The background of the page is a histological micrograph showing a cross-section of bone tissue. It features a central, large, pale, irregularly shaped area, likely a marrow space or a large osteon, surrounded by a dense network of pink-stained bone matrix and purple-stained cellular components. The overall texture is granular and complex, typical of histological sections.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ROBERTA DIAS GARCIA

***Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao
implante de osso bovino inorgânico e de hidroxiapatita BTCP.
Análise microscópica em alvéolos dentários de ratos.***

BAURU
2007

ROBERTA DIAS GARCIA

***Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao implante
de osso bovino inorgânico e de hidroxiapatita BTCP. Análise
microscópica em alvéolos dentários de ratos.***

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

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante

BAURU

2007

G 165 e Garcia, Roberta Dias

Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao implante de osso bovino inorgânico e de hidroxiapatita BTCP. Análise microscópica em alvéolos dentários de ratos. - - Bauru, 2007.

186p.: il; 30cm.

Dissertação. (Mestrado) - - Faculdade de Odontologia de Bauru. USP.

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante

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

Bauru, 10 de julho de 2007.

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo na reunião do dia 30 de maio de 2006 (CEEPA-Proc. N° 29/2005).

ROBERTA DIAS GARCIA

04 de março de 1978	Nascimento
Bauru, SP	
Roberto Brandão Garcia	Filiação
Mary Stella Araújo Dias Garcia	
1997 - 2002	Curso de graduação em Odontologia na Universidade do Sagrado Coração – USC, Bauru.
2005 - 2007	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de Endodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Bauru – USP.
Associações	CRO – Conselho Regional de Odontologia de São Paulo – CRO-SP; Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas - APCD

DEDICATÓRIA

A DEUS

Infinitamente bom, agradeço pela sabedoria e segurança que Tu me deste desde o princípio com lutas e sacrifícios doados aos estudos. Foste Tu que me corrigiu que me deu força e coragem para enfrentar dúvidas, medos e incertezas. Foi Tu, Pai Querido que estivesse ao meu lado, segurando minhas mãos, permitindo que não caísse, aprendendo com meus próprios erros. Pai é de profundo agradecimento a Ti que me acolheu e abençoou para estar aqui, para começar uma nova etapa de minha vida.

Aos meus pais *Roberto e Mary Stella:*

A quem me ensinaram a viver intensamente com seriedade, caráter, respeito e perseverança, através de seus exemplos de vida.

Pelo amor e carinho dispensados durante toda minha vida, pelo exemplo de amor, de humildade, de luta e incentivadores constantes.

Pelo apoio sempre presente em todos os momentos de minha vida, não permitindo que eu fraquejasse frente aos desafios da vida, e que são os responsáveis por eu ter chegado até aqui.

Ao meu querido filho *Alexandre:*

Que soube ser mais que um filho, um incentivador, principalmente nas horas de aflição, dificuldades e conquistas.

Companheiro incansável durante toda minha jornada.

Por compreender minha ausência em algumas ocasiões.

Aos meus irmãos *Alexandre (in memorian), Gilberto, Leandra* e minha sobrinha *Mariana:*

Pelo amor, amizade e apoio sempre presente na realização deste trabalho tornando esta etapa de minha vida mais tranquila.

Ao meu noivo, amigo e companheiro *Guilherme*:

Pelo amor e carinho a mim dedicados, não medindo esforços para incentivar-me e fazendo dos meus problemas, os seus.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, *Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante*, pelo apoio, compreensão e confiança necessária para realização deste trabalho.

Aos professores Doutores da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru, *Clóvis Monteiro Bramante, Ivaldo Gomes de Moraes, Norbertí Bernardinelli e Roberto Brandão García*, pelos preciosos ensinamentos, convivência, atenção e amizade, contribuindo para meu aprimoramento profissional e pessoal. Vocês são exemplos de amor à Endodontia.

A toda minha família *país, irmãos, noivo, tios, primos e sobrinha* pela importância que representam na minha vida. Divido com vocês a alegria deste momento.

Aos colegas do mestrado, *Bruno, Carla, Clarice, Márcia, Fernando, Patrícia, Ramiro e Ronan*, pela convivência e amizade durante esses dois anos de curso.

As amigas *Patrícia e Adriana*, pela amizade, colaboração nas cirurgias, disponibilidade constante e pela troca de experiências.

Ao amigo *Fernando*, pela indispensável ajuda, paciência e amizade.

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, *Edímauro, Neíde, Sueli e Patrícia*, pela ajuda prestativa dispensada, disponibilidade e atenção em todos os momentos.

Aos funcionários do Biotério, *Luíz Carlos e Erasmo*, pelo dedicado profissionalismo, constante ajuda e carinho dispensado com os animais deste experimento.

A Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, especialmente a *Danièle*, bióloga e técnica do laboratório da Disciplina de Histologia pela competência e paciência nos ensinamentos na inclusão das peças, cortes e coloração.

A Disciplina Saúde Coletiva da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, especialmente ao *Prof. José Roberto Pereira Laurís*, pela competência, dedicação e cordialidade demonstrada, para a realização da análise estatística.

Aos professores da Disciplina de Cirurgia, *Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior* e *Prof. Dr. Eduardo Sant'ana*, pelo empréstimo dos instrumentais utilizados para a realização das extrações dentais nos animais.

Aos funcionários da biblioteca dessa Universidade, em especial à *Cybele, Rita, Valéria, Vera, Ademir, Ana Paula, César* e *Allan*.

A empresa *BAUMER SA*, pelo apoio, cedendo gentilmente os materiais utilizados para a pesquisa.

A todos aqueles que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

A direção da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor, *Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro*, pelas condições oferecidas para o desenvolvimento deste trabalho.

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

A *CNPq*, pelo apoio integral a esta pesquisa com seu auxílio financeiro que possibilitou a realização deste curso de Mestrado.

RESUMO

Este trabalho avaliou, comparativamente, os fenômenos evolutivos do processo de reparo em alvéolos de ratos preenchidos, após a extração dental, com biomateriais como o osso medular bovino inorgânico, microgranular (0,25-1,00mm) e a hidroxiapatita β TCP densa, sintética, microgranular (0,25-1,00mm), na proporção de 70% de HA e 30% de β TCP. Foram utilizados 48 ratos divididos em 3 grupos, sendo: 12 ratos, grupo I (controle), cujo coágulo sanguíneo serviu de controle; 18 ratos, grupo II (experimental), que receberam o implante de microgrânulos de osso bovino inorgânico e 18 ratos, grupo III (experimental), com implante de microgrânulos de hidroxiapatita, seguido da sutura. Após 7, 15 e 30 dias pós-cirúrgico, os animais foram mortos, e a hemimaxila direita, contendo o alvéolo dentário em estudo, foi removida. As peças foram desmineralizadas em EDTA, processadas e incluídas em parafina. Foram obtidos cortes de 6 μ m de espessura, os quais foram corados com hematoxilina e eosina. Foram feitas análises microscópica descritiva e quantitativa, a qual teve como parâmetros os critérios: infiltrado inflamatório, densidade fibroblástica, densidade angioblástica e neoformação óssea. Os resultados, submetidos aos testes estatístico de Kruskal-Wallis e de Dunn, demonstraram que a HA- β TCP e o osso medular bovino inorgânico desempenharam, igualmente, as funções osteopreenhedora e osteocondutora no processo de reparo alveolar, nos períodos de 7, 15 e 30 dias.

Palavras chaves: reparo ósseo. Hidroxiapatita. osso bovino inorgânico.

ABSTRACT

Study of the evolution process of bone repair in face of the implant of inorganic bovine bone and of β TCP hydroxyapatite. Microscopic analysis in rat dental alveoli

This study comparatively evaluated the evolution phenomena of the process of repairs in rat filled alveoli after dental extraction, with biomaterials such as microgranular (2,25-1,00mm) inorganic bovine medullar bone, and dense microgranular (0,25-1,00mm) synthetic β TCP hydroxyapatite, at the rate of 70% of HA and 30% of β TCP. Forty-eight rats were divided in 3 groups: 12 rats in group I (control), whose blood clot served as control; 18 rats in group II (experimental) that received the microgranular inorganic bovine bone implant and 18 rats in group III (experimental) with microgranular implant of hydroxyapatite followed by suture. Animals were killed 7, 15, and 30 days after surgery and the right hemimaxilla containing the dental alveolus in study was removed. The pieces were demineralized in EDTA, processed and inserted in paraffin. Slots of 6 μ m of width were obtained and dyed with hematoxylin and eosin. Descriptive and quantitative microscopic analyses were done based on the following criteria: inflammatory infiltration, fibroblastic density, angioblastic density and bone neo-formation. Results were submitted to Kruskal-Wallis and Dunn statistic tests and demonstrated that HA- β TCP and the inorganic bovine medullar bone present similar performance in terms of bonefilling and osteoconduction functions in the process of alveolar repair in the time spans of 7, 15, and 30 days.

Key words: bone repair. hydroxyapatite. inorganic bovine bone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Microgrânulos de osso bovino medular inorgânico (GEN-Ox-Genius®-BAUMER S. A.).....	77
Figura 2 -	Hidroxiapatita HA/ β TCP (GEN-phos – Genius® – BAUMER S.A.).....	77
Figura 3 -	Anasedan (relaxante muscular e analgésico) e Dopalen (anestésico) - Vertbrans.....	77
Figura 4 -	Antibiótico Pencivet® Plus-Superforte – Antibiótico polivalente associado a um antiinflamatório.....	77
Figura 5 -	Anestesia na face posterior da coxa.....	81
Figura 6 -	Porção anterior da maxila após a aplicação da solução antisséptica.....	81
Figura 7 -	Sindesmotomia.....	81
Figura 8 -	Extração do incisivo superior direito.....	83
Figura 9 -	Instrumentais.....	83
Figura 10 -	Microgrânulos de osso bovino inorgânico com soro fisiológico.....	85
Figura 11 -	Microgrânulos de HA- β TCP com soro fisiológico.....	85
Figura 12 -	Mini porta-amálgama (Trocart).....	85
Figura 13 -	Inserção das partículas no interior do alvéolo com o trocart (mini-porta-amálgama).....	87
Figura 14 -	Condensação do material implantado.....	87
Figura 15 -	Cone de guta percha calibrado e pré-encurvado.....	87
Figura 16 -	Sutura das margens gengivais.....	87
Figura 17 -	Desgaste da borda incisal do incisivo antagonista.....	89
Figura 18 -	Ângulo da boca cortados, separando a maxila da mandíbula.....	89
Figura 19 -	Separação das hemimaxilas.....	91
Figura 20 -	Corte tangenciando a face distal do molar da hemimaxila direita.....	91
Figura 21 -	Hemimaxila direita.....	91

Figura 22 -	Controle 7 dias (grupo I) – Focos de coágulo sanguíneo no terço cervical até terço médio.....	103
Figura 23 -	Controle 7 dias (grupo I) – Tecido de granulação, processo em organização e coágulo sanguíneo.....	103
Figura 24 -	Osso bovino inorgânico (grupo II) – 7 dias. Imagens das partículas desmineralizadas.....	107
Figura 25 -	Osso bovino inorgânico (grupo II) – 7 dias. Tecido de granulação envolvendo partículas.....	107
Figura 26 -	Hidroxiapatita (grupo III) – 7 dias. Trabéculas de tecido ósseo neo-formado de permeio às partículas de HA.....	111
Figura 27-	Controle 15 dias (grupo I) – Trabéculas de tecido ósseo neo-formado, tecido de granulação organizado, vasos sanguíneos e cortical óssea.....	115
Figura 28 -	Osso bovino inorgânico -15 dias (grupo II). Partículas implantadas envolvidas por tecido de granulação organizado e células gigantes.....	119
Figura 29 -	Osso bovino inorgânico – 15 dias (grupo II). Trabéculas de tecido ósseo neo-formado, envolvendo as partículas..	119
Figura 30 -	Hidroxiapatita- 15 dias (grupo III). Neo-formação óssea e tecido de granulação envolvendo as partículas de HA.....	123
Figura 31 -	Controle – 30 dias (grupo I)– Aspecto geral do terço cervical e médio do alvéolo preenchido por osso neo-formado.....	127
Figura 32 -	Controle – 30 dias (grupo I). Aspecto geral do terço médio e apical do alvéolo preenchido por osso neo formado.....	127
Figura 33 -	Controle – 30 dias (grupo I). Tecido ósseo neo-formado, tecido de granulação em organização com intensa vascularização e cortical óssea.....	129
Figura 34 -	Osso bovino inorgânico – 30 dias (grupo II) – Neo-formação óssea exuberante.....	133

Figura 35 -	Osso bovino inorgânico – 30 dias (grupo II) – Osso neo-formado envolvendo as imagens das partículas de osso implantadas e células gigantes.....	133
Figura 36 -	Hidroxiapatita – 30 dias (grupo III). Neo-formação óssea envolvendo as partículas de HA.....	137
Figura 37 -	Gráfico das médias dos escores representativos da intensidade do infiltrado inflamatório nos períodos e grupos estudados.....	141
Figura 38 -	Gráfico das médias dos escores representativos da densidade de fibroblastos nos períodos e grupos estudados.....	143
Figura 39 -	Gráfico das médias dos escores representativos da densidade angioblástica nos períodos e grupos estudados.....	145
Figura 40 -	Gráfico das médias dos escores representativos da intensidade da neo-formação óssea nos períodos e grupos estudados.....	147

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Materiais experimentais, grupos, períodos pós-operatórios e número de animais.....	80
Tabela 2 -	Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos grupos experimentais e controle.....	94
Tabela 3 -	Tabela para distribuição dos escores atribuídos aos espécimes dos grupos controle e experimental de acordo com os critérios estabelecidos.....	97
Tabela 4 -	Grupo I (controle) - 7 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	102
Tabela 5 -	Grupo II (osso bovino inorgânico) - 7 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	106
Tabela 6 -	Grupo III (hidroxiapatita) – 7 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	110
Tabela 7 -	Grupo I (controle) - 15 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	114
Tabela 8 -	Grupo II (osso bovino inorgânico) - 15 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	118
Tabela 9 -	Grupo III (hidroxiapatita) - 15 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	122
Tabela 10 -	Grupo I (controle) - 30 dias - Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados.....	126
Tabela 11 -	Grupo II (osso bovino inorgânico) - 30 dias - Distribuição dos fenômenos encontrados nos espécimes examinados.....	132

Tabela 12 -	Grupo III (hidroxiapatita) - 30 dias - Distribuição dos fenômenos encontrados nos espécimes examinados.....	136
Tabela 13 -	Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados. Período de 7 dias.....	140
Tabela 14 -	Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados. Período de 15 dias.....	140
Tabela 15 -	Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados. Período de 30 dias.....	140
Tabela 16 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade dos fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 7 dias.....	142
Tabela 17 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 15 dias.....	142
Tabela 18 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 30 dias.....	143
Tabela 19 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados. Período de 7 dias.....	144
Tabela 20 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados. Período de 15 dias.....	144
Tabela 21 -	Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados. Período de 30 dias.....	145
Tabela 22 -	Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados. Período de 7 dias.....	146

Tabela 23 -	Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados. Período de 15 dias.....	146
Tabela 24 -	Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados. Período de 30 dias.....	147
Tabela 25 -	Comparação entre os grupos (I, II e III), nos períodos de 7, 15 e 30 dias, para cada um dos critérios da análise quantitativa (Teste de Kruskal-Wallis).....	148
Tabela 26 -	Teste de Dunn. Infiltrado inflamatório (7 dias) - Comparação entre os três grupos individualmente.....	149
Tabela 27 -	Teste de Dunn. Densidade angioblástica (7 dias) - Comparação entre os três grupos individualmente.....	149
Tabela 28 -	Teste de Dunn. Neo-formação óssea (15 dias) - Comparação entre os três grupos individualmente.....	150
Tabela 29 -	Comparação entre os três períodos de experimentação (7, 15 e 30 dias), nos grupos I, II e III, para cada um dos critérios da análise quantitativa (Teste de Kruskal-Wallis)..	150
Tabela 30 -	Grupo I - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica.....	151
Tabela 31 -	Grupo I - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade angioblástica.....	151
Tabela 32 -	Grupo I - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto á neo-formação óssea.....	151
Tabela 33 -	Grupo II - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto ao infiltrado inflamatório.....	152
Tabela 34 -	Grupo II - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica.....	152

Tabela 35 -	Grupo II - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à neo-formação óssea.....	152
Tabela 36 -	Grupo III - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto ao infiltrado inflamatório.....	153
Tabela 37 -	Grupo III - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica.....	153
Tabela 38 -	Grupo III - Teste de Dunn. Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à neo-formação óssea.....	154

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BMP – bone morphogenetic protein (proteína morfogenética óssea)

BMPb – bone morphogenetic bovine protein (proteína morfogenéticas óssea bovina)

β TCP – fosfato beta tricálcio

DBM – demineralized bone matrix (matriz óssea desmineralizada)

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

HA – hidroxiapatita

HCL – ácido clorídrico

HE – hematoxilina e eosina

Kg - Kilograma

μ m - micrometros

Ltda - Limitada

mg - miligramas

mm - milímetros

n° - número

% - por cento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	37
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	45
2.1 PROCESSO DE REPARO ALVEOLAR.....	47
2.2 ENXERTOS.....	51
3 PROPOSIÇÃO.....	69
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	73
4.1 MATERIAIS.....	75
4.2 MÉTODOS.....	79
5 RESULTADOS.....	99
5.1 ANÁLISE DESCRITIVA.....	101
5.2 ANÁLISE QUANTITATIVA.....	139
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	148
6 DISCUSSÃO.....	155
6.1 DA METODOLOGIA.....	157
6.2 DOS RESULTADOS.....	161
7 CONCLUSÕES.....	167
REFERÊNCIAS.....	171
ANEXOS.....	183

1 INTRODUÇÃO

Nas cirurgias parendodônticas a implantação de bio-materiais é freqüentemente utilizada para facilitar ou induzir o processo de reparo ósseo. Essa conduta cirúrgica vem desde 1923, proposta por Hedeus, quando foi utilizado osso do processo alveolar e depois osso da tíbia para reconstruir os defeitos provocados pela doença periodontal (GOLDMANN²⁸, 1980). Tais enxertos eram autógenos, e com o decorrer do tempo surgiram os alógenos, xenógenos e aloplásticos que eram obtidos com mais facilidade e na quantidade desejada.

Nos autógenos, remove-se o tecido ósseo de uma área doadora do próprio paciente (crista ilíaca, mento, etc.) para implantá-lo na área receptora. Esse procedimento implica na realização de duas intervenções cirúrgicas, uma na área doadora e outra na receptora, e também muitas vezes não pode ser obtido em quantidade suficiente. Esses enxertos são os que melhor preenchem os requisitos biológicos, como biocompatibilidade, não carcinogênico, reabsorvível, osteogênico, osteoindutor ou osteocondutor; além de apresentar baixo custo (LASCALA e MOUSSALI⁴⁰, 1989; MACNEILL et al.⁴⁴, 1999 e MELLONIG⁵⁰, 2000). Nas últimas décadas eles têm sido utilizados constantemente, porém em várias situações a quantidade de osso requerida é insuficiente (SERVICE⁷⁰, 2000). Desse modo com a finalidade de superar tais limitações vários pesquisadores, em todo o mundo, têm buscado materiais alternativos para substituição do enxerto autógeno.

Os enxertos ósseos de origem não autógena devem ser esterilizáveis, não tóxicos, não indutores de resposta imunopatológica e, disponíveis em quantidades suficientes. Adicionalmente, esses materiais devem funcionar como uma barreira mecânica, bloqueando a invaginação de tecido fibroso ou de tecido epitelial para dentro do defeito ósseo (AABOE; PINHOLT; HJTING-HANSEN¹, 1995). Tais enxertos são constituídos pelos aloenxertos, xenoenxertos e materiais aloplásticos.

Os aloenxertos ou enxertos alógenos, provenientes de outros indivíduos, porém da mesma espécie, com genótipos diferentes, são obtidos de um banco de ossos. Todavia, além das dificuldades para conseguir tecidos bem preservados e dos custos da manutenção de um banco de tecidos, tem-se ainda o risco da transmissão de doenças infecto contagiosas (DAMIEN²¹, 1995). Os xenoenxertos ou

enxertos xenógenos ou heterógenos, são oriundos de doador de uma espécie diferente do receptor. É o caso do osso liofilizado de origem bovina, que passa por um processo de preparo para a eliminação de determinantes antigênicos, procurando manter sua biocompatibilidade (WEINFELD et al.⁷⁹, 1999). Os enxertos aloplásticos são representados por materiais sintéticos ou naturais, biocompatíveis, destacando-se a hidroxiapatita, polímeros, sulfato de cálcio e biovidro que podem ser oferecidos em forma de blocos, partículas ou pó e membranas (LINDLHEN⁴³, 2000).

Os materiais para enxertos são classificados, também, quanto à função em osteogênicos, osteoindutores e osteocondutores. Os osteogênicos referem-se aos materiais orgânicos capazes de formar osso diretamente a partir de osteoblastos (MARX; SAUNDERS⁴⁷, 1986). Os osteoindutores são aqueles capazes de induzir a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos, proporcionando a formação óssea no local (URIST⁷⁶, 1965; URIST⁷⁷, 1970), ou, ainda, conforme Albrektsson; Johansson² (2001) é o processo pelo qual a osteogênese é induzida pelo recrutamento de células imaturas e estas estimuladas a desenvolverem-se em pré-osteoblastos. Já os materiais osteocondutores funcionam como arcabouço e requerem a presença de tecido ósseo pré-existente como fonte de células osteoprogenitoras, o que permite a aposição de um novo tecido ósseo na sua superfície (MASTERS⁴⁸, 1988).

Gross³³ (1997), relata que a origem dos materiais de enxerto, normalmente, determina o mecanismo pela qual atuam. Osso autógeno usa a osteogênese, osteoindução e osteocondução, na formação de novo osso. O osso alógeno, cortical ou trabecular “in natura”, é osteoindutor e osteocondutor, mas não é osteogênico. O osso xenógeno, não é osteogênico, funciona como osteocondutor. Os enxertos aloplásticos, são somente osteocondutores.

Na atualidade, os enxertos de origem orgânica (autógenos, alógenos e xenógenos) e os de origem sintética ou natural (aloplásticos) compreendem os biomateriais osteogênicos, osteoindutores e osteocondutores. São biomateriais biologicamente ativos. Os biomateriais osteocondutivos são aqueles que preenchem a cavidade óssea, orientando o tecido ósseo na sua formação, podendo ser englobado pelo tecido ósseo neo-formado, passando a fazer parte do novo tecido. São biologicamente inertes, servindo apenas como material de preenchimento (TAGA⁷⁴, 1996).

As biocerâmicas são classificadas como bioinertes e bioativas. Os biomateriais inertes são classificados como aqueles em que não há interação química nem biológica com os tecidos, ou seja, não resulta na rejeição pelo hospedeiro, formando uma cápsula fibrosa ao redor do material (ex: alumina, zirconia), já os bioativos são aqueles que ocorrem uma forte ligação na interface osso-implante (ex: biovidros, hidroxiapatita e fosfato tricálcio) (KAWACHI et al.³⁸ 2000).

Os materiais de enxertos, derivados do Ca/P constituem os biomateriais que são substâncias ou combinação destas de origem orgânica ou sintética, capazes de melhorar, aumentar ou substituir total ou parcialmente tecidos ou órgãos que sofreram alterações, ajudando na engenharia tecidual (LEGEROS⁴², em 2002). Assim o biomaterial se caracteriza pela biocompatibilidade, sem causar nenhum efeito secundário nocivo ao organismo (WILLIAMS⁸⁰, 1999). Além de atuar na formação óssea por osteoindução ou osteocondução, pode atuar, também, por osteopromoção (DAHLIN²⁰, 1996). A osteopromoção é o processo que utiliza um meio físico ou uma barreira física de biomaterial, em forma de membrana, para recobrir o defeito, o que impede a invaginação de tecido epitelial ou tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo, interferindo na evolução do reparo.

O sulfato de cálcio é o mais antigo dos biomateriais osteocondutivos sendo o principal componente do gesso paris (TAGA⁷⁴, 1996). E tem demonstrado segurança e efetividade em procedimentos cirúrgicos, como para a preservação da crista alveolar, reparo de defeitos periodontais, como barreira em cirurgias paraendodônticas, auxiliar na implantodontia (GOLDMAN et al.²⁹, 2000, CHOGLE; MICKEL¹⁴, 2003). Atualmente, Maeda⁴⁵ (2005), demonstrou, em fêmures de coelhos, e Coneglian¹⁶ (2007), em alvéolos dentais de rato, que o sulfato de cálcio não interfere na neo-formação óssea, tem baixo custo, é biocompatível, libera íons cálcio, mas devido à sua rápida absorção não forma arcabouço para o processo de osteocondução. Desse modo, atua como osteopromotor (PECORA et al.⁶¹, 1997).

O surgimento de novos biomateriais, como o osso bovino que se comporta como osteocondutor, osteopromotor e carreador de fatores de indução óssea, representam o futuro da reconstrução dos defeitos ósseos. O osso bovino é apresentado como de origem cortical ou medular, na forma de blocos, macro ou microgrânulos, podendo ser desproteinizado ou desmineralizado. Além disso, esse

tipo de biomaterial pode proporcionar ao hospedeiro, um alto conteúdo de cálcio e fósforo, elementos essenciais para a neo-formação do tecido ósseo (DAMIEN et al.²¹, 1995, SCIADINI et al.⁶⁹, 1997).

O processamento do osso bovino pode resultar em dois tipos distintos de material: o orgânico e o inorgânico. O inorgânico ou desproteínizado é livre de proteínas e células, e está caracterizado pelo elevado conteúdo de hidroxiapatita (WEINFELD et al.⁷⁹, 1999). A desproteínização é obtida através de tratamento térmico a temperaturas superiores a 300°C, mas, quanto mais alta a temperatura, menor a possibilidade de bioabsorção do material. O osso bovino orgânico, adequadamente processado e desmineralizado, proporciona um material constituído principalmente de colágeno bovino tipo I. Possui ainda traços de fatores de crescimento que podem estimular a osteogênese (SANADA et al.⁶⁶, 2003).

Segundo Sicca et al.⁷¹ (2000), o tamanho dos grânulos de osso bovino é fator importante para o sucesso do reparo ósseo. Todavia, não há, ainda, uma definição clara do tamanho adequado dos grânulos ou partículas para determinado tipo de defeito ósseo. O osso bovino medular em bloco e o cortical, em microgrânulos, estudados por Betti⁵ (2004), atuaram nos primeiros estágios do reparo ósseo, funcionando como materiais osteopreenchedores ou osteopromotores, mantendo a arquitetura externa, isto é, evitando a invaginação do tecido conjuntivo superficial para o interior da cavidade óssea. Carneiro et al.¹⁰ (2005), trabalhando com partículas de osso medular bovino desmineralizado, em fêmures de coelhos, verificou que o tamanho das partículas não influenciou a evolução do processo de reparo ósseo e atuaram como substância osteopreenchedora.

Outro biomaterial muito utilizado nas cirurgias ósseas é a hidroxiapatita (HA) e desde a década de 60 a sua biocompatibilidade tem sido estudada (DENISSEN e DE GROOT²³, 1979). Pertence aos biomateriais derivados do composto CaP (fosfato de cálcio), e podem, divergir na origem (natural ou sintético), na composição (hidroxiapatita, fosfato beta tricálcio (β -TCP) e fosfato de cálcio-bifásico), na forma física em partículas, blocos e cimento (LEGEROS⁴², 2002) e na forma de pasta (LASCHKE⁴¹, 2007). Possuem, ainda, propriedades excelentes, como: similaridade na composição do osso mineral, bioatividade e osteocondutividade (BUCHOLZ⁹, 2002, GOSAIN et al.³⁰, 2002, GOSAIN; SONG; RIORDAN³¹, 2004, GOSAIN et al.³², 2005).

A hidroxiapatita tem sido utilizada para o aumento (FRAME; ROUT; BROWNE²⁷, 1987) e manutenção de rebordo alveolar (DENISSEN e DE GROOT²³, 1979, BONACHELA et al.⁶, 1992), entretanto, vários estudos indicam a aplicação em defeitos ósseos (WEINFELD et al.⁷⁹, 1999, RUMPEL et al.⁶², 2006, MUNRO et al.⁵⁴, 2007, LASCHKE et al.⁴¹, 2007). Ressalta-se que a literatura relata a aplicação de HA sob diferentes formas, como blocos densos ou porosos e partículas densas ou porosas em diferentes granulações e ainda associada a diversos materiais, como o fosfato β -tricálcio (NERY et al.⁵⁶, 1992, GOSAIN et al.³⁰, 2002, GOSAIN; SONG; RIORDAN³¹, 2004, GOSAIN et al.³², 2005), sulfato de cálcio, (NARY FILHO e OKAMOTO⁵⁵, 1996), proteínas ósseo morfogenéticas (BRANDÃO et al.⁷, 2002) e ainda ao osso autógeno (MOORE; GRAVES; BAIN⁵³, 2001).

A hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é o constituinte mineral do osso natural e representa de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes (MAVROPOULOS⁴⁹, 1999). A apresentação sintética possui propriedades de biocompatibilidade, de osteocondução e osteointegração, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses.

Trata-se de um dos mais importantes substitutos ósseos aloplásticos, à base do fosfato de cálcio, e, em geral, na formulação de hidroxiapatita e fosfato β -tricálcio. Estudos recentes têm demonstrado que as partículas de hidroxiapatita não provocam uma resposta inflamatória e que elas proporcionam um andaime para o crescimento de um novo osso (NERY et al.⁵⁶, 1992).

Esses biomateriais, constituídos por hidroxiapatita e fosfato tricálcio, constituem as cerâmicas (LE GEROS⁴², 2002), apresentadas na forma de partículas, de tamanho variável, podendo ser porosas ou densas (HIGASHI e OKAMOTO³⁶, 1996, NERY et al.⁵⁶, 1992). O comportamento do tecido receptor, frente a esses materiais, é altamente dependente de sua porosidade, tamanho das partículas (CONZ¹⁷, 2003, HIGASHI e OKAMOTO³⁶, 1996), bem como das suas características de composição, como a quantidade de hidroxiapatita e de fosfato β -tricálcio associados (GOSAIN et al.³⁰, 2002, GOSAIN; SONG; RIORDAN³¹, 2004, GOSAIN et al.³², 2005).

As cerâmicas de HA- β TCP têm sido relatadas como um material biocompatível, osteocondutivo e osteoindutivo⁴⁶, e a combinação de HA e β TCP no implante cerâmico é essencial no processo de reparo³⁸, é biocompatível³⁰, e a maior

concentração de β TCP aumenta a presença de macroporos, atingindo a neoformação óssea³¹.

O uso de biomateriais na clínica odontológica vem assumindo uma importância cada vez maior em decorrência dos resultados obtidos, das facilidades de aplicação e de obtenção que os mesmos oferecem.

Atualmente encontra-se à disposição do profissional, diversos biomateriais, como o osso bovino cortical ou medular, na forma de blocos ou grânulos, desproteinizado ou desmineralizado, bem como a hidroxiapatita, como cerâmica, na forma de grânulos porosos ou densos. Desse modo, é pertinente a avaliação comparativa de dois biomateriais, um xenoenxerto oriundo de osso medular bovino desproteinizado (Gen-Ox inorgânico), na forma de microgrânulos, com um enxerto aloplástico, uma cerâmica de hidroxiapatita densa HA-BTCP, (GENphos), também na forma de microgrânulos, produzida recentemente na proporção de 30% de fosfato β -tricálcio (β TCP) e 70% de hidroxiapatita.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. PROCESSO DE REPARO ALVEOLAR

O processo de reparo após extrações dentais, em ratos, foi estudado, durante 21 dias, por OKAMOTO; RUSSO⁵⁷, 1973, os resultados obtidos demonstraram que o processo de reparo em feridas de extração dental se processa em algumas fases bem distintas: 1) formação de coágulo e proliferação das células do tecido conjuntivo; 2) formação do tecido conjuntivo de reparação; 3) período de ossificação.

CATANZARO GUIMARÃES¹³, 1982, descreveu que todo processo de reparo é antecedido por uma reação inflamatória, mesmo que incipiente. O processo de reparo, especificamente, nas feridas de extração dental, compõe-se de duas fases: regeneração óssea intra-alveolar e regeneração epitelial. A regeneração óssea intra-alveolar é subdividida em: formação e organização do coágulo sanguíneo, onde nota-se em sua superfície acúmulo de granulócitos neutrófilos, e em menor proporção, linfócitos e monócitos. Os vasos sanguíneos do ligamento periodontal remanescente apresentam-se hiperêmicos, de onde se origina a população de neutrófilos que circunda o coágulo. Nesta fase os macrófagos começam a ser observados. Em seguida há o processo de organização com formação de tecido de granulação. No homem é possível observar uma organização incipiente já no terceiro dia após a exodontia, sendo que no nono dia o coágulo encontra-se substituído pelo tecido de granulação. Todo esse processo é de modo centrípeta, ou seja, da periferia para o centro do coágulo. Inicialmente o tecido de granulação é rico em alças vasculares, fibroblastos e células inflamatórias. A origem dos fibroblastos e das células endoteliais parece estar na dependência das células mesenquimais indiferenciadas e dos pequenos vasos capilares do ligamento periodontal. Em seguida ocorre a maturação do tecido de granulação, nesta fase há um predomínio da fase fibroblástica, embora ainda persista alguns focos de coágulo sanguíneo. A última fase se caracteriza pela neo-formação e remodelação óssea, que é representada por um tecido fibroso denso rico em células osteoblásticas, que evolui para uma estrutura trabecular óssea imatura. No homem a primeira evidência da neo-formação óssea surge por volta do décimo dia, e no rato se dá entre o quarto e o quinto dia. A regeneração epitelial tem início quando o coágulo se organiza, o

epitélio prolifera nas margens da ferida e avança em direção central a fim de restaurar a continuidade epitelial da superfície do rebordo alveolar.

O estudo de reparo em alvéolos de ratos após, implantes, vem sendo estudado há muito tempo. SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO⁶³ em 1975 avaliaram histologicamente o processo de reparo em alvéolos de ratos após o implante de esponja de gelatina, que tem como finalidade a hemostasia da ferida após a extração, e puderam concluir que a esponja de gelatina no interior do alvéolo de rato provoca um retardo na cronologia do processo de reparo alveolar, no entanto, o material pode ser empregado na cavidade bucal para procedimentos hemostáticos.

Outro material usado, também como hemostático é a “cera óssea”. SANCHES et al.⁶⁸, em 1976, analisou histologicamente o processo de reparo alveolar em 24 ratos albinos. Os incisivos superiores direito foram extraídos e, em seguida, foram implantados fragmentos de “cera óssea”. Os animais foram mortos após 1, 3, 6, 15 e 21 dias, e os resultados demonstraram que o material pode ser utilizado, apenas, em procedimentos hemostáticos de emergência, pois provoca reação inflamatória intensa e prolongada; tende ser expulso do alvéolo dental e retarda severamente o desenvolvimento do processo de reparo.

As considerações de CARVALHO; OKAMOTO¹¹, 1978 sobre estudos experimentais de implantes intra-alveolares destacam que o alvéolo dental apresenta peculiaridades próprias e que a presença de um implante intra-alveolar pode perturbar a organização do coágulo e irritar os restos do ligamento periodontal, que são fundamentais para o desenvolvimento do processo de reparo em feridas de extração dental.

Mais tarde, SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO⁶⁴ em 1979/1980 utilizaram fragmentos de um material aloplástico, (Prorplast), composto por Teflon e fibras de carbono no interior de alvéolos de ratos e verificaram histologicamente, que o material não provocou reação inflamatória, houve formação de tecido de conjuntivo, de trabéculas ósseas no interior dos poros do enxerto, um ligeiro retardo na cronologia do processo de reparo e incorporação do material pelo tecido ósseo alveolar.

GUGLIELMOTTI; CABRINI³⁴, em 1985, fizeram um estudo da seqüência do processo de reparo dos alvéolos de molares extraídos de 50 ratos Wistar, nos períodos de 0, 7, 14, 30 e 60 dias. Demonstraram que o volume ósseo alveolar total

e a densidade óssea, no terço apical, aumentaram de 0 a 60 dias. Histologicamente, a formação óssea máxima foi observada em 14 dias, sendo que aos 7 dias, delicadas trabéculas ósseas foram observadas no *fundus* e nas paredes vestibular e lingual do alvéolo. No topo das cristas vestibulares e linguais havia sinais de reabsorção, e o restante do alvéolo foi ocupado por tecido conjuntivo. Aos 14 dias, na maioria dos espécimes, quase todo o alvéolo estava preenchido com osso neo-formado. Aos 30 dias, um tecido ósseo jovem preencheu o alvéolo. Aos 60 dias, todo o alvéolo foi preenchido com tecido ósseo lamelar. Radiograficamente aos 60 dias, toda área foi ocupada por tecido radiopaco, tendo como parâmetro o osso alveolar adjacente. O aumento da crista lingual e vestibular foi muito baixo em 14 dias e, em seguida, teve aumento progressivo até 60 dias.

CARVALHO; OKAMOTO¹², em 1987, em uma revisão bibliográfica demonstraram a evolução do processo de reparo em feridas de extração dental em diversos animais e em humanos, e, discutiram a ação dos implantes aloplásticos intra-alveolares, em função das influências destes sobre o mesmo processo. A evolução do processo de reparo após uma exodontia compreende-se um conjunto de reações teciduais, onde o objetivo do organismo é preencher o alvéolo dental com tecido ósseo. Há quatro fases morfológicas nesse processo: 1) proliferação celular, inicia-se imediatamente após a extração dental; 2) desenvolvimento de tecido conjuntivo e maturação do mesmo (o tecido conjuntivo neo-formado exibe uma grande quantidade de fibroblastos e capilares neo-formados e a medida que aumenta a quantidade de fibras colágenas, diminui o número de células e vasos sanguíneos, caracterizando a maturação do tecido conjuntivo) e 3) diferenciação óssea ou mineralização, ocorre a partir das paredes do alvéolo e do *fundus* alveolar, os osteoblastos depositam matriz orgânica e com a calcificação desta forma-se a trabécula óssea, demonstrando, assim, que o processo de formação dos tecidos de granulação e ósseo é centrípeta, principalmente às expensas dos restos do ligamento periodontal. A reparação total do alvéolo é considerada quando este se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neo-formado e a crista alveolar remodelada. No rato ocorre por volta de 21 dias pós-exodontia, 48 dias no cão e 64 dias no homem, sendo que neste, a neo-formação óssea inicia-se por volta dos 7º dia pós-operatório. Na etapa final desse processo há um equilíbrio dinâmico

osteoclástico-osteoblástico, e conseqüentemente o novo osso se encontra em condições de suportar novos estímulos.

Neste mesmo ano, SAAD NETO; CALLESTINI; OKAMOTO⁶⁵ analisaram os materiais e substâncias empregadas no alvéolo dental em função de suas propriedades físicas. O emprego de esponjas é indicado com o objetivo de se obter uma hemostasia ou nos casos de comunicação buco-sinusal, que podem ocorrer no ato da exodontia. Já para uma irrigação alveolar é indicado o uso do soro fisiológico e as substâncias pastosas para o tratamento da alveolite.

OKAMOTO et al.⁵⁸, em 1994, avaliaram a interferência do coágulo sanguíneo na formação de tecido de granulação, após extração dental, em ratos. Para este experimento foram utilizados 60 ratos e divididos em dois grupos: Grupo I, imediatamente após a extração do incisivo superior foi realizada a sutura; Grupo II, 6 a 8 minutos após a exodontia o coágulo sanguíneo foi removido com irrigação de solução salina e absorvido com cones de papel, seguido da sutura. Seis animais de cada grupo foram sacrificados após 12 horas, 1, 4, 7 e 10 dias. No Grupo II houve um completo atraso no processo de reparo, entretanto um novo coágulo sanguíneo se formou mais tarde, mas de forma não organizada. Os autores concluíram que a qualidade, a constituição, a manutenção e a retração do coágulo são fatores de regulação na formação do tecido conjuntivo durante o processo de reparo alveolar, e com a remoção do mesmo resultou no completo atraso do processo de reparo, seguida da formação tardia de um novo coágulo não organizado.

KUMAR, ABBAS, FAUSTO³⁹ em 2005, descreveram que o objetivo do processo de reparação é restaurar o tecido ao seu estado original. Alguns tecidos podem ser completamente reconstituídos após a lesão, como o reparo ósseo. A reparação começa no início da inflamação, cujos fibroblastos e as células endoteliais começam a proliferação para formar o tecido de granulação. Os macrófagos são importantes constituintes celulares do tecido de granulação, atuam eliminando detritos extracelulares, fibrina e outros materiais estranhos e promovem a migração e proliferação de fibroblastos. À medida que a reparação continua, o número de células endoteliais e de fibroblastos diminui, promovendo a síntese de colágeno.

2.2. ENXERTOS

Osso desmineralizado, por diferentes ácidos, foi enxertado no músculo de camundongos, ratos, coelhos e em defeitos ósseos de coelhos, cães e humanos por URIST⁷⁶, em 1965. Os melhores resultados foram obtidos com o tecido ósseo descalcificado em 0.6N HCL, onde puderam demonstrar, no tecido muscular, a proliferação angioblástica e reabsorção rápida, enquanto nos defeitos ósseos ocorria a neo-formação óssea e proliferação de células progenitoras, caracterizando uma propriedade de osteoindução.

O implante de materiais aloplásticos, após determinadas intervenções cirúrgicas, tem sido estudado por inúmeros autores. SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO⁶⁷, em 1972, analisaram, histologicamente, o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos após o implante de osso anorgânico. Utilizaram 24 ratos machos brancos, os quais tiveram seus incisivos superiores direito extraídos e imediatamente foi implantado, no interior dos alvéolos, o osso anorgânico e suturado. Os períodos analisados foram de 24 horas, 3, 6, 9, 15 e 21 dias. A microscopia revelou que não há vantagem no emprego rotineiro de “osso anorgânico” para preenchimento dos alvéolos dentais ou lojas cirúrgicas, por que: 1) o material implantado não estimulou a osteogênese; 2) provocou reação inflamatória relativamente intensa e 3) retardou consideravelmente a cronologia do processo do reparo.

DENISSEN; DE GROOT²³, em 1979, fizeram uma revisão bibliográfica da análise do enxerto da hidroxiapatita preparada de três maneiras: 1) compressão e sinterização do pó de hidroxiapatita cálcio (CHA) (Merck Co, Darmstadt, West Germany); 2) preparação do pó de HA cálcio (CHA) por reação química e após a obtenção do precipitado é feita a compressão e sinterização na temperatura de 1.100°C e 3) pressão quente da mesma HA cálcio (CHA) na temperatura de 900°C. Implantaram em alvéolos de cães e humanos, após a extração dental, para preservação do tamanho da crista alveolar, possibilitando a ancoragem para um pilar para fixar dentaduras. Os resultados, em cães, após 3 meses, mostraram que CHA densa se aderiu fortemente ao alvéolo do cão, impossibilitando a remoção do implante, representando, assim, uma forte ligação entre a CHA e osso alveolar. Os estudos radiográficos exibiram uma adaptação do implante ao redor do osso e uma

ponte óssea formada sobre o mesmo. Os implantes de CHA, em humanos, foram bem tolerados e demonstrou um contato entre o osso e o implante, um ano após a implantação. Aparentemente, esses implantes funcionam como uma anquilose natural. Foram preservadas as cristas alveolares residuais em todos os pacientes. Isso demonstra bioestabilidade da hidroxiapatita, tanto para os animais como para os humanos. O processo de reparo ósseo, nos cães, ocorreu mais rápido, que no homem.

BONACHELA et al.⁶, em 1992, em um caso clínico, avaliaram clínica e radiograficamente a implantação de uma HA sintética microgranular (Biohidroxi – Inodon), após extração dental, para manutenção do rebordo alveolar em paciente de 65 anos de idade com comprometimento periodontal dos dentes inferiores, com destruição óssea extensa e exodontia indicada. A HA foi homogeneizada com o sangue do próprio paciente no interior dos alvéolos, seguida da sutura. Após 3 meses, a mucosa apresentava-se firme à palpação, com coloração normal e ausência de ulceração. Radiograficamente notou-se um aumento da radiopacidade na região apical dos alvéolos e também manutenção do nível ósseo original, caracterizando sucesso clínico e radiográfico.

Neste mesmo ano, NERY et al.⁵⁶, 1992, avaliaram a resposta tecidual em defeitos ósseos periodontais de 21 cães, implantando HA/ β TCP com diferentes percentuais. Os animais foram divididos em 8 grupos: Grupo I, 2 cães (100 HA; 0 β TCP); Grupo II, 3 cães (85 HA; 15 β TCP); Grupo III, 3 cães (65 HA; 35 β TCP); Grupo IV, 3 cães (50 HA; 50 β TCP); Grupo V, 3 cães (35 HA; 65 β TCP); Grupo VI, 3 cães (15 HA; 85 β TCP); Grupo VII, 2 cães (0 HA; 100 β TCP) e Grupo VIII (controle), 2 cães (0 HA; 0 β TCP). Os animais permaneceram com os defeitos por 4 meses e as cirurgias foram efetuadas e as cerâmicas implantadas. Após 6 meses os animais foram mortos e a análise histológica demonstrou que a utilização da cerâmica no percentual 100 HA; 0 β TCP, o ganho ósseo foi menor, na proporção de 85 HA e de 15 β TCP houve maior ganho de nível de aderência epitelial e regeneração óssea. Os autores concluíram que a combinação de HA e β TCP no implante cerâmico é essencial, aumentando a repopulação de células, proporcionando aderência periodontal nova e melhorando a regeneração óssea.

HISLOP; FINLAY; MOOS³⁷, em 1993 fizeram um experimento utilizando osso inorgânico (BIO-OSS) para reconstrução óssea em cirurgias maxilofaciais. Os pacientes foram divididos em quatro grupos: A- pacientes (sindrômicos) – com

defeitos hipoplásicos, B- pacientes com deformidades pós-trauma, necessitavam de correções, C- pacientes submetidos à cirurgia ortognática e D- pacientes com necessidade de aumento de rebordo alveolar. Os resultados foram classificados em bom, satisfatório e insatisfatório. O grupo C obteve melhores resultados, após um ano da cirurgia, onde o BIO-OSS foi integrado ao osso do receptor e o grupo D apresentou resultado insatisfatório, após 3 meses, devido à reabsorção do osso inorgânico e da dificuldade do uso em rebordo alveolar. Os autores concluíram que a utilização do osso inorgânico BIO-OSS é eficiente em cirurgias ortognáticas, embora o resultado para o aumento de rebordo alveolar tenha sido insatisfatória. Os autores sugeriram acrescentar fragmentos de osso autógeno para um melhor resultado.

OLIVEIRA et al.⁵⁹, 1993, analisou a resposta tecidual frente às micropartículas de HA, implantadas em tecido subcutâneo de 30 ratos. A amostra foi dividida, aleatoriamente, em grupos de 5 animais cada. Cada animal recebeu 30 mg de HA, a qual foi implantada por meio de uma seringa, e ao final dos intervalos de tempo de 3 e 24 horas e 7, 21, 30 e 60 dias, foram mortos e as peças analisadas microscopicamente. Os resultados demonstraram que nas primeiras horas, após o implante da HA, notou-se uma inflamação aguda intensa e a partir do 7º dia, uma inflamação crônica exuberante, envolvendo as partículas. Aos 21 e 30 dias a resposta inflamatória era semelhante aos 7 dias, porém o tecido de granulação foi substituído por uma delgada cápsula fibrosa. Aos 60 dias houve uma redução aparente no volume dos granulomas e uma maior dispersão das células inflamatórias, quando comparados com os períodos experimentais anteriores. Concluiu-se que a ausência de rejeição das micropartículas de hidroxiapatita, no tecido subcutâneo de ratos, reforça a biocompatibilidade do material.

DUPOIRIEUX et al.²⁴, em 1994, verificaram o efeito da esterilização da matriz óssea desmineralizada (DBM), removida da crista ilíaca de ratos, na neo-formação óssea, comparando também com o uso de coral. Foram utilizados 30 ratos com defeitos ósseos criados no osso nasal e frontal (controle). Foram criados 3 grupos de 10 ratos cada um. O grupo I recebeu no defeito do osso nasal o enxerto ósseo esterilizado na autoclave por 1 hora, em 80°C; o grupo II foi enxertado com esterilizado com gás de óxido de etileno e o grupo III recebeu enxerto de coral com poros de 150-40µm, previamente esterilizados na autoclave a 80°C. Após dois meses os animais foram mortos e a formação óssea avaliada através da análise

macroscópica, radiográfica e microscópica. Em todo o exame, nenhum enxerto mostrou sinais de infecção ou encapsulamento. O osso autógeno desmineralizado esterilizado pelo calor não promoveu formação óssea em nenhum caso, devido à presença de substâncias amorfas acelulares. O material à base de coral promoveu formação óssea em 50% dos casos, entretanto o reparo ósseo não era completo. A esterilização com óxido de etileno foi estabelecida para preservar a capacidade osteogênica dos enxertos, embora o reparo ósseo completo foi conclusivo em apenas 50% dos casos, sendo que nos outros espécimes a neo-formação óssea apareceu apenas na marginal do defeito. Dessa forma a esterilização com óxido de etileno não interferiu nas propriedades biológicas da DMB (matriz óssea desmineralizada).

O osso inorgânico (BIO-OSS) foi utilizado por STASSEN et al.⁷³, 1994, em 89 pacientes que necessitavam de cirurgia parodontológica. Os pacientes foram divididos aleatoriamente, em 2 grupos: um grupo recebeu osso inorgânico e o outro ficou como grupo controle (coágulo). Os resultados demonstraram que a utilização do osso inorgânico (BIO-OSS) não foi satisfatória, contra indicando o seu uso em cirurgias apicais devido ao maior número de insucesso em relação ao grupo controle.

AABOE; PINHOLT; HJORTING-HANSEN¹, em 1995, realizaram uma revisão da literatura sobre defeitos ósseos criados experimentalmente e materiais osteopreenchedores. Relataram que um material ideal para enxerto ósseo, de origem não autógena, deve ser esterilizável, não tóxico, não induzir resposta imunológica e que possa estar disponível em quantidades suficientes. Este, ainda, deve ser capaz de induzir a diferenciação de células em osteoblastos, sendo ao mesmo tempo, gradualmente, absorvível, fornecendo um suporte condutivo para formação de um novo osso. Adicionalmente, o material deve funcionar como uma barreira mecânica para o crescimento de tecido fibroso ou invaginação de tecido muscular para dentro do defeito.

A influência do tamanho das partículas dos biomateriais nas reações celulares foi estudada por HIGASHI; OKAMOTO³⁶, 1996, em cultura de fibroblastos, usando cerâmicas de fosfato de cálcio. Foram selecionadas cerâmicas de hidroxiapatita porosa e densa, na forma de partículas com tamanhos de 300 e 40 µm. As partículas foram mantidas na cultura de fibroblastos, derivados da polpa dental, por 7 dias. A reação celular foi observada pela microscopia de contraste de fase e pela

microscopia eletrônica de varredura. Após 7 dias a proliferação celular foi avaliada pela contagem do número de células. Os resultados mostraram que, as partículas de hidroxiapatita densa de 300 µm estavam completamente cobertas pelos fibroblastos, diferentemente das partículas de 40 µm densas e porosas, onde um pequeno número de fibroblastos estava presentes. Nas partículas porosas de 300 µm, as células se proliferaram apenas ao redor das partículas. Os resultados mostraram que as partículas de hidroxiapatita densa de 300 µm podem ser consideradas o biomaterial mais apropriado, sendo que as partículas menores podem ser consideradas pelo tecido, um corpo estranho e ser rejeitado.

NARY FILHO; OKAMOTO⁵⁵, em 1996, avaliaram o processo de reparo ósseo após o implante de (HAPSET®), composto pela associação de hidroxiapatita e sulfato de cálcio. Foi utilizado para este experimento, feridas de extração dental de 20 ratos, onde inseriram tubos de polietileno, contendo em suas extremidades Hapset® e guta-percha. Os animais foram mortos em períodos de 7, 15, 21 e 30 dias e os espécimes obtidos foram analisados microscopicamente. Demonstraram que na extremidade do Hapset®, desde os períodos iniciais, havia maior faixa de tecido conjuntivo com importante infiltrado inflamatório persistente e atraso na formação do trabeculado ósseo. Já próximo à guta-percha, formou-se uma fina cápsula fibrosa não infiltrada, e pequenas trabéculas de osso neo-formado. No período de 30 dias, junto ao material Hapset®, ainda persistiu uma faixa de tecido conjuntivo pouco diferenciado com moderado número de linfócitos e macrófagos. O tecido ósseo neo-formado restringiu-se ao “fundus alveolar”, guardando distância considerável da extremidade do tubo. Concluiu-se que o Hapset® mostrou-se irritante aos tecidos, quando implantado em feridas de extração dental, promovendo atraso na reparação alveolar.

TAGA⁷⁴, em 1996, conceituou diversos biomateriais utilizados na clínica médico-odontológica e entre eles destacou a hidroxiapatita ($\text{CA}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{O}_4)_2$) como o mais requisitado e mais eficaz dos biomateriais osteocondutores. A hidroxiapatita é um sal de fosfato de cálcio com uma organização cristalina bastante complexa, sendo indicada para o tratamento de lesões ósseas. Esta pode ser dividida em duas classes: hidroxiapatita reabsorvível e não reabsorvível. A hidroxiapatita reabsorvível é indicada nos casos onde necessita-se a sua substituição pelo tecido ósseo e freqüentemente é associada à matriz orgânica de osso e membranas biológicas.

Uma das características desse biomaterial, é, que o mesmo é microgranular, não é sinterizado, apresenta uma velocidade de reabsorção bastante lenta, demandando cerca de 4 a 6 meses para sua completa reabsorção, possui alta solubilidade, é altamente biocompatível e não tem ação de antigenicidade devido ao fato de ser um material inorgânico. Em contra partida, a hidroxiapatita não reabsorvível é indicada nos casos onde houve grande perda de tecido ósseo e necessita-se o preenchimento do defeito ósseo. Este tipo de hidroxiapatita sofre o processo de sinterização, que é o tratamento térmico da cerâmica. Nesta técnica a hidroxiapatita recebe calor de até 1.100 graus centígrados por 3 a 4 horas, resultando em uma alteração dramática das propriedades cristalinas do biomaterial, deixando-o mais compacto e conseqüentemente mais insolúvel ao meio fisiológico. No mercado existem hidroxiapatita não reabsorvível do tipo microgranular, macrogranular e blocos. A hidroxiapatita do tipo macrogranular e bloco existem nas formas porosa e não porosa.

Em 1999, BATISTA JÚNIOR et al.⁴, testaram o osso inorgânico em defeitos ósseos periodontais. Selecionaram 13 defeitos intra-ósseo semelhantes, em relação ao número de paredes e profundidade. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos, o primeiro (controle) recebeu somente membrana e o segundo (teste) foi preenchido com osso inorgânico bovino e recoberto com membrana. Após 6 meses, os pacientes foram examinados e verificaram melhora clínica com diminuição da profundidade da bolsa e ganho de suporte periodontal, mas sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. No entanto, verificou-se que no grupo controle havia recessão gengival significativamente mais pronunciada do que o outro grupo teste. Os autores concluíram que o uso do osso bovino inorgânico em conjunto com a membrana (regeneração tecidual guiada), nos tratamentos de defeitos intra-ósseos, não resulta em um melhor resultado quando comparado com o uso isolado de membranas.

MACNEIL et al.⁴⁴, em 1999, compararam o processo de reparo de 4 materiais sintéticos em defeitos criados na tíbia de coelhos. Hidroxiapatita (Osteograf[®] /P), biovidro (BG1 – Bio GranTM) com partículas de 300-360 µm, biovidro (BG2 – Perio GlassTM) com partículas de 90-710 µm, sulfato de cálcio (CaSO₄, Capset[®]) combinado com osso autógeno. Em cada tíbia foram realizados 4 defeitos, totalizando 8 defeitos por animal. Como controle negativo, um defeito foi deixado vazio e, para controle positivo, um outro defeito foi preenchido com osso autógeno e

nos outros defeitos foi preenchido com os biomateriais. Após 28 dias, os animais foram sacrificados. A porcentagem de formação de osso para cada material foi determinada pela análise da imagem computadorizada. Os resultados demonstraram que todos os enxertos evidenciaram formação óssea, tendo o controle negativo formando 41,95%, controle positivo 50,41%, e para os biomateriais (BG1) 41,82%, (BG2) 40,36%, HA 41,83% e sulfato de cálcio + osso autógeno 58,83%. Entretanto, houve ausência de células inflamatórias, embora espécimes da HA, BG1 e BG2 exibiram algumas células gigantes e pouca evidência de reabsorção do material implantado. A conclusão deste estudo é que o material sintético pode conduzir a formação óssea em defeitos criados cirurgicamente.

A citotoxicidade da hidroxiapatita foi analisada por MIYAGI; RUANI; JAEGER⁵², 1999, em tecidos bucais, utilizando linhagem de fibroblastos provenientes de mucosa mastigatória humana. O estudo avaliou a reação dessas células à hidroxiapatita através de curvas de crescimento e do percentual de viabilidade celular. Foram constituídos 3 grupos experimentais: Grupo I – controle: culturas crescidas sobre placas de Petri sem recobrimento protético; Grupo II – colágeno tipo I: culturas crescidas sobre placas de Petri recobertas com solução de colágeno tipo I; Grupo III – hidroxiapatita: culturas crescidas sobre placas de Petri recobertas por solução de colágeno tipo I contendo cristais de hidroxiapatita. Após 2, 3 e 4 dias do plaqueamento, foram contadas as células das placas dos 3 grupos, fornecendo dados para as curvas de crescimento e de viabilidade celular. Os autores verificaram que quanto à viabilidade celular, apesar de as culturas tratadas pela hidroxiapatita apresentarem porcentagens de viabilidade menores que as dos demais grupos, não houve diferença estatística significativa em nenhum momento experimental.

Com o propósito de avaliar a biocompatibilidade de dois biomateriais, OLIVEIRA et al.⁶⁰, 1999, utilizaram o osso cortical bovino (Gen-Ox, Baumer S. A.) desproteínizado a 100°C e outro a 1000°C (preparado no laboratório de Bioquímica da FOB-USP). Esses materiais foram implantados em subcutâneos de ratos e, após 10, 20, 30 e 60 dias, os animais foram mortos e as peças removidas para processamento histológico. As análises microscópicas mostraram uma reação granulomatosa tipo corpo estranho de baixa renovação, contendo macrófagos e células gigantes multinucleadas em contato com o material, semelhante à

implantação subcutânea de osso autógeno ou alógeno mineralizado. Ao final do período experimental não houve diferença significativa entre os materiais testados. Pode-se concluir que o osso cortical bovino, quer desproteinizado a 100°C (Gen-Ox) ou a 1000°C (preparado em laboratório) podem ser usados como materiais de preenchimento osteo-substituto e como potenciais carreadores das proteínas morfogenéticas do osso.

WEINFELD et al.⁷⁸, 1999, realizaram um estudo histológico de um novo material constituído basicamente de 30% de colágeno desnaturado (placenta bovina) e 70% de osso inorgânico bovino, indicado para reparação óssea. Para este estudo, utilizaram tíbias de ratos, nas quais fizeram cavidades, dividindo os animais em 2 grupos: 1) experimental (material enxertado) e 2) controle (sem enxerto). Os animais foram mortos aos 3, 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias para análise microscópica. O material implantado foi incorporado ao tecido ósseo, sendo reabsorvido na mesma proporção que o novo osso era formado, funcionando assim como uma matriz óssea. A sua utilização evidenciou a aceleração do processo de reparação, justificando a sua indicação.

SICCA et al.⁷¹, 2000, avaliaram comparativamente a resposta celular em tecido subcutâneo de ratos ao enxerto de osso cortical bovino desproteinizado a 110°C na forma microgranular (250-1000 µm) e macrogranular (1000-2000 µm) nos períodos de 10, 20, 30 e 60 dias. A análise microscópica mostrou para os dois tipos de grânulos uma reação granulomatosa tipo corpo estranho de baixa renovação, contendo macrófagos e células gigantes multinucleadas. A partícula microgranular induziu uma resposta celular pouco mais exuberante após 10 dias de implantação, diferença que não foi observada após 60 dias. A análise bioquímica não demonstrou diferenças substanciais entre os grupos testados. Os resultados demonstraram que o osso cortical bovino desproteinizado a 100°C, quer macro ou micro granular, promoveu resposta tecidual semelhante à descrita para implantação subcutânea de osso autógeno ou alógeno mineralizado, sugerindo que possa ser usado como material de preenchimento osteosubstituto e como carreador das proteínas morfogenéticas do osso.

TAGA et al.⁷⁵, em 2000, comparou o enxerto autógeno com enxerto alógeno de matriz óssea desmineralizada, em defeitos ósseos de 12mm de diâmetro em calvárias de 50 cobaias, sendo 25 preenchidas com osso autógeno e 25 com osso alógeno. As calvárias foram coletadas em 1, 2, 4, 8 e 12 semanas após a cirurgia,

radiografadas e submetidas ao processamento histológico. A análise histológica mostrou: a) enxerto autógeno: após 2 semanas, o periósteo estava organizado e a neo-formação óssea era intensa. Entre a 2ª e a 12ª semana, houve remodelação de tecido ósseo neo-formado, com arranjo trabecular para compacto e um aumento na sua espessura final. A análise radiográfica mostrou que a fusão entre o enxerto e a borda da lesão ocorreu apenas lateralmente; e b) enxerto alógeno: após 2 semanas, o enxerto exibiu os espaços dos canais nutritivos preenchidos por tecido conjuntivo. Ao final de 12ª semana, os espaços internos apresentavam intensa reabsorção e, em alguns casos, uma pequena quantidade de tecido ósseo neo-formado, observado também nas radiografias, bem como, o predomínio de matriz óssea enxertada. Na maioria dos casos, a margem do defeito apresentou neo-formação óssea, formando fusão com a borda do enxerto. Os resultados sugerem que enquanto o enxerto autógeno assume parcialmente as características do tecido ósseo removido ao final de 12 semanas, o enxerto alógeno (matriz óssea desmineralizada) exibiu pequena quantidade de novo tecido ósseo e grande quantidade de matriz óssea enxertada ainda em processo de reabsorção.

COSTA FILHO; TAGA; TAGA¹⁸, em 2001, avaliaram os efeitos da implantação da mistura de HA bioabsorvível e osso bovino desproteínizado (inorgânico) com um “pool” de BMPs e proteínas ósseas hidrofóbicas não colagênicas bovinas sobre a osteogênese na medula óssea de tíbia de coelhos. Foram desenvolvidos cilindros de titânio os quais eram preenchidos com os materiais e implantados cirurgicamente na tíbia de coelhos, de modo que, os biomateriais entrassem em contato somente com a medula óssea. Os biomateriais utilizados foram: grupo 1 (teste): hidroxiapatita contendo uma combinação de BMPs e proteínas hidrofóbicas não colagênicas, misturada com osso bovino inorgânico; grupo 2 (controle): hidroxiapatita com osso bovino inorgânico; e grupo 3 (controle negativo): somente coágulo sanguíneo. Os animais foram sacrificados após 67 dias e as peças processadas e os cortes dos materiais mineralizados. O grupo 1 (teste) contendo a mistura de proteínas resultou na formação óssea significativamente, menor que os biomateriais sem as proteínas (grupo 2). Já o grupo 2 (controle) formou grande quantidade de osso no interior do cilindro, quando comparado com o grupo 3 (controle negativo). Concluíram que o “pool” de BMPs e proteínas hidrofóbicas não colagênicas do osso tiveram um efeito inibitório da osteogênese e

que os biomateriais sem as proteínas (HA e osso bovino inorgânico), proporcionaram um substrato favorável à formação óssea.

MOORE; GRAVES; BAIN⁵³, em 2001, fizeram um relato da relevância dos enxertos ósseos sintéticos. Os enxertos ósseos sintéticos, de modo geral, possuem duas características ideais de um biomaterial: osteointegração e osteocondução. E devem ser biocompatíveis, ter resistência similar ao osso cortical para prevenção de fraturas. A HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) constitui o componente principal do osso, é apresentada como cerâmica e não-cerâmica, porosa ou sólida, blocos ou grânulos. Já o fosfato beta tricálcio (β TCP) foi um dos primeiros compostos de fosfato de cálcio a ser usado como enxertos substitutos ósseos e está disponível na forma porosa e sólida ou grânulos e blocos. Normalmente o β TCP tem sido utilizado na forma de grânulos porosos e também associado com outros substitutos de enxertos ósseos ou mesmo com enxertos ósseos autógenos.

BRANDÃO et al.⁷, em 2002, fizeram um estudo, por meio da análise histológica do potencial osteoindutivo de uma combinação de hidroxiapatita granular com proteínas óssea morfogenéticas (HA/BMPs) em alvéolos de ratos. Utilizaram-se 45 ratos, Wistar, adultos, machos e divididos em 3 grupos de 15 animais: 1) controle (sem implantes); 2) HA (pura); e 3) HA/BMPs. Os animais foram mortos nos períodos de 7, 21 e 42 dias após a implantação dos materiais. Os resultados demonstraram atraso na cronologia do reparo alveolar em comparação ao grupo controle. O grupo tratado com a HA/BMPs esteve associado com a menor porcentagem de formação óssea no período de 21 dias, embora tenha produzido níveis próximos do controle aos 42 dias. Concluiu-se que os materiais parecem não trazer benefícios à formação óssea no período normal de reparação alveolar e a associação da HA/BMPs não apresentou propriedades osteoindutoras nas condições em que foi enxertada.

Em 2002, BUCHAIM et al.⁸, fizeram um estudo microscópico da reação do tecido ósseo frente à implantes de Gen-phos[®] (hidroxiapatita microgrânular com 10-15 mm de diâmetro, reabsorvível e ultra-fina), desenvolvida na FOB/USP, em cavidades de tíbias de ratos, que foram submetidos a uma dieta alcoólica. Para tanto foram utilizados 60 ratos divididos em grupo controle: dieta (água), subdividindo em grupo C₁ (cavidade cirúrgica com coágulo) e C₂ (cavidade preenchida com Gen-phos) e grupo experimental: dieta com álcool etílico diluído na água, subdividido em grupo E₁ (cavidade cirúrgica com coágulo) e E₂ (cavidade preenchida com Gen-

phos). Após 10, 20 e 40 dias os animais foram mortos e as peças analisadas. Os resultados obtidos mostraram que a dieta alcoólica provocou uma neo-formação óssea mais discreta em todos os espécimes e em todos os períodos. Aos 40 dias, tanto no grupo C₂ (Gen-phos) e C₁ (coágulo), as cavidades cirúrgicas estavam, completamente, preenchidas com tecido ósseo neo-formado bem desenvolvido.

BUCHOLZ⁹, em 2002, relatou o uso de enxertos ósseos sintéticos em procedimentos cirúrgicos em humanos. Entre os materiais utilizados destacaram-se o composto de hidroxiapatita porosa (Pro-Osteon) e o β -fosfatoTricálcio poroso (Vitoss), que funcionaram como osteocondutores. O Pro-Osteon foi o primeiro enxerto ósseo sintético aprovado pela Administração de medicamentos e alimentos dos EUA, em 1992.

GOSAIN et al.³⁰, em 2002, investigou biomateriais, à base de hidroxiapatita associada com β TCP, no subcutâneo de carneiros. Para realização deste estudo utilizaram 5 tipos de associações sendo: 1) 100% cerâmica de HA pura (Interpore); 2) 60% de cerâmica de HA/ 40% β TCP; 3) 100% HA na forma de pasta-cimento (Bone Source); 4) 60% de HA na forma de pasta-cimento com 40% β TCP e 5) 20% de HA na forma de pasta-cimento e 80% de β TCP. Após um ano à implantação, através da tomografia computadorizada os autores puderam concluir que o grupo 5 obteve melhores resultados, como o aumento significativo da reabsorção do componente fosfato beta-tricálcio (β TCP) aumentando assim a porosidade do material concomitante à neo-formação óssea. O estudo confirmou a ocorrência da osteoindução no interior da hidroxiapatita e o aumento da osteocondução foi melhorado quando mantida a arquitetura porosa do biomaterial.

LEGEROS⁴², em 2002, fez um retrospecto sobre biomateriais derivados do fosfato de cálcio (CaP). São utilizados como enxertos para reparo, aumento ou substituição óssea. Disponíveis comercialmente como naturais ou sintéticos, como compostos de hidroxiapatita, beta-fosfato tricálcio e fosfato de cálcio bifásico, em partículas, blocos, cimento, massa ou como revestimento para implante de metal. Os biomateriais à base de CaP têm propriedades excelentes: similaridade na composição do osso mineral e a osteocondutividade (habilidade para estabelecer um esqueleto ou andaime para formação óssea). Em adição, esses biomateriais são capazes de se ligarem em concentrados endógenos, como as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), tornando-se carreadores efetivos para essas

substâncias. Os biomateriais derivados do CaP são benéficos para a engenharia tecidual.

A biocompatibilidade de blocos de matriz de osso bovino esponjoso desmineralizado (Gen-Ox[®], Baumer S.A.) foi avaliada por SANADA et al.⁶⁶, 2003. Implantaram um bloco cilíndrico (5 x 12 mm) desse biomaterial no músculo abdutor da coxa de 30 ratos. Os animais foram mortos nos períodos de 3, 7, 14, 21 e 28 dias após as cirurgias, o local do enxerto foi radiografado e as peças removidas para o processamento histológico. A análise microscópica mostrou que nos períodos de 3 e 7 dias havia um processo inflamatório agudo, caracterizado pela presença de neutrófilos, reabsorção do coágulo sanguíneo e angiogênese. Entre 14 e 21 dias, verificou-se a reabsorção da matriz implantada por células mononucleadas, raras células gigantes e sua substituição por tecido conjuntivo fibroso rico em vasos e células. Aos 28 dias, na maioria dos casos, observou-se apenas pequenos fragmentos de matriz implantada envolto por tecido conjuntivo. Radiograficamente, não se notou evidências de mineralização. Com base nos resultados obtidos foi concluído que o enxerto de matriz de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco é biocompatível e bioabsorvível quando implantado em tecido conjuntivo, sem qualquer indício de ocorrência de osteogênese ectópica, ou seja, não tem capacidade osteoindutora.

ARTZI et al.³, em 2004, compararam pelas análises histológica e morfométrica, o processo de reparo em defeitos ósseos produzidos em cães. Dois biomateriais na forma de partículas foram utilizados, sendo, um xenoenxerto (osso bovino inorgânico) e um poroso aloplástico fosfato beta tricálcio (β -TCP), por períodos de 3, 6, 12 e 24 meses. Os resultados demonstraram que o completo processo de reparo, foi evidente de 12 e 24 meses com o xenoenxerto, embora as partículas enxertadas permanecessem no local. Com a β -TCP, apenas resíduos de partículas permaneceram no período de 12 meses. Em 24 meses, as partículas foram completamente reabsorvidas e o processo de reparo foi estabelecido em todos os defeitos enxertados.

BETTI⁵, em 2004, avaliou o reparo ósseo em defeitos de 6 mm de diâmetro por 8mm de profundidade em fêmures de coelhos albinos machos. Os defeitos foram preenchidos com matriz orgânica de osso bovino medular em bloco ou de osso cortical em microgrânulos de 0,25 a 1,0mm (Gen-Ox[®] – Baumer S.A). Os animais foram divididos em 3 grupos: grupo I (experimental) 15 defeitos preenchidos

com matriz óssea em bloco; grupo II (experimental) 15 defeitos preenchidos com matriz óssea em microgrânulos e grupo III (controle) 15 defeitos com coágulo sanguíneo. Os períodos de experimentação foram de 30, 90 e 180 dias após a cirurgia. As peças foram coletadas, fixadas e radiografadas usando o sistema de radiografia digital Digora. Na análise microscópica, pós 30 dias, o grupo experimental II apresentou algumas partículas de material em reabsorção por células mononucleares e também uma pequena quantidade de osso trabeculado. O grupo controle demonstrou invaginação do tecido conjuntivo para o interior do defeito, exibindo apenas uma estreita faixa de tecido ósseo de arranjo trabecular. No período de 90 dias todos os grupos mostraram intensa remodelação do osso trabeculado que foi substituído por osso lamelar. Após 180 dias, em geral, ambos os grupos experimentais e o grupo controle apresentaram um reparo semelhante. Na análise radiográfica o reparo ósseo foi similar em ambos os grupos experimentais e o controle nos períodos de 30, 90 e 180 dias. Concluiu-se que apesar do reparo ósseo ser similar em ambos os grupos experimentais e o controle no período de 180 dias, o uso da matriz óssea desmineralizada em bloco ou microgrânulos evitou a invaginação do tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo nas fases iniciais do reparo, funcionando como osteopreenchedor.

FERREIRA et al.²⁶, em 2004, avaliaram a capacidade de um “pool” de proteínas morfogenéticas bovinas, ligado a hidroxiapatita sintética absorvível microgranular (BMPb-HA), em estimular a reparação óssea em defeitos de tamanho crítico (8mm) em calvária de ratos. Em 15 animais os defeitos foram preenchidos com BMPb-HA homogeneizado com sangue (grupo experimental) e 10 com o coágulo sanguíneo apenas (grupo controle). Após 1, 3, 6 meses as peças foram coletadas, processadas e submetidas à análise microscópica. No grupo experimental, após 1 e 3 meses, os defeitos estavam preenchidos por tecido conjuntivo fibroso e inúmeros focos de reação granulomatosa, tipo corpo estranho, ao redor de aglomerados de hidroxiapatita. Aos 6 meses os focos de reação granulomatosa tipo corpo estranho diminuíram em número e tamanho. Observaram que a utilização de BMPb-HA no tratamento de defeitos ósseos cranianos em ratos, promoveu a formação de reação granulomatosa tipo corpo estranho e inibiu profundamente a neo-formação óssea. Sugeriram, ainda que a hidroxiapatita

sintética microgranular não é um bom carreador para as BMPs expressarem o seu potencial indutor.

GOSAIN et al.³¹ em 2004, avaliou biomateriais à base de hidroxiapatita, em calvária de ovelhas, durante 1 ano. Os materiais utilizados foram uma cerâmica contendo 60% de cerâmica de HA e 40% de β TCP, e três cimentos contendo: 1) 100% de HA; 2) 60% de HA e 40% de β TCP e 3) 20% de HA e 80% de β TCP. Na análise dos espécimes, foi demonstrado que nos defeitos preenchidos com a cerâmica, ou com o cimento de 60% de HA e 40% de β TCP houve um aumento significativo de deposição óssea no interior dos implantes. Por outro lado, nos defeitos preenchidos com os outros cimentos não houve aumento significativo de volume ósseo. Segundo os autores, a maior concentração de β TCP aumentou a presença de macroporos, causada pela reabsorção do mesmo, e conseqüentemente a presença deles poderia otimizar a neo-formação óssea.

Há muitos anos o implante de cerâmica de HA tem atraído muito a atenção como uma alternativa para enxertos. HAIBO WANG³⁵ em 2004, relatou que há um vínculo químico forte da HA e osso e que a velocidade de reabsorção da hidroxiapatita está relacionada com a proporção de Ca/P na sua composição.

CARNEIRO et al.¹⁰, em 2005, avaliaram microscopicamente o efeito do tamanho das partículas de matriz de osso medular bovino desmineralizado, nas formas micro e macrogranular, na reparação de defeito ósseo em fêmures de coelhos, tendo como controle o coágulo sanguíneo. Após 1, 3 e 6 meses da implantação dos materiais, os animais foram mortos e as peças removidas. Os resultados demonstraram uma reação granulomatosa tipo corpo estranho, envolvendo as partículas implantadas, sugerindo falhas na desmineralização e/ou na retirada de potenciais antigênicos durante a produção do biomaterial. Concluiu-se que o tamanho das partículas não influenciou na evolução do processo reparativo dos defeitos ósseos, e atuaram, apenas, como substâncias osteopreenchedoras.

GOSAIN et al.³², em 2005, investigou 3 biomateriais à base de fosfato de cálcio com diferentes proporções, sendo: 1) HA pura na forma de pasta-cimento; 2) cerâmica de HA pura; 3) 60% de cerâmica de HA com 40% de β TCP, comparado com enxerto autógeno no aumento ósseo do crânio de 10 carneiros adultos. Para a realização deste estudo os implantes foram inseridos em 3 perfurações ósseas, sendo uma no corpo mandibular, no osso frontal e outra no nasomaxilar. Após 1 ano os animais foram mortos e realizada a análise dos espécimes. Verificaram que a

deposição óssea ocorreu, mas não foi considerável tanto para os enxertos com osso autógeno como para os biomateriais derivados de HA. O mecanismo de formação óssea para os biomateriais aloplásticos envolveu osteoindução e osteocondução, cujas formas cerâmicas superaram as formas de HA em pasta cimento (HA-CP). A cerâmica de HA- β TCP apresentou mais porosidade que a HA cerâmica pura, favorecendo o processo de reabsorção.

As cerâmicas de fosfato de cálcio bifásicas (BCP) formadas de hidroxiapatita (HA) e fosfato tricálcio (TCP), têm sido utilizadas como material de enxerto ósseo durante décadas. MANJUBALA; SASTRY; KUMAR⁴⁶, em 2005, fizeram um estudo da formação óssea induzida por cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico (BCP) em defeitos de 4 mm em fêmures de cães. A cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (BCP) consistia de 55% de hidroxiapatita (HA) e 45% β -tricálcio fosfato (β TCP). Para este estudo foram utilizados 16 cães adultos, sendo divididos em 2 grupos de 8 animais cada. No grupo I (controle) os defeitos foram preenchidos com coágulo sanguíneo, e o grupo II (experimental) os defeitos foram preenchidos com a HA- β TCP. Os animais foram mortos após 4, 8 e 12 semanas para análise radiográfica e histológica. Os resultados radiográficos mostraram um processo de ossificação após 4 semanas e o defeito foi completamente fechado com um novo trabeculado ósseo em 12 semanas. O exame histológico mostrou a formação de osteoblastos por indução e a detecção da atividade da fosfatase alcalina foi correlacionada com o processo de atividade osteoblástica. Concluiu-se que o preparado da cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (BCP) provou ser um implante biocompatível, osteocondutivo e osteoindutivo para preenchimentos de defeitos ósseos.

MIRANDA et al.⁵¹, em 2005, comparou o uso do enxerto ósseo orgânico autógeno e do inorgânico sintético no processo de reparação de fraturas da diáfise do rádio direito em coelhos. Para este estudo foi utilizado 20 coelhos adultos, machos e fêmeas e divididos em 2 grupos (10 animais em cada grupo). Todos os animais foram submetidos a uma fratura cirúrgica simples transversa no referido osso, sendo retirado 1 cm de fragmento de tecido ósseo. No grupo I (G1) foram colocados fragmentos de enxerto orgânico, retirado da asa ilíaca do mesmo animal. No grupo II (G2), foi colocado enxerto inorgânico Osteosynt constituído de fosfato de cálcio e hidroxiapatita sintética. Os grupos foram subdivididos em 5 períodos: 15, 30,

45, 60 e 75 dias, para avaliação dos resultados com análise radiográfica e histológica. A avaliação radiográfica constatou que o G2 desenvolveu um processo de reparação mais rápido, em todos os períodos avaliados, que o G1. Na avaliação histológica o G2 também mostrou melhor evolução do processo de reparo. Os autores concluíram que o enxerto inorgânico estimula, precocemente, o início do processo de reparação óssea quando comparado ao enxerto orgânico.

SILVA et al.⁷², em 2005, estudaram a evolução do reparo de defeitos ósseos, enxertando osso autógeno medular e uma mistura de cimento de fosfato de cálcio com discos de biocerâmica porosa de hidroxiapatita. Para realização deste trabalho, foram realizados 2 defeitos de 5 mm de diâmetro, um do lado esquerdo e outro do lado direito, em calvária de 29 ratos, que foram mortos após 2, 4, 8 e 24 semanas e as peças foram analisadas radiográfica e histologicamente. Os resultados demonstraram que após 24 semanas, os defeitos preenchidos com osso autógeno medular e o material aloplástico, mostraram um volume similar de tecido ósseo neo-formado. Os defeitos tratados com o material aloplástico, fechou quase por completo, resultando na união dos fragmentos da cerâmica e tecido ósseo neo-formado, enquanto que os defeitos preenchidos por osso autógeno mostraram várias áreas preenchidas por tecido conjuntivo. Os resultados permitiram concluir que o material aloplástico demonstrou melhor condução do crescimento ósseo, somado ao processo de osteointegração dos fragmentos da biocerâmica.

Em 2005, ZAMBUZZI et al.⁸¹, implantaram microgrânulos de osso inorgânico bovino medular em subcutâneo de 40 ratos, cujos períodos experimentais foram 10, 20, 30 e 60 dias. Os animais foram divididos em 2 grupos: controle (cápsulas vazias de colágeno) e teste (cápsulas de colágeno contendo 0,1g do biomaterial). Aos 10 dias, observou-se infiltrado inflamatório crônico composto por macrófagos e células gigantes multinucleadas inflamatórias (CGMI). Neutrófilos, plasmócitos e linfócitos estavam presentes de maneira discreta, desaparecendo durante o processo de reparo tecidual. A porosidade do material foi preenchida pelo tecido conjuntivo reacional e a fibrose foi mais intensa aos 60 dias e superior ao grupo controle. Ainda aos 60 dias, ao redor das partículas implantadas mostraram um tecido conjuntivo rico em vasos sanguíneos. O biomaterial não causou reações adversas severas, não estimulou resposta imunológica. Baseado nos resultados encontrados, concluiu-se que o osso inorgânico bovino medular foi bem tolerado pelo tecido conjuntivo de rato.

CUTTER; MEHRARA¹⁹, em 2006, fizeram reconsiderações do uso dos substitutos de enxertos ósseos, incluindo o sulfato de cálcio e fosfato de cálcio. O sulfato de cálcio como substituto ósseo apresenta facilidade de manuseio, reabsorção e deposita tecido osteóide através de osteoblastos, mas tem suas limitações: rápida biodegradação, ausência de biocompatibilidade completa e potencial de toxicidade. O fosfato de cálcio componente da hidroxiapatita consiste aproximadamente em 70% do total do volume ósseo. Os substitutos ósseos à base de fosfato de cálcio são disponíveis na forma de cerâmica ou não cerâmicas. Os implantes de fosfato tricálcio (TCP) porosos, comparados com os implantes de hidroxiapatita, possuem excelente solubilidade e permitem uma reabsorção mais rápida.

RUMPEL et al.⁶², em 2006, fizeram uma análise comparativa de dois biomateriais. O Bio-Oss[®] que é uma cerâmica de hidroxiapatita derivada do osso bovino esponjoso desproteinizado com granulação de 1-2 mm e o Nano-Bone[®] que é composto por 74% de hidroxiapatita e 24% SiO₂ e é fabricado em processo de sol-gel com granulação entre 0,6 x 2 mm. Para este trabalho foram utilizados 6 mini-porcos adultos, que receberam perfurações ósseas na parte anterior do corpo mandibular. Os defeitos foram preenchidos com os biomateriais misturados com sangue, sendo 3 animais por material testado. Após 5 semanas os porcos foram mortos, as peças coletadas para análise. Os resultados demonstraram uma atividade osteoclástica sobre os grânulos de BIO-OSS e estes estavam em contato direto com superfícies do osso neo-formado. Grânulos do biomaterial Nano Bone estavam, também, recobertos por osteoclastos e as margens dos defeitos demonstravam osso recém-formado. A degradação de ambos os biomateriais correspondem ao processo de degradação óssea natural e sugerem a possibilidade de reabsorção completa durante a remodelação óssea.

LASCHKE et al.⁴¹, em 2007, analisaram a biocompatibilidade da hidroxiapatita microcristalina na forma de pasta (Ostim[®]), que foi implantada no subcutâneo de hamsters, e como controle foi utilizada uma hidroxiapatita pura (Cerabone[®]) e osso medular. Após 2 semanas, os resultados mostraram que o Ostim exibiu boa compatibilidade comparado com o Cerabone e osso medular, indicada pela falta de ativação leucocitária após a implantação. A microscopia demonstrou, ainda, desenvolvimento de tecido de granulação no interior da pasta de hidroxiapatita,

enquanto que a cerâmica de hidroxiapatita não foi penetrada por pelos vasos sanguíneos neo-formados. Concluiu-se que a hidroxiapatita, na forma de pasta, representa um substituto ósseo sintético injetável para se otimizar o processo de reparo em defeitos ósseos.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho é avaliar, comparativamente, os fenômenos evolutivos do processo de reparo ósseo em alvéolos de ratos, preenchidos com biomateriais como o osso bovino desproteinizado microgranular e a hidroxiapatita β TCP sintética, microgranular na proporção de 70% de HA e 30% de β TCP.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - MATERIAIS

4.1.1 - ANIMAIS

Foram utilizados 48 ratos machos (Rattus, Norvegicus, Albinus, Wistar), com peso aproximado de 350g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo. Esses animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com cama de serragem, abrigando 4 ratos por gaiola no grupo controle e 3 nos grupos experimentais. Durante todo o período experimental, esses animais foram alimentados com ração sólida triturada e água à vontade.

4.1.2 - MATERIAIS OSTEOPREENCHEDORES

Foram utilizados os materiais osteopreenchedores: osso bovino medular inorgânico ou desproteinizado e a hidroxiapatita β TCP, descritos a seguir:

4.1.2.1 - Osso bovino medular inorgânico ou desproteinizado (Gen-Ox – Genius)¹

O osso bovino medular inorgânico, liofilizado, na forma de microgrânulos de 0,25 – 1,00mm, (Figura 1), ph 7,4, contendo todos os componentes minerais do osso e eliminada toda a parte orgânica (BMPs, colágeno, proteínas etc.). É esterilizado através da radiação gama pelo fabricante.

Por possuir somente os componentes minerais do osso, este produto se assemelha muito a uma hidroxiapatita natural e resulta em um material com grande potencial osteocondutor.

¹ Cedido pela Baumer S.A. – Mogi Mirim, SP.
Dissertação Mestrado

4.1.2.2 - Hidroxiapatita β TCP. HA- β TCP (Gen Phos) ²

É uma biocerâmica sintética, densa, bifásica, apresentada na forma de microgrânulos de 0,25-1,00mm (Figura 2), cujo pH é de 8,9, medido no sobrenadante, quando em contato com soro fisiológico. Sua composição, conforme o fabricante é a seguinte:

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

4.1.3 - Anestésico

Foi utilizado como anestésico a solução de cloridrato de Ketamina (Dopalen)³ e como sedativo, relaxante muscular e analgésico, a solução de cloridrato de Xilazina (Anasedan)³ (Figura 3).

4.1.4 – Antibiótico e antiinflamatório

Foi usada uma associação de antibiótico e antiinflamatório, (Pencivet Plus)⁸, é um pentabiótico veterinário pequeno porte, composto por benzilpenicilina benzatínica, procaína, potássica e sulfato de diidroestreptomicina, estroptomicina base e antiinflamatório (Figura 4).

² Cedido pela Baumer S.A. – Mogi Mirim, SP.
Dissertação Mestrado

Figura 1 – Microgrânulos de osso bovino medular inorgânico (Gen-Ox – Genius® – Baumer S. A.)

Figura 2 – Hidroxiapatita -HA β TCP (Gen Phos – Baumer S. A.)

Figura 3 – Anasedan (relaxante muscular e analgésico) e Dopalen (anestésico) – Vertbrans

Figura 4 – Antibiótico Pencivet® Plus Superfort – Antibiótico polivalente associado a um antiinflamatório

4.2 - MÉTODOS

4.2.1 - PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

A anestesia foi realizada, administrado por via intramuscular, na face posterior da coxa (Figura 5), na dosagem de 0,05ml/100g de peso corporal para cada uma das soluções, cloridrato de xilazina e cloridrato de ketamina, que foram inoculados associados na seringa descartável para insulina. Após a anestesia, procedeu-se a antissepsia com solução de PVPI (Povidini tópico) ³, embebida com gaze, na porção anterior da maxila, externamente e, depois, internamente envolvendo o alvéolo dentário direito da maxila e dentes (Figura 6).

A sindesmotomia foi realizada ao redor de todo o dente, com auxílio de um esculpador tipo Hollembach nº 3, (Figura 7) e a extração do incisivo superior direito executada com uma pinça apropriada (Figura 8). Esses instrumentos, especialmente adaptados, foram cedidos pela Disciplina de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP (Figura 9). O sangramento alveolar foi contido com compressão de gaze estéril. As partículas de osso inorgânico e de hidroxiapatita foram manipuladas, adicionando-as ao soro fisiológico⁴ (Figuras 10 e 11) e inseridas nos alvéolos dos animais experimentais com um trocart, micro porta-amálgama metálico (Figuras 12 e 13). Em seguida condensadas com um cone de guta- percha calibrado e pré-encurvado (Figura 14), para levar o material implantado até o terço médio do alvéolo (Figura 15). Nos animais de grupo controle, os alvéolos foram preenchidos com sangue.

Procedeu-se, de imediato, a aproximação das margens gengivais e sua sutura com pontos simples, realizada com fio de seda 4.0⁵, montados em agulhas atraumáticas, coaptando bem as margens gengivais para evitar o extravasamento dos materiais implantados (Figura 16). Fez-se um desgaste com broca diamantada do incisivo antagonista, para evitar trauma sobre o tecido gengival do alvéolo suturado (Figura 17).

³ Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda. – São José do Rio Preto, SP.

⁴ Aster Produtos Médicos Ltda. – Sorocaba, SP.

⁵ Ethicon Johnson Indústria e Comércio Ltda.

Em seguida, foi administrada, aos animais, dose única de 0,1 ml de Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte⁶ associado a um antiinflamatório, por via intramuscular, na parte posterior da coxa traseira.

4.2.2 - GRUPOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE

Os animais, depois de operados, foram mantidos em gaiolas coletivas, com cama de serragem, abrigando 4 ratos por gaiola no grupo controle e nos grupos experimentais 3 animais, pelos períodos de 7, 15 e 30 dias (Tabela 1).

Tabela 1 – Materiais experimentais, grupos, períodos pós-operatórios e número de animais.

GRUPOS	MATERIAIS	PERÍODO/ Nº. DE ESPÉCIMES		
		7 dias	15 dias	30 dias
I – Controle	Coágulo	4	4	4
II – Experimental	Osso bovino inorgânico	6	6	6
III – Experimental	Hidroxiapatita	6	6	6

⁶ Antibiótico Pencivet Plus
Dissertação Mestrado

Figura 5 - Anestesia na face posterior da coxa

Figura 6 – Porção anterior da maxila após a aplicação da solução antisséptica

Figura 7 - Sindesmotomia

Figura 8 – Extração do incisivo superior direito

Figura 9 - Instrumentais

Figura 10 – Microgrânulos de osso bovino inorgânico com soro fisiológico

Figura 11 – Microgrânulos de HA- β TCP com soro fisiológico

Figura 12 – Mini porta amálgama (Trocartero)

Figura 13 – Inserção das partículas no interior do alvéolo com o trocart (mini-porta-amálgama)

Figura 14 – Condensação do material implantado

Figura 15 – Cone de guta percha calibrado e pré-encurvado

Figura 16 – Sutura das margens gengivais

Figura 17 – Desgaste da borda incisal do incisivo antagonista

4.2.3. OBTENÇÃO DAS PEÇAS

No final de cada período experimental (7, 15 e 30 dias) os animais foram anestesiados e em seguida mortos, inoculando, diretamente, no coração uma dose da solução anestésica.

Constatada a morte do animal, foram feitos dois cortes com tesoura, nos ângulos da boca, separando-se a mandíbula da maxila (Figura 18). Na sequência, com auxílio de uma navalha para micrótomo, foi realizada uma incisão em profundidade no palato do animal, ao nível de plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar separando a hemimaxila direita da esquerda (Figura 19).

Com as maxilas separadas, foi realizado outro corte, com a referida navalha, tangenciando a face distal do molar superior direito, permitindo a obtenção da hemimaxila direita, contendo o alvéolo dentário em estudo (Figura 20). Obtida a peça, todo o excesso de tecido muscular foi removido (Figura 21).

Figura 18 - Ângulo da boca cortados, separando a maxila da mandíbula

Figura 19 – Separação das hemimaxilas

Figura 20 – Corte tangenciando a face distal do molar da hemimaxila direita

Figura 21 – Hemimaxila direita

4.2.4. PROCESSAMENTO LABORATORIAL

As hemimaxilas, devidamente identificadas, foram fixadas em solução de formalina a 10%, tamponada com pH neutro, em recipientes individuais, durante 7 dias. Posteriormente, foram lavadas em água corrente por um período de 24 horas para a remoção de toda solução fixadora.

Após a lavagem, as peças, foram desmineralizadas em solução de EDTA a 4,3 e pH 7,2, renovada semanalmente. O processo de desmineralização permaneceu, aproximadamente, por 60 dias, e durante esse período procedeu-se a avaliação da desmineralização realizando-se tomadas radiográficas convencionais com aparelhos de raios-x Siemens Heliodent 70, dispondo a peça no sentido longitudinal, a uma distância de 40 cm, com exposição de 0,12 segundos.

Constatada a desmineralização pela diminuição gradativa da radiopacidade das peças, as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de parafina e resina (Histotec), conforme normas do laboratório de Histologia da FOB-USP. As peças foram cortadas em micrótomo, no sentido longitudinal, de modo semi-seriado, na espessura de 5 µm. Para cada espécime foram preparadas 5 lâminas com 3 cortes teciduais cada, os quais foram corados com Hematoxilina e Eosina para análise histológica.

4.2.5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

A microscopia dos espécimes foi realizada por dois examinadores, constando de duas análises, uma descritiva e outra quantitativa, para cada grupo e períodos experimentais.

4.2.5.1 Análise Descritiva

Esta análise constou de 2 partes: uma de acordo com a tabela 2, onde os fenômenos teciduais estão relacionados e a outra constituída por uma descrição

corrente das características dos mesmos fenômenos teciduais ocorridos no interior dos alvéolos dentários representativos dos grupos controle e experimentais.

Tabela 2 – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos grupos experimentais e controle.

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							
	Células gigantes multinucleadas	citoplasma	aspecto	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 neo-formado	terço cervical									
	terço médio									
	terço apical									
	entre as partículas									
Crista óssea - remodelação	reabsorção	vestibular								
		palatina								
	Neo-formação	vestibular								
		palatina								
Material - características	persistência									
	resíduos									

4.2.5.2. ANÁLISE QUANTITATIVA

Foi realizada, atribuindo escores de 0 a 3, de acordo com a intensidade dos fenômenos microscópicos avaliados, tais como: infiltrado inflamatório, densidade de fibroblastos, densidade angioblástica e tecido ósseo neo-formado.

O infiltrado inflamatório foi analisado considerando-se a quantidade de células inflamatórias distribuídas pelo alvéolo. A densidade de fibroblastos e densidade angioblástica foi avaliada pela proliferação de ambos, ao longo do alvéolo, formando o tecido de granulação. Quanto ao tecido ósseo neo-formado, a avaliação quantitativa foi efetuada analisando sua extensão pelo alvéolo, principalmente, nos terços médio e cervical, locais onde os materiais implantados ficaram em maior quantidade.

O significado dos valores de 0 a 3, escores atribuídos aos fenômenos microscópicos ou critérios estabelecidos para a análise quantitativa, foi o seguinte:

4.2.5.2.1. 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 extensão do alvéolo.

4.2.5.2.2. DENSIDADE DE FIBROBLASTOS

0 – Ausente: ausência de fibroblastos;

1 – Discreto: presença de células fibroblásticas esparsas;

2 – Moderado: presença de focos de células fibroblásticas ao longo do alvéolo;

3 – Intensa: predomínio de células fibroblásticas ao longo do alvéolo

4.2.5.2.3. DENSIDADE ANGIOBLÁSTICA

0 – Ausente: ausência de proliferação angioblástica. Presença de tecido de granulação maduro com grande quantidade de fibras colágenas;

1 – Discreto: proliferação angioblástica esparsa. Presença de tecido de granulação maduro com grande quantidade de fibras colágenas;

2 – Moderado: grandes conglomerados de proliferação angioblástica. Presença de tecido de granulação em processo de maturação, demonstrando alguns feixes de fibras colágenas bem definidos;

3 – Intenso: abundante proliferação angioblástica. Tecido de granulação jovem ou em organização e ausência de fibras colágenas.

4.2.5.2.4. NEO-FORMAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO

0 – Ausente: ausência de neo-formação de tecido ósseo

1 – Discreto: pequena extensão de trabeculado ósseo neo-formado junto à cortical óssea;

2 – Moderado: trabeculado ósseo neo-formado avançando para o centro do alvéolo nos terços analisados;

3 – Intenso: trabeculado ósseo neo-formado preenchendo os terços analisados.

Para a marcação dos valores atribuídos, conforme os critérios definidos, utilizou-se a tabela 3:

Tabela 3 - Tabela para a distribuição dos escores atribuídos aos espécimes dos grupos controle e experimental de acordo com os critérios estabelecidos.

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE							
OSSO BOVINO INORGÂNICO							
HIDROXIAPATITA							

4.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com os escores obtidos da análise quantitativa, conforme os critérios estabelecidos, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, comparando os 3 grupos conforme os períodos pós-operatórios dentro de cada grupo.

Na ocorrência de diferença significativa ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Dunn, para comparação individual dos valores encontrados.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DESCRITIVA

5.1.1 GRUPO I – CONTROLE - 7 dias

Os espécimes examinados revelaram a superfície do alvéolo fechada por um tecido neo-formado do tipo fibroso. As cristas das corticais óssea vestibular e palatina apresentavam pequenas lacunas de reabsorção, as quais se estendiam ao longo dessas corticais, exibindo clastos até às imediações do terço médio. A presença de focos de coágulo sanguíneos (Figura 22) era marcante nos terços médios e apical com moderada quantidade de macrófagos, alguns linfócitos e discreta presença de células gigantes multinucleadas. No início do terço médio, havia tecido de granulação (Figura 23), em processo de organização e à medida que se avançava para o interior do alvéolo, havia persistência de um infiltrado inflamatório crônico que de modo geral apresenta-se discreto. A proliferação fibro-angioblástica até o terço apical, era intensa, e a neo-formação óssea, a partir das corticais vestibulares e palatinas de modo geral, ainda, era discreta.

Tabela 4 – Grupo I (controle) – 7 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Controle (coágulo)						
PERÍODO EXPERIMENTAL				7 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4			
Infiltrado inflamatório: Características	Tipo celular	PMN	neutrófilo	x	X					
			eosinófilo							
		MN	macrófago	x	x	x	X			
			linfócito	x		x	x			
			plasmócito							
		CGMN			x		X			
	Macrófagos									
		citoplasma	homogêneo	X						
			vacuolado	x	X					
			com partículas	x	x	x	X			
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo				X		
				vacuolado						
				com partículas						
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação				x					
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo			x	x	x	x			
Tecido de granulação	Jovem		terço cervical							
			terço médio	x		X				
			terço apical	x			X			
	Em organização		terço cervical							
			terço médio	x	x	x	X			
			terço apical							
	Fibrosamento		terço cervical	x	x	x	X			
			terço médio		X					
			terço apical	x	x	x	X			
Tecido ósseo neo-formado	terço cervical			x	x	x	X			
	terço médio			x	x	x	x			
	terço apical			x	x	x	X			
	entre as partículas									
Crista óssea - remodelação	Reabsorção		vestibular	x	x	x	x			
			palatina	x	x	x	X			
	Neo-formação		vestibular	x	x	x	x			
			palatina	x	x	x	x			
Material - características	persistência									
	resíduos

Figura 22 – Controle 7 dias (GRUPO I) – Focos de coágulo sanguíneo (→) no terço cervical até terço médio. HE x 2.5

Figura 23 – Controle 7 dias (GRUPO I) – Tecido de granulação em processo de organização (●) e coágulo sanguíneo (→). H.E. X 10.

GRUPO II – OSSO BOVINO INORGÂNICO – 7 DIAS

Os espécimes examinados demonstraram a superfície do alvéolo recoberta por tecido fibroso neo-formado e logo abaixo tecido de granulação em processo de amadurecimento.

Nos terços cervical e médio, de todos os espécimes, verificou-se imagens das partículas de osso inorgânico desmineralizadas (Figura 24), durante o processo laboratorial.

Envolvendo essas partículas havia tecido de granulação neo-formado (Figura 25), cuja presença de fibroblastos vai de moderada a intensa, em processo de amadurecimento, exibindo na superfície de contato com os microgrânulos, macrófagos de aspecto homogêneo, vacuolado e alguns com partículas e também a presença intensa de vasos sanguíneos neo-formados. A presença de células gigantes multinucleadas era discreta, enquanto que o infiltrado de linfocitário e macrofágico era moderado, bem como a presença de neutrófilos esparsos.

A neo-formação de tecido ósseo era discreta, surgindo na maioria das vezes, de modo bem definido, junto à cortical do terço médio.

Tabela 5 – Grupo II (osso bovino inorgânico) – 7 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (osso bovino inorgânico)						
PERÍODO EXPERIMENTAL				7 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4	5	6	
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo		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	x	
			vacuolado	x	X	x	x	x	x	
			com partículas		x	x	X	x		
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo		x	X	X		
				vacuolado	x		x	x	x	X
				com partículas			x	x		
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
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		
	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			
	Fibrosamento	terço cervical	x	x	x	X	x	x		
		terço médio								
terço apical										
Tecido ósseo neo-formado	terço cervical		x			X	X			
	terço médio		x	x	x	X	x	X		
	terço apical		x	x	x	X	x	x		
	entre as partículas									
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular	x	x			x	X		
		palatina		x	x	X	x	X		
	Neo-formação	vestibular		x	x	x	x	x		
		palatina		x	x			X		
Material - características	persistência		x	x	x	x	x	x		
	resíduos

Figura 24 – Osso bovino inorgânico - 7 dias - (GRUPO II). Imagens das partículas desmineralizadas (→). HE X 2.5

Figura 25 – Osso bovino inorgânico – 7 dias (GRUPO II). Tecido de granulação (●) envolvendo partículas (→). HE X 25

GRUPO III – HIDROXIAPATITA – 7 DIAS

O exame microscópico demonstrou a superfície do alvéolo com tecido de granulação fibroso e logo abaixo áreas de aspecto jovem e em organização, que de modo geral se estendia por todo o terço cervical. Nesse grupo o infiltrado inflamatório era moderado, estendendo-se do terço cervical ao terço médio, com linfócitos, neutrófilos esparsos e os macrófagos em predominância, contornando as imagens das partículas implantadas, tendo de permeio células gigantes, multinucleadas.

No terço médio predominou tecido de granulação em organização, extensa área de coágulo sanguíneo que se estendia até o terço apical, onde se observava, no geral, tecido de granulação jovem e em organização.

A neo-formação óssea nesses espécimes era discreta, aparecendo no terço cervical, bem como no terço médio junto á cortical em pequenos focos, insinuando-se entre as imagens das partículas implantadas (Figura 26).

Tabela 6 – Grupo III (hidroxiapatita) – 7 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (hidroxiapatita)						
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	x	
			vacuolado	x	X	x	x	x	x	
			com partículas							
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo	X	x	X	X	x	x
				vacuolado			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	x		
			terço médio		x		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 neo-formado	terço cervical		x	x	x		X			
	terço médio		X	x	x	X	x	X		
	terço apical		X	x	x	X	x	x		
	entre as partículas		x		x		x			
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular	x			X	x	X		
		palatina		x	x	X	x	X		
	Neo-formação	vestibular					x			
		palatina			x					
Material - características	persistência			x	x	x	x	x	x	
	resíduos

Figura 26 – Hidroxiapatita – 7 dias. Trabéculas de tecido ósseo neo-formado de permeio às partículas de HA (→). HE X 10

GRUPO I – CONTROLE – COÁGULO – 15 DIAS

Os espécimes examinados exibiram tecido conjuntivo neo-formado denso e fibroso na superfície do alvéolo, tendo abaixo tecido de granulação organizado, infiltrado inflamatório crônico discreto, com presença de linfócitos e macrófagos, papilas de epitélio, focos de coágulo sanguíneo e trabeculado de tecido ósseo neo-formado de modo intenso, avançando para o centro do alvéolo, desde o terço cervical até o apical. Entre as trabéculas de osso neo-formado havia tecido de granulação organizado e grande quantidade de vasos sanguíneos (Figura 27).

Tabela 7 – Grupo I (controle) – 15 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Controle							
PERÍODO EXPERIMENTAL				15 dias							
ESPÉCIMES				1	2	3	4				
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	neutrófilo								
			eosinófilo								
		MN	macrófago	x	x	x	X				
			linfócito	x	x	x	x				
			plasmócito								
		CGMN					x				
	Macrófagos										
		citoplasma	homogêneo	X	x	x	x				
			vacuolado				x				
			com partículas								
	Células gigantes multinucleadas										
		citoplasma	aspecto	homogêneo							
				vacuolado							
					com partículas				X		
Necrose	áreas de coagulação										
	áreas de abscedação										
Fenômenos vasculares	edema		X								
	coágulo		x	x	x	x					
Tecido de granulação	Jovem	terço cervical		x	X	X	x				
		terço médio				x					
		terço apical		x			X				
	Em organização	terço cervical		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 neo-formado	terço cervical		x	x	x	X					
	terço médio		X	x	x	X					
	terço apical		X	x	x	X					
	entre as partículas										
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular		x	x		X				
		palatina		X	x	x	X				
	Neo-formação	vestibular		x	x	x	x				
		palatina		X	x	x	x				
Material - características	persistência										
	resíduos

Figura 27 – Controle – 15 dias – Trabéculas de tecido ósseo neo-formado (●), tecido de granulação organizado (◊), vasos sanguíneos (→) e cortical óssea (◆). HE X 10

GRUPO II – OSSO BOVINO INORGÂNICO – 15 DIAS

Os espécimes examinados demonstraram na superfície dos alvéolos tecido conjuntivo fibroso neo-formado com discreto infiltrado inflamatório crônico perivascular, predominando linfócitos. No terço cervical havia tecido de granulação em organização, imagens das partículas de osso inorgânico desmineralizadas, apresentando-se até o terço médio. De permeio às imagens das partículas, havia um exuberante tecido de granulação organizado (Figura 28), ricamente vascularizado, células gigantes multinucleadas de aspecto homogêneo ou vacuolado, e em algumas áreas moderada neo-formação óssea, na forma de estreita trabéculas, no centro do alvéolo partindo de uma das corticais. Algumas dessas trabéculas ósseas posicionavam-se entre as partículas implantadas, envolvendo-as e desse modo entrando em íntimo contato com a superfície das referidas partículas (Figura 29).

No terço apical não havia partículas implantadas, mas ocorria a neo-formação óssea, áreas de coágulo sanguíneo coexistindo com o tecido de granulação, na fase jovem e em organização.

Tabela 8 – Grupo II (osso bovino inorgânico) – 15 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (osso bovino inorgânico)						
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	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	X
			vacuolado	X	x	x	x	x	x	x
			com partículas							
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo	x	x	x	x	x	X
				vacuolado	x	x	x	x	x	X
				com partículas				X		
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			x	X				
		terço apical	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		
	Fibrosamento	terço cervical	x	x	x	X	X	x		
		terço médio								
		terço apical								
Tecido ósseo neo-formado	terço cervical		x	x	x	X	x	X		
	terço médio		X	x	x	X	X	x		
	terço apical		X	x		X	x	x		
	entre as partículas		x		x	x	x	x		
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular	x		x	X	x	X		
		palatina	X	x	x	X	X	x		
	Neo-formação	vestibular	x	x		x	x	x		
		palatina			x	x	x	X		
Material - características	persistência		X	x	x	x	x	x		
	resíduos

Figura 28 – Osso bovino inorgânico – 15 dias – Partículas implantadas envolvidas (●), tecido de granulação organizado (→) e células gigantes (⇔). HE X 25

Figura 29 – Osso bovino inorgânico – 15 dias. Trabéculas de tecido ósseo neo-formado, (→) envolvendo as partículas (●). HE X 25

GRUPO III – HIDROXIAPATITA – 15 DIAS

Os espécimes examinados demonstraram na superfície do alvéolo, tecido fibroso e de modo geral neo-formação óssea, a partir da crista, em direção à luz do alvéolo. No terço cervical até o terço médio, havia as imagens da persistência das partículas de HA implantadas e que aí permaneceram envolvidas por tecido de granulação em organização bem vascularizado, e por moderada à intensa neo-formação óssea (Figura 30). Observou-se que, na maioria das vezes, na interface do osso neo-formado e da partícula havia, ainda, de modo constante a presença de uma delgada faixa de tecido de conjuntivo, separando-as. A presença de macrófagos, de células gigantes multinucleadas e de linfócitos era discreta.

Tabela 9 – Grupo III (hidroxiapatita) – 15 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (hidroxiapatita)						
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	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	X
			vacuolado	X	x	x	x	x	x	x
			com partículas							
	Células gigantes multinucleadas	citoplasma	aspecto	homogêneo	x	x	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								
		terço médio		x	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 neo-formado	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			x	X	x	x	x	x	
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular		x						
		palatina		X	x	x	x	x	X	
	Neo-formação	vestibular		x	x	X	x	x	x	
		palatina		x						
Material - características	persistência			X	x	x	x	x	x	
	resíduos

Figura 30 – Hidroxiapatita – 15 dias – Neo-formação óssea (●) e tecido de granulação envolvendo as partículas (→) de HA. HE X 10

GRUPO I – CONTROLE – COÁGULO – 30 DIAS

Os espécimes representativos, deste período, demonstraram intensa neo-formação óssea, preenchendo o alvéolo em todos os terços (Figura 32). As cristas ósseas vestibular e palatina apresentaram-se remodeladas. A presença de células inflamatórias era discreta e localizadas, de modo geral, na porção superficial do alvéolo, onde encontramos tecido conjuntivo neo-formado fibroso e em organização, de permeio às trabéculas ósseas de tecido neo-formado.

A vascularização era intensa entre as trabéculas de tecido ósseo neo-formado em toda a extensão do alvéolo, persistindo ainda alguns focos de coágulos sanguíneos (Figura 32).

Tabela 10 – Grupo I (controle) – 30 dias – Distribuição dos fenômenos teciduais encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Controle (coágulo)						
PERÍODO EXPERIMENTAL				30 dias						
ESPÉCIMES				1	2	3	4			
Infiltrado inflamatório: características	Tipo celular	PMN	Neutrófilo							
			Eosinófilo							
		MN	Macrófago	x	x	x	X			
			Linfócito	x	x	x	x			
			Plasmócito							
		CGMN								
	Macrófagos									
		citoplasma	Homogêneo	X	x		x			
			Vacuolado			x				
			com partículas							
	Células gigantes multinucleadas	citoplasma	aspecto	Homogêneo						
				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					
		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 neo-formado	terço cervical		X	x	x	X				
	terço médio		X	x	x	X				
	terço apical		X	x	X	X				
	entre as partículas									
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	Vestibular								
		Palatina								
	Neo-formação	Vestibular		x	x	X	X			
		Palatina		x	X	x	x			
Material - características	Persistência									
	Resíduos

Figura 31 – Controle – Coágulo – 30 dias (GRUPO I) – Aspecto geral do terço cervical e médio do alvéolo preenchido por osso neo-formado. HE X 2.5

Figura 32 – Controle – Coágulo – 30 dias (GRUPO I) – Aspecto geral do terço médio e apical do alvéolo preenchido por osso neo-formado. HE X 2.5

Figura 33 – Controle – 30 dias (GRUPO I). Tecido ósseo neo-formado (•), tecido de granulação em organização com intensa vascularização (→) e cortical óssea (◆). HE X 10

GRUPO II - OSSO BOVINO INORGÂNICO – 30 DIAS

Os espécimes examinados exibiram cristas ósseas remodeladas, a superfície do alvéolo com tecido fibroso e o terço cervical e médio com exuberante neo-formação óssea, a partir das corticais ósseas (Figura 33) atingindo o centro do alvéolo e envolvendo as partículas, de osso inorgânico implantado (Figura 34). De permeio a essas partículas, em conjunto com as trabéculas de osso neo-formado, havia tecido conjuntivo em plena organização, bem vascularizado, demonstrando macrófagos em torno das partículas remanescentes, bem como moderada quantidade de células gigantes multinucleadas inflamatórias (CGMI) vacuoladas, homogêneas e algumas com partículas fagocitadas.

Tabela 11 – Grupo II (osso bovino inorgânico) – 30 dias – Distribuição dos fenômenos encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (osso bovino inorgânico)						
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									
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo	x	x	x	x		X
				vacuolado	X	x	x	x	x	X
				com partículas	x	x			X	
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo			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 neo-formado	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			X	x	x	x	x	x	
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular								
		palatina								
	Neo-formação	vestibular		x	x	X	X	x	X	
		palatina		x	X	x	x	X	x	
Material - características	persistência			X	x	x	x	x	x	
	resíduos									

Figura 34 – Osso bovino inorgânico – 30 dias (GRUPO II) – Neo-formação óssea exuberante. HE X 10

Figura 35 – Osso bovino inorgânico – 30 dias (GRUPO II) – Osso neo-formado (→) envolvendo as imagens das partículas de osso implantadas (•) e células gigante (⇨). HE X 25

GRUPO III – HIDROXIAPATITA- 30 DIAS

O exame microscópico dos espécimes deste grupo demonstrou a superfície do alvéolo com tecido predominantemente fibroso e neo-formação óssea. No terço cervical e médio a presença das partículas implantadas envolvidas na maior parte por exuberante neo-formação óssea (Figura 35), ou então, tecido conjuntivo organizado, exibindo na periferia macrófagos homogêneos e vacuolados e células gigantes multinucleadas inflamatória (CGMI) homogêneas, vacuoladas e eventualmente com partículas. A maioria das partículas envolvidas por tecido ósseo, exibe uma faixa estreita de tecido conjuntivo na interface de osso e partículas.

O infiltrado inflamatório era discreto constituído por linfócito esparsos, macrófagos e células gigantes.

Tabela 12 – Grupo III (hidroxiapatita) – 30 dias – Distribuição dos fenômenos encontrados nos espécimes examinados

GRUPO				Experimental (hidroxiapatita)						
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							
	Células gigantes multinucleadas									
		citoplasma	aspecto	homogêneo	x	x	x	x		X
				vacuolado			x	x	x	X
com partículas					x					
Necrose	áreas de coagulação									
	áreas de abscedação									
Fenômenos vasculares	edema									
	coágulo									
Tecido de granulação	Jovem	terço cervical					x	X		
		terço médio								
		terço apical								
	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 neo-formado	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		X	x	x	x	x	x		
Crista óssea - remodelação	Reabsorção	vestibular								
		palatina								
	Neo-formação	vestibular		x	x	X	X	x	X	
		palatina		x	X	x	x	X	x	
Material - características	persistência		X	x	x	x	x	x		
	resíduos

Figura 36 – Hidroxiapatita – 30 dias (GRUPO III). Neo-formação óssea envolvendo as partículas de HA. HE X 10

5.2. ANÁLISE QUANTITATIVA

5.2.1. INFILTRADO INFLAMATÓRIO

Aos 7 dias, no grupo I (controle), observou-se, nos espécimes examinados, a presença de um infiltrado inflamatório predominantemente discreto, sendo que em apenas um espécime ocorreu de modo moderado. Aos 15 e 30 dias apresentou-se de modo discreto.

No grupo II (osso bovino inorgânico), aos 7 dias, o infiltrado inflamatório foi moderado na maioria dos espécimes e dois de modo intenso. Nos períodos de 15 e 30 dias era, absolutamente, discreto.

No grupo III (hidroxiapatita), evidenciou-se em todos os espécimes do período de 7 dias, um infiltrado inflamatório moderado, enquanto que aos 15 e 30 dias foi discreto, sem exceção.

Os valores representativos deste critério estão contidos nas tabelas 13, 14, 15 e figura 36, nas páginas seguintes.

Tabela 13 – Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados.
Período de 7 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	2	1	1	1			1,25
OSSO BOVINO INORGÂNICO	2	2	2	3	2	3	2,33
HIDROXIAPATITA	2	2	2	2	2	2	2,00

Tabela 14 – Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados.
Período de 15 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	1	1	1	1			1,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	1	1	1	1	1	1	1,00
HIDROXIAPATITA	1	1	1	1	1	1	1,00

Tabela 15 – Distribuição dos escores atribuídos ao infiltrado inflamatório nos espécimes analisados.
Período de 30 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	1	1	1	1			1,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	1	1	1	1	1	1	1,00
HIDROXIAPATITA	1	1	1	1	1	1	1,00

Figura 37 - Gráfico das médias dos escores representativos da intensidade do infiltrado inflamatório nos períodos e grupos estudados

5.2.2. DENSIDADE DE FIBROBLASTOS

A presença de fibroblastos nos grupos I (controle), aos 7 dias, foi intensa, caindo para moderada aos 15 e 30 dias. No grupo II (osso bovino inorgânico), a proliferação fibroblástica foi predominantemente intensa, sendo moderada em 2 espécimes, aos 7 dias. Aos 15 e 30 dias a presença de fibroblastos foi moderada.

O grupo III (HA), aos 7 dias, a proliferação de fibroblastos foi intensa, enquanto que aos 15 e 30 dias foi moderado.

Os valores representativos deste critério estão contidos nas tabelas 16, 17, 18 e figura 37, na página seguinte.

Tabela 16 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade dos fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 7 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	3	3	3	3			3,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	3	3	3	2	3	2	2,66
HIDROXIAPATITA	3	3	3	3	3	3	3,00

Tabela 17 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade dos fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 15 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	2	2	2	2			2,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	2	2	2	2	2	2	2,00
HIDROXIAPATITA	2	2	2	2	2	2	2,00

Tabela 18 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade de fibroblastos nos espécimes analisados. Período de 30 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	2	2	2	2			2,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	2	2	2	2	2	2	2,00
HIDROXIAPATITA	2	2	2	2	2	2	2,00

Figura 38 - Gráfico das médias dos escores representativos da densidade de fibroblastos nos períodos e grupos estudados

5.2.4. DENSIDADE ANGIOBLÁSTICA

No período de 7 dias, apenas o grupo I (controle), apresentou em todos os seus espécimes densidade angioblástica moderada, passando para intensa nos períodos de 15 e 30 dias.

No grupo II (osso bovino inorgânico) a neo-formação de vasos sanguíneos manteve-se intensa dos 7° ao 30° dias, bem como no grupo III (HA) foi, também, intensa, de 7° ao 30° dia de experimento.

Os valores representativos deste critério estão contidos nas tabelas 19, 20, 21 e figura 38, na página seguinte.

Tabela 19 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados.
Período de 7 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	2	2	2	2			2,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	3	3	3	3	3	3	3,00
HIDROXIAPATITA	3	3	3	3	3	3	3,00

Tabela 20 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados.
Período de 15 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	3	3	3	3			3,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	3	3	3	3	3	3	3,00
HIDROXIAPATITA	3	3	3	3	3	3	3,00

Tabela 21 – Distribuição dos escores atribuídos à densidade angioblástica nos espécimes analisados.
Período de 30 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	3	3	3	3			3,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	3	3	3	3	3	3	3,00
HIDROXIAPATITA	3	3	3	3	3	3	3,00

Figura 39 - Gráfico das médias dos escores representativos da densidade angioblástica nos períodos e grupos estudados

5.2.5. NEO-FORMAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO

No período de 7 dias, no grupo I (controle), foi observado de modo geral uma discreta neo-formação óssea, exceto um espécime, que exibiu uma neo-formação moderada. Aos 15 e 30 dias a neo-formação óssea foi intensa para todos os espécimes.

O grupo II (osso bovino inorgânico), demonstrou uma neo-formação óssea gradativa, discreta aos 7 dias, moderada no período de 15 dias e intensa aos 30 dias. O grupo III (HA) teve um comportamento semelhante: neo-formação óssea discreta aos 7 dias, moderada a intensa no período de 15 dias e intensa aos 30 dias.

Os valores representativos deste critério estão contidos nas tabelas 22, 23, 24 e figura 39, na página seguinte.

Tabela 22 – Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados.
Período de 7 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	1	2	1	1			1,25
OSSO BOVINO INORGÂNICO	1	1	1	1	1	1	1,00
HIDROXIAPATITA	1	1	1	1	1	1	1,00

Tabela 23 – Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados.
Período de 15 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	3	3	3	3			3,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	2	2	2	2	2	2	2,00
HIDROXIAPATITA	2	2	2	3	3	3	2,25

Tabela 24 - Distribuição dos escores atribuídos à neo-formação óssea nos espécimes analisados.
Período de 30 dias

GRUPOS/ESPÉCIMES	1	2	3	4	5	6	MÉDIAS
CONTROLE	3	3	3	3			3,00
OSSO BOVINO INORGÂNICO	3	3	3	3	3	3	3,00
HIDROXIAPATITA	3	3	3	3	3	3	3,00

Figura 40 - Gráfico das médias dos escores representativos da intensidade da neo-formação óssea nos períodos e grupos estudados

5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados microscópicos na forma de escores atribuídos aos critérios como infiltrado inflamatório, densidade de fibroblastos, densidade angioblástica e neo-formação de tecido ósseo dos três grupos e nos três períodos de experimento, foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Inicialmente os grupos foram comparados entre eles de acordo com os períodos do experimento, para cada um dos critérios estabelecidos para análise quantitativa (Tabela 25).

Tabela 25 – Comparação entre os grupos (I, II e III) nos períodos de 7, 15 e 30 dias, para cada um dos critérios da análise quantitativa (Teste de Kruskal-Wallis)

Critérios da Análise Quantitativa	Valores de p		
	7 dias	15 dias	30 dias
Infiltrado Inflamatório	0,0119	1,000	1,000
Densidade Fibroblástica	0,1677	1,000	1,000
Densidade Angioblástica	0,0006	1,000	1,000
Neo-formação Óssea	0,2231	0,0096	1,000

Significante para $p < 0,05$

No período de 7 dias, houve diferença significativa para os critérios infiltrado inflamatório ($p=0,0119$), e densidade angioblástica ($p=0,0006$), entre os grupos controle e experimentais. O teste aplicado demonstrou também, aos 15 dias, diferença significativa ($p < 0,0096$) na neo-formação óssea entre os grupos controle e experimentais.

Diante dessas diferenças, aplicou-se o teste de Dunn para comparar os três grupos, individualmente, nos períodos de 7 e 15 dias, quanto aos critérios infiltrado inflamatório, densidade angioblástica e neo-formação óssea.

Tabela 26 – Teste de Dunn – Infiltrado inflamatório – 7 dias - comparação entre os grupos individualmente (significante para $p < 0,05$)

Osso Inorgânico X Controle	Significante
Osso Inorgânico X Hidroxiapatita	Não Significante
Hidroxiapatita X Controle	Não Significante

O resultado deste teste (Tabela 26) mostrou haver diferença significativa entre os grupos II (osso inorgânico) e I (controle) quanto ao critério infiltrado inflamatório, que foi mais expressivo aos 7 dias, frente ao osso inorgânico implantado que o coágulo sanguíneo. No caso do grupo II (osso inorgânico) e grupo III (HA), apesar dos valores de 2,33 e 2,00, respectivamente, a diferença não foi significativa. Do mesmo modo, o grupo III (HA) e grupo I (controle) com valores diferentes 2,00 e 1,25 respectivamente, a diferença não foi significativa. Os valores médios citados estão na Tabela 13.

Tabela 27 – Teste de Dunn – Densidade angioblástica – 7 dias - comparação entre os grupos individualmente (significante para $p < 0,05$)

Osso Inorgânico X Controle	Significante
Osso Inorgânico X Hidroxiapatita	Não Significante
Hidroxiapatita X Controle	Significante

Este teste demonstrou diferença significativa entre os grupo II (osso inorgânico) e I (controle), e nos grupos III (HA) e I (controle), na formação de vasos sanguíneos, aos 7 dias, demonstrando que nos alvéolos implantados com osso inorgânico e HA a proliferação angioblástica foi mais acentuada que o controle (coágulo). Entre o grupo II (osso inorgânico) e grupo III (HA), os valores médios foram iguais (3,00). A Tabela 19 contém os valores médios, que serviram de base para os testes estatísticos.

Tabela 28– Teste de Dunn – Neo-formação óssea – 15 dias – comparação entre os grupos individualmente (significante para $p < 0,05$)

Controle X Osso Inorgânico	Significante
Controle X Hidroxiapatita	Não Significante
Hidroxiapatita X Osso Inorgânico	Não Significante

O teste de Dunn (Tabela 28) mostrou diferença significativa entre os grupos I (controle) e II (osso inorgânico), no critério neo-formação óssea, aos 15 dias, favorecendo o grupo controle (3,00) em relação ao grupo do osso inorgânico (2,00). Quanto às diferenças entre os grupos controle (3,00) e grupo da HA (2,25) e os grupos do osso inorgânico (2,00), as diferenças não foram significantes. Os valores médios citados estão na Tabela 23.

Tabela 29 – Comparação entre os três períodos de experimentação (7, 15 e 30 dias) nos grupos I, II e III, para cada um dos critérios da análise quantitativa (Teste de Kruskal-Wallis)

Análise Quantitativa	CONTROLE	OSSO INORGÂNICO	HIDROXIAPATITA
	I	II	III
Infiltrado Inflamatório	0,368	0,001	0,001
Densidade Fibroblástica	0,004	0,001	0,001
Densidade Angioblástica	0,004	1,000	1,000
Neo-formação Óssea	0,004	0,001	0,001

Significante para $p < 0,05$

A comparação entre os três períodos nos grupos de experimentação, aplicando o teste de Kruskal-Wallis, demonstrou no grupo I (controle) diferenças significantes para os critérios densidade de fibroblastos ($p = 0,004$), densidade angioblástica ($p = 0,004$) e neo-formação óssea ($p = 0,004$).

No grupo II (osso inorgânico), as diferenças significantes foram para os critérios infiltrado inflamatório ($p = 0,001$), densidade de fibroblastos ($p = 0,001$) e neo-formação óssea ($p = 0,001$).

No grupo III (HA), as diferenças com significância estatística foram para os critérios infiltrado inflamatório ($p=0,001$), densidade de fibroblastos ($p=0,001$) e neo-formação óssea ($p=0,001$).

Esses resultados foram submetidos ao teste de Dunn para comparar, individualmente, entre os três períodos de experimentação de acordo com os critérios, que demonstraram diferenças significantes.

GRUPO I (Controle)

Tabela 30 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica. (significante $p<0,05$)

7 x 30	Significante
7 x 15	Significante
15 x 30	Não Significante

Tabela 31 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade angioblástica. (significante $p<0,05$)

15 x 7	Significante
15 x 30	Não Significante
30 x 7	Significante

Tabela 32 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à neo-formação óssea. (significante $p<0,05$)

15 x 7	Significante
15 x 30	Não Significante
30 x 7	Significante

Os valores significantes encontrados no grupo I (Tabela 29), pelo teste de Kruskal-Wallis, foram submetidos ao teste de Dunn. O critério densidade fibroblástica foi significativa entre os períodos 7 e 15 dias para os valores médios de

3,00 e 2,00, respectivamente (Tabelas 16 e 17), bem como para os períodos de 7 e 30 dias com valores médios de 3,00 e 2,00, respectivamente (Tabelas 16 e 18).

Para o critério densidade angioblástica a significância ocorreu entre os períodos de 15 e 7 dias, com valores médios de 3,00 e 2,00, respectivamente (Tabelas 20 e 19), e para os períodos de 30 e 7 dias, com valores médios de 3,00 e 2,00, respectivamente (Tabelas 21 e 19).

O critério neo-formação óssea teve significância entre os períodos experimentais de 15 e 7, com os valores 3,00 e 1,25, respectivamente (Tabelas 23 e 22) e entre os períodos de 30 e 7 dias com valores de 3,00 e 1,25, respectivamente (Tabelas 24 e 22).

GRUPO II (Osso Inorgânico)

Tabela 33 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto ao infiltrado inflamatório. (significante $p < 0,05$)

7 x 30	Significante
7 x 15	Significante
15 x 30	Não Significante

Tabela 34 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica. (significante $p < 0,05$)

7 x 30	Significante
7 x 15	Significante
15 x 30	Não Significante

Tabela 35 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à neo-formação óssea. (significante $p < 0,05$)

30 x7	Significante
30 x15	Não Significante
15 x7	Não Significante

No grupo II, os valores significantes obtidos com a aplicação do teste de Kruskal-Wallis (Tabela 29), foram submetidos ao teste de Dunn. O critério infiltrado inflamatório foi significativo entre os períodos experimentais de 7 e 15 dias, para os valores médios de 2,33 e 1,00, respectivamente, (Tabelas 13 e 14) e, também, para os períodos experimentais de 7 e 30 dias, que apresentaram os valores médios de 2,33 e 1,00, respectivamente (Tabelas 13 e 15). Para o critério densidade fibroblástica as diferenças significantes ocorreram, também, entre os períodos de 7 e 15 dias e 7 e 30 dias, para os valores médios de 2,66 e 2,00 e 2,66 e 2,00, respectivamente (Tabelas 16, 17 e 18).

O critério neo-formação óssea foi significativo entre os períodos de 30 e 7 dias, com valores médios de 3,00 e 1,00, respectivamente (Tabelas 22 e 24).

GRUPO III (Hidroxiapatita)

Tabela 36 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto ao infiltrado inflamatório. (significante $p < 0,05$)

7 X 30	Significante
7 X 15	Significante
15 X 30	Não Significante

Tabela 37 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à densidade fibroblástica. (significante $p < 0,05$)

7 X 30	Significante
7 X 15	Significante
15 X 30	Não Significante

Tabela 38 – Teste de Dunn - Comparações individuais entre os três períodos experimentais quanto à neo-formação óssea. (significante $p < 0,05$)

30 x 7	<i>Significante</i>
30 x15	<i>Não Significante</i>
15 x7	<i>Significante</i>

No grupo III, pelo teste de Kruskal-Wallis (Tabela 29), houve significância para o critério infiltrado inflamatório, densidade fibroblástica e neo-formação óssea. A aplicação do teste de Dunn para o critério infiltrado inflamatório resultou em significância para os períodos de 7 e 15 dias e 7 e 30 dias (Tabela 36), para os valores médios de 2,00 e 1,00, respectivamente, para os períodos citados (Tabelas 13, 14 e 15). Para o critério densidade fibroblástica foi significativa para os períodos de 7 e 30 dias e 7 e 15 dias (Tabela 37), com valores médios de 3,00 e 2,00, respectivamente (Tabelas 16, 17 e 18). O critério neo-formação óssea apresentou significância para os períodos de 30 e 7 dias e 15 e 7 dias (Tabela 38), para os valores médios de 3,00 e 1,00 e 2,25 e 1,00, respectivamente (Tabelas 22, 23 e 24).

6 – DISCUSSÃO

6.1 – Da metodologia

Os defeitos ósseos extensos provocados por traumas ou processos patológicos, não são capazes de reparar-se espontaneamente (URIST et al., 1973), havendo, desse modo, necessidade de lançar mão dos enxertos, quer seja, autógenos, alógenos, xenógenos ou aloplásticos. Nos defeitos ósseos avantajados o autoenxerto está descartado, e atualmente os xenoenxertos e os aloplásticos têm sido escolhidos, em decorrência da biocompatibilidade e facilidade de obtenção. Atuam de modo geral, como materiais osteocondutivos e atualmente temos à disposição uma grande variedade desses biomateriais, principalmente os aloplásticos, que são produzidos em formulações diferentes para melhorar a biocompatibilidade, facilitar a neo-formação óssea, e, também, para diminuir o tempo de reabsorção. A literatura demonstra muitos experimentos utilizando diversos animais, e o rato por ser um animal de pequeno porte, de fácil manuseio e de origem padronizada tem sido muito utilizado (URIST, 1965, SANCHES; OKAMOTO; CARVALHO, 1972, OLIVEIRA et al., 1993, DUPOIRIEUX et al, 1994, NARY FILHO; OKAMOTO, 1996, WEINFELD et al., 1999, BRANDÃO et al., 2002, BUCHAIM et al., 2002, SANADA et al., 2003, FERREIRA et al., 2004, SILVA et al., 2005, ZAMBUZZI et al., 2005, CONEGLIAN, 2007), cães (DANISSEN; DE GROOT, 1979, NERY et al., 1992, ARTZI et al., 2004, MANJUBALA; SASTRY; KRUMAR, 2005), carneiros (GOSAIN et al., 2002, GOSAIN; SONG; RIORDAN, 2004, GOSAIN et al., 2005), coelhos (MACNEIL et al., 1999, COSTA FILHO; TAGA; TAGA, 2001, CARNEIRO et al., 2005, BETTI, 2004, MAEDA, 2005, MIRANDA et al., 2005), cobaias (TAGA et al., 2000), porcos (RUMPEL et al., 2006) e hamsters (LASCHKE et al., 2007). Experimentos com humanos também têm sido realizados (DENISSEN; DE GROOT, 1979) para manutenção de rebordo alveolar após extração dental (BONACHELA et al., 1992), para reconstrução óssea em cirurgias maxilofacial (HISLOOP; FINLAY; MOSS, 1993), para cirurgias apicais (STASSEN; HISLOP; MOOS, 1994) e para defeitos ósseos periodontais (BATISTA JÚNIOR et al., 1999). Também têm sido relatados experimentos “in vitro”, aplicando esses biomateriais em cultura de fibroblastos, para avaliar a influência do tamanho das partículas dos biomateriais na

proliferação celular (HIGASHI; OKAMOTO, 1996) e, também, a citotoxicidade (MIYAGI; RUANI; JALGER, 1999).

Neste experimento foram utilizados ratos e o estabelecimento da quantidade de 06 animais por período, nos grupos experimentais, está fundamentado nas diretrizes para testes de biocompatibilidade (ESTRELA, 2005). O grupo controle constou de 04 ratos, por período, porque o processo de reparo em alvéolo de dentes de ratos é bem conhecido e não há dúvidas quanto ao seu processo evolutivo (OKAMOTO; RUSSO, 1973, CARVALHO; OKAMOTO, 1978, OKAMOTO, 1987 e OKAMOTO et al., 1994).

O processo de reparo alveolar apresenta algumas peculiaridades próprias como a presença de restos do ligamento periodontal, que são fundamentais para a produção de fibroblastos (CARVALHO; OKAMOTO, 1978). E, além disso, oferece sustentação e contenção para o material implantado, não ocorrendo uma grande movimentação do mesmo. Trata-se de uma cavidade óssea que se presta para diversos experimentos, como materiais com finalidade hemostática (SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO, 1975, SANCHES et al., 1976, SAAD NETO; OKAMOTO, 1987) e teste de biocompatibilidade de biomateriais (SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO, 1979/1980). No alvéolo dental há uma sucessão de fenômenos biológicos, inerentes ao processo de reparo, como formação de tecido de granulação e posteriormente tecido mineralizado, em contato direto com o material implantado, determinando assim uma região de reparo, que simula um ambiente de defeito ósseo parodontodôntico. Embora, há relatos na literatura que o implante no interior de um alvéolo perturba a organização do coágulo sanguíneo, que a compressão sobre as paredes alveolares pode gerar reabsorção (CARVALHO; OKAMOTO, 1978) e conseqüentemente provocará um atraso na cronologia do processo de reparo. (SAAD NETO; CARVALHO; OKAMOTO, 1975, OKAMOTO et al., 1994) e ainda, o material poderá ser expulso do alvéolo (SANCHES et al., 1976). Neste experimento, tais intercorrências não foram detectadas, pois durante o preenchimento dos alvéolos, com as partículas, evitou-se a pressão sobre as paredes ósseas e as bordas das feridas ficaram bem coaptadas, após a sutura, para evitar a expulsão do material.

A administração de uma associação de antibiótico e antiinflamatório, em dose única, teve a finalidade de proteger o animal operado de uma infecção oportunística, apesar de que o rato é resistente a infecções. E o antiinflamatório para evitar ou amenizar o fenômeno doloroso.

A utilização da sutura facilita a permanência do coágulo no interior do alvéolo, sendo condição imprescindível para o desenrolar da reparação (CARVALHO; OKAMOTO, 1987). Após a sutura, foi executado o desgaste do incisivo antagonista evitando, assim, trauma sobre o tecido gengival do alvéolo suturado, considerando que os incisivos de ratos têm crescimento contínuo.

A reparação total do alvéolo é considerada quando este se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neo-formado e a crista alveolar remodelada (OKAMOTO; RUSSO, 1973, GUGLIELMOTTI; CABRINI, 1985, SAAD NETO; OKAMOTO, 1987, OKAMOTO et al., 1994, CATANZARO, 1982), e no rato ocorre por volta de 21 dias, pós a exodontia, 48 dias no cão e 64 dias no homem. (CARVALHO; OKAMOTO, 1987), obtendo-se assim uma resposta rápida, segura e confiável, além de ser conveniente devido à contenção para o implante.

Para este estudo foi feita a comparação de um xenoenxerto, ósseo bovino medular inorgânico na forma de microgrânulos de 0,25 - 1,00mm, (Gen-Ox), o que não deixa de ser uma hidroxiapatita natural, com uma hidroxiapatita sintética, densa, bifásica composta de 70% de hidroxiapatita e 30% de fosfato beta tricálcio (β TCP), também em microgrânulos de 0,25-1,00mm (Gen-Phos), ambos produzidos pela empresa Baumer S.A.

O microgrânulos preencheram perfeitamente os alvéolos, concentrando-se nos terços cervical e médio devido à curvatura dos mesmos, mas não foi estabelecida uma medida padrão de microgrânulos, de cada material, para implantação. Desse modo, a quantidade de microgrânulos de biomateriais, para preencher os alvéolos, foi estabelecida em 3 porções da capacidade do trocart usado. No intervalo de cada porção de microgrânulos implantados, fazia-se a condensação com um cone de guta percha previamente calibrado (F2 da série ProTaper) e pré encurvado até o terço médio do alvéolo, evitando a pressão excessiva contra as corticais ósseas. Os microgranulos eram adicionados ao soro fisiológico a 0,9% antes da implantação. Esse procedimento pode ser feito, também,

com sangue do próprio paciente nas cirurgias parendodônticas (STASSEN; HISLOP; MOOS, 1994); buco-maxilo-faciais (HISLOOP; FINLAY; MOOS, 1993), defeitos ósseos periodontais (BATISTA JÚNIOR et al., 1999) e manutenção do rebordo alveolar (BONACHELA et al., 1992).

O osso inorgânico medular de origem bovina é um material osteopreenchedor e osteocondutor (SICCA et al., 2000). É poroso, permitindo que o tecido conjuntivo neo-formado penetre por esses poros, facilitando o processo de reabsorção (ZAMBUZZI et al., 2005), conforme já foi demonstrado em experimentos com períodos mais prolongados (RUMPEL et al., 2006). Oliveira et al., em 1999, utilizaram osso bovino desproteinizado (Gen-Ox - BAUMER) em subcutâneos de ratos, e concluíram que podem ser usados como materiais de preenchimento osteo-substituto e também como potenciais carreadores das proteínas morfogenéticas do osso. O osso bovino desmineralizado seja na forma de micro ou macro partículas, não tem, também, capacidade osteoindutora, atuando apenas como substância osteopreenchedora (CARNEIRO et al., 2005, SANADA et al., 2003).

A hidroxiapatita utilizada, preparada pela empresa Baumer, é uma cerâmica e como tal a sua reabsorção demanda muito tempo, funcionando também como osteopreenchedor e osteocondutor (DENISSEN; DE GROOT, 1979). Trata-se de um lançamento novo da referida empresa, alterando a relação HA e β TCP, na tentativa de melhorar sua participação no processo de formação óssea e de induzir mais rapidamente o processo reabsortivo (NERY et al., 1992, GOSAIN et al., 2002, GOSAIN; SONG; RIORDAN, 2004, GOSAIN et al., 2005). As biocerâmicas têm sido empregadas na forma densa e na forma porosa. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material isoladamente, a existência de poros com dimensões adequadas pode favorecer o crescimento de tecido através deles e a formação óssea, dando mais resistência ao material (KAWACHI et al., 2000).

A análise microscópica descritiva adotada no presente trabalho, foi baseada nos trabalhos de Okamoto et al. (1994), Carvalho; Okamoto (1978) e de Cintra (2005), os quais descreveram de forma geral o processo de reparo em seus diferentes estágios e nos diferentes terços alveolares dos grupos experimentais e controle. A análise quantitativa foi realizada, tomando por base alguns critérios como

infiltrado inflamatório, densidade de fibroblastos, densidade angioblástica e neoformação óssea (CINTRA, 2005).

6.2. DOS RESULTADOS

A implantação de qualquer substância na intimidade de um tecido conjuntivo, mesmo biocompatível, gera, inicialmente, uma reação inflamatória na área implantada, como um mecanismo natural de defesa do organismo. No alvéolo dental a reação é a mesma, o material implantado pode perturbar a organização do coágulo sanguíneo e irritar os restos do ligamento periodontal (CARVALHO; OKAMOTO¹¹, 1978). O próprio coágulo sanguíneo, formado após a extração dental, funciona como um verdadeiro corpo estranho, induzindo ao desenvolvimento de reação inflamatória para sua reabsorção, propiciando assim, a formação do tecido de granulação e conseqüentemente o processo de reparo (CATANZARO GUIMARÃES¹³, 1982, KUMAR; ABBAS; FAUSTO³⁹, 2004).

No grupo controle, em que os alvéolos foram preenchidos com coágulo sanguíneo, observou-se que o infiltrado inflamatório manteve-se predominantemente discreto em todos os períodos estudados (tabelas 13, 14, 15 e figura 36), exceto num dos espécimes do período de 7 dias, (tabela 13), em que a reação inflamatória apresentou-se moderada, proporcionando um valor médio de 1,25 (figura 36). Esse fato pode ter ocorrido, provavelmente, em função da quantidade um pouco mais acentuada de macrófagos nos terços médios e apical nos alvéolos analisados.

O processo de reparo alveolar no grupo controle transcorreu normalmente nos períodos estudados, conforme os outros critérios considerados. A densidade de fibroblastos apresentou-se intensa, caindo para moderada nos períodos de 15 e 30 dias (tabelas 16, 17, 18 e figura 37). Essa diminuição da proliferação fibroblástica mostrou-se estatisticamente significativa, conforme os períodos experimentais citados (tabelas 29 e 30). Trata-se de mecanismo justificado pela organização e amadurecimento do tecido de granulação ^{12, 13}.

A densidade angioblástica e a neo-formação óssea apresentaram no grupo controle, um comportamento semelhante. Aos 7 dias, a proliferação angioblástica apresentou-se moderada, passando para intensa nos períodos de 15 e 30 dias (tabelas 19, 20, 21 e figura 38). A neo-formação óssea foi, predominantemente, discreta, passando para intensa nos períodos de 15 e 30 dias (tabelas 22, 23, 24 e figura 39). O aumento acentuado de vasos sanguíneos e da neo-formação óssea no grupo controle foi significativa (tabela 29), confirmando tal significância para os períodos de 15 e 7 dias, bem como para 30 e 7 dias, conforme as tabelas 31 e 32, respectivamente. No transcorrer do processo de reparo alveolar, é natural que ocorra, nos períodos mais avançados um incremento da formação dos vasos sanguíneos concomitante à neo-formação óssea. A atividade osteoblástica e o processo de mineralização necessitam de um aporte sanguíneo adequado. Aos 30 dias os alvéolos dentais apresentaram-se totalmente preenchidos por tecido ósseo e as cristas ósseas vestibulares e palatinas remodeladas, conforme as observações de Gugliemotti; Cabrini³⁴ (1985) e Carvalho; Okamoto¹² (1987).

A implantação de biomateriais, sabidamente biocompatíveis, como partículas de osso inorgânico (grupo II) e de HA (grupo III) geraram, também, reação inflamatória na intimidade do alvéolo dental. Os espécimes que receberam implantes de osso inorgânico, exibiram, aos 7 dias, uma reação inflamatória, predominantemente, moderada com dois espécimes demonstrando processo inflamatório intenso (tabela 13). Tais resultados superaram de modo significativo a reação inflamatória provocada pelo coágulo sanguíneo (tabelas 25 e 26), confirmando a reação do organismo frente ao um corpo estranho implantado^{11, 67, 68}. Todavia, tal reação teve esse desempenho somente aos 7 dias, caindo para discreta aos 15 e 30 dias, igualando-se ao grupo controle (tabelas 14, 15 e figura 36). Essa diminuição da reação inflamatória do período de 7 para 15 e 30 dias, foi significativa (tabelas 29 e 33).

O infiltrado inflamatório crônico, predominantemente, macrofágico mono e multinuclear dispunha-se de permeio às imagens desmineralizadas das partículas de osso inorgânico implantadas, sustentadas por um tecido de granulação. As células gigantes multinucleadas dispunham-se, de modo geral na periferia das imagens das partículas implantadas, mas não assumiram características de clastos em nenhum dos espécimes examinados dos períodos de 7, 15 e 30 dias. De fato, nenhum dos

espécimes examinados demonstrou sinais de reabsorção nas partículas de osso inorgânico implantadas, ao contrário do experimento de Sanada et al.⁶⁶ (2003), que, enxertando osso bovino esponjoso desmineralizado, em tecido muscular de rato, observaram reabsorção do enxerto nos períodos de 14 e 21 dias; Urist⁷⁶ (1965), demonstrou, também, em tecido muscular de rato, processo de reabsorção de osso desmineralizado em ácido clorídrico e Hislop; Finlay; Moos³⁷ (1993), que detectaram, também reabsorção em osso inorgânico (BIO-OSS) implantado em rebordo alveolar de humanos. Por outro lado, experimentos com osso cortical bovino desproteínizado, matriz orgânica de osso cortical e medular em ratos, cães e coelhos os autores não relataram processo reabsortivo do material implantado^{3, 5, 10, 60, 71}. Por outro lado Taga et al.⁷⁵ (2000), relataram que implante de osso alógeno em cobaias, persiste em processo de reabsorção por 12 semanas.

No tecido de granulação, disposto de permeio às partículas de osso inorgânico, ocorreu diminuição da densidade de fibroblastos a partir do período de 15 dias, igualando-se com o de 30 dias (tabelas 16, 17, 18 e figura 37). Tal diminuição foi significativa (tabela 29) entre os períodos de 7 para 15 e para 30 dias (tabela 33), demonstrando organização e amadurecimento do tecido de granulação^{12,13}, a exemplo dos espécimes do grupo controle. A proliferação angioblástica apresentou-se bem característica, numa densidade intensa em todos os períodos (tabelas 19, 20, 21 e figura 38), suplantando de modo significativo, aos 7 dias, o grupo controle (tabelas 25 e 27). O aporte sanguíneo adequado é fundamental para o desenvolvimento do reparo ósseo e nesse sentido foi possível observar nos espécimes representativos do grupo II (osso inorgânico), que o processo de neo-formação óssea nos períodos de 7, 15 e 30 dias foi discreto, moderado e intenso, respectivamente (tabelas 22, 23, 24 e gráfico 39). Esse aumento de tecido ósseo, proporcional aos períodos experimentais foi estatisticamente significativo entre 30 e 7 dias (tabelas 29 e 35), justificando perfeitamente o resultado do exame microscópico dos espécimes de 30 dias, que apresentaram uma exuberante neo-formação óssea. Aos 15 dias, na comparação entre os grupos experimentais e controle, ocorreu uma diferença significativa neste critério (tabela 25), favorecendo o grupo controle em relação ao grupo do osso inorgânico (tabela 28). Aos 7 dias de experimentação o controle já demonstrava maior neo-formação óssea que o osso inorgânico, mas de modo insignificante (tabela 22).

Os espécimes, que receberam implante de HA- β TCP (grupo III) reagiram como os do grupo controle e os do osso inorgânico, demonstrando, a partir do período de 15 dias, o infiltrado inflamatório decrescendo para discreto (tabelas 13, 14, 15 e figura 36), gerando diferenças significantes (tabela 29) entre os períodos de 7 para 15 e de 7 para 30 dias (tabela 36). Essa diminuição da reação inflamatória, ao longo dos períodos estudados, a exemplo do osso inorgânico, está fundamentada na ação agressiva inicial de um corpo estranho^{11, 59, 67, 68} para depois atenuar frente à biocompatibilidade do material implantado^{6, 23, 36, 41, 46, 52, 53, 56, 59, 74, 81}.

A presença de macrófagos e células gigantes no infiltrado inflamatório era uma constante. Entretanto não havia nas margens das partículas de HA implantadas sinais de reabsorção, demonstrando que, pelo menos, nos períodos estudados apresentaram resistência ao fenômeno reabsortivo. Esse fato, está coerente com outros experimentos, cujos autores propuseram que se trata de um material de reabsorção lenta, estabelecendo períodos de 4 a 6 meses⁷⁴, a até 24 meses³ para concluir o processo de reabsorção. O acréscimo do β TCP na proporção de 40% e 60% de HA, melhorou a atividade reabsortiva pela criação de macroporos devido a reabsorção do β TCP, mas num período de observação de um ano^{31 e 32}.

O tecido de granulação induzido pela reação inflamatória crônica¹³ foi analisado por intermédio de dois critérios: densidade fibroblástica e densidade angioblástica. A presença de fibroblastos foi intensa aos 7 dias e moderada aos 15 e 30 dias (tabelas 16, 17, 18 e figura 37), cujas diferenças foram estatisticamente significantes (tabela 29) entre os períodos de 7 e 15 dias e 7 e 30 dias (tabela 37). De fato, como já foi comentado, nos grupos controle e osso inorgânico, trata-se de um processo de organização e amadurecimento do tecido de granulação^{12,13}. A propósito dos fibroblastos, Higashi; Okamoto³⁶ (1996), demonstraram num período de 7 dias, em cultura, que micropartículas densas de HA apresentaram-se cobertas pela proliferação de fibroblastos. Esse aspecto reforça a densidade intensa de fibroblastos aos 7 dias, bem como a biocompatibilidade daquele biomaterial.

A proliferação angioblástica, frente ao implante de HA, foi intensa em todos os períodos (tabelas 19, 20, 21 e figura 38), a exemplo do osso inorgânico. Aos 7 dias (tabela 26) foi detectada uma diferença significativa, superando o grupo controle na neo-formação vascular (tabela 27), ocorrendo o mesmo com o grupo do osso

inorgânico. A justificativa para tal fenômeno é conhecida, trata-se de um processo de reparo com uma crescente neo-formação óssea (tabelas 22, 23, 24 e figura 39), em que ocorreram diferenças significantes (tabela 29) entre os períodos de 30 e 7 dias e entre 15 e 7 dias (tabela 38).

Entre o osso inorgânico (grupo II) e a HA- β TCP (grupo III) não ocorreram diferenças significantes na evolução do processo de reparo. Aos 30 dias, os valores médios para o grupo controle e experimentais, dentro dos critérios estabelecidos como infiltrado inflamatório, densidade fibroblástica, densidade angioblástica e neo-formação óssea, foram todos iguais. Esses achados demonstraram que os biomateriais implantados não retardaram o processo de reparo, contrariando a proposta de Sanches; Okamoto; Carvalho⁶⁷ (1972) e de Brandão et al.⁷ (2002), que implantaram também em alvéolos dentais de ratos a HA e HA/BMPs com a intenção de verificar o processo de osteoindução, mas não obtiveram sucesso; bem como outra associação que foi irritante, provocando atraso no processo de reparo foi a associação de HA mais sulfato de cálcio⁵⁵.

Neste trabalho segundo a metodologia de análise adotada, o processo de neo-formação foi ascendente, ocorrendo no período de 15 dias um avanço significativo do controle sobre o osso inorgânico, mas essas diferenças devem ficar por conta do número de espécimes do grupo controle em relação ao grupo do osso inorgânico. Em relação ao grupo III (HA) houve também uma diferença em relação ao grupo controle, mas insignificante. Então, além da diferença do número de espécimes, pode-se citar, ainda, a subjetividade do método de análise microscópica efetuada por dois examinadores. Entretanto, aos 30 dias não ocorreram diferenças, deixando claro que o xenoenxerto (osso bovino inorgânico) não retardou o processo de neo-formação óssea, mas funcionou como osteopreenchedor^{1,71} e osteocondutor¹⁸. Há experimentos que propõe ainda ao osso inorgânico a função de carreador de proteínas morfogenéticas do osso⁷¹.

Por outro lado segundo Stassen⁷³ (1974), o osso inorgânico não teve desempenho satisfatório em cirurgias paraendodônticas, nos defeitos periodontais não superou, isoladamente, a associação com membrana na evolução do processo de reparo⁴ e no aumento do rebordo alveolar, também não foi satisfatório, mas na cirurgia ortognática integrou-se ao osso receptor³⁷. Os resultados deste trabalho

demonstraram ao contrário, houve a formação de um trabeculado ósseo baseado num processo de osteocondução em sintonia com outros experimentos, que utilizaram osso medular desmineralizado macro e microgranular ou cortical desmineralizado, funcionando como materiais osteopreenchedores ^{5, 10}.

O enxerto aloplástico com 70% de HA e 30% de β TCP, desenvolvido recentemente pela BAUMER SA, apresentou, neste trabalho ações osteopreenchedora e osteocondutora iguais ao do osso inorgânico. A literatura vem demonstrando a participação da HA e dos derivados do fosfato de cálcio de modo satisfatório, nos processos de neo-formação óssea, ^{6, 8, 9, 32, 72} também como carreadores efetivos de BMPs, semelhança na composição do osso mineral e trazendo grandes benefícios para a engenharia tecidual ⁴². Em 1979, Denissen; De Groot²³ demonstraram que o pó de HA tinha a capacidade de aderir ao tecido ósseo de cães e de humanos. No caso das BMPb, os microgrânulos de HA sintética, absorvível não permitiram que aquelas proteínas expressassem o seu potencial indutor, provocando uma reação inflamatória do tipo corpo estranho, inibindo a neo-formação óssea em calvária de ratos ²⁶.

A associação da HA com β TCP vêm sendo utilizada há algum tempo na tentativa de melhorar o processo de reparo ósseo. Desse modo são feitas relações HA- β TCP em proporções variadas e entre elas a proporção de 85% de HA e 15% de β TCP apresentou bons resultados em defeitos ósseos periodontais de cães ⁵⁶. A proporção de 60% de HA e 40% de β TCP, implantada na calvária de ovelhas mostrou, aumento significativo de deposição óssea e de macroporos, oriundos da reabsorção da β TCP, que otimizam a neo-formação óssea ³¹. Todavia, essa mesma proporção não teve um desempenho significativo, no período de um ano, na neo-formação óssea, quando implantada na mandíbula, osso frontal e nasomaxilar de carneiros ³². A proporção de 55% de HA e 45% de β TCP, implantada em fêmures de cães demonstrou, em 12 semanas, osteocondução e osteoindução ⁴⁶.

Neste experimento, a implantação da HA- β TCP, em alvéolos dentais de ratos, na relação de 70% de HA e 30% de β TCP demonstrou, nos períodos estudados, osteocondução na neo-formação óssea.

7 CONCLUSÕES

A metodologia utilizada neste experimento permitiu observar o desenvolvimento normal do processo de reparo alveolar e concluir que:

- ✓ A HA- β TCP, na proporção de 70% e 30%, demonstrou desempenho satisfatório como biomaterial osteocondutor e osteopreenchedor.
- ✓ A HA- β TCP e o osso inorgânico bovino apresentaram o mesmo desempenho no processo de reparo alveolar.

REFERÊNCIAS

- 1- Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-hansen E. Healing of experimental created defects: a review. J Oral Maxillofac Surg. 1995;33(5):312-55.
- 2- Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. Eur Spine J. 2001;10:96-101.
- 3- Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and β -Tricalcium phosphate in canine: A 24-month longitudinal histologic study and morphometric. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004;19(3):357-68.
- 4- Batista EL Júnior, Novaes AB Júnior, Simonpietri JJ, Batista FC. Use of bovine-derived anorganic bone associated with guided tissue regeneration in intrabony defects. Six-month evaluation at re-entry. J Periodont. 1999;70(9):1000-7.
- 5- Betti LV. Análise microscópica e radiográfica do reparo de defeitos confeccionados em fêmures de coelhos preenchidos com matriz óssea bovina medular em bloco ou cortical em microgrânulos [tese]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2004.
- 6- Bonachela WC, Molo FA Júnior, Taga EM, Granjeiro JM. Manutenção do rebordo alveolar com hidroxiapatita microgranular. RGO. 1992;40(3):212-13.
- 7- Brandão AC, Brentegani LG, Novaes AB Júnior, Grisi MFM, Souza SLS, Taba M Júnior, et al. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hydroxyapatite alone or associated to BMPs. Braz Dent J. 2002;13(3):147-54.
- 8- Buchaim RL, Roque DD, Roque JS, Toledo Filho JL, Andreo JC, Okamoto T, et al. Gen-phos implant in surgical cavities performed in the tibia of rats submitted to experimental chronic alcoholism. A microscopic study. Rev FOB. 2002;10(1):17-22.

- 9- Bucholz RW. Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. *Clinical Orthopaedics & Related Reserch*. 2002;395:44-52.
- 10-Carneiro E, Garcia RB, Oliveira RC, Moraes FG, Menezes R, Letra A, et al. Microscopic and radiographic analysis of the effect of particle size of desmineralized bovine cancellous bone matrix on the repair of bone defects in femurs of rabbits. *J Appl Oral Sci*. 2005;13(2):157-62.
- 11-Carvalho ACP, Okamoto T. Implantes intra-alveolares. Considerações sobre estudos experimentais. *Rev Ass Paul Cirur Dent*. 1978;32(4):273-79.
- 12-Carvalho ACP, Okamoto T. Reparação do alvéolo dental. In: *Cirurgia Bucal. Fundamentos experimentais aplicados à clínica*. São Paulo: Panamericana, 1987. p.55-80.
- 13-Catanzaro Guimarães SA. Processo de reparo. In: *Catanzaro Guimarães. Patologia básica da cavidade bucal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p.282-315.
- 14-Chogle S, Mickel AK. An in vitro evaluation of the antibacterial properties of barriers used in guided tissue regeneration. *J Endod*, 2003;29(1):1-3.
- 15-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.
- 16-Coneglian PZA. Avaliação do processo evolutivo de reparo ósseo frente ao sulfato de cálcio e à hidroxiapatita. Estudo microscópico em alvéolos dentários de ratos [dissertação]. Bauru (SP), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2007.

- 17-Conz MB. Caracterização in vitro de grânulos de hidroxiapatita comerciais utilizados em enxertos ósseos [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003.
- 18-Costa Filho LC, Taga RT, Taga EM. Rabbit bone marrow response to bovine osteoinductive proteins and anorganic bovine bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2001;16(6):799-808.
- 19-Cutter C, Mehrara B. Bone grafts and substitutes. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*. 2006;16(3):249-60.
- 20-Dahlin C. A origem científica da regeneração óssea guiada. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. *Regeneração óssea guiada em implantodontia*. São Paulo: Quintessence, 1996. p.31-48.
- 21-Damien CJ. et al. Effect of demineralized bone matrix on bone growth within a porous HA material: a histologic and histometric study. *J Biomater Appl* 1995;9(3):275-88.
- 22- De Groot K. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. *Biomaterials*, 1980;1:47-50.
- 23-Denissen HW, De Groot K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite. *J Prosthet Dent*. 1979;42(5):551-6.
- 24-Dupoirieux L, Costes, V, Jammet P, Souyris F, et al. Experimental study on demineralized bone matrix (DBM) and coral as bone graft substitutes in maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1994;23(6):395-8.
- 25-Estrela C. *Metodologia Científica*. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005.
- 26-Ferreira GR, Cestari, TM, Granjeiro JM, Taga R, et al. 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.

- 27- 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;45(2):771-7.
- 28-Goldmann HM, Cohe W. *Periodontia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1980.
- 29-Goldman RS, Hansen NS, Marcone C, Silva OC, Alonso C, Pinto-Antonio AMM, et al. Tratamento cirúrgico das lesões do periápice com implantes de sulfato de cálcio. *Rev Bras Cir Implant.* 2000;7(25):55-8.
- 30-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;109(2):619-30.
- 31-Gosain AK, Song L, 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.
- 32-Gosain AK, Riordan PA, Song L, Amarante MT, Kalantarian B, Nagy PG, et al. A 1-year study of hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model: III. Comparison with autogenous bone graft for facial augmentation. *Plastic Reconstr Surg.* 2005;116(4):1044-52.
- 33-Groos JS. Bone grafting for dental applications: a practical guide. *Comp Continnuing Educ Dent.* 1997;18(10):1013-36.
- 34-Guglielmotti MB, Cabrini RL. Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: A histologic, radiographic, and histométrico study. *J Oral Maxillofac Surg.* 1985;43:359-64.

- 35-Haibo Wang BS. Hydroxyapatite degradation and biocompatibility [dissertation]. Ohio: The Ohio State University, 2004.
- 36-Higashi T, Okamoto H. Influence of particle size of hydroxyapatite as a capping agent on cell proliferation of cultured fibroblasts. J Endodon. 1996;22(5):236-39.
- 37-Hlislop WS, Finlay PM, Moos KF. A preliminary study into the uses of anorganic bone in oral and maxillofacial surgery. Brit J Oral Maxillofac. 1993;31:144-53.
- 38-Kawachi EY, Bertran CA, Reis RR, Alves OL. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Quím Nova. 2000;23(4):518-22.
- 39-Kumar V, Abbas A, Fausto N. Tecido de renovação e reparações: Regeneração, cicatrização e fibrose. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N. Patologia – Bases patológicas das doenças. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.91-124.
- 40-Lascala NT, Moussali NH. Periodontia clínica. São Paulo: Artes Médicas; 1989.
- 41-Laschke MW, Witt K, Pohlemann T, Menger MD. Injectable nanocrystalline hydroxyapatite paste for bone substitution: In vivo analysis of biocompatibility and vascularization. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater, in press. 2007.
- 42-Le Geros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. Clinical Orthopaedics & Related Reserch, 2002;395:81-98.
- 43-Lindlhen J, Karring T, Lang NP. Tratado de Periodontia clínica e Implantodontia Oral. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- 44-Macneill SR, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. J Clin Periodontol. 1999;26(1):239-45.

- 45-Maeda ST. Implante de sulfato de cálcio em cavidades em fêmures de coelhos – Análise Microscópica [tese]. Bauru (SP), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2005.
- 46-Manjubala I, Sastry TP, Kumar RV. Bone in-growth induced by biphasic calcium phosphate ceramic in femoral defect of dogs. J Biomater Appl. 2005;19:341-59.
- 47-Marx RE, Saunders TR. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca RJ, Davis WH. Rec preprosthetic and Maxillofac Surg Philadelphia: Saunders WB. 1986:347-428.
- 48-Masters DH. Implants. Bone and bone substitutes. Calif Dent Assoc J. 1988;16(1):56.
- 49-Mavropoulos E. A hidroxiapatita como removedor de chumbo [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Osvaldo Cruz; 1999.
- 50-Mellonig JT. Human histologic evaluation of bovine derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. Int J Period Rest Dent, 2000;20(1):19-29.
- 51-Miranda ES, Cardoso FT, Medeiros Filho JF, Barreto MDR, Teixeira RMM, Wanderley AL, et al. Organic and inorganic bone graft use in rabbits radius surgical fractures repair: a experimental and comparative study. Acta Ortop Bras. 2005;13(5):254-48.
- 52-Miyagi SPH, Ruano R, Jaeger MMM. Análise do crescimento e da viabilidade de fibroblastos derivados de mucosa humana cultivados sobre hidroxiapatita. RPG Rev Pós Grad, 1999;6(2):127-131.

- 53-Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. ANZ J Surg. 2001;71:354-61.
- 54- Munro NA, Downing MR, Meakin JR, Lee AJ, Ashcroft GP. A hydroxyapatite graft substitute reduces subsidence in a femoral impaction grafting model. Clin Orthop Relat Res, 2007;455:246-52.
- 55-Nary Filho H, Okamoto T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de Hapset (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Bauru. 1996;4(1/2):55-64.
- 56-Nery EB, Le Geros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/BTCP in periodontal osseous defects. J Periodontol, 1992;63(9):729-35.
- 57-Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. Rev Fac Odont Araçatuba, 1973;2(2):153-69.
- 58-Okamoto T, Okamoto R, Alves Rezende MCR, Gabrielli MFR. Interference of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. Histomorphological study in rats. Braz Dent J, 1994;5(2):85-92.
- 59-Oliveira DT, Granjeiro JM, Maeda L, Chacon M, Fonseca MA, Taga EM, et al. Hidroxiapatita microgranular: comportamento biológico em tecido subcutâneo de ratos. Rev Odontol UNESP. São Paulo, 1993;22(2):197-202.
- 60-Oliveira RC, Sicca CM, Silva TL, Cestari TM, Oliveira DT, Buzalaf MAR. Effect of deproteinization temperature on the preparation of microgranular bovine cortical bone: microscopic biochemical analysis in rat subcutaneous tissue. Rev Fac Odontol Bauru. 1999;7(3/4):85-93.
- 61-Pecora G, Baek SH, Rethnam S, Kim S, Phil M. Barrier membrane techniques in endodontic microsurgery. Dent Clin North Am, 1997;41(3):585-602.

- 62-Rumpel E, Wolf E, Kauschke E, Bienengraber V. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo. *Folia Morphol.* 2006;65(1):43-8.
- 63-Saad Neto M, Carvalho ACP, Okamoto T. Comportamento do processo de reparo em feridas de extração dental após o implante de esponja de gelatina. Estudo histológico em ratos. *Revista APCD*, 1975;44-7.
- 64-Saad Neto M, Carvalho ACP, Okamoto T. Prosplant implantation into rat dental sockets. *Rev Odont UNESP*, 1979/1980;8(9):27-33.
- 65-Saad Neto M, Callestini EA, Okamoto T. Indicações clínicas e perspectivas futuras de substâncias e materiais empregados no alvéolo dental. *Rev Regional Araçatuba APCD*, 1987;8(1):7-10.
- 66-Sanada JT, Rodrigues JGR, Canova GC, Cestari TM, Taga EM, Rumio T, et al. Histologic, radiographic and imunoglobuline profile analysis after implantation blocks of demineralized bovine cancellous bone graft in muscle of rats. *J Appl Oral Sci.* 2003;11(3).
- 67-Sanches MM, 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):83-90.
- 68-Sanches MG, Carvalho ACP, Okamoto T, Callestini EAC. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de “cera óssea”. Estudo histológico em ratos. *Rev Fac Odont Araçatuba.* 1976;5(1):31-9.
- 69-Sciadini MF, et al. Evaluation of bovine-derived bone with a natural coraal carrier as a bone-graft substitutes in a canine segmental defect mode. *J Orthop Res.* 1997;15(6):844-57.
- 70- Service RF. Tissue engineers build new bone. *Science*, 2000;289(5484):1498-1500.

- 71-Sicca CM, et al. Efeito do tamanho da partícula na resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Avaliação microscópica e bioquímica. Rev FOB, 2000;8(1/2):1-10.
- 72-Silva RV, Camilli JA, Bertran CA, Moreira NH. The use hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005;34:178-84.
- 73-Stassen LFA, Hislop WS, Still DM, Moos KF. Use of anorganic bone in periapical defects following apical surgery – a prospective trial. Brit J Oral Maxillofac Surg. 1994;32(2):83-5.
- 74-Taga EM. Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica. BCI – Rev Bras Cirurg Implant. 1996;3(1) 59-69.
- 75-Taga R, Cestari TM, Taga EM, Tavano O, Granjeiro JM. Evolução de enxertos ósseos autógenos e alógenos colocados em defeitos ósseos de tamanho crítico em calvária de cobaias. BCI – Rev Bras Cirurg Implant. 2000;7(26):37-44.
- 76-Urist MR. Bone: Formation by Autoinduction. Science, 1965;150:893-99.
- 77-Urist MR, Strates ES. Bone formation in implants of partially and wholly desmineralized bone matrix. Clin Orthop Rel Res, 1970;71:271-78.
- 78-Urist MR. A bone morphogenetic system in residues of bone matrix in the mouse. Clin Orthop., 1973;91:210-20.
- 79-Weinfeld I, Magalhães LV, Magalhães J, Villa N. Histologic study of a new material (Biobone) indicated to bone regeneration. Rev Paul Odontol. 1999;21(4):8-10.
- 80-Willians DF. Definitions in biomaterials. In: Atualização em periodontia e implantodontia. São Paulo: Artes Médicas, 1999.

- 81-Zambuzzi WF, Oliveira RC, Alanis D, Menezes R, Letra A, Cestari TM, et al. Microscopic analisys of porous microgranular bovine anorganic bone implanted in rat subcutaneous tissue. J Appl Oral Sci, 2005;13(4):382-6.

Anexo A – Aprovação da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

**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° 29/2005

Bauru, 16 de março de 2007.

Senhor Professor,

Em atenção à solicitação de Vossa Senhoria para alteração do título do trabalho de pesquisa "Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao osso bovino inorgânico liofilizado e ao sulfato de cálcio. Análise microscópica em alvéolos dentários de ratos", de autoria de Roberta Dias Garcia, sob sua orientação, para **"Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao implante de osso bovino inorgânico e de hidroxiapatita BTCP. Análise microscópica em alvéolos dentários de ratos"**, *"ad referendum"*, nesta data, considerando não haver infrações éticas.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Antônio de Assis Taveira, em exercício
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante

Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários