para a regeneração óssea. Além disso, a densidade óssea foi similar com ambos os materiais. Dessa forma, os autores concluíram que, após seis meses, o β TCP propiciou a formação de um tecido ósseo estável, apto para a ancoragem de implantes dentários.

O processo de reparo de cavidades criadas no ângulo da mandíbula de cães foi analisado por ARTZI et al.⁷, 2004. Foram criados seis defeitos ósseos, os quais foram divididos em três grupos: um controle e dois experimentais, sendo que em um deles se utilizou osso bovino inorgânico e no outro β TCP poroso. Além disso, um defeito de cada grupo foi coberto com uma membrana de colágeno. Os animais foram mortos aos 3, 6, 12 e 24 meses após o procedimento cirúrgico. Os resultados mostraram que não houve diferença entre os defeitos cobertos ou não com membrana, independente do preenchimento realizado. Houve, ainda, completo reparo ósseo em todos os grupos testados, sendo que tanto o osso bovino inorgânico quanto o β TCP mostraram-se materiais biocompatíveis. Entretanto, aos 24 meses, as partículas de β TCP foram completamente reabsorvidas, enquanto as partículas de osso bovino inorgânico ainda apresentavam-se nos locais cirúrgicos.

Em 2005, LE NIHOANNEN et al..⁶⁵ avaliaram a capacidade osteoindutiva de uma cerâmica de fosfato de cálcio bifásica microporosa, implantando-a intramuscularmente em ovelhas. O material apresentava-se na forma de partículas de 1 a 2 mm de diâmetro, com uma proporção HA/ β TCP de 60/40, porosidade total de 70%, contendo macro e microporos (450 μ m e 0.43 μ m, respectivamente), cuja superfície era microporosa. Seis meses após o procedimento cirúrgico os animais foram mortos. Os resultados mostraram que houve formação de tecido ósseo em contato direto com a superfície das partículas da cerâmica, entre elas, bem como no interior dos macroporos das mesmas; tendo esse osso um aspecto bem mineralizado com a presença de osteócitos, e características similares ao osso esponjoso. Por isso, os autores indicam a utilização do material em cirurgias ósseas corretivas.

No mesmo ano, HING et al..⁴⁹ avaliaram a influência da microporosidade sobre a osseointegração e volume ósseo no interior de substitutos

ósseos compostos por hidroxiapatita porosa. Foram utilizados dois pares de hidroxiapatita, um deles apresentando 70% de porosidade (HA70-1 e HA70-2), e o outro 80% de porosidade (HA80-1 e HA80-2). A HA70-1 e a HA80-1 apresentavam ainda 10% de microporosidades na superfície de sua estrutura, enquanto a HA70-2 e a HA80-2 possuíam, no mesmo local, 20% de microporosidade. Os materiais foram implantados no côndilo femoral de 6 coelhos, sendo que os mesmos foram removidos 1, 3, 12 e 24 semanas após a cirurgia para análise histológica, histomorfométrica e mecânica. A análise histológica demonstrou uma variação no grau de penetração de capilares neoformados em 1 semana e da morfologia óssea dentro das estruturas de HA, de 3 a 24 semanas. Além disso, a histomorfometria demonstrou um aumento significativo de volume ósseo quando o material apresentava 20% de microporosidade em sua estrutura dentro de três semanas. Entretanto, um elevado nível de volume ósseo foi mantido somente dentro de 24 semanas no grupo da HA80-2, não havendo diferença estatisticamente significativa entre 12 e 24 semanas para os grupos que apresentavam porosidade total de 70%. Os resultados dos testes mecânicos sugeriram que as diferenças quanto à formação de tecido ósseo refletem em variações com relação à mecânica, sendo que o grau de reforço é conferido ao material quando o mesmo encontra-se completamente integrado com o tecido ósseo. Dessa forma, os autores propõem que a manipulação dos níveis de porosidade no interior do material, para enxerto ósseo substituto, pode ser usada para acelerar a osseointegração e elevar o equilíbrio do volume ósseo, possivelmente por influenciar a permeabilidade e a angiogênese.

ÖZTÜRK et al.⁹⁰, 2006, realizaram um estudo para verificar se a combinação de DBM e HA/ β TCP poderia criar um composto com propriedades osteocondutiva e osteoindutiva. Para isso, os autores confeccionaram defeitos nos ossos rádios de 24 ratos. Esses animais foram divididos em 4 grupos conforme o material testado. O grupo I foi o controle, no qual os ratos não receberam nenhum tipo de tratamento; no grupo II foi implantada DBM; no grupo III, HA/ β TCP; e, no grupo IV, uma mistura de DBM e HA/ β TCP em partes iguais (5ml de cada substância). As partículas de HA/ β TCP tinham de 1 a 4mm de diâmetro. Dez semanas após a cirurgia os animais foram mortos, fazendo-se então a análise radiográfica e microscópica dos espécimes, sendo que a primeira foi comparada com as radiografias realizadas logo após os procedimentos cirúrgicos. Os resultados

mostraram que o melhor reparo foi conseguido no grupo II (DBM), não havendo diferença significativa entre os outros três grupos. Como os grupos III (HA/ β TCP) e IV (DBM+HA/ β TCP) não revelaram diferenças radiográficas nem histológicas, os autores concluíram que a associação de DBM e HA/ β TCP não traz benefícios para o reparo ósseo. Além disso, segundo os autores, os efeitos positivos da DBM seriam inibidos pela presença da HA/ β TCP, não indicando então que se realizasse a associação das referidas substâncias.

3 P roposição

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse trabalho foi avaliar, comparativamente, de forma descritiva e quantitativa, a evolução do processo de reparo ósseo frente ao coágulo sangüíneo e aos implantes de sulfato de cálcio di-hidratado e hidroxiapatita BTCP GenPhos em alvéolos dentários de ratos.

4 Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Para a realização deste trabalho foram utilizados 48 ratos machos (*Rattus, norvegicus, albinus, Wistar*), os quais foram obtidos através de procriação realizada no Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, após aprovação no Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (Protocolo nº 22/2005, na data de 17 de novembro de 2005). Após o nascimento, os animais foram observados até atingirem o peso corporal entre 300 e 350g, o que ocorreu em 120 dias, em média. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas identificadas de acordo com o grupo e o período pós-operatório, contendo quatro ratos por gaiola no grupo controle e três nos grupos experimentais. O interior das gaiolas era limpo em dias alternados. Os animais foram alimentados durante todo o período experimental com ração sólida triturada e água à vontade.

4.2 MATERIAIS UTILIZADOS

4.2.1. Sulfato de cálcio di-hidratado^f:

O sulfato de cálcio di-hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (fig. 1) apresenta-se na forma de um pó branco, fino e inodoro, que em contato com o soro fisiológico teve pH 9,6.

^f Carlo Erba Reagenti - Itália

4.2.2. Hidroxiapatita BTCP GenPhos^g:

A hidroxiapatita BTCP GenPhos (fig. 2) é uma biocerâmica sintética densa, bifásica, apresentada na forma de microgrânulos de 0,25 a 1,00mm, cedida pela empresa Baumer S.A. O pH do sobrenadante quando a mesma entrou em contato com o soro fisiológico foi 8,9.

Sua composição, conforme informação do fabricante é a seguinte:

- 70% de hidroxiapatita (HA) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$;
- 30% de fosfato beta tricálcico (β TCP) – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

4.3 ANESTESIA

Os animais foram anestesiados com uma associação de cloridrato de ketamina^h (Dopalen), solução anestésica, e cloridrato de xilasinaⁱ (Anasedan), solução sedativa e relaxante muscular (fig. 3), por via intramuscular, na face posterior da coxa, na dosagem de 0,05ml/100g de peso animal para cada substância citada. A anestesia foi realizada com o auxílio de uma seringa descartável para insulina.

^g Baumer S.A. – Mogi Mirim, SP

^h Agribrands do Brasil Ltda. – Paulínia, SP

ⁱ Agribrands do Brasil Ltda. – Paulínia, SP

Figura 1 - Sulfato de cálcio di-hidratado – Carlo Erba Reagenti

Figura 2 - Hidroxiapatita BTCP GenPhos – Baumer S.A.

Figura 3 - Sedativo e relaxante muscular Anasedan e anestésico Dopalen

4.4 INTERVENÇÃO CIRÚRGICA

Após a anestesia realizou-se a anti-sepsia com gaze embebida em solução de PVPI^j na porção anterior da maxila, externamente, e depois internamente, em toda a região próxima ao alvéolo dentário direito da maxila, incluindo dentes e tecidos moles pelo lado vestibular e palatino (fig. 4).

Em seguida, com a utilização de instrumentos especialmente adaptados (figs. 9 e 10), cedidos pela Disciplina de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, foram realizadas a sindesmotomia (fig. 5), luxação (fig. 6) e extração do incisivo superior direito de cada animal (figs. 7 e 8). A contenção da hemorragia alveolar foi realizada com o auxílio de compressas de gaze estéril.

Os materiais foram então proporcionados e manipulados adicionando aos mesmos soro fisiológico a 0,9%^k (figs. 11 e 12).

Para a inserção do material no alvéolo foi utilizado um micro-porta-amálgama metálico^l (figs. 13 e 14). No grupo em que se utilizou o sulfato de cálcio di-hidratado foram levadas, ao interior do alvéolo, duas porções do mesmo, e no grupo em que se utilizou a hidroxiapatita BTCP GenPhos levou-se, ao interior do alvéolo, três porções da mesma, em função de que a consistência do sulfato de cálcio permitia que se introduzisse uma maior quantidade de material em cada porção do que o que se conseguia com a hidroxiapatita. Após a inserção de cada porção do material em questão, o mesmo era compactado no interior do alvéolo com um cone de guta-percha^m encurvado e calibrado de forma que o mesmo penetrasse 8mm (figs. 15 e 16), com o objetivo de que o material alcançasse o terço médio do alvéolo.

Após a inserção dos materiais nos espécimes experimentais e preenchimento com sangue do alvéolo dos espécimes controle, procedeu-se, de

^j Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda. – São José do Rio Preto, SP

^k Frenesius Kobi Brasil Ltda. – Campinas, SP

^l Duflex – S.S. White Artigos Dentários Ltda.

^m Dentsply Indústria a Comércio Ltda. – Petrópolis, RJ

imediatamente, a aproximação das margens gengivais e sua síntese com pontos simples, os quais foram realizados com fios de seda 4.0ⁿ, montados em agulha atraumática, procurando-se coaptar bem as margens gengivais (fig. 17).

Para que não houvesse trauma no tecido gengival onde foi realizada a sutura, fez-se um desgaste com uma broca diamantada tronco-cônica^o do incisivo antagonista (fig. 18).

Os animais receberam dose única de 0,1ml de Pentabiótico Veterinário^p (benzilpenicilina benzatina, procaína, potássica e sulfato de diidroestreptomicina e estreptomicina base) e, como anti-inflamatório, 0,04ml de Ketofen 1%^q (ketoprofeno) (fig. 19), por via intramuscular, na parte posterior da coxa traseira, logo após o término do procedimento cirúrgico.

4.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE

Os ratos foram divididos em 3 grupos, sendo 2 experimentais e 1 controle. Por sua vez, os períodos pós-operatórios estabelecidos para a morte dos animais foram três, quais sejam 7, 15 e 30 dias.

Os animais do grupo I (controle) tiveram seus alvéolos preenchidos somente com coágulo sangüíneo. Tal grupo foi composto de 12 espécimes, sendo 4 para cada período pós-operatório.

Os grupos II e III (experimentais) foram compostos de 18 ratos cada, 6 animais para cada período pós-operatório. Os animais do grupo II receberam implante de sulfato de cálcio di-hidratado; já, os do grupo III, de hidroxiapatita BTCP GenPhos.

ⁿ Ethicon Johnson & Johnson Ind. Com. Ltda. – São José dos Campos, SP

^o K. G. Sorensen Ind. Com. Ltda. – Barueri, SP

^p FORTE DODGE Saúde Animal Ltda. – Campinas, SP

^q MERIAL Saúde Animal Ltda. – Paulínia, SP

Figura 4 - Anti-sepsia do campo operatório

Figura 5 - Sindesmotomia

Figura 6 - Luxação do incisivo superior direito

Figura 7 - Extração do incisivo superior direito

Figura 8 - Incisivo superior direito extraído

Figura 9 - Instrumentos cirúrgicos

Figura 10 - Detalhes dos instrumentos cirúrgicos

Figura 11 - Hidroxiapatita BTCP GenPhos manipulada

Figura 12 - Sulfato de cálcio di-hidratado manipulado

Figura 13 - Micro-porta-amálgama metálico

Figura 14 - Inserção do material no alvéolo

Figura 15 - Cone de guta-percha encurvado e calibrado

Figura 16 - Compactação do material no alvéolo

Figura 17 - Sutura

Figura 18 - Dente antagonista desgastado

Figura 19 - Pentabiótico Veterinário e antiinflamatório Ketofen 1%

4.6 OBTENÇÃO DAS PEÇAS

Os animais foram mortos aos 7, 15 e 30 dias, conforme o grupo ao qual pertenciam, por meio de uma dose excessiva de cloridrato de ketamina (anestésico), injetada no coração. Para execução desse procedimento, os animais foram anestesiados como descrito anteriormente.

Após a morte, foram realizados dois cortes no ângulo da boca com uma navalha para micrótomo^r, para que fosse possível então a luxação da mandíbula, separando-se a mesma da maxila (fig. 20).

Em seguida, também com o auxílio da navalha para micrótomo, foi feita uma incisão em profundidade no palato do animal, ao nível de plano sagital mediano acompanhando a sutura intermaxilar, separando a hemimaxila direita da esquerda (fig. 21). Com a mesma navalha, foi realizado um outro corte de modo a tangenciar a face distal do molar superior direito mais posterior (fig. 22), possibilitando a obtenção da hemimaxila direita contendo o alvéolo dentário no qual o material foi inserido (fig. 23).

Realizou-se então a remoção de todo excesso de tecido muscular da parte externa da peça (fig. 24).

^r Leica Microsystems Nussloch GmbH - Germany

Figura 20 - Luxação da mandíbula

Figura 21 - Incisão ao nível do plano sagital mediano

Figura 22 - Incisão tangenciando a face distal do molar superior direito mais posterior

Figura 23 - Hemimaxila

Figura 24 - Hemimaxila após a remoção do tecido muscular localizado em sua parte externa

4.7 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

As hemimaxilas obtidas foram colocadas imediatamente em frascos individuais, devidamente identificados, contendo solução de formalina a 10%^s, tamponada, com pH neutro, onde permaneceram durante sete dias.

Após a fixação, as peças foram lavadas em água corrente durante vinte e quatro horas.

Para a desmineralização foi utilizada a solução de EDTA a 4,3% e pH 7,2^t, renovando-se a mesma semanalmente. A avaliação do grau de desmineralização foi realizada através de tomadas radiográficas convencionais utilizando-se o aparelho de raios-X Siemens Heliodent 70^u, com a peça no sentido longitudinal, a uma distância de 40 cm, com exposição de 0,12 segundos, e processo de revelação radiográfico conforme o tempo e temperatura recomendados. Constatou-se a desmineralização em aproximadamente 60 dias.

Após esse período, as peças foram lavadas em água destilada durante 24 horas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de Histosec^v (parafina + resina), seguindo as normas do processamento histotécnico do laboratório de Histologia da FOB-USP.

As peças sofreram cortes semi-seriados no sentido longitudinal, com 5 µm de espessura, realizados em micrótomo^w.

Para cada espécime foram preparadas 5 lâminas com 3 cortes teciduais cada, e coradas com Hematoxilina e Eosina, para análise em microscópio de transmissão de luz.

^s Merck KGaA – Germany (500ml de formoldeído 37-40%, 4500ml de água destilada, 20g de fosfato de sódio monobásico monoidratado, 32,5g de fosfato de sódio dibásico anidro)

^t Merck KGaA – Germany (4,13g de EDTA, 0,44g de NaOH, 100ml de água destilada)

^u Siemens – Germany

^v Merck KGaA – Germany

^w Jung Leica RM 2045 – Germany

4.8 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

A análise microscópica foi realizada com auxílio de um microscópio binocular^x, por dois examinadores e os resultados foram expostos por meio de duas análises, uma descritiva e outra quantitativa, referentes a cada grupo e período pós-operatório.

4.8.1 Análise descritiva

A análise microscópica descritiva da reação tecidual e do processo de reparo ósseo proveniente dos materiais empregados nos grupos experimentais, bem como do coágulo sangüíneo no grupo controle, consistiu na descrição dos fenômenos histológicos observados nos espécimes representativos de cada grupo.

Tal análise foi realizada em duas partes, uma constituída pelo preenchimento da tabela 1, em que foram registrados os fenômenos presentes em cada espécime, e a outra formada por uma descrição corrente sucinta dos referidos fenômenos.

O infiltrado inflamatório foi caracterizado observando-se os tipos celulares presentes, bem como as características com relação ao citoplasma dos macrófagos e células gigantes multinucleadas quando presentes. Já as áreas de necrose foram avaliadas pela presença de áreas de coagulação e de abscedação. Com relação aos fenômenos vasculares, observou-se a presença de áreas de edema e de coágulo sangüíneo.

As características do tecido de granulação, com relação à sua organização, foram avaliadas de acordo com sua presença em cada terço do alvéolo

^x Leitz Aristoplan – Germany.

analisado. Da mesma forma, a presença de tecido ósseo neoformado também foi analisada conforme a sua localização no referido alvéolo.

Os aspectos referentes à crista óssea foram analisados quanto à sua remodelação, levando em consideração a presença de reabsorção e neoformação tanto no lado vestibular quanto palatino.

Por fim, observaram-se as características do material utilizado em relação à ocorrência de persistência do mesmo, ou então se foram observados apenas resíduos do referido material.

Tabela 1 - Dados observados nos espécimes dos grupos experimentais e controle em cada período pós-operatório

GRUPO										
PERÍODO EXPERIMENTAL										
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo							
			eosinófilo							
		MN	macrófago							
			linfócito							
			plasmócito							
		CGMN								
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo							
			vacuolado							
			com partículas							
	CGMN	citoplasma	homogêneo							
			vacuolado							
			com partículas							
	Necrose	áreas de coagulação								
áreas de abscedação										
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo									
Tecido de granulação	jovem	terço cervical								
		terço médio								
		terço apical								
	em organização	terço cervical								
		terço médio								
		terço apical								
	fibrosamento	terço cervical								
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neoformado	terço cervical									
	terço médio									
	terço apical									
	entre as partículas de HA									
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina								
	neoformação	vestibular								
		palatina								
Material - características	persistência									
	resíduos									

4.8.2 Análise quantitativa

A análise quantitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando-os de 0 a 3, conforme a intensidade dos fenômenos microscópicos observados. Tal fato possibilitou a obtenção de dados utilizados para a análise estatística posterior.

Nessa análise avaliaram-se os aspectos referentes ao infiltrado inflamatório, densidade de fibroblastos, densidade angioblástica e tecido ósseo neoformado. Quanto ao infiltrado inflamatório, levou-se em consideração a quantidade de células inflamatórias e sua distribuição no interior do alvéolo. Para a análise da densidade de fibroblastos e da densidade angioblástica observou-se, respectivamente, a intensidade da presença de células fibroblásticas e da proliferação angioblástica, comparando a última com a organização do tecido de granulação. Por sua vez, o tecido ósseo neoformado foi avaliado por meio da verificação de sua extensão no interior do alvéolo nos terços cervical e médio, onde os materiais utilizados ficaram localizados.

Dessa forma, para a realização da análise quantitativa da reação tecidual e do processo de reparo ósseo, nos grupos e períodos avaliados, foram estabelecidos quatro critérios para a atribuição dos escores, os quais serão descritos a seguir.

4.8.2.1 Infiltrado inflamatório

0 – Ausente: sem células inflamatórias;

1 – Discreto: presença esparsa de células inflamatórias ou em pequenos conglomerados;

- 2 – Moderado: presença de células inflamatórias em toda extensão do alvéolo, distribuídas de modo difuso ou em grandes conglomerados;
- 3 – Intenso: presença abundante de células inflamatórias, distribuídas em toda a extensão do alvéolo.

4.8.2.2 Densidade de fibroblastos

- 0 – Ausente: ausência de fibroblastos;
- 1 – Discreta: presença de células fibroblásticas esparsas;
- 2 – Moderada: presença de focos de células fibroblásticas ao longo do alvéolo;
- 3 – Intensa: predomínio de células fibroblásticas ao longo do alvéolo.

4.8.2.3 Densidade angioblástica

- 0 – Ausente: ausência de proliferação angioblástica. Presença de tecido de granulação maduro com grande quantidade de fibras colágenas;
- 1 – Discreta: proliferação angioblástica esparsa. Presença de tecido de granulação maduro, com grande quantidade de fibras colágenas;

- 2 – Moderada: grandes conglomerados de proliferação angioblástica. Presença de tecido de granulação em processo de maturação, demonstrando alguns feixes de fibras colágenas bem definidos;
- 3 – Intensa: abundante proliferação angioblástica. Tecido de granulação jovem ou em organização e ausência de fibras colágenas.

4.8.2.4 Neoformação de tecido ósseo

- 0 – Ausente: ausência de neoformação de tecido ósseo;
- 1 – Discreta: pequena extensão de trabeculado ósseo neoformado junto à cortical óssea;
- 2 – Moderada: trabeculado ósseo neoformado avançando para o centro do alvéolo nos terços analisados;
- 3 – Intensa: trabeculado ósseo neoformado preenchendo os terços analisados.

A tabela utilizada para a marcação dos escores (tab. 2) é descrita a seguir.

Tabela 2 - Escores atribuídos aos espécimes dos grupos experimentais e controle conforme os critérios estabelecidos na análise quantitativa, dentro de cada período pós-operatório

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I - CONTROLE							
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO							
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS							

4.8.3 Análise estatística

Primeiramente, com os valores dos escores atribuídos aos critérios observados na análise quantitativa, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, realizando-se assim a comparação entre os três grupos conforme o período pós-operatório, bem como a comparação entre os períodos pós-operatórios dentro de cada grupo.

A partir daí, quando tal teste demonstrou haver diferença significativa ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Dunn, para comparar individualmente os valores em questão.

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DESCRITIVA

5.1.1 Grupo I – Controle – 7 dias

Alvéolos dentais em franco processo de reparo (tab. 3), contendo coágulo sangüíneo (fig. 25a) e algumas áreas de edema, sendo, o primeiro, substituído gradativamente por tecido de granulação jovem (fig.25b) com intensa atividade fibroangioblástica, exibindo de permeio, em alguns espécimes, escassos polimorfonucleares neutrófilos, alguns linfócitos e moderada quantidade de macrófagos. A presença de células gigantes multinucleadas foi muito discreta. A presença de tecido ósseo neoformado foi predominantemente moderada, ocorrendo com maior freqüência no terço médio (figs. 25c e 25d). No terço cervical, o tecido de granulação apresentou, no geral, as três características, quais sejam jovem, em organização e fibrosamento, havendo predomínio das duas últimas. As cristas das corticais ósseas vestibular e palatina exibiam sinais discretos de reabsorção.

Tabela 3 - Grupo I – Controle – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				I - Controle						
PERÍODO EXPERIMENTAL				7 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo	X						
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X			
			linfócito	X	X	X	X			
			plasmócito							
		CGMN			X	X	X			
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X			
			vacuolado							
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo		X	X	X			
			vacuolado							
com partículas				X						
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema			X	X					
	coágulo			X	X	X	X			
Tecido de granulação	jovem	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio	X	X						
		terço apical	X		X	X				
	em organização	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio	X	X	X	X				
		terço apical	X	X	X	X				
	fibrosamento	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio								
Tecido ósseo neoformado	terço cervical				X	X				
	terço médio		X	X	X	X				
	terço apical		X	X	X	X				
	entre as partículas de HA									
	Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular	X	X	X	X			
palatina			X	X	X	X				
neoformação		vestibular								
		palatina								
Material - características	persistência									
	resíduos									

Figuras 25: Grupo I (controle) – 7 dias

Figura 25a - Visão panorâmica do alvéolo exibindo áreas com coágulo sangüíneo (♦)

Figura 25b - Tecido de granulação jovem (TG) e cortical óssea vestibular (CV)

Figura 25c - Terço médio do alvéolo. Cortical óssea lingual (CL), trabéculas de tecido ósseo neoformado (★), tecido de granulação jovem (TG), e cortical óssea vestibular (CV)

Figura 25d - Visão aproximada do tecido ósseo neoformado (★) e da cortical óssea lingual (CL)

5.1.2 Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 7 dias

Os espécimes deste grupo demonstraram (tab. 4) na superfície do terço cervical, tecido de granulação com aspecto de fibrosamento, caracterizado pelo predomínio de fibras colágenas e, logo abaixo, áreas de tecido de granulação em organização e jovem. A presença de tecido necrótico se restringiu a esse terço, variando de intensidade na amostra examinada. Em alguns espécimes, a massa de tecido necrótico, envolvida por polimorfonucleares e macrófagos, com citoplasma ora homogêneo, ora vacuolado, aproximava-se do terço médio. O infiltrado inflamatório, na amostra examinada, variou de moderado a intenso. A presença de célula gigante multinucleada foi uma constante, todavia em pequena quantidade. Em um dos espécimes, as referidas células apareceram contornando, de modo bem definido, um dos lados da massa necrótica (fig. 26a). Envolvendo todos esses eventos havia a presença de tecido de granulação e focos de coágulo sangüíneo (fig. 26b). Esse tecido apresentou intensa atividade fibroangioblástica, demonstrando áreas características de tecido em organização (fig. 26c). A partir da cortical óssea, notou-se a presença de osso neoformado de aspecto trabeculado (fig. 26c), em alguns casos avançando para o centro do alvéolo, variando de discreto a moderado. À medida que se seguia em direção ao terço apical, havia o predomínio de tecido de granulação em processo de organização, coágulo sangüíneo e grande quantidade de trabeculado ósseo neoformado.

Tabela 4 - Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				III- Sulfato de cálcio di-hidratado						
PERÍODO EXPERIMENTAL				7 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo	X	X	X	X	X	X	
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X	
			linfócito	X	X	X	X	X	X	
			plasmócito							
		CGMN		X	X	X	X	X	X	
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo		X	X	X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo							
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas	X	X	X		X		
Necrose	áreas de coagulação			X	X	X	X	X	X	
	áreas de abscedação			X	X	X	X	X		
Fenômenos vasculares	edema			X	X	X	X	X	X	
	coágulo			X	X	X	X	X	X	
Tecido de granulação	jovem	terço cervical			X	X	X	X	X	
		terço médio			X	X	X		X	
		terço apical		X		X	X	X	X	
	em organização	terço cervical		X		X	X	X	X	
		terço médio		X	X	X	X	X	X	
		terço apical		X	X	X	X	X	X	
	fibrosamento	terço cervical			X	X	X	X	X	
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neoformado	terço cervical									
	terço médio			X	X	X	X	X	X	
	terço apical			X	X	X	X	X	X	
	entre as partículas de HA									
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular		X	X	X	X	X	X	
		palatina		X	X	X	X	X	X	
	neoformação	vestibular								
		palatina							X	
Material - características	persistência									
	resíduos			X	X	X	X	X	X	

Figuras 26: Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 7 dias

Figura 26a - Área necrótica (AN) apresentando um de seus lados circundado por CGMN (→)

Figura 26b - Terço médio do alvéolo. Área necrótica (AN), infiltrado neutrofílico (O), tecido de granulação em organização (TG) e focos de coágulo sanguíneo (♦)

Fig. 26c - Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e tecido de granulação em organização com intensa atividade fibroangioblástica (TG)

5.1.3 Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 7 dias

Os alvéolos deste grupo demonstraram (tab. 5) suas superfícies com uma faixa de tecido conjuntivo amadurecido caracterizado pela riqueza de fibras colágenas. À medida que avançamos para o terço cervical, notaram-se ilhotas e lingüetas de epitélio em proliferação até as porções mais superficiais do referido terço. Nas porções mais profundas dos alvéolos analisados, observou-se, até o terço médio, grandes espaços vazios deixados pelos microgrânulos de hidroxiapatita (fig. 27a), os quais foram removidos durante a microtomia. De permeio a esses espaços vazios, havia intensa neoformação de tecido de granulação (fig. 27b), infiltrado inflamatório crônico de moderado a intenso, células gigantes multinucleadas esparsas, que se apresentavam ora homogêneas, ora vacuoladas, e macrófagos na periferia, em contato com as partículas implantadas (fig. 27c). Em alguns espécimes, foi possível observar, nas porções mais superficiais do terço cervical, algum foco de supuração rico em neutrófilos e macrófagos. No terço médio, observaram-se trabéculas de tecido ósseo neoformado a partir da cortical (fig. 27d) e, em alguns espécimes, avançando para o centro do alvéolo. Esporadicamente, em alguns espécimes, havia neoformação óssea no terço cervical. A presença de coágulo sangüíneo foi uma constante no terço médio até o apical, onde havia exuberante tecido de granulação e neoformação óssea.

Tabela 5 - Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 7 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				III - Hidroxiapatita BTCP GenPhos					
PERÍODO EXPERIMENTAL				7 dias					
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo	X	X	X	X	X	X
			eosinófilo						
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X
			linfócito	X	X	X	X	X	X
			plasmócito						
		CGMN		X	X	X	X	X	X
	Macrófagos								
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X
			com partículas						
	CGMN								
		citoplasma	homogêneo					X	
			vacuolado	X	X	X	X		X
			com partículas						
Necrose	áreas de coagulação								
	áreas de abscedação		X		X		X		
Fenômenos vasculares	edema		X						
	coágulo		X	X	X	X	X	X	
Tecido de granulação	jovem	terço cervical	X	X	X	X	X	X	
		terço médio	X	X	X	X	X	X	
		terço apical	X	X		X	X	X	
	em organização	terço cervical	X	X	X	X	X	X	
		terço médio	X	X	X	X	X	X	
		terço apical	X	X	X	X	X	X	
	fibrosamento	terço cervical	X	X	X	X	X	X	
		terço médio							
terço apical									
Tecido ósseo neoformado	terço cervical				X	X	X		
	terço médio		X	X	X	X	X	X	
	terço apical		X	X	X	X	X	X	
	entre as partículas de HA								
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular	X	X	X	X	X	X	
		palatina	X	X	X	X	X	X	
	neoformação	vestibular			X	X	X		
		palatina		X	X		X		
Material - características	persistência		X	X	X	X	X	X	
	resíduos								

Figuras 27: Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 7 dias

Figura 27a - Terço médio e parte do terço cervical do alvéolo com espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●). Entre os espaços, presença de tecido de granulação (TG)

Figura 27b - Detalhe da figura anterior, evidenciando a cortical óssea vestibular (CV), espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●), e tecido de granulação jovem e em organização (TG) entre os espaços

Figura 27c - Detalhe da figura anterior. Tecido de granulação em organização (TG) e macrófagos (→) em contato com a partícula de HA

Figura 27d - Terço médio do alvéolo evidenciando a cortical óssea lingual (CL), neoformação óssea (★), tecido de granulação jovem e em organização (TG) e espaços deixados pelas partículas de HA (●)

5.1.4 Grupo I – Controle – 15 dias

Os espécimes examinados exibiram (tab. 6), no terço cervical, de modo geral, intensa neoformação óssea a partir das corticais, em concomitância com pequenos focos de reabsorção. Na superfície do alvéolo, a presença de um tecido de granulação em fase de fibrosamento foi uma constante, como também com áreas em organização, e outras pequenas áreas ainda de aspecto jovem. A presença de coágulo sangüíneo pôde ser notada, no terço cervical, em forma de pequenos focos. À medida que se avançava para o terço médio, havia um predomínio de neoformação óssea (fig. 28a), que se apresentou de aspecto trabeculado desde a periferia até o centro do alvéolo. De permeio às trabéculas de osso neoformado, observou-se tecido de granulação organizado, caracterizado por moderada proliferação fibroblástica e intensa atividade angioblástica (fig. 28b). Essa morfologia se estendeu até o terço apical, exibindo também alguns focos de coágulo sangüíneo. O infiltrado inflamatório apresentou-se discreto, caracterizado pela presença de macrófagos e linfócitos esparsos, principalmente no terço cervical.

Tabela 6 - Grupo I – Controle – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				I - Controle						
PERÍODO EXPERIMENTAL				15 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo							
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X			
			linfócito	X	X	X	X			
			plasmócito							
		CGMN				X		X		
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X			
			vacuolado	X						
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo		X		X			
			vacuolado							
			com partículas							
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo			X	X	X	X			
Tecido de granulação	jovem	terço cervical	X	X		X				
		terço médio		X	X					
		terço apical	X	X	X	X				
	em organização	terço cervical	X	X		X				
		terço médio	X	X	X	X				
		terço apical	X	X	X	X				
	fibrosamento	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio								
terço apical										
	Tecido ósseo neoformado	terço cervical		X	X	X	X			
		terço médio		X	X	X	X			
		terço apical		X	X	X	X			
entre as partículas de HA										
Crista óssea – remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina	X		X	X				
	neoformação	vestibular	X	X	X	X				
		palatina	X	X	X	X				
Material – características	persistência									
	resíduos									

Figuras 28: Grupo I (controle) – 15 dias

Figura 28a - Terço cervical e parte do terço médio do alvéolo com intensa neoformação óssea (★) e presença de coágulo sangüíneo (◆)

Figura 28b - Terço médio evidenciando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação em organização (TG)

5.1.5 Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 15 dias

Os alvéolos representativos deste grupo exibiram (tab. 7), na superfície, tecido de granulação com aspecto de fibrosamento, tendo logo abaixo áreas em organização e jovem. No terço cervical, havia neoformação óssea, variando de moderada a intensa (fig. 29a), oriunda das corticais vestibular e palatina, em concomitância com pequenas lacunas de reabsorção, caracterizando o processo de remodelação. No final desse terço, ocorreu a presença de imagens amorfas, de aspecto basofílico, compatíveis com calcificação distrófica (fig. 29b), tendo nas proximidades outras imagens de aspecto basofílico também, mas de estrutura granular, sugerindo possíveis resíduos do material implantado (fig. 29c). Essas imagens demonstraram, no seu interior ou na periferia, presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas, de aspecto homogêneo, vacuolado, e com partículas. No terço médio, havia o predomínio de neoformação óssea, representada por um trabeculado ósseo que exibiu, de permeio, tecido de granulação em organização, com moderada atividade fibroblástica e intensa vascularização (fig. 29d). O infiltrado inflamatório foi discreto, representado por linfócitos e macrófagos e localizando-se, principalmente, nos terços cervical e médio. A presença de focos de coágulo sangüíneo foi uma constante em todo o alvéolo. No terço apical, havia a presença de tecido de granulação com áreas de aspecto jovem e em organização e neoformação óssea. Em um dos espécimes, observou-se um pequeno foco de abscedação, no terço cervical, envolvido por tecido de granulação, não comprometendo, todavia, a atividade de reparo no terço médio.

Tabela 7 - Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				II - Sulfato de cálcio di-hidratado					
PERÍODO EXPERIMENTAL				15 dias					
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo		X			X	X
			eosinófilo						X
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X
			linfócito	X	X	X	X	X	X
			plasmócito						
		CGMN		X	X	X	X	X	X
	Macrófagos								
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X	X	X
			vacuolado	X	X	X	X	X	X
			com partículas	X	X	X			X
	CGMN								
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X	X	X
			vacuolado	X	X	X	X	X	X
			com partículas	X	X	X	X	X	X
Necrose	áreas de coagulação								
	áreas de abscedação							X	
Fenômenos vasculares	edema						X		X
	coágulo			X	X	X	X	X	X
Tecido de granulação	jovem	terço cervical			X		X	X	
		terço médio			X	X			X
		terço apical		X	X	X			X
	em organização	terço cervical		X	X	X	X	X	X
		terço médio		X	X	X	X	X	X
		terço apical		X	X	X	X	X	X
	fibrosamento	terço cervical		X	X	X	X	X	X
		terço médio							
terço apical									
Tecido ósseo neoformado	terço cervical			X	X	X	X	X	X
	terço médio			X	X	X	X	X	X
	terço apical			X	X	X	X	X	X
	entre as partículas de HA								
Crista óssea – remodelação	reabsorção	vestibular		X			X	X	X
		palatina		X	X	X	X	X	X
	neoformação	vestibular		X	X	X	X	X	X
		palatina		X	X	X	X	X	X
Material – características	persistência								
	resíduos			X	X	X	X	X	X

Figuras 29 - Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 15 dias

Figura 29a - Terço cervical do alvéolo com neoformação óssea (★) a partir da cortical óssea lingual (CL)

Figura 29b - Terço cervical. Áreas amorfas sugerindo focos de calcificação distrófica (►)

Figura 29c - Terço cervical do alvéolo com áreas de aspecto basofílico granular, sugerindo resíduos do material implantado (▲)

Figura 29d - Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação com intensa vascularização (TG) e coágulo sangüíneo (◆)

5.1.6 Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 15 dias

Os espécimes examinados exibiram (tab. 8), na porção superficial do alvéolo, uma faixa de tecido fibroso bem definido. Logo abaixo, observou-se pequena área de tecido de granulação jovem e áreas predominantes de tecido de granulação em organização avançando para o terço cervical, sendo que, nas porções mais superficiais desse terço, o infiltrado inflamatório crônico foi discreto. No mesmo terço, observaram-se trabéculas de tecido ósseo neoformadas oriundas das corticais vestibular e palatina. Em alguns espécimes, ocorreu a presença discreta de pequenas lacunas de reabsorção das referidas corticais. À medida que se avançou em direção ao terço médio, existiam imagens da presença de partículas de hidroxiapatita implantadas (fig. 30a). De permeio às imagens das referidas partículas havia tecido de granulação em organização, com moderada proliferação fibroblástica e neoformação óssea moderada, na maioria dos espécimes examinados (fig. 30b). Essas trabéculas ósseas, dispostas entre as partículas de hidroxiapatita, apresentavam-se, por vezes, em contato direto com o material, como também separadas do mesmo por uma interface de pequena espessura de tecido de granulação (fig. 30c), o qual exibiu células macrofágicas, na maioria das vezes, mononucleadas, aparecendo também células gigantes multinucleadas em contato com a partícula (fig. 30d). Nesse tecido de granulação havia intensa neoformação vascular, e não se observaram vestígios de células inflamatórias. No final do terço médio e no terço apical, observou-se neoformação óssea, tecido de granulação em organização e jovem e áreas de coágulo sangüíneo.

Tabela 8 - Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 15 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				III - Hidroxiapatita BTCP GenPhos						
PERÍODO EXPERIMENTAL				15 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo				X			
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X	
			linfócito	X	X	X	X	X	X	
			plasmócito							
		CGMN			X	X	X	X	X	X
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo	X		X	X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas							
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema				X					
	coágulo			X	X	X	X	X	X	
Tecido de granulação	jovem	terço cervical								
		terço médio			X	X			X	
		terço apical		X	X	X	X		X	
	em organização	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio		X	X	X	X	X	X	
		terço apical		X	X	X	X	X	X	
	fibrosamento	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neoformado	terço cervical			X	X	X	X	X	X	
	terço médio			X	X	X	X	X	X	
	terço apical			X	X	X	X	X	X	
	entre as partículas de HA			X	X	X	X	X	X	
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina				X		X		
	neoformação	vestibular		X	X	X	X	X	X	
		palatina		X	X	X	X	X	X	
Material - características	persistência			X	X	X	X	X	X	
	resíduos									

Figuras 30 - Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 15 dias

Figura 30a - Terço médio do alvéolo mostrando a cortical óssea lingual (CL), espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●), e cortical óssea vestibular (CV)

Figura 30b - Espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●) tendo, de permeio, tecido ósseo neoformado (★)

Figura 30c - Detalhe da figura anterior, mostrando áreas de neoformação óssea (★) e células macrofágicas (→) em contato com as partículas de HA (●)

Figura 30d - Partícula de HA (●) apresentando em sua periferia células macrofágicas mono e multinucleadas (→)

5.1.7 Grupo I – Controle – 30 dias

Os espécimes examinados demonstraram (tab. 9), na porção superficial do alvéolo, tecido conjuntivo denso com fibrosamento e infiltrado inflamatório crônico discreto perivascular, predominantemente linfocitário. As cristas ósseas alveolares vestibular e palatina exibiam neoformação óssea, que se estendeu por todo o terço cervical, preenchendo-o com osso trabeculado (fig. 31a), tendo de permeio tecido de granulação em organização, com moderada quantidade de fibroblastos, e grande quantidade de vasos sangüíneos. Em continuidade, no terço médio, havia intensa neoformação de osso trabeculado (fig. 31b), com as mesmas características já descritas. A presença de macrófagos, bem como de células gigantes multinucleadas, foi discreta e, em alguns espécimes, esses elementos celulares estavam concentrados em torno de pequenas áreas compatíveis com fragmentos (espículas) de tecido ósseo em processo de reabsorção. As células gigantes multinucleadas foram observadas também no tecido de granulação entre as partículas de osso neoformado. No terço apical, havia também intensa neoformação óssea em concomitância com tecido de granulação em organização.

Tabela 9 - Grupo I – Controle – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				I - Controle						
PERÍODO EXPERIMENTAL				30 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo							
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X			
			linfócito	X	X	X	X			
			plasmócito							
		CGMN			X	X	X	X		
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X			
			vacuolado	X	X	X	X			
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo			X				
			vacuolado	X	X	X	X			
			com partículas							
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema				X					
	coágulo			X	X	X	X			
Tecido de granulação	jovem	terço cervical		X						
		terço médio				X				
		terço apical			X					
	em organização	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio	X	X	X	X				
		terço apical	X	X	X	X				
	fibrosamento	terço cervical	X	X	X	X				
		terço médio								
		terço apical								
Tecido ósseo neoformado	terço cervical		X	X	X	X				
	terço médio		X	X	X	X				
	terço apical		X	X	X	X				
	entre as partículas de HA									
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina								
	neoformação	vestibular	X	X	X	X				
		palatina	X	X	X	X				
Material - características	persistência									
	resíduos									

Figuras 31 - Grupo I (controle) – 30 dias

Figura 31a - Terço cervical e parte do terço médio do alvéolo evidenciando neoformação óssea do tipo intensa (★)

Figura 31b - Terço médio do alvéolo com neoformação de tecido ósseo (★), e cortical óssea lingual (CL)

5.1.8 Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 30 dias

Os alvéolos dentários examinados apresentaram (tab. 10), em suas superfícies, tecido fibroso e neoformação óssea. À medida que se avançava para o terço cervical, verificava-se a presença de tecido de granulação em organização, pequenas áreas de tecido de granulação jovem e osso neoformado do tipo trabecular (fig. 32a), oriundo das corticais. As cristas ósseas vestibular e palatina exibiam neoformação óssea, caracterizando sua remodelação. Em alguns espécimes, observou-se a presença, no terço cervical, de imagens basofílicas amorfas compatíveis com calcificações distróficas (fig. 32b), as quais foram observadas também envolvidas por osso neoformado (fig. 32c). Nesse terço, notou-se ainda, reação inflamatória crônica discreta caracterizada por infiltrado de linfócitos e macrófagos perivasculares, presença discreta de células gigantes multinucleadas com vacúolos, homogêneas e com partículas, juntamente com macrófagos, próximas de pequenos conglomerados de partículas basofílicas, sugerindo resíduos do material implantado (fig. 32d). Havia ainda a presença de focos de coágulo sangüíneo. No terço médio, observou-se, na maioria dos espécimes, intensa neoformação óssea trabecular preenchendo toda a luz do alvéolo até o terço apical, tendo de permeio tecido de granulação em organização ricamente vascularizado e moderada proliferação fibroblástica.

Tabela 10 - Grupo II – Sulfato de cálcio di-hidratado – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				II - Sulfato de cálcio di-hidratado						
PERÍODO EXPERIMENTAL				30 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: Características	Tipo celular	PMN	neutrófilo			X	X			
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X	
			linfócito	X	X	X	X	X	X	
			plasmócito							
		CGMN			X	X	X	X	X	
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X		X	
			vacuolado	X	X			X		
			com partículas		X	X		X	X	
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo			X	X			
			vacuolado	X	X					
com partículas					X	X	X			
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema					X				
	coágulo			X	X	X	X	X	X	
Tecido de granulação	jovem	terço cervical			X		X		X	
		terço médio				X				
		terço apical				X	X			
	em organização	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio		X	X	X	X	X	X	
		terço apical		X	X	X	X	X	X	
	fibrosamento	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neoformado	terço cervical			X	X	X	X	X	X	
	terço médio			X	X	X	X	X	X	
	terço apical			X	X	X	X	X	X	
	entre as partículas de HA									
Crista óssea - Remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina								
	neoformação	vestibular		X	X	X	X	X	X	
		palatina		X	X	X	X	X	X	
Material – características	persistência									
	resíduos					X	X	X		

Figuras 32 - Grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado) – 30 dias

Figura 32a - Terço cervical evidenciando tecido ósseo neoformado (★) e, de permeio, tecido de granulação com intensa vascularização (TG)

Figura 32b - Terço cervical apresentando tecido de granulação em organização (TG) e focos basofílicos compatíveis com calcificação distrófica (▀)

Figura 32c - Detalhe da figura anterior mostrando as áreas sugestivas de calcificação distrófica (■) envolvidas por osso neoformado (★), e áreas basofílicas de aspecto granular, sugerindo resíduos do material implantado (▲)

Figura 32d - Terço cervical do alvéolo mostrando áreas de aspecto granular sugerindo resíduos do material implantado (▲)

5.1.9 Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 30 dias

Os espécimes desse grupo demonstraram (tab. 11) neoformação óssea na superfície do alvéolo a partir das cristas ósseas. No terço cervical havia tecido de granulação em organização, com áreas de aspecto jovem e de fibrosamento, infiltrado inflamatório mononuclear discreto e ilhotas de tecido ósseo neoformado de diversos tamanhos. Ainda nesse terço, e avançando até as proximidades do terço médio, a neoformação óssea era intensa, preenchendo a luz do alvéolo e envolvendo as partículas de hidroxiapatita (fig. 33a). Nesse envolvimento, observaram-se áreas em que o tecido ósseo estava em contato com o material, bem como em que havia uma fina camada de tecido de granulação organizado interposto entre o osso neoformado e a superfície das referidas partículas (figs. 33a e 33b). Nesse tecido de granulação, em contato com as partículas, havia um predomínio de células macrofágicas mononucleadas e multinucleadas (fig. 33b), as quais apresentavam-se geralmente vacuoladas. Toda essa neoformação óssea descrita, inclusive do terço apical, tinha disposição trabecular, tendo, de permeio, tecido de granulação em organização, com moderada proliferação fibroblástica e ricamente vascularizado. A presença de coágulo sangüíneo foi uma constante, apresentando-se como pequenas áreas nos terços médio e apical.

Tabela 11 - Grupo III – Hidroxiapatita BTCP GenPhos – 30 dias – Dados observados nos espécimes analisados

GRUPO				III - Hidroxiapatita BTCP GenPhos						
PERÍODO EXPERIMENTAL				30 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo							
			eosinófilo							
		MN	macrófago	X	X	X	X	X	X	
			linfócito	X	X	X	X	X	X	
			plasmócito							
		CGMN			X	X	X	X	X	X
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X	X	X	X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas							
	CGMN									
		citoplasma	homogêneo	X			X	X	X	
			vacuolado	X	X	X	X	X	X	
			com partículas							
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo			X	X	X	X	X	X	
Tecido de granulação	jovem	terço cervical		X	X	X				
		terço médio								
		terço apical			X					
	em organização	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio		X	X	X	X	X	X	
		terço apical		X	X	X	X	X	X	
	fibrosamento	terço cervical		X	X	X	X	X	X	
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neoformado	terço cervical			X	X	X	X	X	X	
	terço médio			X	X	X	X	X	X	
	terço apical			X	X	X	X	X	X	
	entre as partículas de HA			X	X	X	X	X	X	
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina					X			
	neoformação	vestibular		X	X	X	X	X	X	
		palatina		X	X	X	X	X	X	
Material - características	persistência			X	X	X	X	X	X	
	resíduos									

Figuras 33 - Grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) – 30 dias

Figura 33a - Terço cervical do alvéolo evidenciando os espaços vazios deixados pelas partículas de HA (●) e, de permeio, tecido ósseo neoformado (★)

Figura 33b - Partícula de HA (●) apresentando parte de sua superfície em contato com o osso neoformado (★) e outra parte circundada por tecido de granulação com macrófagos e CGMN (→)

5.2 ANÁLISE QUANTITATIVA

5.2.1 Infiltrado inflamatório

No grupo I (controle), aos 7 dias, apenas um espécime apresentou infiltrado inflamatório moderado, sendo que os demais o apresentaram de forma discreta. Já, aos 15 e 30 dias, todos os espécimes apresentaram tal evento de forma discreta.

No grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado), aos 7 dias, constatou-se infiltrado inflamatório de intensidade moderada em três espécimes, intensa em dois e apenas um de forma discreta. Aos 15 dias, um espécime mostrou infiltrado inflamatório do tipo moderado, sendo nos demais discreto. Porém, aos 30 dias, todos mostraram-se com infiltrado inflamatório de forma discreta.

No grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos), aos 7 dias, esse critério foi classificado de maneira moderada em quatro espécimes e intensa em dois. Da mesma forma que o grupo controle, aos 15 e 30 dias, o infiltrado inflamatório foi do tipo discreto.

As tabelas referentes a tal critério (tabs. 12, 13 e 14), bem como o gráfico representativo (fig. 34), serão apresentados a seguir.

Tabela 12 - Escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 7 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	2	1	1	1			1.25
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	2	2	3	2	1	2.17
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	2	2	2	3	2	2.33

Tabela 13 - Escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 15 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	1	1	1	1			1.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	1	1	1	1	1	2	1.17
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	1	1	1	1	1	1	1.00

Tabela 14 - Escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados – período de 30 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	1	1	1	1			1.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	1	1	1	1	1	1	1.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	1	1	1	1	1	1	1.00

Figura 34 - Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à intensidade do infiltrado inflamatório conforme os períodos pós-operatórios e os grupos

5.2.2 Densidade de fibroblastos

Com relação a esse critério, observou-se uma semelhança entre os três grupos, dentro de cada período experimental.

Aos 7 dias, todos os espécimes, em cada grupo experimental e controle, apresentaram um predomínio de células fibroblásticas ao longo do alvéolo, sendo então atribuído aos mesmos o escore relativo à apresentação de tal critério de maneira intensa (tab. 15).

Já, aos 15 e 30 dias, todos os espécimes, dentro de cada grupo analisado, por sua vez, mostraram esse critério de maneira moderada, em função de haverem focos de células fibroblásticas ao longo do alvéolo. Tal fato ocorreu como consequência da organização do tecido de granulação e da neoformação óssea (tabs. 16 e 17).

As tabelas referentes a tal critério (tabs. 15, 16 e 17), bem como o gráfico representativo (fig. 35), serão apresentados a seguir.

Tabela 15 - Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 7 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	3	3	3	3	3	3.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	3	3	3	3	3	3.00

Tabela 16 - Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 15 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	2	2	2	2			2.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	2	2	2	2	2	2	2.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	2	2	2	2	2	2	2.00

Tabela 17 - Escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados – período de 30 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	2	2	2	2			2.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	2	2	2	2	2	2	2.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	2	2	2	2	2	2	2.00

Figura 35 - Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à densidade de fibroblastos conforme os períodos pós-operatórios e os grupos

5.2.3 Densidade angioblástica

Com relação a esse critério, também foi observada semelhança entre os três grupos, bem como entre os períodos pós-operatórios.

Em todos os espécimes, independente do grupo ou período pós-operatório, notou-se, de maneira geral, uma abundante proliferação angioblástica, quer no tecido de granulação jovem, em processo de organização, ou de permeio à neoformação óssea.

As tabelas referentes a tal critério (tabs. 18, 19 e 20), bem como o gráfico representativo (fig. 36), serão apresentados a seguir.

Tabela 18 - Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados
– período de 7 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	3	3	3	3	3	3.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	3	3	3	3	3	3.00

Tabela 19 - Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados
– período de 15 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	3	3	3	3	3	3.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	3	3	3	3	3	3.00

Tabela 20 - Escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados
– período de 30 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	3	3	3	3	3	3.00
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	3	3	3	3	3	3.00

Figura 36 - Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à densidade angioblástica conforme os períodos pós-operatórios e os grupos

5.2.4 Neoformação de tecido ósseo

O critério neoformação de tecido ósseo refere-se aos eventos observados nos terços cervical e médio, em decorrência da permanência dos materiais implantados nesses terços.

No grupo I (controle), aos 7 dias, apenas um espécime apresentou discreta neoformação de tecido ósseo, sendo que os demais a apresentaram de maneira moderada. Já, aos 15 e 30 dias, todos os espécimes apresentaram tal evento de forma intensa.

No grupo II (sulfato de cálcio di-hidratado), aos 7 dias, constatou-se que metade dos espécimes apresentaram neoformação de tecido ósseo de maneira discreta, e metade de maneira moderada. Aos 15 dias, quatro espécimes mostraram neoformação óssea do tipo moderado, sendo que nos outros dois a mesma foi intensa. Aos 30 dias, houve intensificação da neoformação óssea, sendo que quatro espécimes a apresentaram de maneira intensa, e dois de forma moderada.

No grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos), aos 7 dias, esse critério foi classificado de maneira discreta em quatro espécimes e moderada em dois. Aos 15 dias, a neoformação de tecido ósseo apresentou-se com intensidade moderada na maioria dos espécimes, sendo que apenas um a apresentou de forma intensa. Porém, aos 30 dias, tal critério foi classificado como intenso em todos os espécimes observados.

As tabelas referentes a tal critério (tabs. 21, 22 e 23), bem como o gráfico representativo (fig. 37), serão apresentados a seguir.

Tabela 21 - Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 7 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	1	2	2	2			1.75
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	1	1	2	2	1	2	1.50
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	1	2	1	1	2	1	1.33

Tabela 22 - Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 15 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	2	3	2	2	2	2.33
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	2	2	2	2	2	2.17

Tabela 23 - Escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo nos terços cervical e médio dos espécimes analisados – período de 30 dias

GRUPOS /ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
I – CONTROLE	3	3	3	3			3.00
II - SULFATO DE CÁLCIO DI-HIDRATADO	3	2	2	3	3	3	2.67
III - HIDROXIAPATITA BTCP GENPHOS	3	3	3	3	3	3	3.00

Figura 37 - Representação gráfica das médias dos escores atribuídos à neoformação de tecido ósseo, nos terços cervical e médio, conforme os períodos pós-operatórios e os grupos

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores dos escores atribuídos aos três grupos, nos três períodos pós-operatórios, conforme o critério analisado, foram submetidos à análise estatística por meio do modelo não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Primeiramente, fez-se a comparação entre os três grupos, conforme o período pós-operatório, de cada um dos quatro critérios analisados quantitativamente (tab. 24).

Tabela 24 - Teste de Kruskal-Wallis - comparação entre os três grupos (I, II e III), nos períodos de 7, 15 e 30 dias, para cada um dos critérios da análise quantitativa

CRITÉRIOS DA ANÁLISE QUANTITATIVA	VALOR DE p		
	7 dias	15 dias	30 dias
1. Infiltrado inflamatório	0,0556	0,4346	1,0000
2. Densidade de fibroblastos	1,0000	1,0000	1,0000
3. Densidade angioblástica	1,0000	1,0000	1,0000
4. Neoformação de tecido ósseo	0,4578	0,0343	1,1677

Significante para $p < 0,05$

Os resultados acima expostos mostraram que os grupos controle e experimentais apresentaram diferença estatisticamente significativa entre eles quanto ao critério neoformação de tecido ósseo, no período de 15 dias ($p = 0,0343$).

Em função de ter ocorrido tal diferença, foi aplicado o teste de Dunn para comparar individualmente os três grupos, no período de 15 dias, quanto ao critério em questão.

Tabela 25 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três grupos, no período de 15 dias, quanto à neoformação de tecido ósseo

Comparações	Interpretação
IxII	Não significativa
IxIII	Significante
IIXIII	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

Conforme resultado obtido com o teste de Dunn, para o critério neoformação de tecido ósseo no período de 15 dias (tab. 25), houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo I (controle) e o grupo III (hidroxiapatita). Entre os grupos I (controle) e II (sulfato de cálcio) não houve diferença estatisticamente significativa, apesar de a média para o critério em questão ter sido maior no grupo I (3,00) do que no grupo II (2,33). O mesmo ocorreu entre os grupos II e III, apesar de tal média ter sido maior no grupo II do que no grupo III (2,17). Tais valores são também visualizados na tabela 22.

Posteriormente, utilizou-se do teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre os três períodos pós-operatórios dos grupos, com base em cada um dos quatro critérios da análise quantitativa.

Tabela 26 - Teste de Kruskal-Wallis - comparação entre os três períodos pós-operatórios (7, 15 e 30 dias), nos grupos I, II e III, para cada um dos critérios da análise quantitativa

CRITÉRIOS DA ANÁLISE QUANTITATIVA	VALOR DE p		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
1. Infiltrado inflamatório	0,3679	0,0061	0,0003
2. Densidade de fibroblastos	0,0041	0,0002	0,0002
3. Densidade angioblástica	1,0000	1,0000	1,0000
4. Neoformação de tecido ósseo	0,0048	0,0147	0,0010

Significante para $p < 0,05$

Os resultados acima expostos mostraram que, no grupo I, ocorreu diferença estatisticamente significativa, entre os períodos pós-operatórios, quanto aos critérios densidade de fibroblastos ($p=0,0041$) e neoformação de tecido ósseo ($p=0,0048$). No grupo II, houve diferença estatisticamente significativa, entre os períodos, para os critérios infiltrado inflamatório ($p=0,0061$), densidade de fibroblastos ($p=0,0002$) e neoformação de tecido ósseo ($p=0,0147$). Da mesma forma, houve diferença estatisticamente significativa no grupo III, entre os períodos, nos critérios infiltrado inflamatório ($p=0,0003$), densidade de fibroblastos ($p=0,0002$) e neoformação de tecido ósseo ($p=0,0010$).

Frente a tais resultados, foi aplicado o teste de Dunn para comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios de cada grupo, com relação aos critérios em que ocorreram as diferenças estatisticamente significantes (tabs. 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 e 34).

Tabela 27 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo I, quanto à densidade de fibroblastos

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p<0,05$

O teste de Dunn, quando aplicado para o critério densidade de fibroblastos no grupo I (controle) demonstrou (tab. 27) diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (3,00 e 2,00, respectivamente), assim como entre os períodos de 7 e 30 dias (3,00 e 2,00, respectivamente). Entre os períodos de 15 e 30 dias não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que as médias encontradas nos referidos grupos com relação ao critério em questão foram iguais (tabs. 15, 16 e 17).

Tabela 28 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo I, quanto à neoformação de tecido ósseo

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

Conforme visualizado na tabela acima (tab. 28), o teste de Dunn, quando aplicado para o critério neoformação de tecido ósseo no grupo I (controle) demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (1,75 e 3,00, respectivamente), assim como entre os períodos de 7 e 30 dias (1,75 e 3,00, respectivamente). Entre os períodos de 15 e 30 dias não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que as médias obtidas nesses períodos para o critério em questão foram as mesmas (tabs. 21, 22 e 23).

Tabela 29 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto ao infiltrado inflamatório

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

O teste de Dunn, aplicado para o critério infiltrado inflamatório no grupo II (sulfato de cálcio) demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (2,17 e 1,17, respectivamente), assim como entre os períodos de 7 e 30 dias (2,17 e 1,00, respectivamente), conforme pode ser visto na tabela 29. Já, quando se comparou os períodos de 15 e 30 dias, não houve diferença estatisticamente significativa, porém a média observada com relação ao critério em questão foi menor no período de 30 dias do que no de 15 dias (tabs. 12, 13 e 14).

Tabela 30 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto à densidade de fibroblastos

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

A aplicação do teste de Dunn para o critério densidade de fibroblastos no grupo II (sulfato de cálcio) demonstrou (tabela 30) diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (3,00 e 2,00, respectivamente), assim como entre os períodos de 7 e 30 dias (3,00 e 2,00, respectivamente). Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre os dois últimos períodos experimentais, e as médias obtidas nos mesmos, com relação à densidade de fibroblastos, foram as mesmas (tabs. 15, 16 e 17).

Tabela 31 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo II, quanto à neoformação de tecido ósseo

Comparações	Interpretação
7x15	Não significativa
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

O teste de Dunn demonstrou (tab. 31), para o critério neoformação de tecido ósseo no grupo II (sulfato de cálcio), diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 30 dias (1,50 e 2,67, respectivamente). Entre os períodos de 7 e 15 dias, bem como entre os de 15 e 30 dias não se encontrou diferença estatisticamente significativa, porém as médias com relação a esse critério foram maiores nos períodos de 15 (2,33) e 30 (2,67) dias, respectivamente, como pode ser visto nas tabelas 21, 22 e 23.

Tabela 32 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto ao infiltrado inflamatório

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

O teste de Dunn mostrou (tab. 32), para o critério infiltrado inflamatório no grupo III (hidroxiapatita), diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (2,33 e 1,00, respectivamente), bem como entre os períodos de 7 e 30 dias (2,33 e 1,00, respectivamente). Entre os períodos de 15 e 30 dias não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que as médias obtidas para esse critério foram semelhantes nos referidos períodos experimentais (tabs. 12, 13 e 14).

Tabela 33 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto à densidade de fibroblastos

Comparações	Interpretação
7x15	Significante
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

Assim como para os demais grupos, a aplicação do teste de Dunn para o critério densidade de fibroblastos no grupo III (hidroxiapatita) demonstrou (tab. 33) diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias (3,00 e 2,00, respectivamente), bem como entre os períodos de 7 e 30 dias (3,00 e 2,00, respectivamente). Comparando-se os períodos de 15 e 30 dias, não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que as médias obtidas quanto ao critério em questão nesses períodos foram semelhantes (tabs. 15, 16 e 17).

Tabela 34 - Teste de Dunn - comparações individuais entre os três períodos pós-operatórios do grupo III, quanto à neoformação de tecido ósseo

Comparações	Interpretação
7x15	Não significativa
7x30	Significante
15x30	Não significativa

Significante para $p < 0,05$

O teste de Dunn, quando aplicado para o critério neoformação de tecido ósseo no grupo III (hidroxiapatita) demonstrou (tab. 34) diferença estatisticamente significativa somente entre os períodos de 7 e 30 dias (1,33 e 3,00, respectivamente). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 7 e 15 dias, assim como entre os de 15 e 30 dias, sendo que as médias dos escores encontradas foram maiores nos períodos de 15 (2,17) e 30 (3,00) dias respectivamente, conforme pode ser visualizado nas tabelas 21, 22 e 23.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

A análise a respeito do reparo de cavidades ósseas tem sido realizada em variados modelos experimentais, dentre eles, ratos (VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, SNYDERS JR et al.¹⁰⁶, 1993, PECORA et al.⁹¹, 1997, MacNEILL et al.⁷⁰, 1999, FERREIRA et al.³³, 2004, ÖZTÜRK et al.⁹⁰, 2006), coelhos (FRAME³⁵, 1980, KLINGE et al.⁵⁹, 1992, AL RUHAIMI², 2000, CLOKIE et al.²³, 2002, ORSINI et al.⁸⁹, 2004, STUBBS et al.¹¹⁰, 2004, MAEDA⁷¹, 2005, HING et al.⁴⁹, 2005), ovelhas (WALSH et al.¹¹⁸, 2003, GOSAIN et al.⁴², 2004, PETERS et al.⁹⁷, 2006), macacos (STEFFEN et al.¹⁰⁸, 2001), cães (PELTIER; ORN⁹⁶, 1958, RADENTZ; COLLINGS⁹⁹, 1965, KIM et al.⁵⁷, 1998, YOSHIKAWA et al.¹²³, 2002, ARTZI et al.⁷, 2004), e até mesmo seres humanos (SOTTOSANTI¹⁰⁷, 1992, BONACHELA et al.¹³, 1992, YAMAGUCHI et al.¹²², 1995, GOLDMAN et al.⁴⁰, 2000, PECORA et al.⁹⁴, 2000, PECORA et al.⁹³, 2001).

Os ratos de laboratório (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar) foram escolhidos para a realização do presente trabalho em função de serem amplamente usados em pesquisas e por apresentarem vantagens em sua utilização. Segundo HEDRICH⁴⁸, 2000, são os animais que melhor representam o sistema mamífero; além disso, apresentam um custo relativamente baixo para manutenção, requerendo também pequeno espaço físico para a mesma, são fáceis de manipular em razão de sua docilidade, a obtenção é rápida, visto que apresentam um curto período de procriação, permitem um bom controle genético, eliminando fatores como deficiências imunes, possibilitam a padronização do experimento, e permitem a

obtenção de quantidades representativas de tecido tanto para a inclusão quanto para a análise microscópica (FARRIS; GRIFFITH³², 1967).

Os estudos realizados em ratos a respeito de materiais substitutos ósseos variam conforme o local para análise de determinado material, podendo-se utilizar o alvéolo dentário (CASTRO et al.²⁰, 1970, OKAMOTO et al.⁸⁴, 1974, VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO¹⁰², 1979/80, NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996, BRANDÃO et al.¹⁴, 2002); o tecido subcutâneo (FRAME³⁴, 1975, OLIVEIRA et al.⁸⁷, 1993); o tecido muscular (DENISSEN et al.²⁹, 1980); a calota craniana (SNYDERS JR et al.¹⁰⁶, 1993, FERREIRA et al.³³, 2004); a mandíbula (PECORA et al.⁹¹, 1997); a tíbia (BHASKAR et al.¹², 1971, DENISSEN et al.²⁹, 1980, MacNEILL et al.⁷⁰, 1999, STUBBS et al.¹¹⁰, 2004, MELO et al.⁷⁶, 2005); e também o rádio (ÖZTÜRK et al.⁹⁰, 2006).

O alvéolo dentário foi o local escolhido para esse estudo por se tratar de um local de ossificação e por apresentar características conhecidas durante o seu processo de reparo (OKAMOTO⁸³, 1964, JOHANSEN⁵³, 1970, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973). Além disso, segundo JOHANSEN⁵³, 1970, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO¹⁰³, 1972, e LINDHE; KARRING; LANG⁶⁹, 2005, pode-se utilizar o mecanismo de cura de um alvéolo pós-extração dentária para se explicar o processo de reparo de um defeito ósseo. O que difere em tal local é o fato de que o mesmo contém restos do tecido do ligamento periodontal, os quais funcionam como uma fonte de fibroblastos (OKAMOTO⁸³, 1964, JOHANSEN⁵³, 1970, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, LIN; McCULLOCH; CHO⁶⁷, 1994), células primordiais para o início do processo de reparo uma vez que proliferam rapidamente, migram para o interior do coágulo sangüíneo, formando tecido conjuntivo, e se diferenciam em osteoblastos (LIN; McCULLOCH; CHO⁶⁷, 1994). Dessa forma, em estudos sobre enxertos intra-ósseos, há a possibilidade de neoformação conjuntiva em íntimo contato com o material (CARVALHO; OKAMOTO¹⁸, 1978). Por esse motivo, muitos materiais odontológicos, dentre eles os utilizados para o preenchimento de cavidades ósseas (CASTRO et al.²⁰, 1970, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO¹⁰³, 1972, OKAMOTO et al.⁸⁴, 1974, VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, SAAD NETO; CARVALHO;

OKAMOTO¹⁰², 1979/80, NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996, BRANDÃO et al.¹⁴, 2002) já foram testados no interior de alvéolos dentais de ratos.

Nos estudos que testam materiais para enxerto no interior de alvéolos dentários, eles podem ser inseridos ou implantados diretamente no local (CASTRO et al.²⁰, 1970, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO¹⁰³, 1972, OKAMOTO et al.⁸⁴, 1974, VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO¹⁰², 1979/80, BRANDÃO et al.¹⁴, 2002) ou então no interior de tubos de polietileno (NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996). Neste estudo, foi escolhida a inserção direta dos materiais estudados em função de se tentar simular o preenchimento de uma cavidade cirúrgica óssea, e assim verificar o reparo dessa cavidade e o comportamento biológico do material.

Utilizou-se, para o presente estudo, a quantidade de seis animais para cada grupo experimental dentro de cada período de observação. Tal quantidade, embora não seja grande, encontra-se dentro dos critérios exigidos para análise da biocompatibilidade de materiais odontológicos (ESTRELA³¹, 2005). Com relação ao grupo controle, a quantidade de animais empregada foi menor, sendo o mesmo composto por quatro ratos para cada período pós-operatório. O número de animais foi reduzido neste grupo, em comparação aos grupos experimentais, em função de já se conhecer o processo normal de reparo do alvéolo do rato por meio de trabalhos anteriormente realizados (OKAMOTO⁸³, 1964, ASTRAND; CARLSSON⁸, 1969, JOHANSEN⁵³, 1970, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994, LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTGANI⁶³, 1997).

Segundo MORETTON et al.⁷⁸, 2000, o rato de laboratório possui um metabolismo bastante acelerado, sendo que se pode dizer que um mês de vida do rato corresponde a 30 meses em humanos, isso levando em consideração que o tempo de vida do rato é em torno de três anos e dos humanos, aproximadamente 90 anos. Levando-se o estudo de MORETTON et al.⁷⁸ em consideração, os períodos de 7, 15 e 30 dias utilizados no presente trabalho em ratos de laboratório corresponderiam, proporcionalmente, a 7, 15 e 30 meses em humanos.

Porém, tal correspondência é falha quando se compara aos estudos relacionados ao reparo alveolar. Trabalhos que avaliaram tal processo em ratos (OKAMOTO⁸³, 1964, ASTRAND; CARLSSON⁸, 1969, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTAGANI⁶³, 1997) concluíram que o período de tempo necessário para ocorrer a completa reparação, quando o alvéolo se encontra totalmente remodelado, é de 21 dias. Por outro lado, em humanos tal ocorrência se dá em torno de 64 dias (CARVALHO; OKAMOTO¹⁹, 1987). Assim, os períodos pós-operatórios empregados neste trabalho (7, 15 e 30 dias) corresponderiam, proporcionalmente, à mesma ocorrência em alvéolos dentários humanos dentro de 21, 45 e 90 dias respectivamente.

O critério para o estabelecimento dos períodos de observação nessa pesquisa considerou o conhecimento do processo de reparo alveolar em ratos. Dessa forma, dentro de 7, 15 e 30 dias, poder-se-ia, então, comparar os acontecimentos frente ao implante dos materiais para enxerto ósseo em um período inicial, intermediário e avançado do processo de reparo alveolar em ratos; sendo, assim, considerados suficientes os períodos pós-operatórios estabelecidos.

A escolha dos materiais a serem testados levou em consideração fatores diferentes para cada um deles.

O sulfato de cálcio foi escolhido pelo fato de ser utilizado em cirurgias bucais desde a década de 60 (SOTTOSANTI¹⁰⁷, 1992), quer seja para o preenchimento de cavidades, quer seja como uma barreira impedindo a proliferação de epitélio para o interior da cavidade óssea. Além disso, é considerado um material biocompatível, de baixo custo, fácil manuseio e reabsorvível (PELTIER⁹⁵, 1961, BAHN¹⁰, 1966, PECORA et al.⁹², 1997, STUBBS et al.¹¹⁰, 2004). Tal material pode se apresentar na forma hemi-hidratada e di-hidratada; sendo que optou-se por utilizar a di-hidratada em função de que a mesma apresenta um custo mais baixo e por ter sido constatado, através do trabalho de MAEDA⁷¹, 2005, que ambas as formas apresentam os mesmos resultados quando utilizadas para o preenchimento de defeitos ósseos.

Quanto à hidroxiapatita, tal material também apresenta uma história de uso em odontologia bastante antiga, desde a década de 70 (KAWACHI et al.⁵⁵, 2000, VERCIK et al.¹¹⁵, 2003). É o principal constituinte da fase inorgânica do osso, sendo considerado um material que não apresenta toxicidade local ou sistêmica e, por outro lado, tem habilidade em se ligar ao tecido do hospedeiro (JARCHO⁵⁰, 1981, FRAME³⁶, 1987, KAWACHI et al.⁵⁵, 2003). Existem também várias formas de apresentação desse material, dentre elas as cerâmicas de HA pura e as bifásicas, compostas por uma combinação de HA e fosfato tricálcico, usualmente na forma estrutural beta. Utilizou-se a cerâmica bifásica hidroxiapatita BTCP GenPhos pelo fato de ser um material novo, contendo 70% de HA e 30% de β TCP, ainda não lançado comercialmente pela empresa Baumer S.A., e por isso necessitar de estudos que comprovem sua eficácia e seu comportamento biológico, justificando assim sua utilização clínica.

Os materiais foram utilizados adicionando-se aos mesmos soro fisiológico a 0,9%. Tal manobra não só facilita a manipulação, como também é uma forma comum de uso desses materiais durante procedimentos clínicos.

Quanto à quantidade de material inserida no alvéolo, não foi possível uma padronização em função desses materiais terem formas de apresentação diferenciadas. O sulfato de cálcio di-hidratado apresenta-se na forma de pó; assim, ao ser manipulado com o soro fisiológico, adquire a consistência de pasta. Em oposição, a hidroxiapatita BTCP GenPhos se apresenta na forma de grânulos, os quais são apenas hidratados pelo soro fisiológico, mas ainda mantendo o seu formato original. Assim, ao introduzir tais materiais no micro-porta-amálgama metálico, a resistência apresentada pelo sulfato de cálcio di-hidratado era menor do que a da hidroxiapatita BTCP GenPhos, permitindo que se conseguisse levar uma maior quantidade de material em cada porção com o sulfato de cálcio. Por esse motivo, levou-se ao interior do alvéolo duas porções de sulfato de cálcio di-hidratado, e três de hidroxiapatita BTCP GenPhos, na tentativa de aproximar a quantidade de material inserido nos dois grupos testados.

Pelo fato de se inserir mais de uma porção de cada material no alvéolo, fez-se necessária a compactação de cada uma. Houve, então, a definição de um instrumento que tivesse tal função e se adaptasse à anatomia do alvéolo do rato. Para isso, no estudo piloto, realizou-se a extração do incisivo superior direito de um animal de idade e peso semelhantes àqueles que seriam utilizados posteriormente no trabalho. De posse de uma régua milimetrada realizou-se a medida do comprimento do dente e, com um paquímetro, mensurou-se o seu diâmetro. A partir daí foi procurado um instrumento maleável, para se adaptar à curvatura do alvéolo, que tivesse um diâmetro compatível com o mesmo, e funcionasse como um êmbolo, compactando o material no terço médio do alvéolo, mas que não fosse traumático às suas paredes. O material que se adaptou a essas características foi o cone principal de guta-percha F2 da série ProTaper^y.

Esse cone foi então encurvado e calibrado, de modo que o mesmo penetrasse 8mm, conseguindo dessa forma atingir o terço médio do alvéolo. Não havia a intenção de atingir o terço apical em função de evitar traumatizar essa região; aliado a isso, o acesso a ele é dificultado em razão da curvatura apresentada pelo alvéolo e, conforme trabalhos realizados anteriormente (CASTRO et al.²⁰, 1970, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO¹⁰³, 1972, SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO¹⁰², 1979/80), quando um material é levado ao interior do alvéolo do rato há a dificuldade de o mesmo alcançar o terço apical logo após a extração dentária, pois ocorre uma hemorragia relativamente severa, a qual ocasiona o deslocamento do implante até o nível do terço médio.

A administração de medicação sistêmica pós-operatória de antiinflamatório por meio de injeção intramuscular de 0,04ml, em dose única, de Ketofen 1% teve a finalidade de evitar ou minimizar a dor. Já, a administração de Pentabiótico Veterinário na dosagem de 0,1ml, também em dose única, foi realizada com o objetivo de evitar uma possível infecção pós-operatória. Tais cuidados foram tomados com o objetivo de oferecer um maior conforto pós-operatório aos animais e também pelo fato de que tanto a dor quanto a infecção poderiam interferir nos resultados.

^y Dentsply Indústria e Comércio Ltda. – Petrópolis, RJ

O processamento histológico realizado foi o convencionalmente proposto pelo laboratório de Histologia da FOB-USP. Durante o corte das peças do grupo da hidroxiapatita houve uma maior dificuldade, pois, apesar de ter sofrido o processo de desmineralização, confirmando-se o mesmo por meio de tomadas radiográficas, ainda se encontrava resistência do material ao corte pelo fato de ser um material cerâmico. Quanto à coloração, optou-se pela hematoxilina e eosina (HE), utilizada como rotina para estudos histomorfológicos.

A análise dos cortes histológicos foi realizada de duas formas, descritiva e quantitativa. Tomou-se como base o trabalho de CINTRA²², 2005, porém foram feitas algumas modificações já que, na pesquisa citada, o implante do material no alvéolo foi realizado no interior de tubos de polietileno.

Dessa forma, na análise descritiva, composta pelo preenchimento da tab. 1 e posteriormente pela descrição sucinta dos fenômenos observados, procurou-se evidenciar a resposta tecidual frente aos biomateriais testados, bem como o comportamento dos mesmos.

Por outro lado, a análise quantitativa, realizada por meio da atribuição de escores, embora não tão precisa quanto a contagem celular, em função de ser um método subjetivo, foi escolhida devido, novamente, às diferenças com relação às características dos materiais testados.

Durante a realização da análise descritiva verificou-se que a hidroxiapatita BTCP GenPhos não havia sofrido reabsorção, em oposição ao sulfato de cálcio di-hidratado, grupo em que se observaram apenas resíduos do material no alvéolo. Tal fato forneceria um resultado falso negativo caso fosse realizada a contagem celular para a comparação entre os grupos, principalmente com relação ao critério neoformação de tecido ósseo, visto que haveria um grande espaço do alvéolo ocupado pelas partículas de hidroxiapatita nos animais do grupo III. Por esse motivo, escolheu-se a realização da análise quantitativa por meio da atribuição de escores, e, para reduzir a subjetividade, a mesma foi realizada por dois examinadores que procuravam um consenso nos achados.

Quanto à análise estatística, em primeiro lugar utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis por se comparar quantitativamente três grupos independentes, ou três períodos de observação, também independentes, de cada grupo. A partir daí, encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ou períodos, realizou-se o teste de Dunn, visto que o mesmo é um teste específico para comparações múltiplas.

6.2 DOS RESULTADOS

O processo de reparo dos alvéolos dentais evolui a partir de seu preenchimento com sangue, que coagula e funciona como um corpo estranho, gerando reação inflamatória para reabsorvê-lo e estimular, simultaneamente, a proliferação fibroangioblástica e, posteriormente, a neoformação óssea (CATANZARO GUIMARÃES²¹, 1982, KUMAR; ABBAS; FAUSTO⁶¹, 2004).

Neste trabalho, foi estudado o processo evolutivo de reparo do alvéolo dental frente à implantação de biomateriais aloplásticos como a hidroxiapatita e o sulfato de cálcio, tendo como controle o alvéolo dental com coágulo sangüíneo. Para a análise dos resultados foram estabelecidos como parâmetros o infiltrado inflamatório, a densidade de fibroblastos, a densidade angioblástica e a neoformação de tecido ósseo.

Nos espécimes em que o alvéolo permaneceu preenchido por coágulo sangüíneo (grupo controle) verificou-se um desenvolvimento normal do processo de reparo.

Aos 7 dias, o infiltrado inflamatório foi classificado como discreto na maioria dos espécimes, sendo que apenas um animal o apresentou de forma moderada (tab. 12). Todos mostraram a presença de linfócitos, macrófagos e discreta quantidade de células gigantes multinucleadas. O espécime que teve tal critério considerado como moderado demonstrou também polimorfonucleares

neutrófilos esparsos. Esses achados estão de acordo com os de OKAMOTO⁸³, 1964, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994, e LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTGANI⁶³, 1997, com exceção da presença de CGMN, a qual não foi relatada pelos mesmos. Porém, deve-se ressaltar que a quantidade de tais células neste trabalho foi muito pequena, observando-se apenas uma ou duas das mesmas em cada espécime. Além disso, verificou-se que elas apareciam sempre próximas ao coágulo sangüíneo remanescente, provavelmente com o objetivo de fagocitose do mesmo. Nesse mesmo período, notou-se a presença constante de coágulo sangüíneo, e metade dos espécimes apresentaram áreas sugestivas de edema. Quanto ao tecido de granulação, verificou-se o aparecimento dos três tipos: jovem, em organização e com fibrosamento, havendo um predomínio do tipo em organização.

Nos períodos de observação de 15 e 30 dias, o infiltrado inflamatório apresentou-se como discreto em todos os espécimes (tabs. 13 e 14), e a presença de CGMN foi esporádica, apresentando-se ora com aspecto homogêneo, ora vacuolado. Nesses períodos, o coágulo sangüíneo apresentava-se apenas como focos esparsos. Quanto ao tipo do tecido de granulação presente, aos 30 dias observou-se um avanço com relação ao amadurecimento do mesmo, já que a quantidade de espécimes que demonstraram a presença de tecido de granulação de aspecto jovem foi menor. Com relação ao tecido do tipo com fibrosamento, esse só foi verificado na superfície do terço cervical do alvéolo, fechando-a dessa forma.

A atividade fibroangioblástica, no grupo controle, aos 7 dias pós-operatórios, mostrou-se intensa em todos os espécimes, demonstrando um processo de reparo em grande atividade (tabs. 15 e 18). Aos 15 e 30 dias, a proliferação angioblástica continuou apresentando-se de forma intensa (tabs. 19 e 20), fato este importante visto que, segundo STROCCHI et al.¹⁰⁹, 2002, a diferenciação do tecido ósseo está relacionada com a presença de vasos sangüíneos. Por sua vez, a proliferação fibroblástica nesses períodos mostrou-se de forma moderada, verificando-se diferença estatisticamente significativa entre o período de 7 e os de 15 e 30 dias (tabs. 26 e 27). Tal fato foi decorrência de a mesma estar cedendo espaço

para a deposição de novo tecido ósseo, bem como ao processo de maturação ou organização do tecido de granulação.

Quanto à neoformação de tecido ósseo, aos 7 dias, encontrou-se a mesma predominantemente de forma moderada (tab. 21), isto é, iniciando-se a partir das corticais e dirigindo-se ao centro do alvéolo, o que concorda com os achados de OKAMOTO⁸³, 1964, ASTRAND; CARLSSON⁸, 1969, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994, e LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTAGANI⁶³, 1997, porém discorda dos de JOHANSEN⁵³, 1970, o qual relata que, seis dias após a extração dentária, o alvéolo estaria preenchido com osso neoformado. Porém, a descrição de tal autor deve ser analisada com restrições, visto que a mesma discorda da própria imagem apresentada pelo mesmo correspondente a tal período, sendo que nela não se observou o alvéolo totalmente preenchido por tecido ósseo.

Segundo OKAMOTO⁸³, 1964, ASTRAND; CARLSSON⁸, 1969, e OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, em torno do vigésimo primeiro dia pós-operatório o alvéolo do rato está completamente reparado. Por outro lado, LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTAGANI⁶³, 1997, realizando estudo histométrico do reparo alveolar em ratos, verificaram que, realmente, na terceira semana pós-operatória, o alvéolo está preenchido por tecido ósseo, porém até a sexta semana ainda há um aumento nessa neoformação óssea, principalmente no terço cervical.

No presente trabalho, aos 15 e 30 dias, a neoformação óssea dos alvéolos dos animais do grupo controle foi classificada como intensa (tabs. 22 e 23), visto que a mesma ocupava totalmente os terços médio e cervical dos alvéolos; havendo assim diferença estatisticamente significativa em relação ao período de 7 dias (tabs. 26 e 28). Acredita-se que essa equivalência nos achados, ocorrida nos dois últimos períodos de observação, pode ser devido à forma de análise empregada nesse trabalho por meio da atribuição de escores; talvez, se fosse realizada a contagem celular, evidenciar-se-ia uma neoformação óssea um pouco maior no período de trinta dias, aproximando-se ainda mais dos achados dos autores citados no parágrafo anterior.

Por outro lado, CARVALHO; OKAMOTO¹⁹, 1987, consideram completa a reparação do alvéolo quando ele se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado e com suas cristas ósseas remodeladas.

Nos espécimes do grupo controle, aos 7 dias, as cristas ósseas apresentavam apenas características de reabsorção. Aos 15 dias, houve tanto neoformação quanto reabsorção; e, 30 dias após o ato operatório, evidenciava-se total remodelação, com a ocorrência de neoformação em ambas as cristas ósseas.

Dessa forma, o processo de reparo do grupo controle, nos períodos de 7, 15 e 30 dias, desenvolveu-se dentro da normalidade, concordando com OKAMOTO⁸³, 1964, ASTRAND; CARLSSON⁸, 1969, OKAMOTO; RUSSO⁸⁶, 1973, OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994, e LAMANO CARVALHO; BOMBONATO; BRENTGANI⁶³, 1997.

A implantação de biomateriais no alvéolo dental provoca uma reação inflamatória mais intensa, nos períodos iniciais, do que o coágulo sangüíneo (tab. 12). Tal fato provavelmente é consequência não exclusivamente da reação ao implante, por se tratar de um corpo estranho, mesmo que biocompatível, mas também da contaminação local, visto que as estruturas bucais são banhadas pela saliva, a qual é o “habitat” natural de vários microorganismos (CARVALHO; OKAMOTO¹⁸, 1978).

Os alvéolos que receberam o implante de sulfato de cálcio di-hidratado (grupo II) mostraram o infiltrado inflamatório, de modo geral, aos sete dias, de moderado a intenso, superando de modo significativo os períodos de 15 e 30 dias do mesmo grupo (tabs. 26 e 29). As células inflamatórias presentes, polimorfonucleares neutrófilos, macrófagos, linfócitos, e CGMN, estavam principalmente relacionadas com áreas que apresentavam aspecto de tecido necrótico, provavelmente resultantes do contato entre o sulfato de cálcio e o sangue. O tamanho de tais áreas, encontradas nos terços médio e cervical do alvéolo, variou conforme a quantidade de material presente e acredita-se que essa reação inflamatória mais intensa tenha sido resultado do próprio ato operatório e da

colocação de um material estranho, com pH alcalino (9,6) e no estado pastoso no interior do alvéolo, bem como da hemorragia após a extração dentária.

Com o avanço dos períodos pós-operatórios notou-se a diminuição da reação inflamatória, que, aos 15 dias, era predominantemente discreta e apenas um animal ainda a mostrava de forma moderada, significando o abrandamento da alcalinidade da pasta de sulfato de cálcio (tab. 13). Aos 30 dias, a reação inflamatória apresentava-se de forma discreta, igualando-se então à intensidade do mesmo fenômeno ocorrido no grupo controle (tab. 14), e diferenciando-se de modo significativo, também, do período de 7 dias (tabs. 26 e 29). Porém, em alguns espécimes do grupo II, mesmo nos períodos de 15 e 30 dias, ainda notou-se a presença de neutrófilos, porém em quantidade bastante reduzida, e as áreas de necrose diminuíram drasticamente.

A persistência discreta de neutrófilos, em alguns espécimes, aos 15 e 30 dias (tabs. 7 e 10), pode ser justificada pela provável continuidade, embora mais branda, da ação alcalina do sulfato de cálcio. Essa afirmativa encontra respaldo nos trabalhos de VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, e FRAME³⁴, 1975, os quais também verificaram a presença de tais células frente ao uso do sulfato de cálcio.

Por outro lado, MacNEILL et al.⁷⁰, 1999, ao implantar sulfato de cálcio combinado com osso autógeno na tíbia de ratos, e AL RUHAIMI², 2000, ao utilizar o material puro no côndilo femoral de coelhos, não notaram sinais de inflamação, porém os períodos de observação nesses casos foram maiores, alcançando 28 dias e 8 semanas, respectivamente.

Apesar da reação inflamatória provocada pelo sulfato de cálcio, principalmente no período de 7 dias, não ocorreu prejuízo com relação à proliferação fibroangioblástica, a qual mostrou-se na mesma intensidade da ocorrida no grupo controle em todos os períodos de observação. Quanto à densidade de fibroblastos, a mesma mostrou diferença estatisticamente significativa entre o período de 7 e os de 15 e 30 dias (tabs. 26 e 30), fato que, provavelmente, como comentado para o grupo controle, foi devido à maturação do tecido de granulação e à maior formação óssea

nos períodos de observação mais longos. Já a densidade angioblástica mostrou-se como intensa em todos os períodos pós-operatórios (tabs. 18, 19 e 20, fig. 36).

Nesse grupo também ocorreu a presença das três fases do tecido de granulação em todos os períodos experimentais. Houve sempre a prevalência do tipo em organização, sendo que o número de espécimes que o apresentavam do tipo jovem diminuía conforme ocorria o aumento dos períodos pós-operatórios. No terço cervical, esse tecido neoformado, apresentou-se fibrosado.

Quanto à presença de coágulo sangüíneo e pequenas áreas sugestivas de edema houve uma diferença com o grupo controle, mas somente no primeiro período de observação, visto que, aos 7 dias, todos os animais apresentavam coágulo sangüíneo e possíveis áreas de edema, e aos 15 e 30 dias observou-se somente focos de coágulo sangüíneo, diminuindo em grande quantidade a ocorrência de áreas compatíveis com edema. Isso mostra uma evolução do processo inflamatório e maior proximidade ao ocorrido no grupo controle.

A neoformação óssea nos animais do grupo II, aos 7 dias, foi classificada ora como moderada, ora como discreta (tab. 21), havendo, no período de 15 dias, um aumento na quantidade de osso neoformado, porém mostrando-se ainda de forma moderada na maioria dos espécimes (tab. 22). Somente no período de 30 dias pós-operatórios houve uma prevalência de tal critério na forma intensa (tab. 23), ocorrendo diferença significativa em relação ao período de 7 dias (tabs. 26 e 31) e aproximando-se ainda mais dos resultados do grupo controle (tab. 23).

Nota-se que ocorreram pequenas diferenças no processo de neoformação óssea nos períodos de 7, 15 e 30 dias, quando se compara o grupo II ao grupo controle (tabs. 21, 22 e 23); porém, apesar de essas diferenças significarem algum retardo na neoformação de osso, as mesmas foram insignificantes. RADENTZ; COLLINGS⁹⁹, 1965, e APAYDIN; TORABINEJAD⁶, 2003, também não demonstraram diferença estatística significativa entre o grupo controle e aquele em que foi utilizado o sulfato de cálcio, porém verificaram que no grupo

experimental a neoformação óssea foi maior. Acredita-se que a diversidade desses achados pode ser devido à metodologia empregada, visto que os referidos autores utilizaram o material em cavidades ósseas e, neste trabalho, utilizou-se o mesmo no interior do alvéolo dental.

Autores como CASTRO et al.²⁰, 1970, CARVALHO; OKAMOTO¹⁸, 1978, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO¹⁰³, 1972, OKAMOTO et al.⁸⁴, 1974, VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO¹⁰², 1979/80, NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996, e BRANDÃO et al.¹⁴, 2002, afirmam que a ocorrência de atraso na cronologia do processo de reparo é possível devido, provavelmente, ao fato de o material implantado perturbar a organização do coágulo sangüíneo.

Esses dados são confirmados pelo trabalho de OKAMOTO et al.⁸⁵, 1994, que analisaram a cura do alvéolo do rato após extração dental realizando-se a remoção do coágulo sangüíneo. Dessa forma, os autores dividiram os animais em dois grupos: no grupo I, após a extração, realizou-se a sutura da mucosa gengival; e, no grupo II, foi realizada a remoção do coágulo sangüíneo. Os resultados mostraram que, nos animais do grupo II, houve um profundo atraso no processo de reparo, pois embora tenha ocorrido a formação de novo coágulo sangüíneo, este não era organizado. A partir daí puderam concluir que a constituição, manutenção, e retração do coágulo sangüíneo, são fatores que regulam a proliferação de tecido conjuntivo na cura do alvéolo.

Quanto às cristas ósseas, no grupo II, aos 7 dias, elas apresentavam apenas áreas de reabsorção, e em apenas um espécime foi identificada área de neoformação na crista óssea palatina. Aos quinze dias, todos os espécimes demonstraram tanto áreas de reabsorção quanto de neoformação e, aos 30 dias, as mesmas apresentavam-se já totalmente remodeladas.

Em todos os períodos experimentais apareceram resíduos do sulfato de cálcio di-hidratado na forma de conglomerados basofílicos com aspecto granulado, porém houve uma redução na sua quantidade conforme se aumentava o período de observação. Além disso, é importante ressaltar que, ao redor ou no

interior desses conglomerados, havia a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas, células essas responsáveis pela fagocitose do material, mostrando assim a tentativa do organismo de reabsorver o mesmo.

Dessa forma, verificou-se que o sulfato de cálcio quando implantado na forma de pasta e em contato com o sangue do alvéolo torna-se um material em condições de ser rapidamente reabsorvido. Nesse sentido, pode atuar apenas como material osteopreenchedor, prevenindo falhas durante o processo de reparo ósseo como a retração do coágulo sangüíneo, porém não propicia a permanência de um “andaime” por um período de tempo maior para que fosse, assim, possível a ocorrência de osteocondução, concordando então com PELTIER⁹⁵, 1961, KIM et al.⁵⁶, 1998, e AL RUHAIMI², 2000.

CALHOUN, NEIDERS e GREENE¹⁶, 1967, implantando gesso Paris na mandíbula de cães, verificaram que o material sofreu total reabsorção 30 dias após o procedimento cirúrgico. Em humanos, segundo GUARNIERI et al.⁴⁴, 2005, que preencheram alvéolos dentários com sulfato de cálcio hemi-hidratado, a reabsorção do material ocorreu dentro de três meses. Por outro lado, FRAME³⁴, 1975, implantando cilindros de sulfato de cálcio di-hidratado no subcutâneo de ratos, notou a presença do material em todos os períodos experimentais (1, 2, 4 e 8 semanas), e, à medida que se aumentava o período, ocorria a diminuição da quantidade de material no local. VICTOR et al.¹¹⁷, 1975, também notaram fragmentos de gesso Paris 40 dias após o ato cirúrgico, sendo que os autores ainda relataram que o material não permitiu neoformação conjuntiva nem óssea nas suas adjascências. E STUBBS et al.¹¹⁰, 2004, ao implantarem sulfato de cálcio na tíbia de coelhos, encontraram o material no defeito após 3 e 6 semanas da cirurgia, sendo que a reabsorção completa foi vista somente após 12 semanas.

Um fato importante encontrado no presente trabalho, e não relatado em outros que utilizaram o sulfato de cálcio, é a ocorrência de áreas sugestivas de calcificação distrófica, sendo que as mesmas, no período de 30 dias, apresentavam-se envolvidas por osso neoformado.

O grupo III, em que se realizou o implante da hidroxiapatita BTCP GenPhos nos alvéolos, mostrou o infiltrado inflamatório, aos 7 dias, também de moderado a intenso (tab. 12), apresentando neutrófilos, macrófagos, linfócitos, e CGMN. Além disso, alguns espécimes apresentaram, na porção mais superficial do terço cervical, foco de supuração. Isso pode ter sido decorrente de alguma contaminação superficial do alvéolo, apesar de não se verificar tal fato no momento da coleta das peças.

Nos períodos de observação de 15 e 30 dias, assim como nos grupos I e II, houve uma estabilização do infiltrado inflamatório, mostrando-se como discreto em todos os espécimes (tabs. 13 e 14), e havendo assim diferença estatística dos mesmos em relação ao período de 7 dias (tabs. 26 e 32). Nesses períodos não apareciam mais neutrófilos, assim como nos animais do grupo controle, com exceção de um espécime aos 15 dias. Os macrófagos e as CGMN apareciam dispersos no tecido de granulação, proliferando entre as partículas e em íntimo contato com suas superfícies.

OLIVEIRA et al.⁸⁷, 1993, ao implantarem HA no tecido subcutâneo de ratos observaram, no período de 24 horas após o procedimento cirúrgico, uma inflamação aguda intensa, com grande número de polimorfonucleares. Aos 7 dias houve formação de granulomas do tipo corpo estranho, com predominância de macrófagos e CGMN envolvendo o material; aos 21 e 30 dias esse granuloma apresentou-se mais maduro; e aos 60 dias houve redução no seu volume, havendo ainda a presença de CGMN. Por sua vez, NARY FILHO; OKAMOTO⁸⁰, 1996, levando tubos de polietileno contendo em suas extremidades Hapset (HA associada ao SC) e guta-percha ao interior de alvéolos dentais de ratos, observaram que o Hapset provocou uma irritação local importante, notando-se aos 7 dias, nas proximidades do material, elevado número de polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos. Aos 15 dias ainda se verificaram polimorfonucleares neutrófilos em alguns espécimes e, aos 30 dias, os neutrófilos já não estavam mais presentes, sendo que o tecido conjuntivo já se apresentava mais organizado, com moderado número de linfócitos e macrófagos, concordando quanto a esse aspecto com os achados do presente trabalho.

Por outro lado, trabalhos que utilizaram hidroxiapatita, mas estabeleceram períodos de observação mais longos, ou não relatam a presença de reação inflamatória, ou a mostram como discreta (KLINGE et al.⁵⁹, 1992, DENISSEN et al.²⁹, 1980, PIECUCH⁹⁸, 1982). Dessa maneira, os resultados aqui apresentados também podem concordar com esses achados, visto que no último período de observação estabelecido todos os espécimes apresentaram tal critério considerado como discreto.

A proliferação fibroangioblástica ocorrida no grupo III apresentou-se também na mesma intensidade para os espécimes dos grupos I e II, no período de 7 dias (tabs. 15 e 18). A densidade de fibroblastos demonstrou, ainda, no período de 7 dias diferença significativa com os de 15 e 30 dias (tabs. 26 e 33), quando tal critério foi classificado como moderado em todos os espécimes (tabs. 16 e 17) em decorrência da organização do tecido de granulação e maior formação óssea nesses períodos em comparação ao de 7 dias. Já a densidade angioblástica mostrou-se intensa em todos os períodos pós-operatórios (tabs. 18, 19, 20 e fig. 36).

Nesse período de 7 dias, notou-se a presença das três variáveis do tecido de granulação, mas com predominância do tipo em organização. Nos próximos períodos pós-operatórios a situação continuou a mesma, porém com uma maior redução da presença de tecido de granulação jovem do que nos outros grupos, mostrando um amadurecimento do mesmo.

Com relação aos fenômenos vasculares, as ocorrências se assemelham mais às do grupo controle (grupo I), principalmente com relação à presença de áreas compatíveis com edema e coágulo sangüíneo aos 7 dias. Aos 15 dias verificou-se a mesma situação, porém com focos de coágulo sangüíneo menores; e, aos 30 dias, não houve mais a presença de áreas sugestivas de edema, e os focos de coágulo estavam ainda menores, mostrando também redução na intensidade do processo inflamatório, a qual já ocorria aos 15 dias.

Os dados referentes à neoformação óssea no grupo III, aos 7 dias, foram predominantemente discretos, enquanto que, aos 15 dias, passaram para

moderados com tendência para intensos, semelhante ao grupo II (tabs. 21 e 22). Por outro lado, no período de 30 dias, esses resultados igualaram-se aos encontrados no grupo controle e superaram os do grupo II (tab. 23), ocorrendo diferença estatística significativa em relação ao período de 7 dias (tabs. 26 e 34). Ao se comparar tal critério entre os três grupos, ocorreu um atraso de pequena relevância no grupo III em relação ao grupo controle nos períodos de 7 e 15 dias, mas houve diferença estatisticamente significativa entre os mesmos somente no período de 15 dias (tabs. 24 e 25). Dessa forma, concorda com os achados de BRANDÃO et al.¹⁴, 2002, no período de 21 dias, ao implantar também HA no alvéolo de ratos e compará-la ao grupo controle, o qual encontrou a mesma diferença em 42 dias após a cirurgia, o que não foi verificado neste trabalho.

A remodelação das cristas ósseas nos espécimes do grupo III (hidroxiapatita BTCP GenPhos) demonstraram uma situação um pouco diferente dos demais. No período de 7 dias, todos apresentavam reabsorção, mas foram também observadas áreas de neoformação em 4 animais. Aos 15 dias, houve maior prevalência de neoformação, com apenas dois espécimes mostrando reabsorção e, aos 30 dias, apenas um apresentou reabsorção, sendo que todos os outros estavam totalmente remodelados.

Quanto à biodegradação das cerâmicas de fosfato de cálcio, a mesma é dependente de fatores como o tamanho da partícula, a proporção HA/ β TCP, bem como as condições sobre as quais o material é sinterizado (temperatura e pressão) (KOHRI et al.⁶⁰, 1993). A cerâmica utilizada no presente trabalho, hidroxiapatita BTCP GenPhos, possui suas partículas com tamanho entre 0,25 e 1mm, apresentando em sua composição 70% de HA e 30% de β TCP, sendo que não se conhece as condições em que o material foi sinterizado.

Nesse grupo verificou-se a presença do material na sua forma original em todos os períodos pós-operatórios estabelecidos. A diferença notada foi que, no período de 7 dias, havia somente tecido de granulação com células macrofágicas, em contato com suas partículas; o tecido ósseo nesse período estava em um estágio inicial de neoformação, não entrando em contato direto com o

material. Porém, nos períodos de 15 e 30 dias, além de se visualizar áreas em que o tecido de granulação e células macrofágicas estavam em contato direto com as partículas de HA, observava-se o íntimo contato do tecido ósseo neoformado com o material; mostrando assim que, apesar de o produto permanecer no local implantado, permitiu a formação óssea diretamente sobre sua superfície, não demonstrando dessa forma toxicidade, fato também verificado nos trabalhos de DENISSEN; DE GROOT²⁸, 1979, DENISSEN et al.²⁹, 1980, FRAME; BROWNE; BRADY³⁷, 1981, BAGAMBISA; JOOS⁹, 1990, STEFFEN et al.¹⁰⁸, 2001, e LE NIHOUE⁶⁵, 2005. A formação óssea diretamente sobre a superfície do material, aliada à sua permanência no local implantado, pode estar caracterizando uma função osteocondutiva do mesmo, a qual foi também verificada nos trabalhos de PIECUCH⁹⁸, 1982, e SUBA et al.¹¹¹, 2004.

OLIVEIRA et al.⁸⁷, 1993, ao implantarem HA microgranular, com partículas de 10 a 50µm, em tecido subcutâneo de ratos, notaram que as mesmas, 60 dias após o ato operatório, ainda encontravam-se envolvidas por macrófagos e células gigantes multinucleadas, o que poderia estar associado com a biodegradação do material, sendo que os autores acreditam que a HA microgranular apresenta dimensões que podem favorecer a fagocitose por células como macrófagos e fibroblastos.

Com relação à proporção de HA/βTCP, NERY et al.⁸¹, 1992, relatam que o desenvolvimento das cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio pode ter como objetivo controlar a reabsorção do material, visto que o βTCP reabsorve mais rapidamente que a HA. Segundo trabalho realizado por esses autores em que eles testaram 7 tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio, modificando a proporção HA/βTCP, aquela que continha 100% de βTCP reabsorveu totalmente dentro de 6 meses, porém o mesmo não ocorreu naquelas que continham maiores concentrações de HA. Da mesma forma, KOHRI et al.⁶⁰, 1993, ao avaliarem a estabilidade de cerâmicas de fosfato de cálcio in vitro, verificaram que a HA pura não mostrou nenhuma mudança em sua estrutura, enquanto tanto o TCP puro quanto aquele presente nas cerâmicas bifásicas sofreram dissolução; mostrando dessa forma que o TCP é menos estável que a HA. KURASHINA et al.⁶², 2002 implantaram

intramuscularmente em coelhos cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio, verificando que aquela que apresentava a proporção 7HA/3TCP, assim como a usada nesta pesquisa, não demonstrou modificação em sua estrutura após 6 meses da implantação, porém também apresentando em contato com sua superfície células multinucleadas; já as cerâmicas que apresentavam 2HA/8TCP e 0HA/10TCP mostraram significativa mudança no formato e diminuição no tamanho, evidenciando a reabsorção.

Por outro lado, trabalhos que utilizaram cerâmicas de HA pura e sinterizada verificaram que o material não sofreu reabsorção, quer seja no alvéolo de cães ou humanos durante 18 meses (DENISSEN; DE GROOT²⁸, 1979), na tíbia de ratos por 6 meses (DENISSEN et al.²⁹, 1980), ou na mandíbula de cães durante 12 semanas (FRAME; BROWNE; BRADY³⁷, 1981).

Dessa forma, os biomateriais aloplásticos usados, dependendo de suas características, constituem alternativas osteopreenchedoras ou osteocondutoras, e podem ser reabsorvidos de forma muito rápida, ou muito lentamente. Todavia, são biocompatíveis e não interferem no processo de reparo alveolar.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados foi possível concluir que:

- ❖ A evolução do processo de reparo ósseo alveolar ocorreu de forma semelhante entre os grupos representativos do coágulo sangüíneo, do sulfato de cálcio di-hidratado e da hidroxiapatita BTCP GenPhos, nos períodos estabelecidos. Destaca-se a diferença significativa quanto à neoformação óssea, aos 15 dias, entre os grupos controle e hidroxiapatita BTCP GenPhos;
- ❖ No período de 30 dias, a evolução da neoformação óssea foi semelhante para todos os grupos.

R eferências
B ibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aichelmann-Reidy ME, Heath CD, Reynolds MA. Clinical evaluation of calcium sulfate in combination with demineralized freeze-dried bone allograft for the treatment of human intraosseous defects. *J Periodontol*, 2004 Mar.; 75(3): 340-7.
2. Al Ruhaimi K. Effect of adding resorbable calcium sulfate to grafting materials on early bone regeneration in osseous defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2000; 15 (2): 859-64.
3. Albrektisson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*, 2001; 10 (Supplement): 96-101.
4. Anson D. Calcium sulfate: a 4-year observation of its use as a resorbable barrier in guided tissue regeneration of periodontal defects. *Comp Cont Ed Dent*, 1996 July/Dec.; 17 (2): 895-9.
5. Anusavice KJ. Produtos de gipsita. In: _____ Phillips - Materiais dentários. 11ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. Cap. 10, 239-64p.
6. Apaydin ES, Torabinejad M. The effect of calcium sulfate on hard-tissue healing after periradicular surgery. *J Endod*, 2003 Jan; 30(1): 17-20.
7. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS et al. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and β -tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2004; 19(3): 357-68.

8. Astrand P, Carlsson GE. Changes in the alveolar process after extractions in the white rat. A histologic and fluorescence microscopic study. *Acta Odont Scand*, 1969; 27(1): 113-27.
9. Bagambisa FB, Joos U. Preliminary studies on the phenomemological behaviour of the osteoblasts cultured on hydroxyapatite ceramics. *Biomaterials*, 1990 Jan.; 11: 50-56.
10. Bahn SL. Plaster: a bone substitute. *Oral Surg*, 1966 May; 21(5): 678-81.
11. Bell WR. Resorption characteristics of bone and plaster of Paris. *J Dent Res*, 1960 Mar.; 39(4): 727.
12. Bhaskar SN, Brady JM, Getter L, Grower MF, Driskell T. Biodegradable ceramic implants in bone. *Oral Surg*, 1971; 32(2): 336-46.
13. Bonachela WC, Molo Jr FA, Taga EM, Granjeiro JM. Manutenção do rebordo alveolar com hidroxiapatita microgranular. *RGO*, 1992 Mai.-Jun.; 40(3): 212-3.
14. Brandão AC, Brentegani LG, Novaes Jr AB, Grisi MFM, Souza SLS, Taba Jr M et al. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hidroxyapatite alone or associated to BMPs. *Braz Dent J*, 2002; 13(3): 147-154.
15. Calhoun NR, Greene GW, Blackledge GT. Effects of plaster of Paris implants on osteogenesis in the mandible of dogs. *J Dent Res*, 1962 Set.-Oct.; 42(5): 1244.
16. Calhoun NR, Neiders ME, Greene GW. Effects of plaster of Paris implants in surgical defects of mandibular alveolar process of dogs. *J Oral Surg*, 1967 March; 25: 122-28.
17. Carneiro E. Análise microscópica descritiva do efeito do tamanho das partículas de matriz de osso medular bovino desmineralizado na reparação de defeito ósseo

em fêmures de coelho [dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2003.

18. Carvalho ACP, Okamoto T. Implantes intra-alveolares. Considerações sobre estudos experimentais. Rev Assoc Paul Cir Dent, 1978 Jul./Ago.; 32(4): 273-9.

19. Carvalho ACP, Okamoto T. Reparação do alvéolo dental. In:_____. Cirurgia Bucal. Fundamentos experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Panamericana, 1987. Cap. 5, 55-80p.

20. Castro AL, Callestini EA, Carvalho ACP, Okamoto T. Synthetic bone implants following tooth extractions. Bull Tokio Dent Coll, 1970 Nov.; 11(4): 193-7.

21. Catanzaro Guimarães SA. Processo de reparo. In:_____. Patologia básica da cavidade bucal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 8, 282-315p.

22. Cintra LTA. Avaliação da resposta tecidual frente aos cimentos MTA e MBPc. Análise microscópica de implantes realizados em alvéolos dentários de ratos [dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2005.

23. Clokie CM, Moghadam H, Jackson MT, Sandor GKB. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. J Craniof Surg, 2002 Jan, 13(1): 111-21.

24. Dahlin C. A origem científica da regeneração tecidual guiada. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Regeneração óssea guiada em implantodontia. São Paulo: Quintessence, 1996. cap. 2, p. 31-48.

25. Dalcusi G, LeGeros RZ, Nery E, Lynch K, Kerebel B. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. J Biomed Mater Res, 1989; 23(8): 883-94.

26. Damien CJ, Parsons JR, Benedict JJ, Weisman DS. Investigation of a hidroxiapatite and calcium sulfate composite supplemented with an osteoinductive factor. J Biomed Mater Res, 1990 Jan./June; 24 (1): 639-54.
27. De Groot K. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. Biomaterials, 1980 Jan.; 1: 47-50.
28. Denissen HW, De Groot K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxyapatite. J Prosthet Dent, 1979 Nov.; 42(5): 551-6.
29. Denissen HW, De Groot K, Makkes PC, Van Den Hoof A, Kloppe PJ. Tissue response to dense apatite implants in rats. J Biomed Mater Res, 1980; 14: 713-21.
30. Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Bellincamp LD. Potential of an ultraporous β -tricalcium phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. Eur Spine J, 2001; 10:141-6.
31. Estrela C. Metodologia científica. 2ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005.
32. Farris EJ, Griffith JQ. The rat in laboratory investigation. New York: Hafner Publishing Company, 1967.
33. Ferreira GR, Cestari TM, Granjeiro JM, Taga R. Lack of repair of rat skull critical size defect treated with bovine morphometric protein bound to microgranular bioabsorbable hydroxyapatite. Braz Dent J, 2004; 15(3): 175-80.
34. Frame JW. Porous calcium sulphate dihydrate as a biodegradable implant in bone. J Dent, 1975; 3(4): 177-87p.
35. Frame JW. A composite of porous calcium sulphate dihydrate and cyanoacrylate as a substitute for autogenous bone. J Oral Surg, 1980 Apr; 38: 251-56.

-
36. Frame JW. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1987; 16(6): 642-55.
37. Frame JW, Browne RM, Brady CL. Hydroxyapatite as a bone substitute in the jaws. *Biomaterials*, 1981 Jan.; 2: 19-22.
38. Frame JW, Rout PGJ, Browne RM. Ridge augmentation using solid and porous hydroxylapatite particles with and without autogenous bone or plaster. *J Oral Maxillofac Surg*, 1987 July-Dec.; 45(2): 771-8.
39. Gartner LP, Hiatt JL. Cartilagem e Osso. In: _____. *Tratado de histologia em cores*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003. cap. 7, p. 105-26.
40. Goldman RS, Hansen NS, Marcone C, Silva OC, Alonso C, Pinto-Antonio AMM. Tratamento cirúrgico das lesões císticas do periápice com implantes de sulfato de cálcio. *Rev Bras Cir Implant* 2000; 7: 55-8.
41. Gosain AK, Song L, Riordan P, Amarante MT, Nagy PG, Wilson CR et al. A 1-year study of osteoinduction in hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model: part I. *Plast Reconstr Surg*, 2002 Feb.; 109(2): 619-30.
42. Gosain AK, Riordan PA, Song L, Amarante MT, Kalantarian B, Nagy PG et al. A 1-year study of osteoinduction in hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model: part II. Bioengineering implants to optimize bone replacement in reconstruction of cranial defects. *Plast Reconstr Surg*, 2004; 114: 1155-63.
43. Granjeiro JM, Taga EM, Fonseca M, Maeda L, Taga MSL, Trebacchetti CR et al. Hidroxiapatita para uso clínico: caracterização físico-química. *RGO*, 1992 Mar.-Abr.; 40(2): 130-3.
44. Guarnieri R, Aldini NN, Pecora G, Fini M, Giardino R. Medical-grade calcium sulfate hemihydrate (Surgiplaster) in healing of a human extraction socket. *Histologic*

observation at 3 months: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2005 July-Aug.; 20(4): 636-41.

45. Guarnieri R, Grassi R, Ripari M, Pecora G. Maxillary sinus augmentation using granular calcium sulfate (Surgiplaster Sinus): radiographic and histologic study at 2 years. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2006 Feb.; 26(1): 79-85.

46. Gunzburg R, Szpalski M, Passuti N, Aebi M. Biomaterials: the new frontiers in spine surgery. *Eur Spine J*, 2001 Oct.; 10 (Sup 2): 85.

47. Harris RJ. Clinical evaluation of a composite bone graft with a calcium sulfate barrier. *J Periodontol*, 2004 May; 75(5): 685-92.

48. Hedrich HJ. History, strains and models. In: Kringe GJ. *The laboratory rat*. San Diego: Academic Press, 2000. Cap. 1, 3-16p.

49. Hing KA, Annaz B, Saeed S, Revell PA, Buckland T. Microporosity enhances bioactivity of synthetic bone graft substitutes. *J Mater Science Mater Med* 2005; 16: 467-75.

50. Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Ortho Rel Res*, 1981 June; 157: 259-78.

51. Jarcho M. Biomaterial aspects of calcium phosphates: properties and applications. *Dent Clin N Amer* 1986 Jan.; 30(1): 25-46.

52. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE et al. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1996 Jan./Feb.; 11 (1): 55-66.

53. Johansen JR. Repair of the post-extraction alveolus in the wistar rat. *Acta Odont Scand*, 1970; 28(4): 441-61.

-
54. Junqueira LC, Carneiro J. Tecido ósseo. In: _____ Histologia básica. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004. cap. 8, p.136-53.
55. Kawachi EY, Bertran CA, Reis RR, Alves OL. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Quim Nova, 2000 Jul./Ago.; 23(4): 518-22.
56. Kim CK, Kim HY, Chai JK, Cho KS, Choi SH. Effect of calcium sulphate on the healing of periodontal intrabony defects. Int Dent J 1998 June; 48(3) Suppl 1: 330-7.
57. Kim CK, Kim HY, Chai JK, Cho KS, Moon IS, Choi SH et al. Effect of a calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs. J Periodontol 1998 July-Sep.; 69(3): 982-88.
58. Kim CK, Kim HY, Chai JK, Cho KS, Moon IS, Choi SH et al. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier. J Periodontol 1998 Oct.-Dec.; 69(4): 1317-24.
59. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. J Oral Maxillofac Surg, 1992 Mar.; 50(3): 241-9.
60. Kohri M, Miki K, Waite DE, Nakajima H, Okabe T. In vitro stability of biphasic calcium phosphate ceramics. Biomaterials, 1993; 14(4): 299-304.
61. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins e Cotran – Patologia: bases patológicas das doenças. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
62. Kurashina K, Kurita H, Wu Q, Ohtsuda A, Kobayashi H. Ectopic osteogenesis with biphasic ceramics of hydroxyapatite and tricalcium phosphate in rabbits. Biomaterials, 2002; 23: 407-12.

63. Lamano Carvalho TL, Bombonato KF, Brentegani LG. Histometric analysis of rat alveolar wound healing. *Braz Dent J*, 1997; 8(1): 9-12.
64. LeGeros RZ. Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review. *Adv Dent Res*, 1988 Aug.; 2(1): 164-80.
65. Le Nihouannen D, Dalcusi G, Saffarzadeh A, Gauthier O, Delplace S, Pilet P et al. Ectopic bone formation by microporous calcium phosphate ceramic particles in sheep muscles. *Bone*, 2005; 36: 1086-93.
66. Levin MP, Getter L, Cutright DE, Bhaskar SN. Biodegradable ceramic in periodontal defects. *Oral Surg* 1974 July-Dec.; 38(3): 344-51.
67. Lin WL, McCulloch CAG, Cho MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *Anat Rec*, 1994 Dec.; 240(4): 492-506.
68. Lind M, Bnger C. Factors stimulating bone formation. *Eur Spine J*, 2001; 10 Supplement: 102-9
69. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Tratado de periodontia clnica e implantologia oral. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
70. MacNeill SR, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials: a preliminary study. *J Clin Periodontol*, 1999 Jan./June; 26 (1): 239-45.
71. Maeda ST. Implante de sulfato de clcio em cavidades em fmures de coelhos: anlise microscpica [tese]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de So Paulo; 2005.

72. Marx RE, Saunders TR. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca RJ, Davis WH. Rev Preprosthetic and Maxillofac Surg, 1986: 347-428.
73. Masters DH. Implants. Bone and bone substitutes. Calif Dent Assoc J, 1988; 16 (1): 56-65.
74. Mavropoulos E. A hidroxiapatita como removedora de chumbo [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz; 1999.
75. Maze GI, Hinkson DW, Collins BH, Garbin C. Bone regeneration capacity of a combination calcium sulfate – demineralized freeze dried bone allograft. J Periodontol, 1994 June-Dec.; 65(2): 983.
76. Melo LGN, Nagata MJH, Bosco AF, Ribeiro LLG, Leite CM. Bone healing in surgically created defects treated with either bioactive glass particles, a calcium sulfate barrier, or a combination of both materials. A histologic and histometric study in rat tibias. Clin Oral Implant Res, 2005; 16: 683-91.
77. Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. ANZ J Surg, 2001; 71: 354-61.
78. Moretton TR, Brown Jr CE, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. J Biomed Mater Res, 2000 Dec.; 52(3): 528-33.
79. Murashima Y, Yoshikawa G, Wadachi R, Sawada N, Suda H. Calcium sulphate as a bone substitute for various osseous defects in conjunction with apicetomy. Int Endod J, 2002 Sept.; 35 (9): 768-774.
80. Nary Filho H, Okamoto T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de Hapset^R (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração

dental. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Bauru, 1996 Jan.-Jun.; 4(112): 55-64.

81. Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/ β TCP in periodontal osseous defects. J Periodontol, 1992 Sept.; 63(9): 729-735.

82. Nery EB, Lynch KL, Hirthe WM, Mueller KH. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. J Periodontol 1975; 46(6): 328-47.

83. Okamoto T. Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo alveolar após extrações dentais [tese]. Araçatuba (SP): Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araçatuba, 1964.

84. Okamoto T, Carvalho ACP, Milanezi LA, Tagliavini RL. Implante de Boplant em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Araçatuba, 1974; 3(1): 13-7.

85. Okamoto T, Okamoto R, Alves Resende MCR, Gabrielli MFR. Interface of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. Histomorphological study in rats. Braz Dent J, 1994; 5(2): 85-92.

86. Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. Rev Fac Odont Araçatuba, 1973; 2(2): 153-64.

87. Oliveira DT, Granjeiro JM, Maeda L, Chacon M, Fonseca MA, Taga EM et al. Hidroxiapatita microgranular: comportamento biológico em tecido subcutâneo de ratos. Rev Odont Unesp, 1993 Jul.-Dez.; 22(2): 197-202.

88. Orr TE, Villars PA, Mitchell SL, Hsu HP, Spector M. Compressive properties of cancellous bone defects in a rabbit model treated with particles of natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite. Biomaterials, 2001; 22: 1953-59.

-
89. Orsini G, Ricci J, Scarano A, Pecora G, Petrone G, Iezzi G et al. Bone-defect healing with calcium sulfate particles and cement: an experimental study in rabbit. *J Biomed Mater Res*, 2004 Feb.; 68B (2): 199-208.
90. Öztürk A, Yetkin H, Memis L, Cila E, Bolukbasi S, Gemalmaz C. Demineralized bone matrix and hydroxyapatite/tri-calcium phosphate mixture for bone healing in rats. *Int Orthop*, 2006 June; 30(3): 147-52.
91. Pecora G, Andreana S, Margarone JE, Covani U, Sottosanti JS. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997 Oct; 84(2): 424-9.
92. Pecora G, Baek SH, Rethnam S, Kim S, Phil M. Barrier membrane techniques in endodontic microsurgery. *Dent Clin North Am*, 1997 July; 41 (3): 585-602.
93. Pecora G, De Leonardis D, Ibrahim N, Bovi M, Cornelini R. The use of calcium sulfate in the surgical treatment of a “through and through” periradicular lesion. *Int Endod J*, 2001 Apr.; 34 (3): 189-97.
94. Pecora G, De Leonardis DD, Ricci J, Massi OM. O uso do sulfato de cálcio em Endodontia. *Rev Bras Odont*, 2000 Mar.-Abr.; 57(2): 98-100.
95. Peltier LF. The use of plaster of Paris to fill defects in bone. *Clin Orthop*, 1961; 21: 1-31.
96. Peltier LF, Orn D. The effect of the addition of plaster of Paris to autogenous and homogenous bone graft in dogs. *Surg Forum*, 1958; 8: 571-4.
97. Peters CL, Hines JL, Bachus KN, Craig MA, Bloebaum RD. Biological effects of calcium sulfate as a bone graft substitute in ovine metaphyseal defects. *J Biomed Mater Res A*, 2006 Mar.; 76(3): 456-62.

98. Piecuch JF. Extrasketal implantation of a porous hydroxyapatite ceramics. J Dent Res, 1982 Dec.; 61(12): 1458-60.
99. Radentz WH, Collings K. The implantation of plaster of Paris in the alveolar process of the dog. J Periodontol, 1965; 36: 357-64.
100. Rankow HJ, Krasner PR. Endodontic applications of guided tissue regeneration in endodontic surgery. 1996 Jan; 22(1): 34-43.
101. Rosenberg A. Ossos, articulações e tumores de partes moles. In: Cotran RS, Kumar V, Collins. Robbins: patologia estrutural e funcional. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000. cap. 28, p. 1087-1134.
102. Saad Neto M, Carvalho ACP, Okamoto T. Proplast implantation into rat dental sockets. Rev Odont Unesp, 1979/80; 8/9: 27-33.
103. Sanches MG, Okamoto T, Carvalho ACP. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de osso anorgânico. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Araçatuba, 1972; 1(1): 83-89.
104. Schnettler R, Stahl JP, Alt V, Pavlidis T, Dingeldein E, Wenisch S. Calcium phosphate-based bone substitutes. Eur J Trauma, 2004; (4): 219-29.
105. Shaffer CD, App GR. The use of plaster of Paris in treating infrabony periodontal defects in humans. J Periodontol, 1971; 42: 685-90.
106. Snyders Jr RV, Eppley BL, Krukowski M, Delfino JJ. Enhancement of repair in experimental calvarial bone defects using calcium sulfate and dextran beads. J Oral Maxillofac Surg, 1993 Jan./June; 51: 517-24.
107. Sottosanti J. Calcium sulfate: a biocompatible barrier for guided tissue regeneration. Comp Cont Educ Dent, 1992 Jan.-June; 13(1): 226-34.

-
108. Steffen T, Stoll T, Arvinte T, Schenk RK. Porous tricalcium phosphate and transforming growth factor used for anterior spine surgery. *Eur Spine J*, 2001; 10: 132-40.
109. Strocchi R, Orsini G, Iezzi G, Scarano A, Rubini C, Pecora G et al. Bone regeneration with calcium sulfate: evidence for increased angiogenesis in rabbits. *J Oral Implantol* 2002; 28(6): 273-78.
110. Stubbs D, Deakin M, Chapman-Sheath P, Bruce W, Debes J, Gillies RM et al. In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model. *Biomaterials*, 2004 Feb.; 25: 5037-44.
111. Suba Z, Hrabak K, Huys L, Coulthard P, Maiorana C, Garagiola U et al. Histologic and histomorphometric study of bone regeneration induced by β -tricalcium phosphate (multicenter study). *Orv Hetil*, 2004; 145(27): 1431-7.
112. Taga EM. Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica. *BCI*, 1996 Jul-Ago.; 3(1): 59-69.
113. Tunes UR. Atualização em periodontia e implantodontia. São Paulo: Artes Médicas, 1999.
114. Urist MR, Strates ES. Bone formation in implants of partially and wholly desmineralized bone matrix. *Clin Orthop Rel Res*, 1970; 71: 271-78.
115. Vercik LCO, Assis CM, Lia Fook MV, Santos ML, Guastaldi AC. Recobrimento de apatitas “in vitro” sobre titânio – influência do tratamento térmico. *Ecl Quím*, 2003; 28(1): 25-31.
116. Verdonschot N, Van Hal CTH, Schreurs BW, Buma P, Huiskes R, Slooff TJJH. Time-dependent mechanical properties of HA/TCP particles in relation to morsellized

bone grafts for use in impaction grafting. J Biomed Mater Res App Biomater, 2001 June-Aug.; 58(5): 599-604.

117. Victor JO, Pinto RS, Okamoto T, Castro AL. Implante de gesso de Paris em alvéolos dentais: estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Araçatuba, 1975; 4(1): 71-5.

118. Walsh WR, Morberg P, Yang JL, Haggard W, Sheath PC, Svehla M et al. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. Clin Orthop Rel Res, 2003 Jan; 406: 228-36.

119. Wang H. Hydroxyapatite degradation and biocompatibility [dissertação]. The Ohio State University; 2004.

120. White E, Shors EC. Biomaterial aspects of Interpore-200 porous hydroxyapatite. Dent Clin N Amer, 1986 Jan.; 36(1): 49-67.

121. Xavier AP, Schellini SA, Aragon FF, Padovani CR, Taga EM. Short-term evaluation of non-absorbable microgranular hydroxyapatite infiltration in the guinea pig subepidermal abdominal region. Braz J Med Biol Res, 2002; 35(1): 69-73.

122. Yamaguchi K, Hirano T, Yoshida G, Iwasaki K. Degradation-resistant character of synthetic hydroxyapatite blocks filled in bone defects. Biomaterials, 1995; 16: 983-5.

123. Yoshikawa G, Murashima Y, Wadachi R, Sawada N, Suda H. Guided bone regeneration (GBR) using membranes and calcium sulphate after apicetomy: a comparative histomorphometrical study. Int Endod J, 2002 March; 35(2): 255-63.

124. Yuan H, Kurashina K, De Bruijn JD, Li Y, De Groot K, Zhang X. A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. Biomaterials, 1999; 20: 1799-1806.

125. Yuan H, Zou P, Yang Z, Zhang X, De Bruijn JD, De Groot K. Bone morphogenetic protein and ceramic-induced osteogenesis. *J Mater Science Mater Med*, 1998; 9: 717-21.

A bstract

ABSTRACT

Analysis of the evolution of bone repair with utilization of calcium sulfate and hydroxyapatite. Microscopic study in tooth sockets of rats.

The evolution of bone repair was evaluated in tooth sockets of rats filled with blood clot as well as after placement of calcium sulfate dihydrate implant and hydroxyapatite BTCP GenPhos. The study sample was composed of 48 males rats divided into three groups, which were submitted to extraction of the right maxillary incisor. In group I, the sockets were filled with blood clot and were kept as such as control. Group II received a calcium sulfate dihydrate implant, and group III was submitted to placement of hydroxyapatite BTCP GenPhos in the sockets. At 7, 15 and 30 days after surgery, the animals were killed, the right hemimaxillae were removed and histologically processed for descriptive and quantitative microscopic analysis, whose results were statistically analyzed by the Kruskal-Wallis and Dunn tests. It was concluded that the alveolar repair process at 7, 15 and 30 days was similar for sockets filled with blood clot, calcium sulfate dihydrate and hydroxyapatite BTCP GenPhos, with emphasis to the significant difference with regard to new bone formation at 15 days between the control and hydroxyapatite BTCP GenPhos groups; and, at 30 days, the evolution of new bone formation was similar for all study groups.

Key words: Tooth socket. Calcium sulfate. Bone substitutes.

A pëndices

A pêndices

APÊNDICE A - Carta de aceite do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. N° 22/2005

Bauru, 17 de novembro de 2005.

Senhor Professor,

Informamos que esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, apreciou o projeto de pesquisa **“Avaliação do processo evolutivo de reparo frente ao sulfato de cálcio. Estudo histomorfológico e hismorfométrico em alvéolos dentários de ratos”** de autoria de Patrícia Zanatta Aranha Coneglian, emitindo **parecer favorável** *“ad referendum”* à realização do trabalho tendo em vista não haver infrações éticas.

Sendo o que nos apresenta para o momento, despedimo-nos

Atenciosamente,

Prof. Dr. Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Ilmº Sr. Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

APÊNDICE B - Carta de aceite do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. N° 22/2005

Bauru, 1 de novembro de 2006.

Senhor Professor,

Em atenção a solicitação de Vossa Senhoria para alteração do título do trabalho de pesquisa "Avaliação do processo evolutivo de reparo frente ao sulfato de cálcio. Estudo histomorfológico e histomorfométrico em alvéolos dentários de ratos" de autoria de Patrícia Zanatta Aranha Coneglian, sob sua orientação, para "Avaliação do processo evolutivo de reparo frente ao sulfato de cálcio e à hidroxiapatita. Estudo microscópico em alvéolos dentários de ratos" esta Comissão emitiu **parecer favorável**, "ad referendum", nesta data, considerando não haver infrações éticas.

Atenciosamente,

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia
Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários