UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
PÓS-GRADUAÇÃO EM PERIODONTIA

FERNANDO PANDO DE MATOS

**Análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em
osteotomia de corpo mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos
após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Estudo
piloto em cães**

Ribeirão Preto

2012

FERNANDO PANDO DE MATOS

**Análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em
osteotomia de corpo mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos
após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Estudo
piloto em cães**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto - USP,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Cirurgia Buco-
Maxilo-Facial.

Orientador: Prof. Dr. Cássio Edvard
Sverzut

Ribeirão Preto

2012

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

de Matos, Fernando Pando

Análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em osteotomia de corpo mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Estudo piloto em cães.

67p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Área de concentração: Cirurgia Buco-Maxilo-Facial.

Orientador: Sverzut, Cássio Edvard.

1. fixação interna. 2. osteotomia. 3. reparo ósseo. 4. polímeros. 5. biodegradável

Trabalho realizado no Biotério II, no Laboratório de Histologia e no Laboratório de Microscopia e Análise de Imagem da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Processo n.º 07/00892-8).

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernando Pando de Matos

Análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em osteotomia de corpo mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Estudo piloto em cães.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: ____/____/2012

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu pai JOSÉ LOURA DE MATOS e a minha mãe ARALETE PANDO DE MATOS que nunca mediram esforços para proporcionar o que eles não tiveram a oportunidade de ter. São meus exemplos de caráter, dedicação, honestidade e humildade. Sem vocês talvez esse sonho não pudesse se tornar realidade. Muito obrigado pelo apoio incondicional durante todos estes anos!

Aos meus irmãos RAFAEL PANDO DE MATOS e FÁBIO PANDO DE MATOS pela união e amizade que nos fortalece cada vez mais, mesmo estando todos distantes fisicamente. Muito obrigado!

À minha noiva ANA CLARA PEDROSA MASSARO, pelo apoio e incentivo demonstrados todos estes anos. Sua compreensão tornou esta caminhada muito mais fácil. Muito Obrigado.

À minha avó ERMINDA XAVIER CARDOSO que sempre fez de tudo pelos netos. Agradeço as orações diárias que faz em meu nome. Muito obrigado LOLÓ.

AMO VOCÊS!!

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

À DEUS, por me dar saúde, uma família maravilhosa e por colocar no meu destino Ribeirão Preto e esta escola. POR TUDO, MUITO OBRIGADO!

Ao Prof. Dr. VALDEMAR MALLET DA ROCHA BARROS, por me abrir as portas da Cirurgia ainda nos anos de graduação. Apesar dos inúmeros afazeres, sempre teve tempo para prontamente ouvir dúvidas e anseios. Exemplo de professor, caráter, honestidade, fraternidade e dedicação ao ensino. Muito obrigado pela convivência, amizade e pela confiança sempre depositada em mim. Considero o senhor membro da minha família.

Ao Prof. Dr. ALEXANDRE ELIAS TRIVELLATO, por ser um exemplo de cirurgião. Tive o privilégio de ser seu primeiro orientado de iniciação científica. É responsável direto por minha formação como cirurgião. É exemplo de seriedade e dedicação incomparáveis. Muito obrigado pela amizade e por tudo que me ensinou.

Ao meu orientador Prof. Dr. CÁSSIO EDVARD SVERZUT, pessoa que admiro não apenas pelo cirurgião que é, mas por ser exemplo de liderança, caráter, honestidade, humildade e dedicação ao ensino e no tratamento ao paciente. Também é responsável direto pela minha formação como cirurgião. Foi uma honra ter sido seu orientado. Agradeço o convívio, amizade e por tudo que me ensinou dentro e fora do centro cirúrgico. O senhor é muito mais do que simplesmente professor pra mim. Muito obrigado Prof. CÁSSIO.

AGRADECIMENTOS

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FORP-USP, que desde a graduação (2003) me acolheu e passou a ser fonte inestimável de conhecimento.

Ao Professor PAULO TAMBASCO DE OLIVEIRA, pela inestimável ajuda na análise histológica deste trabalho, mesmo quando seu tempo parecia escasso. É exemplo de seriedade e dedicação ao ensino e a pesquisa. Muito obrigado Prof. PAULO!

Ao Prof. Dr. MÁRIO TABA JÚNIOR pela ajuda na análise estatística deste trabalho.

À professora ELIANA APARECIDA DE REZENDE DUEK, pelo fornecimento do material de fixação biodegradável utilizado neste estudo.

Aos professores do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia, LUIZ ANTONIO SALATA, SAMUEL PORFÍRIO XAVIER, ARTHUR BELÉM NOVAES JÚNIOR, SÉRGIO LUÍS SCOMBATTI DE SOUZA, DANIELA BAZAN PALIOTO, MÁRCIO FERNANDO DE MORAES GRISI por terem contribuído com minha formação profissional, em especial aos Profs. Drs. ADALBERTO LUIZ ROSA e MÁRCIO MATEUS BELOTI pelas orientações em aulas e seminários, e por serem exemplos de pesquisadores.

Ao pós-doutorando ALEXANDER TADEU SVERZUT, pela amizade, agradável convivência e pelos conhecimentos transmitidos.

À cirurgiã Buco-Maxilo-Facial ELIS CRISTINA SERRA, pela agradável convivência e conhecimentos transmitidos durante o período de especialização e prática profissionalizante.

Ao técnico do Laboratório de Histologia SEBASTIÃO CARLOS BIANCO pela ajuda no processamento histológico deste trabalho, pela amizade, presteza e eficiência sempre demonstradas.

À técnica do Laboratório de Microscopia e Análise de Imagem ADRIANA LUIZA GONÇALVES DE ALMEIDA pela ajuda no processamento histológico deste trabalho, pela agradável convivência, amizade, presteza e ensinamentos transmitidos.

Às secretárias do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da FORP-USP, APARECIDA DULCE DE OLIVEIRA NEGRETTI e TATIANA ANGELI PASSOS FERNANDES, pelo convívio, presteza e ajuda com os assuntos relacionados a pós-graduação.

Às funcionárias da Clínica de Cirurgia da FORP-USP, ROSÂNGELA APARECIDA FEREZIM e CAMILA SAMPAIO pela ajuda e presteza na clínica.

Ao funcionário GLEDSON ANTUNES DA SILVA, pela amizade, agradável convivência e ajuda na clínica de cirurgia.

Aos funcionários do Biotério ALDO DIAS JR. e EDSON CAMPOS DOS SANTOS pela ajuda no cuidado e tratamento dos animais e pela agradável convivência.

Ao grande amigo ANDRÉ OLIVEIRA PEPATO, que foi praticamente um irmão durante todos estes anos, os quais dividimos anseios, expectativas e sonhos. Estivemos juntos desde a graduação. Tenho certeza que nossa amizade continuará sempre viva. Muito obrigado PEPATO.

Ao colega de especialização e amigo MICHEL CAMPOS RIBEIRO, por ter sido um R3 com grande capacidade de liderança. Muito obrigado pelas orientações e conhecimentos transmitidos e pelos agradáveis momentos, e alguns poucos sofrimentos compartilhados durante os jogos do São Paulo.

Ao amigo THIAGO IAFELICE DOS SANTOS, mestrando da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais do ano de 2006-2008 que muito me incentivou durante os anos de graduação na busca do conhecimento. Muito Obrigado THIAGO.

Aos colegas de Prática Profissionalizante e amigos MARCO AURÉLIO YAMAJI e EDUARDO MEDEIROS pelo convívio, amizade, por ajudarem no atendimento aos pacientes, e por compartilharem momentos dentro e fora da FORP-USP.

À colega de Prática Profissionalizante e amiga PRISCILA FALEIROS BERTELLI TRIVELLATO pelos anos de convivência e pelos conhecimentos transmitidos. Pessoa de coração enorme. Muito obrigado PRISCILA.

Aos colegas de turma de mestrado, DARKLILSON SANTOS, EMANUELA FERRAZ, GUSTAVO GROSSI, MARCUS BREDÁ, WILLIAN DE MORAES e ANTÔNIO AZOUBEL pela convivência e pelos conhecimentos compartilhados nas aulas e seminários.

Aos colegas de especialização ANA PAULA MACHADO, LUCIANA SCCHIERI, ANA CAROLINA HAWTHORNE E ANDRÉ TEIXEIRA pelo coleguismo e conhecimentos transmitidos; e as colegas de Prática Profissionalizante KELMARA PINHO e PRISCILLA ABDALA por ajudarem nos atendimentos aos pacientes e nas tarefas atribuídas.

Aos colegas da turma de Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais do ano de 2008-2010 em especial MARCELO RODRIGUES AZENHA, RENAN DE BARROS LIMA BUENO E ROGÉRIO BENTES KATO pela agradável convivência dentro e fora da FORP-USP.

Aos colegas de Residência PAULO ALCEU TRINDADE, RAFAEL TAJRA, FERNANDO PIRES, PATRICK OSBORNE E RAPHAEL RAMOS pela convivência e respeito mútuos.

À FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO, FAPESP, pelo auxílio financeiro para realização deste trabalho, pela concessão da bolsa de mestrado e anteriormente pela bolsa de iniciação científica.

À todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, MUITO OBRIGADO!

EPÍGRAFE

*"Viva como se fosse morrer amanhã.
Aprenda como se fosse viver para sempre."*

Mahatma Gandhi

RESUMO

RESUMO

DE MATOS, F. P. **Análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em osteotomia de corpo mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Estudo piloto em cães.** 2012. 67p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de uma análise histológica e histométrica, o processo de reparo ósseo em osteotomia mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos utilizando um sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm. Seis cães foram submetidos a uma osteotomia vertical unilateral realizada entre o 3º e o 4º pré-molares mandibulares (lado experimental), estabilizada com aplicação de duas placas de quatro furos e parafusos manufaturados com ácido poli-L-DL-lático (70:30). No lado mandibular contra-lateral (lado controle) foi realizada apenas uma demarcação óssea superficial na cortical vestibular e metade do sistema de FI (duas placas de dois furos) foi utilizado. Após 2 e 18 semanas os animais foram eutanasiados e as regiões de osteotomia e interface entre tecido ósseo e parafusos foram removidas para análise microscópica. Cada parafuso foi seccionado no seu longo eixo e a região de osteotomia foi dividida igualmente em três partes: a parte superior próxima ao processo alveolar foi denominada Terço de Tensão (TT), a parte inferior de Terço de Compressão (TC) e a parte entre TT e TC, Terço Intermediário (TI). A análise histológica mostrou no período de 2 semanas, áreas de contato ósseo direto entre a superfície do parafuso e o tecido ósseo lamelar original. No período de 18 semanas, um tecido conjuntivo não mineralizado composto por três camadas microscopicamente distintas foi observado na interface entre tecido ósseo e parafusos. Nesta área, não houve diferença estatisticamente significativa no contato entre tecido ósseo e parafusos entre os lados controle e experimental em ambos os períodos analisados. Na área de osteotomia foi observada, em 18 semanas, união entre os fragmentos ósseos caracterizada por trabéculas ósseas interconectadas e alguns sistemas osteonais neofomados. Diferença estatisticamente significativa de neoformação óssea foi verificada entre o TT, TI e TC ($p=0,019$). Em conclusão, o sistema biodegradável utilizado neste estudo permitiu a ocorrência do reparo ósseo na região de osteotomia devido ao ambiente biomecânico criado e as características teciduais adjacentes aos parafusos biodegradáveis foram altamente influenciadas pelas propriedades do ácido poli-L-DL-lático (70:30).

Palavras-chave: fixação interna, osteotomia, reparo ósseo, polímeros, biodegradável

ABSTRACT

ABSTRACT

DE MATOS, F. P. **Histologic and histometric analysis of bone repair in mandibular body osteotomy and bone-screw interface after using a biodegradable 2.0-mm internal fixation system: A pilot study in dogs.** 2012. 67p. Dissertation (Master Degree) – School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

The aim of this study was to evaluate histologic and histometrically the bone repair in mandibular body osteotomy and bone-screw interface after using a biodegradable 2.0-mm internal fixation system. Six dogs were subjected to an unilateral osteotomy in mandibular body (experimental side), which was stabilized by applying two 4-hole plates manufactured with poly-L-DL-lactic acid (70:30). In the opposite side (control side), a superficial demarcation on the buccal cortical was performed and half of the IF system (two 2-hole plates) was applied. After 2 and 18 weeks, the dogs were euthanized and the osteotomy site and the bone-screw interface were removed for microscopic analysis. Each screw was sectioned along its long axis and the osteotomy sites were divided equally into three parts: the upper part was labelled the Tension Third (TT), the lower part Compression Third (CT), and the part between the TT and CT Intermediary Third (IT). Histologic analysis showed areas of direct contact between the screw surface and the parent lamellar bone at 2 weeks. At 18 weeks, three microscopically distinct layers at the bone-screw interface were noted. No statistically significant difference was observed in the bone-to-screw contact between the control and experimental sides for each time point. At the osteotomy sites, union between the bone fragments was observed at 18 weeks characterized by interconnected parallel-fibered bone trabeculae and some newly formed osteonal systems. Statistically significant difference of newly formed bone among TT, IT and CT ($p=0.019$) was observed. In conclusion, the biodegradable IF system used in this study was able to allow the bone repair at the osteotomy site due to the biomechanical environment created and the characteristics of the tissue adjacent to the biodegradable screws were highly influenced by the properties of the poly-L-DL-lactic acid (70:30).

Key words: internal fixation, osteotomy, bone repair, polymers, biodegradable

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1°	Primeiro
2°	Segundo
3°	Terceiro
4°	Quarto
<	Menor
±	Mais ou menos
=	Igual
*	Asterisco
°C	Graus Celsius
%	Por Cento
µm	Micrometro
AO/ASIF	Arbeitsgemeinschaft fur Osteosynthesefragen / Association for the Study of Internal Fixation
APG	Ácido poliglicólico
APL	Ácido polilático
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COP	Contato entre tecido ósseo e parafuso
D	Dextrógira
DC 300F	Câmera digital modelo 300F
DMLB	Modelo de microscópio da marca Leica
DP	Desvio padrão
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FI	Fixação interna
g	Grama
HE	Hematoxilina-Eosina
IM50	Programa de computador Image Manager
ImageJ	Programa de computador
K	Valor de k para o pós-teste estatístico
Kg	Kilograma
L	Levógira
mg/dL	Miligrama por decilitro

mg/Kg	Miligrama por Kilograma
mL	Mililitro
mL/Kg	Mililitro por kilograma
mm	Milímetro
PLLA	Ácido poli-L-lático
PDLLA	Ácido poli-DL-Lático
PL/DLLA	Ácido poli-L-DL-lático (70:30)
p	valor de p ou significância estatística
QWinPlus	Programa de computador
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (software para análise estatística)
TC	Terço de Compressão
TI	Terço Intermediário
TT	Terço de Tensão
UI	Unidades internacionais
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	25
2 - MATERIAL E MÉTODO	29
2.1 - Animais	29
2.2 - Sistema de Fixação Interna	29
2.3 - Procedimento cirúrgico	31
2.3.1 - Lado Experimental	31
2.3.2 - Lado Controle	34
2.4 - Eutanásia dos animais	36
2.5 - Obtenção dos Espécimes e preparo das peças para microscopia óptica	36
2.5.1 - Redução dos espécimes:	36
2.5.2 - Preparação dos espécimes para microscopia óptica:	38
2.5.2.1 - <i>Área de osteotomia:</i>	38
2.5.2.2 - <i>Interface entre tecido ósseo e parafusos:</i>	39
2.6 - Forma de Análise dos Resultados	39
2.6.1 - Análise Histológica	39
2.6.2 - Análise Histométrica	39
2.6.2.1 - <i>Área de osteotomia</i>	39
2.6.2.2 - <i>Interface entre tecido ósseo e parafusos</i>	40
2.6.3 - Análise Estatística	41
2.6.3.1 - <i>Área de osteotomia</i>	41
2.6.3.2 - <i>Interface entre tecido ósseo e parafusos</i>	41
3 - RESULTADOS	43
3.1 - Análise Histológica	43
3.1.1 - Área de Osteotomia	43
3.1.1.1 - <i>Período (2 semanas)</i>	43
3.1.1.2 - <i>Período (18 semanas)</i>	43
3.1.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos	44
3.1.2.1 - <i>Período (2 semanas)</i>	45
3.1.2.2 - <i>Período (18 semanas)</i>	45
3.2 - Análise Histométrica	47
3.2.1 - Área de osteotomia	47

3.2.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos	48
3.2.2.1 - <i>Período (2 semanas)</i>	48
3.2.2.2 - <i>Período (18 semanas)</i>	48
4 - DISCUSSÃO	51
5 - CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	60
ANEXOS	66
ANEXO A - Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais	66
ANEXO B - Modelo de solicitação para esterilização do material polimérico	67

INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

Um dos princípios para o tratamento das fraturas e osteotomias faciais é a obtenção de uma adequada estabilização dos fragmentos ósseos. Nas últimas décadas, os sistemas de fixação interna (FI) manufaturados em titânio ou em suas ligas têm sido utilizados mundialmente com este propósito. Entretanto, apesar de excelentes propriedades mecânicas, estes sistemas metálicos permanecem *in situ* após terminado o processo de reparo ósseo (BUIJS et al., 2012).

De acordo com a literatura científica, a permanência prolongada dos sistemas metálicos no esqueleto facial pode desencadear inúmeros problemas como corrosão do metal, interferência em exames de imagem, alteração de contorno anatômico, palpabilidade, perda de retenção e posterior extrusão do sistema, sensibilidade térmica, possível atrofia óssea ou osteopenia causada pelo efeito stress shielding, infecção, interferência na terapia com radiação ionizante, reações alérgicas, desconforto psicológico do paciente e a possibilidade de migração relativa do sistema devido ao crescimento aposicional do osso craniofacial, especialmente em crianças (BAHR et al., 1999; PIETRZAK, 2000; QUERESHY et al., 2000; GABRIELLI et al., 2003; SUZUKI et al., 2004; CHACON et al., 2005; KIELY et al., 2006). Na tentativa de solucionar estes problemas, esforços têm sido direcionados no sentido de se desenvolver uma classe de materiais, os polímeros biodegradáveis (PIETRZAK, 2000; QUERESHY et al., 2000; WOOD, 2006).

O primeiro polímero sintético, o ácido poliglicólico (APG), foi utilizado no ano de 1970 em fios de sutura (MCCARTHY, 1970). No ano seguinte, o ácido polilático (APL) foi utilizado como material de síntese para aproximação dos fragmentos ósseos para o tratamento de osteotomia em sínfise mandibular de macacos (CUTRIGHT et al., 1971). Em 1972, placas e parafusos manufaturados com APL foram utilizados no tratamento de osteotomia mandibular em cães e lâminas de APL foram usadas no tratamento de defeitos ósseos em assoalho orbitário de macacos (GETTER et al., 1972; CUTRIGHT; HUNSUCK, 1972). Desde então, muitos estudos foram e estão sendo realizados no sentido de se encontrar um material que possa aliar adequada resistência mecânica, biocompatibilidade e tempo adequado de biodegradação.

O APL e o APG têm sido os polímeros biodegradáveis mais pesquisados na literatura científica. Estes polímeros podem ser aplicados separadamente, em associação entre si ou com seus isômeros, e/ou com outras substâncias como a hidroxiapatita (IIZUKA, 1999;

BAHR et al., 1999; QUERESHY et al., 2000; ISHII et al., 2003; EPPLEY, 2005; NIEMINEN et al., 2008). O APL por exemplo, possui duas formas enantioméricas (estéreo isômeros opticamente ativos), a levógira (L) e a dextrógira (D), que apresentam a mesma formulação química plana, mas configurações estruturais ou espaciais opostas. Alterando a proporção entre as formas L e D alteram-se também as propriedades físicas do material, especialmente a resistência e o tempo de degradação do polímero (EGLIN; ALINI, 2008). Apesar disto, estes polímeros ainda demonstram algumas deficiências físicas e químicas como inadequada flexibilidade, alta cristalinidade e período de biodegradação prolongado (BERGSMA et al., 1995; GRIFFITH, 2000).

O sistema de FI biodegradável deve manter a estabilidade dos segmentos ósseos durante o processo de reparo ósseo e gradualmente retransferir o stress funcional ao osso enquanto o próprio sistema de FI é degradado (BERGSMA et al., 1995).

Embora os sistemas de FI manufaturados com polímeros biodegradáveis possuam um custo bem superior aos seus análogos metálicos, os mesmos se mostram operacional e economicamente promissores. O custo mais elevado se deve principalmente ao alto custo da matéria prima, elevada sofisticação na sua manufatura e processo de esterilização e acondicionamento (PIETRZAK, 2000). Portanto, o desenvolvimento e avaliação de um sistema biodegradável manufaturado no Brasil são importantes no sentido de minimizar custos e analisar sua biocompatibilidade e comportamento biomecânico. Estes fatores são essenciais para tornar estes sistemas nacionais uma realidade e possibilitar a disseminação do seu uso.

Independentemente do sistema de placas e parafusos utilizado, metálico ou biodegradável, o tratamento de fraturas e osteotomias do esqueleto facial necessita de adequada ancoragem mecânica dos parafusos utilizados na síntese para favorecer a ocorrência do reparo ósseo (BÄHR, 1992; BÄHR; LESSIG, 1992; DOS SANTOS et al., 2007). Parafusos sem retenção podem resultar em instabilidade entre os segmentos ósseos, osteomielite, infecção dos tecidos moles e não-união (BÄHR, 1992; BÄHR; LESSIG, 1992; GABRIELLI et al., 2003). Esta ancoragem pode ser avaliada analisando-se a natureza do contato entre a superfície dos parafusos e o tecido ósseo (BÄHR; LESSIG, 1992; DOS SANTOS et al., 2007). Quanto maior este contato maior será a fricção entre ambos e portanto, maior será a retenção (BÄHR, 1992; BÄHR; LESSIG, 1992). Desta forma, o melhor entendimento do processo de reparo ósseo adjacente aos parafusos do sistema de FI pode ajudar otimizar os procedimentos, técnicas, instrumentação e manufatura dos parafusos. Adicionalmente, existe uma importante correlação entre as reações teciduais que ocorrem

simultaneamente na área de osteotomia e na interface entre tecido ósseo e parafusos (DOS SANTOS et al., 2007). Conforme o processo de reparo ósseo progride na área de osteotomia, as cargas sobre os parafusos utilizados no sistema de FI vão sendo gradativamente diminuídas.

Somente alguns estudos na literatura científica objetivaram avaliar simultaneamente os processos de reparo ósseo na área de osteotomia e interface entre tecido ósseo e parafusos. Além disso, quando um sistema biodegradável é aplicado, estes estudos tornam-se ainda mais escassos.

Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar uma análise histológica e histométrica do processo de reparo ósseo em osteotomia mandibular e interface entre tecido ósseo e parafusos após o uso do sistema de fixação interna biodegradável de 2,0mm, de fabricação nacional, aplicado para estabilizar segmentos ósseos em mandíbulas de cães.

MATERIAL E MÉTODO

2 - MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo - Campus Ribeirão Preto, protocolo n.º 07.1.188.53.9 (Anexo A) e recebeu auxílio à pesquisa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo n.º 07/00892-8.

2.1 - Animais

Foram utilizados 06 cães machos entre 3 e 8 anos de idade, de raça não definida, com peso corporal variando de 15 a 20kg. Os animais foram pré-selecionados do Biotério Central da Universidade de São Paulo – Campus de Ribeirão Preto. Foram incluídos somente aqueles com boa saúde geral, ou seja, sem patologias sistêmicas aparentes, livres de lesões bucais de origem bacteriana, viral ou fúngica e que apresentaram os maxilares íntegros, constatados por um médico veterinário.

2.2 - Sistema de Fixação Interna

Foi analisado o sistema de Fixação Interna (FI) biodegradável manufaturado com ácido poli-L-DL-lático, na proporção de 70:30. Uma amostra destes parafusos foi submetida a análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para verificar possíveis falhas estruturais, como fissuras ou gaps na superfície do material (Figura 1). Este sistema de FI está sendo desenvolvido no Departamento de Engenharia de Materiais da Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas com o auxílio à pesquisa da FAPESP (Processo n.º 04/02534-3). As placas e parafusos foram enviados para esterilização por raios gama no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), localizado na cidade de São Paulo (Anexo B), previamente a sua utilização.

Figura 1: Imagem por MEV demonstrando parafusos do sistema 2,0mm manufaturados com ácido poli-L-DL-lático (70:30), previamente a sua utilização, evidenciando uma superfície regular sem sinais de fissuras ou *gaps* (A-B).

A disposição das placas e o uso de parafusos com engajamento mono ou bicortical obedeceram ao recomendado pela Arbeitsgemeinschaft fur Osteosynthesefragen / Association for the Study of Internal Fixation (AO/ASIF) para linhas de fraturas transversais em mandíbula sem deslocamento (SCHILLI et al., 1998). Foram utilizadas duas placas, sendo que uma foi localizada próxima ao rebordo alveolar e a outra, próxima à base mandibular.

As placas posicionadas próximas ao rebordo alveolar foram fixadas com parafusos de 7,0mm de comprimento, correspondendo à fixação monocortical. Os parafusos para fixação das placas localizadas próximas à base da mandíbula tiveram comprimento mínimo de 12,0mm, correspondendo à fixação bicortical.

2.3 - Procedimento cirúrgico

Os animais foram mantidos em jejum alimentar sólido e líquido previamente ao procedimento cirúrgico. Visando a prevenção de infecção pós-operatória os animais receberam 20.000UI de Penicilina e Estreptomicina (1,0g/10Kg de peso corporal) por via intramuscular.

Inicialmente como medicação pré-anestésica foi administrada Acepromazina 0,2% (0,1mL/10Kg de peso corporal) por via endovenosa. Com o animal sedado, foi aplicado um cateter em seu membro torácico utilizando a veia cefálica. O acesso foi mantido durante todo o procedimento cirúrgico com infusão contínua de solução fisiológica 0,9% para controle hídrico do animal, além da manutenção de uma via para administração de medicamentos. Quinze minutos após, o animal recebeu Zolepam/Tiletamina 0,12mL/Kg de peso por via endovenosa para a indução da anestesia. Após a indução anestésica, o cão foi intubado por via orotraqueal. A anestesia foi mantida utilizando uma mistura de Isoflurano e oxigênio fornecida por meio de vaporizador e uma dose de Cetoprofeno (2mg/kg de peso) foi administrada por via subcutânea.

No período pré-operatório imediatamente após a anestesia geral, os cães foram submetidos a anti-sepsia intra e extrabucal por meio do emprego de solução tópica e alcoólica de polivinil pirrolidona iodo, respectivamente. Após a colocação do campo cirúrgico fenestrado, foi aplicada injeção de 1,8mL de anestésico local¹ na superfície vestibular da região de molares e pré-molares mandibulares, utilizando a técnica de infiltração supraperiosteal.

O corpo mandibular foi abordado através de incisão linear no fundo de sulco vestibular, sendo o periósteo descolado visando a exposição da cortical óssea.

2.3.1 - Lado Experimental

Um lado da mandíbula foi escolhido de forma randomizada, por meio de sorteio simples com auxílio de uma moeda, para ser o lado osteotomizado, ou seja, o lado experimental. Para promover um defeito ósseo contínuo na mandíbula foi empregada uma lâmina montada em micro-serra recíprocante², adaptada a um motor elétrico³ e sob irrigação abundante com solução fisiológica 0,9% estéril. A lâmina foi posicionada perpendicularmente a superfície da cortical óssea vestibular entre o 3º e o 4º pré-molares mandibulares.

¹ Mepivacaina 2% associada à adrenalina 1:100.000 UI, Dentsply, Catanduva - São Paulo, Brasil.

² Dentscler Ind. Ap. Odontológicos Ltda, Ribeirão Preto – São Paulo, Brasil.

³ Dentscler Ind. Ap. Odontológicos Ltda, Ribeirão Preto – São Paulo, Brasil.

Terminada a osteotomia, foi realizada mobilização dos segmentos ósseos com o auxílio do cinzel de Sverzut para a constatação do êxito na separação dos mesmos. Sendo positiva, foi realizada adequada redução e estabilização dos segmentos ósseos com uso de pinça cremalheira e posteriormente uma placa de quatro furos foi adaptada à superfície óssea próxima da crista do rebordo alveolar (zona de tensão). Para que esta adaptação fosse a mais adequada possível, a placa foi imersa em solução fisiológica 0,9% estéril contida em uma cuba de aquecimento elétrico⁴ (Figura 2) e aquecida a 55°C por até 5 minutos. Após este período, a placa se tornou maleável e foi facilmente adaptada à superfície óssea digitalmente. Para estabilização desta placa, foram obtidas perfurações utilizando-se uma broca de 1,75mm de diâmetro, com limitação de profundidade de 7,0mm. Após cada perfuração, foi utilizado um formador de rosca na profundidade previamente obtida pela broca e então um parafuso de 7,0mm de comprimento foi inserido. A fixação da placa foi iniciada inserindo-se os parafusos biodegradáveis pelos furos da placa mais próximos da linha de osteotomia.

Figura 2: Cuba de aquecimento elétrico protegida com plástico estéril, contendo solução fisiológica 0,9% estéril e aquecida a 55°C.

Posteriormente, foi realizada adaptação e fixação da placa de quatro furos próxima à base mandibular (zona de compressão). A adaptação desta placa seguiu os mesmos passos da placa posicionada na zona de tensão, ou seja, imersão em solução fisiológica aquecida a 55°C

⁴ Inion Thermo, Inion Inc., Tampere, Finlândia.

por até 5 minutos e posterior adaptação à superfície óssea digitalmente. Para a obtenção das perfurações, foi utilizada uma broca de 1,75mm de diâmetro, com limitação de profundidade de 22,0mm. O comprimento dos parafusos para fixação desta placa variou de 9 a 13,0mm objetivando o engajamento em ambas as corticais, ou seja, vestibular e lingual (Figura 3).

Uma contenção dentária foi realizada com fio ortodôntico de 0,8mm de diâmetro e resina composta fotopolimerizável, envolvendo a face dentária lingual do 1º molar e as superfícies vestibulares dos 2º, 3º e 4º pré-molares e canino.

Figura 3: Lado experimental. Osteotomia completa realizada entre o 3º e 4º pré-molares mandibulares e a FI realizada após redução dos segmentos ósseos com 2 placas de quatro furos e fixação com 4 parafusos monocorticais na placa superior (zona de tensão) e 4 parafusos bicorticais na placa inferior (zona de compressão).

A obtenção desta contenção obedeceu aos seguintes passos: 1º) Corte e modelagem do fio ortodôntico de 0,8mm de diâmetro⁵; 2º) Limpeza das faces dentárias com o uso de ultrassom⁶; 3º) ataque ácido das superfícies dentárias com gel à base de ácido fosfórico a 37% e clorexidina a 2% por 60 segundos⁷; 4º) remoção do gel com água destilada e secagem das superfícies com uso de jato de ar; 5º) uso de adesivo fotopolimerizável⁸; 6º) acomodação e

⁵ Dental Morelli Ltda, Sorocaba - São Paulo, Brasil.

⁶ Profi II, Dabi Atlante, Ribeirão Preto - São Paulo, Brasil

⁷ Acid Gel, Dentalville do Brasil Ltda, Joinville - Santa Catarina, Brasil.

⁸ Adper Single Bond 2, 3M ESPE Dental Products, Saint Paul - Minnessota, Estados Unidos da América.

polimerização da resina composta⁹ juntamente com o fio ortodôntico. Esta contenção foi mantida até o final dos respectivos períodos.

2.3.2 - Lado Controle

O corpo mandibular contra-lateral foi utilizado como lado controle, sendo realizada apenas uma demarcação superficial na cortical vestibular de modo que não houvesse separação dos segmentos ósseos. Metade do sistema de FI foi utilizado, ou seja, duas placas de 2 furos fixadas com 2 parafusos de engajamento monocortical, na placa posicionada próxima à zona de tensão e 2 parafusos de engajamento bicortical, utilizados na placa posicionada próxima à zona de compressão (figura 4). Os mesmos procedimentos adotados no lado experimental para realização da perfuração, uso do formador de roscas, adaptação das placas e fixação dos parafusos foram rigorosamente seguidos. Nenhuma contenção dentária foi realizada no lado controle.

Figura 4: Lado controle. Demarcação superficial da cortical óssea vestibular sem a realização de separação completa dos segmentos ósseos. Metade do sistema de FI biodegradável aplicado no lado experimental foi utilizado, ou seja, 2 placas de 2 furos fixadas com 2 parafusos monocorticais e 2 parafusos bicorticais do sistema 2,0mm.

⁹ Filtek P60, 3M ESPE Dental Products, Saint Paul, Minnessota, Estados Unidos da América.

Após a instalação do sistema de FI, a região operada foi abundantemente irrigada com solução fisiológica 0,9% estéril e a mucosa foi suturada com fio absorvível 4-0¹⁰ de forma contínua (Figura 5).

Figura 5: Mucosa suturada de forma contínua com fio de sutura absorvível à base de Poliglactina 910.

Durante a fase de reversão da anestesia, foi aplicada uma dose de Meloxicam 0,2% (0,2mg/Kg de peso corporal) por via intramuscular, repetida 1 vez ao dia por mais 4 dias visando minimizar o processo inflamatório e a ocorrência de dor no período pós-operatório. Após avaliação do médico veterinário, caso houvesse necessidade de remediação para o controle da dor, Dipirona Sódica (25mg/Kg de peso) era administrada por via subcutânea.

Depois de recobrado parcialmente os sentidos, os animais foram transportados para uma sala própria de recuperação onde permaneceram até o dia seguinte. Após este período, os animais foram transportados para o canil do biotério da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, onde permaneceram durante todo o período experimental. No período pós-operatório, os animais foram inspecionados diariamente durante a primeira semana e posteriormente a cada três dias visando detectar sinais de complicação ou reação adversa, assim como para monitorar a reparação da ferida cirúrgica. Os animais não receberam

¹⁰ Poliglactina 910 – Ethicon – Johnson & Johnson, São José dos Campos – São Paulo, Brasil.

nenhuma restrição funcional sendo liberada uma dieta regular (flocos e granulados secos) imediatamente após o procedimento cirúrgico.

2.4 - Eutanásia dos animais

Após os períodos de 2 e 18 semanas do procedimento cirúrgico, três animais foram eutanasiados por período. Foram administrados aos animais Acepromazina 0,2% (0,1mg/10Kg de peso corporal) por via intramuscular visando sedá-los, seguido da administração de Propofol 1% (5,0mg/kg de peso corporal) por via endovenosa para realização da indução anestésica. Após a obtenção da anestesia, os animais foram eutanasiados com o uso de Cloreto de Potássio 10% (2mL/kg de peso corporal) que foi administrado lentamente por via endovenosa até ocorrer a parada cardiorrespiratória dos animais.

2.5 - Obtenção dos Espécimes e preparo das peças para microscopia óptica

2.5.1 - Redução dos espécimes:

Após eutanásia dos animais, as mandíbulas foram removidas, dissecadas, reduzidas (Figuras 6 e 7) e fixadas em solução de formol a 10% por 7 dias, sendo transferidas após este período, para um recipiente com etanol a 70%.

Uma segunda redução foi realizada com auxílio de um disco flexível diamantado dupla face¹¹, adaptado a uma ponta reta¹² conectada a um motor pneumático e sob irrigação constante e copiosa com água. Os espécimes foram reduzidos de tal modo a obter os corpos dos parafusos intactos, assim como o tecido ósseo que os circundavam. No Lado Experimental, a área da osteotomia foi isolada e removida separadamente para também ser analisada microscopicamente.

¹¹ KG Sorensen, Medical Burs Ind. E Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas Ltda, Cotia - São Paulo, Brasil.

¹² Dabi Atlante S.A., Ribeirão Preto - São Paulo, Brasil.

Figura 6: Lado experimental, período de 2 semanas. Duas osteotomias suficientemente distantes das placas e parafusos foram realizadas para obtenção do espécime logo após eutanásia do animal. Notar contenção dentária em posição no lado experimental.

Figura 7: Lado controle, período de 2 semanas, durante a obtenção dos espécimes logo após eutanásia do animal. Notar ausência de contenção dentária no lado controle.

2.5.2 - Preparação dos espécimes para microscopia óptica:

2.5.2.1 - *Área de osteotomia:*

As peças, depois de fixadas com formalina a 10% com pH 7 por 10 dias e lavadas em água corrente, foram descalcificadas utilizando-se ácido tricloroacético a 10%. Após devidamente descalcificadas, as peças foram divididas em três partes iguais, sendo que a porção mais superior, incluindo a crista do processo alveolar foi denominada Terço de Tensão (TT); a porção mais inferior, incluindo a base mandibular foi denominada Terço de Compressão (TC); e a porção existente entre estas duas primeiras, Terço Intermediário (TI); (Figura 8).

Figura 8: Divisão da área da osteotomia em 3 partes antes da inclusão em parafina. O terço superior correspondente a área do processo alveolar foi denominado Terço de Tensão (TT), o terço próximo à base mandibular foi denominado Terço de Compressão (TC) e o terço entre os dois anteriores, Terço Intermediário (TI). Os cortes histológicos foram realizados nas superfícies superiores de cada terço (setas).

Posteriormente, foram lavadas novamente em água corrente, desidratadas utilizando série crescente de graduação alcoólica (70%, 80%, 96% e 100%), diafanizadas com a realização de 3 banhos de xylol e incluídas em parafina. Os cortes semi-seriados foram obtidos com espessura de 5 a 6 μm , montados em lâminas utilizando meio de montagem Entellan¹³ e submetidos a coloração com Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômico de Mallory.

¹³ Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha.

2.5.2.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos:

Os espécimes foram fixados em solução de formalina a 10% com pH 7 por 10 dias. Após este período, os espécimes foram lavados em água corrente e para depois serem desidratados em concentrações crescentes de álcool (70% até 100%). Após a desidratação, as peças foram infiltradas em resina acrílica pura¹⁴. Posteriormente, as peças foram incluídas em moldes de teflon contendo resina fresca e então mantidas a 60°C por 12 a 18 horas para ocorrer a polimerização da resina.

Os blocos de resina polimerizados contendo as peças foram cortados exatamente sobre cada parafuso (no sentido do seu longo eixo). Os cortes foram realizados utilizando o sistema Exakt¹⁵, sendo que as faces das duas peças resultantes de cada corte foram desgastadas e polidas até atingir espessura aproximada de 30µm. A face recém polida foi submetida à coloração utilizando a combinação de Azul de Stevenel com Vermelho de Alizarina.

2.6 - Forma de Análise dos Resultados

2.6.1 - Análise Histológica

A análise histológica de cada terço (TT, TI e TC) e toda interface entre tecido ósseo e parafusos foi realizada em microscópio de luz convencional e polarizada (DMLB)¹⁶ nos períodos de 2 e 18 semanas.

2.6.2 - Análise Histométrica

2.6.2.1 - *Área de osteotomia*

Para a análise histométrica, três cortes de cada terço da área de osteotomia foram selecionados aleatoriamente. As imagens foram adquiridas através de uma câmera DC 300F¹⁷ montada em um microscópio DMLB¹⁸ utilizando-se de uma objetiva com aumento de 10 vezes. Estas imagens foram transferidas para o computador, com auxílio do programa IM50

¹⁴ LR White Hard Grade - London Resin Company Ltd, Londres, Inglaterra.

¹⁵ Exakt Apparatebau GmbH & Co, Norderstedt, Alemanha.

¹⁶ Leica Wetzlar, Alemanha.

¹⁷ Leica Wetzlar, Alemanha.

¹⁸ Leica, Wetzlar, Alemanha.

Image Manager¹⁹. A região de interesse ficou restrita às corticais vestibular e lingual. Sob luz convencional e mais precisamente sob luz polarizada, a interface entre tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original era possível de ser identificada. A área total delimitada pela superfície do tecido ósseo original em cada cortical foi determinada utilizando o programa QWin Plus²⁰. Esta mensuração histométrica foi possível de ser realizada somente no período de 18 semanas, uma vez que o tecido ósseo neoformado não foi detectável nas regiões corticais da área de osteotomia no período de 2 semanas. A área de tecido ósseo neoformado foi quantificada usando o mesmo programa de computador. Finalmente, ambos os valores de área (área total e área de tecido ósseo neoformado) foram mensurados e a porcentagem de tecido ósseo neoformado determinada. As reações do endósteo e periósteo não foram incluídas nesta mensuração.

Para comparar as porcentagens de tecido ósseo neoformado nas corticais vestibular e lingual, algumas referências anatômicas foram estabelecidas para cada um dos três terços (TT, TI e TC). A distância existente entre as raízes dentárias e as corticais foi utilizada para identificar as corticais vestibular e lingual para o TT e o TI, uma vez que as raízes dentárias são localizadas mais próximas da cortical vestibular do que em relação a cortical lingual. Para o TC, a distância com o canal mandibular, que é mais próxima da cortical vestibular, foi utilizada.

2.6.2.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos

As imagens foram adquiridas com uma magnificação de 4x com auxílio de uma câmera DC300F acoplada em um microscópio MZ6²¹. As imagens foram transferidas para um computador com auxílio do programa IM50 Image Manager. Todo o perímetro dos parafusos, com exceção das áreas que permaneceram nas porções externas das corticais vestibular e lingual foi quantificado, ou seja, as cabeças de todos os parafusos e as pontas dos parafusos bicorticais posicionadas externamente à cortical lingual foram excluídas da quantificação. A área de contato entre tecido ósseo e parafusos (COP) foi expresso em porcentagem. As imagens foram analisadas utilizando o programa ImageJ²².

¹⁹ Leica, Wetzlar, Alemanha.

²⁰ Leica, Wetzlar, Alemanha.

²¹ Leica, Wetzlar, Alemanha.

²² National Institutes of Health, Bethesda - MD, Estados Unidos da América.

2.6.3 - Análise Estatística

2.6.3.1 - *Área de osteotomia*

O teste estatístico de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade da distribuição dos dados. Em seguida, uma vez que os dados foram considerados com distribuição não normal, foram aplicados dois testes não-paramétricos. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para identificar diferenças nas porcentagens de tecido ósseo neoformado entre os terços (TT, TI e TC). Uma vez encontrada diferença estatisticamente significativa, um pós-teste foi utilizado para comparação múltipla entre os grupos com a finalidade de identificar diferenças entre um terço em relação ao outro. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para detectar diferenças na porcentagem de tecido ósseo neoformado entre as corticais vestibular e lingual.

2.6.3.2 - *Interface entre tecido ósseo e parafusos*

Após realizado o teste de Shapiro-Wilk, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para identificar diferenças nas porcentagens de COP entre os períodos de tempo (2 e 18 semanas), tipo de parafuso (monocortical e bicortical) e lado da mandíbula (experimental e controle). O nível para significância estatística foi de $p < 0,05$ e o software utilizado para análise dos dados foi o SPSS versão 19,0.

RESULTADOS

3 - RESULTADOS

3.1 - Análise Histológica

3.1.1 - Área de Osteotomia

3.1.1.1 - *Período (2 semanas)*

A quantidade de tecido ósseo imaturo neoformado em 2 semanas não foi suficiente para promover união das bordas ósseas criadas pela osteotomia (Figura 9A-B). Em todos os terços (TT, TI e TC), a área de osteotomia e o tecido ósseo medular circunjacente foram caracterizados pela presença de tecido conjuntivo frouxo, com áreas focais de infiltrado inflamatório discreto e focos hemorrágicos. O tecido ósseo cortical exibiu áreas de reabsorção óssea (Figura 9B, cabeça de seta) e tecido ósseo imaturo neoformado (reações do endósteo e periósteo, Figura 9B, asterisco). Estas áreas foram caracterizadas pela presença de trabéculas ósseas interconectadas, contínuas com as superfícies interna e externa do tecido ósseo lamelar original, respectivamente.

3.1.1.2 - *Período (18 semanas)*

Em 18 semanas, o gap criado pela osteotomia foi completamente preenchido por tecido ósseo neoformado (Figura 9C-E). Todos os terços (TT, TI e TC) demonstraram aspectos histológicos semelhantes. A área de osteotomia exibiu trabéculas ósseas interconectadas e alguns sistemas osteonais neoformados, com ambas as corticais apresentando espaços medulares e/ou canais vasculares amplos. A interface entre tecido ósseo lamelar original e o tecido ósseo neoformado foi possível de ser observada mais detalhadamente sob luz polarizada (Figura 9, comparar E com D).

Figura 9: Microscopia de luz convencional (A-D) e polarizada (E) de cortes histológicos da área de osteotomia em 2 semanas (A-B) e 18 semanas (C-E). Terço de Compressão (A-B, D-E); Terço de Tensão (C). (A, B) Em 2 semanas, não foi observada união das bordas ósseas criadas pela osteotomia (A). O tecido ósseo lamelar original da cortical lingual adjacente a área de osteotomia mostrou áreas de reabsorção óssea (B, cabeça de seta) e formação de tecido ósseo imaturo (B, asterisco) como resultado da reação do periósteo. (C) Em 18 semanas, o tecido ósseo neoformado exibiu características típicas de osso esponjoso. (D-E) A interface entre o tecido ósseo lamelar original e o tecido ósseo neoformado (cabeças de seta) em 18 semanas sob luz convencional (D) e luz polarizada (E). Tricrômico de Mallory.

3.1.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos

A análise microscópica não revelou diferenças histológicas significantes de reparo ósseo na interface entre tecido ósseo e parafusos entre os lados controle e experimental em ambos os períodos de tempo (2 e 18 semanas).

3.1.2.1 - *Período (2 semanas)*

Qualitativamente, as características do reparo ósseo na interface entre tecido ósseo e parafusos foram similares para os lados controle e experimental e para os parafusos mono e bicorticais (Figura 10A-D). Áreas de contato direto entre a superfície do parafuso e o tecido ósseo lamelar original foram evidenciadas (Figura 10C, cabeças de seta). Nestas áreas, a matriz óssea exibiu algumas fissuras em múltiplas direções. Para as corticais vestibular e lingual, trabéculas interconectadas de tecido ósseo imaturo neoformado (Figura 10D, asterisco) cobriram a superfície interna e externa do tecido ósseo lamelar, como resultado das reações do endósteo e periósteo, respectivamente.

3.1.2.2 - *Período (18 semanas)*

Em 18 semanas, um tecido conjuntivo não mineralizado estava interposto entre as superfícies de ambos os parafusos, mono e bicorticais, e o tecido ósseo lamelar original. (Figura 10E-F). Este tecido conjuntivo estava estruturado em camadas, estendendo-se externamente da superfície do parafuso da seguinte maneira: 1 - tecido conjuntivo frouxo com presença de células inflamatórias e áreas focais de células gigantes multinucleadas em contato direto com a superfície dos parafusos; 2 - tecido conjuntivo fibroso, caracterizado por feixes densos de fibras colágenas com poucas células e 3 - tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado (Figura 10G). Algumas fissuras e gaps no interior do parafuso estavam preenchidos com tecido similar ao observado na camada 1 (Figura 10H). A superfície de tecido ósseo lamelar exibiu um contorno irregular com osteoclastos preenchendo lacunas de Howship, indicando a presença de alguma atividade osteoclástica remanescente. Notavelmente, o tecido ósseo medular adjacente a superfície do parafuso se apresentou altamente vascularizado (Figure 10I, asterisco).

Figura 10: Microscopia de luz convencional de cortes histológicos dos parafusos monocorticais (A, E) e parafusos bicorticais (B-D, F-I) demonstrando áreas representativas de reparo ósseo na interface entre tecido ósseo e parafusos no período de 2 semanas (A-D) e 18 semanas (E-I). (A, D, E, F, G, I: lado experimental; B, C, H: lado controle). (C, D: tecido ósseo da cortical lingual; G, H: tecido ósseo da cortical vestibular). (A-D) Em 2 semanas, algumas áreas de contato entre tecido ósseo e parafuso foram observadas (C, cabeças de seta). Formação de tecido ósseo imaturo pôde ser visualizada como resultado da reação do periósteo na cortical lingual (D, asterisco). (E-I) Em 18 semanas, as superfícies de ambos os parafusos, monocorticais (E) e bicorticais (F) estavam recobertas por um tecido conjuntivo não mineralizado. (G) Tecido conjuntivo não mineralizado estruturado em três camadas distintas: 1 - agregado de células inflamatórias com áreas focais de células gigantes multinucleadas em contato direto com a superfície dos parafusos; 2 - tecido conjuntivo fibroso, caracterizado por feixes densos de fibras colágenas com poucas células; e 3 - tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado. (H) Fissuras e gaps no interior do parafusos, preenchidos com tecido similar ao observado na camada 1, descrito em (G). (I) Tecido ósseo medular altamente vascularizado adjacente à superfície do parafuso. Vermelho de Alizarina e Azul de Stevenel.

3.2 - Análise Histométrica

3.2.1 - Área de osteotomia

As porcentagens de tecido ósseo neoformado nos terços (TT, TI e TC) no período de 18 semanas são demonstradas na Figura 11. O teste estatístico de Kruskal-Wallis demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os terços ($p=0,019$). O pós-teste evidenciou valores estatisticamente inferiores de neoformação óssea para o TT ($k=2,99$; $p<0,05$) quando comparado com os outros terços (TI, TC). Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre TI e TC ($k=0,05$; $p>0,05$). O teste de Mann-Whitney não revelou diferenças estatísticas significativas de tecido ósseo neoformado entre as corticais vestibular e lingual em nenhum dos terços analisados ($p=0,825$).

Figura 11: Porcentagem média e desvio padrão de tecido ósseo neoformado na área de osteotomia no período de 18 semanas entre os terços (TT, TI, TC) e corticais (vestibular e lingual). Asteriscos indicam diferença estatisticamente significativa ao nível de $p<0,05$ entre TT e TI; e TT e TC.

3.2.2 - Interface entre tecido ósseo e parafusos

Não foi observada diferença estatisticamente significativa para o COP entre os lados controle e experimental nos períodos de 2 semanas ($p=0,346$) e 18 semanas ($p=0,944$). O teste de Mann-Whitney demonstrou diferenças estatísticas significantes entre os períodos analisados com diminuição do COP de 2 para 18 semanas, tanto para os parafusos monocorticais ($p=0,003$) quanto para os parafusos bicorticais ($p=0,0001$).

3.2.2.1 - *Período (2 semanas)*

As médias das porcentagens de COP para os parafusos monocorticais nos lados controle e experimental foram respectivamente $4,93\% \pm 8,92\%$ e $2,19\% \pm 3,33\%$; e para os parafusos bicorticais, $7,08\% \pm 4,98\%$ e $4,18\% \pm 3,02\%$ (Tabela). Foi observada diferença estatisticamente significativa para o COP entre os parafusos mono e bicorticais no período de 2 semanas ($p=0,008$).

3.2.2.2 - *Período (18 semanas)*

A média das porcentagens de COP para os parafusos monocorticais no lado controle foi de $0,16\% \pm 0,38\%$; e para os parafusos bicorticais no lado experimental, o COP foi de $0,84\% \pm 1,97\%$. É interessante notar que nenhum COP foi observado entre os parafusos monocorticais do lado experimental e para os parafusos bicorticais do lado controle (Tabela). Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os parafusos mono e bicorticais neste período ($p=0,509$).

Tabela: Porcentagem média e desvio padrão do COP para os parafusos monocorticais e bicorticais (Lados Controle e Experimental) em 2 e 18 semanas e o teste de Mann-Whitney para correlação entre os parafusos monocorticais e bicorticais em ambos os períodos.

	Monocortical		Bicortical		Mann-Whitney
	Controle	Experimental	Controle	Experimental	P
2 semanas					
Média	4,93	2,19	7,08	4,18	0,008 *
DP	8,92	3,33	4,98	3,02	
18 semanas					
Média	0,16	0	0	0,84	0,509
DP	0,38	0	0	1,97	

DP = desvio padrão. Asterisco indica diferença estatisticamente significativa para $p < 0,05$.

DISCUSSÃO

4 - DISCUSSÃO

Em análise *in vitro* realizada previamente, o sistema de FI biodegradável utilizado neste estudo demonstrou resistência mecânica adequada para o tratamento de fratura mandibular (BREGAGNOLO et al., 2011). Posteriormente, a intenção foi utilizar este material *in vivo* para entender seu comportamento em meio biológico. No presente estudo, uma mobilidade moderada entre os segmentos ósseos foi clinicamente observada nas reavaliações semanais após o tratamento cirúrgico. Esta mobilidade diminuiu gradativamente até tornar-se ausente na quarta semana do período pós-operatório. Desta forma, assim como recomendado por alguns autores, uma contenção dentária foi utilizada para prevenir instabilidade interfragmentária e maloclusão dentária (BAHR et al., 1999; TAMS et al., 1999; HOCHULI-VIEIRA et al., 2005). Esta mobilidade entre os segmentos ósseos, nas primeiras semanas após o tratamento cirúrgico, também foi observada por Sverzut et al. (2012) ao analisar um sistema de FI importado manufaturado com ácido poli-L-DL-lático, na proporção 70:30, e trimetileno carbonato (Inion, Tampere, Finland). Contrariamente, após análise de um sistema de FI manufaturado com titânio, esta mobilidade interfragmentária não foi observada (SVERZUT et al., 2008; SVERZUT et al., 2012).

A análise histológica da área de osteotomia revelou, nas corticais vestibular e lingual no período de 2 semanas, um tecido ósseo com áreas focais de reabsorção e tecido ósseo imaturo neoformado, localizados nas regiões correspondentes as porções interna e externa da cortical óssea decorrentes das reações do endósteo e periósteo, respectivamente. Tecido ósseo imaturo não foi observado entre as bordas ósseas criadas pela osteotomia. Estas características histológicas também foram observadas em um estudo prévio, no qual um sistema de FI baseado em titânio foi utilizado com a mesma metodologia (DOS SANTOS et al., 2007). Neste período de tempo, as respostas teciduais não foram suficientes para promover a união óssea na área de osteotomia.

No período de 18 semanas, entretanto, as bordas ósseas criadas pela osteotomia foram completamente conectadas por tecido ósseo neoformado. Adicionalmente, nos três terços analisados, este tecido ósseo exibiu grande quantidade de espaços medulares preenchidos por um tecido conjuntivo altamente vascularizado. Portanto, é possível afirmar com base na análise histológica, que houve reparo ósseo na área de osteotomia em 18 semanas após o tratamento cirúrgico.

Alguns autores, a partir da quantificação das estruturas não mineralizadas presentes no tecido ósseo, relataram que um tecido ósseo composto por até 30% de espaços não mineralizados deve ser considerado um tecido ósseo compacto. Por outro lado, o tecido ósseo composto por mais de 30% e até 90% de espaços não mineralizados, deve ser considerado um tecido ósseo esponjoso (ZIOUPOS; COOK; HUTCHINSON, 2008). No presente estudo, o TT mostrou diferenças estatisticamente significantes ($p=0,019$) nas porcentagens de espaços não mineralizados (56,45%) quando comparados com o TI (41,90%) e o TC (44,39%). Este achado histométrico parece refletir o ambiente biomecânico, que foi influenciado pelo sistema de FI biodegradável, pela contenção dentária, pelo tipo de osteotomia (linear sem deslocamento ósseo) e pela atividade dos músculos mastigatórios. Ainda, quando analisada a diferença quantitativa de mineralização entre os terços, a força de tração criada pelos músculos mastigatórios sobre a região do processo alveolar (zona de tensão) durante os movimentos mandibulares (CHAMPY et al., 1978) pode ter contribuído para menor mineralização no TT. Apesar das diferenças quantitativas de neoformação óssea, em todos os terços analisados, o tecido ósseo neoformado apresentou características de um tecido ósseo esponjoso, de acordo com Zioupos, Cook e Hutchinson (2008). Sverzut et al. (2012) observaram para o sistema biodegradável importado, tecido ósseo neoformado com aspecto de tecido ósseo esponjoso no TT e no TI, enquanto que no TC, foi observado tecido ósseo compacto. Por sua vez, o sistema metálico apresentou características de tecido ósseo compacto em todos os terços da área de osteotomia. Estas diferenças na qualidade do tecido ósseo neoformado entre os diferentes sistemas de FI (biodegradável nacional, biodegradável importado e metálico) podem estar relacionadas com a estabilidade primária dos segmentos ósseos, promovida pelo ambiente biomecânico presente, incluindo o sistema de fixação.

No período de 18 semanas, as corticais vestibular e lingual não apresentaram diferenças estatisticamente significantes na quantidade de tecido ósseo neoformado. Este resultado pode ter sido influenciado pela metodologia empregada neste estudo, uma vez que, somente as áreas entre as bordas ósseas criadas pela osteotomia foram contabilizadas, excluindo-se as áreas correspondentes as reações do periósteo e endósteo devido as dificuldades de obtenção dessas áreas intactas para quantificação histométrica. Entretanto, foi evidente a formação de calo ósseo principalmente na cortical lingual decorrente das reações do periósteo. De acordo com alguns autores (REITZIK; SCHOORL, 1983; RASUBALA et al., 2004), a reação periosteal é mais marcante na cortical lingual devido a maior movimentação interfragmentária nesta área. A movimentação na cortical vestibular é limitada pela presença das placas que minimiza rotações no eixo transversal e proporciona maior

estabilidade na região. Esta movimentação entre os segmentos ósseos, nas primeiras semanas do período pós-operatório, poderia predispor a formação de células cartilaginosas na área de osteotomia. Entretanto, não foi observada presença de condrócitos em ambos os períodos analisados. Com a metodologia empregada neste estudo, o tipo de reparo observado na área de osteotomia caracterizou-se por um reparo ósseo direto ou primário, do tipo gap healing, com a formação de calo ósseo externo.

Muitos fatores estão envolvidos nas reações teciduais adjacentes ao sistema de FI. Alguns autores sugeriram que o trauma tecidual, hematoma e a instabilidade mecânica entre os implantes e os tecidos vizinhos são responsáveis, pelo menos em parte, pelas mudanças na função e estrutura teciduais (LANGFORD; FRAME, 2002). A análise histológica mostrou em 2 semanas, áreas de contato direto entre a superfície do parafuso e o tecido ósseo lamelar original. Nestas áreas, fissuras foram observadas na matriz óssea, também verificadas em estudos prévios com sistema de FI metálico (BAHR, 1992; DOS SANTOS et al., 2007) que neste estudo, foram provavelmente decorrentes do stress mecânico, no qual o tecido ósseo foi submetido durante a inserção do formador de rosca.

A análise histométrica revelou diferença estatisticamente significativa no COP entre os parafusos mono e bicorticais no período de 2 semanas, com maiores valores para os parafusos bicorticais. Este achado se deve ao engajamento do parafuso na cortical lingual que especialmente para o sistema biodegradável, deve ser considerado essencial na obtenção de maior estabilidade da FI. Dos Santos et al. (2007) também verificaram maior COP no mesmo período analisado para os parafusos bicorticais, entretanto, a diferença de contato ósseo não foi estatisticamente significativa em relação aos parafusos monocorticais. Além disso, neste mesmo período, a média de COP para os parafusos mono e bicorticais do sistema metálico foi substancialmente maior (próximo de 25%) se comparado com a média obtido pelo sistema biodegradável deste estudo (inferior a 10%). Dois fatores importantes devem ser considerados, uma vez que, o método de inserção dos parafusos biodegradáveis difere substancialmente do método aplicado para o sistema metálico. Primeiro, as brocas utilizadas para as perfurações apresentam diâmetros diferentes (1,5 a 1,6mm de diâmetro para o sistema de 2,0mm metálico e 1,75mm de diâmetro para o sistema de FI utilizado neste estudo), favorecendo um maior COP para os parafusos metálicos; e segundo, o sistema biodegradável necessita da utilização de um formador de rosca previamente a inserção dos parafusos, o que acaba propiciando maior espaço entre a superfície do tecido ósseo e a superfície dos parafusos e conseqüentemente menor COP. Este fator mecânico poderia explicar em períodos iniciais de reparo ósseo (2 semanas), o menor COP para os sistemas biodegradáveis quando comparados

com os sistemas metálicos. Adicionalmente, quando utilizamos um sistema biodegradável, a cortical vestibular sofre maior influência do formador de rosca quando comparada com a cortical lingual.

Em 18 semanas, não houve diferença estatisticamente significativa no COP entre os parafusos mono e bicorticais, e da mesma forma, entre os lados controle e experimental. Estes resultados podem ser explicados por uma diminuição progressiva do COP, de 2 para 18 semanas, com a formação concomitante de tecido conjuntivo não mineralizado ao redor dos parafusos.

Kontio et al. (2005) descreveram duas camadas teciduais, diferentes microscopicamente, interpostas entre implantes biodegradáveis e o tecido subcutâneo de ratos machos. Uma destas duas camadas teciduais, chamada pelos autores de zona interna, estava em contato direto com os implantes e foi caracterizada pela presença de numerosas células mononucleadas e algumas células gigantes multinucleadas. A segunda camada, chamada de zona externa, foi caracterizada pela presença abundante de tecido conjuntivo denso. Estas duas camadas dividem similaridades com a primeira e segunda camadas descritas no presente estudo, onde, uma terceira camada, caracterizada pela presença de um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado foi também identificada. Esta camada altamente vascularizada, presente na interface entre tecido ósseo e parafusos, não foi descrita previamente na literatura científica e pode ser resultado de uma tentativa do organismo de remover os subprodutos de degradação do local de implantação do material. Além disso, estes vasos sanguíneos ingurgitados não estavam restritos à área de interface entre tecido ósseo e parafusos, mas também, estendiam-se para a medula óssea circunjacente. Em ambos os lados analisados, controle e experimental, as mesmas características histológicas foram encontradas. Estes achados histológicos não foram observados nas áreas adjacentes aos parafusos manufaturados em titânio (DOS SANTOS et al., 2007). Estas reações teciduais podem ser decorrentes da liberação de monômeros ácidos durante o período de degradação do material diminuindo o pH tecidual (RUFFIEUX, 1997). Entretanto, Martin, Vinit e Bao (1996) e Heidemann et al. (2001) não observaram reduções significantes no pH dos tecidos ao redor de parafusos manufaturados com ácido poli-DL-lático-co-glicólico e ácido poli-DL-lático (PDLLA) respectivamente. Em ambos os estudos, as reduções no pH foram da ordem de 0,2 unidades.

De acordo com Schön et al. (1997) as reações do tecido ósseo não dependem somente das propriedades dos biomateriais mas também da estabilidade primária dos segmentos ósseos após realização da FI. Quando um sistema de FI baseado em titânio foi utilizado com

metodologia idêntica à utilizada neste estudo, nenhuma reação exuberante no tecido ósseo foi observada ao redor dos parafusos (DOS SANTOS et al., 2007). Este resultado foi influenciado pelo sistema de FI que proporcionou adequada estabilidade para os segmentos ósseos e pela biocompatibilidade superior do titânio. No presente estudo, as reações teciduais ao redor dos parafusos, em período inicial do processo de reparo ósseo (2 semanas) foram influenciadas pela estabilidade primária adequada dos segmentos ósseos no lado experimental e por isso não observamos diferenças em relação ao lado controle. Por outro lado, no período de 18 semanas, estas reações teciduais deveram-se as propriedades do ácido poli-L-DL-lático. Neste período, as bordas ósseas criadas pela osteotomia estavam conectadas por tecido ósseo neoformado, como resultado do ambiente biomecânico criado e o sistema de FI biodegradável já não apresentava função, uma vez que o reparo ósseo estava completo. Adicionalmente, o lado controle (sem osteotomia) que não sofreu influências do fator estabilidade durante todo processo de reparo ósseo, exibiu as mesmas características histológicas e histométricas, em termos de qualidade e quantidade teciduais, do lado experimental (osteotomizado). Portanto, as reações teciduais observadas no período de 18 semanas foram resultado das interações bioquímicas criadas pelo sistema de FI biodegradável com o seu leito receptor. Desta forma, com a metodologia aplicada neste estudo, a presença da osteotomia (lado experimental) não interferiu com os achados histológicos e histométricos na interface entre tecido ósseo e parafusos.

As propriedades de degradação dos materiais poliméricos são influenciados por muitos fatores, incluindo o local de implantação, geometria e dimensão do implante (JUKKALA-PARTIO et al., 2001), peso molecular, composição, cristalinidade e hidrofobicidade dos componentes (GRIFFITH, 2000; EPPLEY et al., 2004; EGLIN; ALINI, 2008), e os processos de manufatura e esterilização (VERT; LI; GARREAU, 1992). No presente estudo, sinais de degradação no centro dos parafusos foram observados no período de 18 semanas. Fissuras e gaps foram histologicamente visualizados no interior do material que estavam preenchidos ocasionalmente por células. Em contrapartida, degradação superficial nos parafusos não foi facilmente detectada. Estas características de degradação podem ser atribuídas pela penetração de moléculas de água através da porção amorfa do material e a posterior ocorrência de hidrólise por quebra das ligações ésteres (GRIFFITH, 2000; EGLIN; ALINI, 2008). As reações hidrolíticas criadas liberam subprodutos ácidos que ficam acumulados no interior dos parafusos diminuindo o pH nesta região. Este pH reduzido aumenta a taxa de reações hidrolíticas no centro (bulk degradation) comparado com as regiões mais superficiais do material (VON RECUM et al., 1995; MARTIN; WINIT; BAO, 1996;

GÖPFERICH, 1996; EGLIN; ALINI, 2008). Adicionalmente, para sabermos se os parafusos já vinham com estas irregularidades, uma amostra de parafusos foi submetida a MEV para observação da sua superfície e análise histológica para verificação do seu interior. Não foi observado sinais de alteração que pudessem sugerir irregularidades pré-existentes. Portanto, os sinais observados em 18 semanas foram decorrentes do processo de degradação que estava em andamento.

Alguns estudos demonstraram partículas residuais de ácido poli-L-lático (PLLA) após 4 anos e 6 meses de implantação e sugeriram mais alguns anos para total degradação do material (BERGSMA et al., 1995; LAITINEN et al., 2002). Contrariamente, nenhum remanescente extra celular do PDLLA na proporção de 50:50 foi observado no período de 72 semanas após implantação em tecido subcutâneo de ratos (HIEDEMANN et al., 2001). Após utilizar o PDLLA para fixação de fratura condilar em ovelhas, Schneider et al. (2007) não verificaram remanescentes do material após 12 meses de tratamento. Apesar da observação de sinais de degradação no período de 18 semanas, não é possível prever o período específico que o ácido poli-L-DL-lático (70:30) utilizado neste estudo poderá ser totalmente degradado.

CONCLUSÃO

5 - CONCLUSÃO

Com os dados obtidos no presente estudo pode-se concluir que:

- O ambiente biomecânico proporcionou, na área de osteotomia, a ocorrência do processo de reparo ósseo do tipo *gap healing*;
- A presença da osteotomia (lado experimental) não interferiu com os achados histológicos e histométricos na interface entre tecido ósseo e parafusos;
- As características teciduais adjacentes aos parafusos foram altamente influenciadas pelas propriedades do ácido poli-L-DL-lático (70:30) utilizado neste estudo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

- 1- BAHR, W. Comparison of torque measurements between cortical screws and emergency replacement screws in the cadaver mandible. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 50, n. 1, p. 46-49, 1992.
- 2- BÄHR, W.; LESSING, R. The response of midfacial bone in sheep to loaded osteosynthesis screws in pretapped and nontapped implant sites. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 50, n. 12, p. 1289-1294, 1992.
- 3- BAHR, W. et al. Biodegradable osteosynthesis material for stabilization of midface fractures: experimental investigation in sheep. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery**, Stuttgart, v. 27, n. 1, p. 51-57, 1999.
- 4- BERGSMA, J. E. et al. Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws. **Biomaterials**, Guilford, v. 16, n. 1, p. 25-31, 1995.
- 5- BREGAGNOLO, L. A. et al. Evaluation of in vitro resistance of titanium and resorbable (poly-L-DL-lactic acid) fixation systems on the mandibular angle fracture. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 40, n. 3, p. 316-321, 2011.
- 6- BUIJS, G. J. et al. A randomized clinical trial of biodegradable and titanium fixation systems in maxillofacial surgery. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 91, n. 3, p. 299-304, 2012.
- 7- CHACON, G. E. et al. Comparison of strains produced by titanium and poly D, L-lactid acid plating systems to in vitro forces. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 63, n. 7, p. 968-972, 2005.
- 8- CHAMPY, M. et al. Mandibular osteosynthesis by miniature screwed plates via a buccal approach. **Journal of Maxillofacial Surgery**, Stuttgart, v. 6, n. 1, p. 14-21, 1978.
- 9- CUTRIGHT, D. E.; HUNSUCK, E. E.; BEASLEY, J.D. Fracture reduction using a biodegradable material, polylactic acid. **Journal of Oral Surgery**, Chicago, v. 29, n. 6, p. 393-397, 1971.
- 10- CUTRIGHT, D. E.; HUNSUCK, E. E. The repair of fractures of the orbital floor using biodegradable polylactic acid. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, Chicago, v. 33, n.1, p. 28-34, 1972.

* De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2009. NBR 6023.

-
- 11- DOS SANTOS, T. I. et al. Histological and histomorphometric analysis of the bone-screw interface in the mandibular body after using a 2.0-mm miniplate system: an experimental study in dogs. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 65, n. 11, p. 2169-2175, 2007.
- 12- EGLIN, D.; ALINI, M. Degradable polymeric materials for osteosynthesis: Tutorial. **European Cells and Materials**, Glasgow, v.19, n. 16, p. 80-91, 2008.
- 13- EPPLEY, B. L. et al. Resorbable PLLA-PGA Plate and Screw Fixation in Pediatric Craniofacial Surgery: Clinical Experience in 1883 Patients. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 114, n. 4, p. 850-856, 2004.
- 14- EPPLEY, B. L. Use of resorbable plates and screw in pediatric facial fractures. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 63, n. 3, p. 385-391, 2005.
- 15- GABRIELLI, M. A. C. et al. Fixation of mandibular fractures with 2.0 mm miniplates: Review of 191 cases. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 61, n. 4, p. 430-436, 2003.
- 16- GETTER, L. et al. A biodegradable intraosseous appliance in the treatment of mandibular fractures. **Journal of Oral Surgery**, Chicago, v. 30, n. 5, p. 344-348, 1972.
- 17- GRIFFITH, L. G. Polymeric Biomaterials. **Acta Materialia**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 263-277, 2000.
- 18- GÖPFERICH, A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. **Biomaterials**, Guilford, v. 17, n. 2, p. 103-114, 1995.
- 19- HIEDEMANN, W. et al. Degradation of poly(D,L)lactide implants with or without addition of calciumphosphates in vivo. **Biomaterials**, Guilford, v. 22, n. 17, p. 2371-2381, 2001.
- 20- HOCHULI-VIEIRA, E. et al. Rigid internal fixation with titanium versus bioresorbable miniplates in the repair of mandibular fractures in rabbits. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 34, n. 4, p. 167-173, 2005.
- 21- IIZUKA, T. A computer study of fracture mobility and strain of biodegradable plate used for fixation of mandibular fractures. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 57, n. 8, p. 981-982, 1999.
- 22- ISHII, S. et al. Long-term study of high-strength hidroxiapatite/poly (L-lactide) composite rods for the internal fixation of bone fractures: a 2-4-years follow-up study in rabbits. **Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 66B, n. 2, p. 539-547, 2003.

- 23- JUKKALA-PARTIO, K. et al. Biodegradation and strength retention of poly-L-lactide screws in vivo. An experimental long-term study in sheep. **Annales Chirurgiae et Gynaecologiae**, Helsinki, v. 90, n. 3, p. 219-224, 2001.
- 24- KIELY, K. D. et al. One-year postoperative stability of LeFort I osteotomies with biodegradable fixation: A retrospective analysis of skeletal relapse. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 130, n.3, p. 310-316, 2006.
- 25- KONTIO, R. et al. Biodegradable polydioxanone and poly(l/d)lactide implants: an experimental study on peri-implant tissue response. **International Journal of Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 34, n. 7, p. 766-776, 2005.
- 26- LAITINEN, O. et al. Transmission electron microscopic visualization of the degradation and phagocytosis of a poly-l-lactide screw in cancellous bone: a long term experimental study. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 1, p. 33-39, 2002.
- 27- LANGFORD, R. J.; FRAME, J. W. Tissue changes adjacent to titanium plates in patients. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery**, Stuttgart, v. 30, n. 2, p. 103-107, 2002.
- 28- MCCARTHY, W. H. A New Synthetic Absorbable Suture Material: A Clinical Trial of Polyglycolic Acid Suture in General Surgery. **Australian and New Zealand Journal of Surgery**, Sidney, v. 39, n. 4, p. 422-424, 1970.
- 29- MARTIN, C.; WINET, H.; BAO, J. Y. Acidity near eroding polylactide-polyglycolide in vitro and in vivo in rabbit tibial bone chambers. **Biomaterials**, Guilford, v. 17, n. 24, p. 2373-2380, 1996.
- 30- NIEMINEN, T. et al. Degradative and mechanical properties of a novel resorbable plating system during a 3-years follow-up in vivo and in vitro. **Journal of Materials Science. Materials in Medicine**, London, v. 19, n. 3, p. 1155-1163, 2008.
- 31- PIETRZAK, W. S. Principles of development and use of absorbable internal fixation. **Tissue Engineering**, New York, v. 6, n. 4, p. 425-433, 2000.
- 32- QUERESHY, F. A. et al. The efficacy of bioresorbable fixation in the repair of mandibular fractures: An animal study. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 58, n. 11, p. 1263-1269, 2000.
- 33- RASUBALA, L. et al. Comparison of the healing process in plated and non-plated fractures of the mandibles in rats. **The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Edinburgh, v. 42, n. 4, p. 315-322, 2004.

- 34- REITZIK, M.; SCHOORL, W. Bone repair in the mandible: A histologic and biometric comparison between rigid and semirigid fixation. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 41, n. 4, p. 215-218, 1983.
- 35- RUFFIEUX K. Degradables Osteosynthesesystem aus Polylactid für die maxillofaciale Chirurgie: ein **Beitrag zur Werksto- und Prozessentwicklung Diss.**, ETH Zurich, 1997.
- 36- SCHILLI, W. et al. Mandibular fractures, in: Prein, J. Manual of internal fixation in the cranio-facial skeleton. **ed. Springer – Verlag**, Berlin Heidelberg, c. 1, p. 57-93, 1998.
- 37- SCHNEIDER, M. et al. Ultrasound-aided resorbable osteosynthesis of fractures of the mandibular condylar base: an experimental study in sheep. **The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Edinburgh, doi:10.1016/j.bjoms.2011.10.003, 2011.
- 38- SCHÖN, R. et al. Tissue reaction around miniplates used for the fixation of vascularized iliac crest bone grafts. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**, St. Louis, v. 83, n. 4, p. 433-440, 1997.
- 39- SUZUKI, T. et al. Resorbable poly-L-lactide plate and screws for the treatment of mandibular condylar process fractures: a clinical and radiologic follow-up study. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 62, n. 8, p. 919-924, 2004.
- 40- SVERZUT, C. E. et al. Bone repair in mandibular body osteotomy after using 2.0 miniplate system – histological and histometric analysis in dogs. **International Journal of Experimental Pathology**, Oxford, v. 89, n. 2, p.91-97, 2008.
- 41- SVERZUT, C. E. et al. Comparative study of bone repair in mandibular body osteotomy between metallic and absorbable 2.0-mm internal fixation systems. Histologic and histometric analysis in dogs. A pilot study. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, Epub ahead of print, 2012.
- 42- TAMS, J. et al. A computer study of fracture mobility and strain of biodegradable plate used for fixation of mandibular fractures. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 57, n. 8, p. 973-981, 1999.
- 43- VERT, M.; LI, S.; GARREAU, H. New insights on the degradation of bioresorbable polymeric devices based on lactic and glycolic acids. **Clinical Materials**, London, v. 10, n. 1-2, p. 3-8, 1992.
- 44- VON RECUM, H. A. et al. Degradation of polydispersed poly(L-lactic acid) to modulate lactic acid release. **Biomaterials**, Guilford, v. 16, n. 6, p. 441-447, 1995.

45- WOOD, G. D. Inion biodegradable plates. The first century. The **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Edinburgh, v. 44, n. 1, p. 38-41, 2006.

46- ZIOUPOS, P.; COOK, R. B.; HUTCHINSON, J. R. Some basic relationships between density values in cancellous and cortical bone. **Journal of Biomechanics**, New York, v. 41, n. 9, p. 1961-1968, 2008.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A - Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus de Ribeirão Preto
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 07.1.188.53.9), intitulado: "Análise Histológica e Histomorfométrica da Interface entre Tecido Ósseo e Parafusos Metálicos e Absorvíveis do Sistema 2,0 mm. Estudo em cães utilizando fixação interna rígida", de autoria de **Cássio Edvard Sverzut**, por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do *Campus* de Ribeirão Preto – USP foi aprovado em reunião da CEUA de 08.05.07.

Ribeirão Preto, 11 de maio de 2007

Presidente da CEUA
Prof. Dr. Wagner Ferreira dos Santos

Secretária da CEUA
Maria Angélica Depiro

ANEXO B - Modelo de solicitação para esterilização do material polimérico **SOLICITAÇÃO DA COLABORAÇÃO DO IPEN NO SERVIÇO DE IRRADIAÇÃO NAS PESQUISAS E DESENVOLVIMENTOS**

Aos cuidados de:

Elizabeth S. R. Somessari

Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento - Centro de Tecnologia das Radiações - CTRD
IPEN/ CNEN – SP

INFORMAÇÕES:

1. MATERIAL A SER IRRADIADO: Placas e parafusos confeccionados com material degradável (ácido polilático).
2. QUANTIDADE DE MATERIAL: 2 envelopes contendo 40 placas e 153 parafusos.
3. TIPO DE FONTE: () ACELERADOR DE ELÉTRONS () FONTES DE CO-60 PANORÂMICA (X) GAMMACELL
4. OBJETIVO DA IRRADIAÇÃO: Realizar a esterilização do material.
5. DOSES: Infelizmente não temos informações a respeito.
6. TIPO DE TRABALHO: () INICIAÇÃO CIENTÍFICA (X) MESTRADO () DOUTORADO () OUTROS
7. NOME DO ORIENTADOR: Cássio Edvard Sverzut
8. NOME DA EMPRESA OU INSTITUIÇÃO: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP. Av. do Café, sem número – Campus Universitário da USP – CEP 14040 904 – Ribeirão Preto – SP
9. NECESSITA DO SUPORTE DE UM PESQUISADOR DO IPEN: (X) SIM () NÃO
10. NOME DO SOLICITANTE: Prof. Dr. Cássio Edvard Sverzut - Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia. Telefone (16) 3602-3980.

Atenciosamente,

Cássio Edvard Sverzut