

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL

**AVALIAÇÃO DO REPARO ÓSSEO EM FÊMURES DE RATOS
APÓS IMPLANTE DE BLOCOS DE CIMENTO DE FOSFATO DE
CÁLCIO E ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO**

Adriana Corsetti

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos obrigatórios para a obtenção do título
de Mestre em Clínica Odontológica na área de
concentração em Cirurgia e Traumatologia
Bucomaxilofacial.

Profa. Dra. Edela Puricelli

Orientadora

Porto Alegre, agosto de 2005

À Profa. Dra. Edela Puricelli,

Dedico não só este trabalho, mas meu carinho e minha profunda admiração e respeito como profissional e como pessoa.

Obrigada por crer na minha capacidade, por me ensinar a amar a nossa profissão, por se dedicar ao meu crescimento profissional, pessoal e intelectual, e por ter me permitido realizar este sonho.

Obrigada por ser mais do que mestre e me ensinar que, embora eu não possa voltar atrás e fazer um novo começo, posso começar agora e fazer um novo fim.

Muito obrigada!

Aos meus pais, **Celso** e **Ivete**, por terem feito de nossas vidas,
suas vidas!
Obrigada por serem exemplo de vida, por darem tudo de si para a
nossa felicidade...
Obrigada pelo amor incondicional, pelas palavras e ensinamentos
e por nunca desistirem!

Dedico este trabalho a vocês!
Dedico a vocês tudo que a mim pertencer!

"O amor dos pais não contempla o impossível"

À minha irmã, **Luciana**, pelo incentivo, pela amizade sem igual,
pela confiança e por todo amor demonstrado em cada passo.
Obrigada por trilhar junto este caminho!

Ao meu irmão, **Maurício**, pelo senso de humor, pela amizade, por
entender minha ausência e pelo amor. Obrigada!

Aos meus cunhados, **Marcelo e Gabriela**, pela amizade, carinho
e união!

Às minhas avós, **Zaida e Audília**, pela saudade desmedida, pela
ligação inesperada e pelo maior amor do mundo.

Ao meu avô, **Ítalo** (*in memorian*), por ter sido exemplo de
homem, marido, pai e avô. Toda minha admiração e amor.

Ao meu avô, **Pedruca** (*in memorian*), pela mãe que me deu.

À minha família, pela compreensão nos momentos mais difíceis,
nos momentos de ausência. Obrigada por acreditarem e me
incentivarem tanto!

Aos **meus amigos queridos**, pelas muitas mãos amigas, pelos
ombros, pelos corações que confortam nos momentos de solidão,
pelo incentivo. Obrigada por terem sempre entendido minha
ausência!

À **Dra. Fabiana Ritter**, por ter sido razão nos momentos de
emoção. Obrigada por tudo!

Ao **Prof. Dr. João Júlio**, que além de mestre, é um grande
amigo. Obrigada pela confiança, pela dedicação e pelos muitos
conselhos. Extensivo à **Luciana** e ao **João Pedro**.

À **Profa. Dra. Deise Ponzoni**, por ter sido mestre tão dedicada;
portadora de grande paciência segurou algumas vezes minhas
lágrimas. Obrigada.

À **Profa. Susana Werner Samuel**, minha tutora querida do PET
e sempre amiga, pelo incentivo e exemplo! Obrigada!

À **Fernanda**, pela amizade, estímulo e grande ajuda na leitura das
lâminas deste trabalho. Obrigada!

Aos meus colegas, **Tatiana e Nardier**, pelo convívio, amizade e
companheirismo nestes anos de mestrado.

Ao meu colega de mestrado, **Mauro**, pelo companheirismo, pela
amizade e confiança, pelos conselhos e ombro amigo. Obrigada
amigo!

Aos meus colegas de mestrado, pela mão sempre estendida neste caminho; em especial à **Laura**, pela ajuda e amizade.

À equipe do **Instituto Puricelli**, em especial ao **Dr. Carlos Cardoso, CD. Mari Estela, Dra. Isabel Pucci, Jane, Cristina e Ana**, pela grande disponibilidade e auxílio.

À **Dona Vera, Seu Lopes e Dona Marli** por tanta dedicação, pelo carinho e pela amizade. Obrigada!

Aos amigos e colegas do **Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, em especial à **Zona 18**, pelo apoio e por terem proporcionado um excelente ambiente de trabalho.

Aos ex-alunos do Programa de Capacitação em CTBMF da FO-UFRGS, **Jéssica** e, em especial ao **Henrique**, que com tanta dedicação auxiliaram este experimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Coordenador **Prof. Pantelis Varvaki Rados e Prof. Manoel Sant'Ana Filho**, e especial a **Srta. Adriana**, pela ajuda e dedicação ao programa.

À **CAPES**, pelo auxílio e por acreditar na formação acadêmica em nosso país.

Ao **Dr. Luis Alberto Santos**, que com grande presteza confeccionou o material deste estudo; além do apoio e do incentivo, obrigada!

À Promm[®] Indústria e Comércio de Materiais Cirúrgicos, em nome do engenheiro **Ubirajara Medeiros**, pela confecção dos dispositivos metálicos. Pela ajuda e pela amizade, obrigada!

Aos funcionários do Biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à **Sra. Geni**, ao **Márcio** e à **Paula**, pela absoluta presteza e dedicação nos cuidados com os animais.

Às funcionárias do **Setor de Radiologia** desta faculdade, pela inestimável ajuda.

E à Deus, por ter permitido conviver com todos vocês e por me guiar neste caminho.

Que Deus nos abençoe!

RESUMO

Proposição: o trabalho busca descrever, por resultado histológico, o processo de reparo ósseo de cavidades cirurgicamente criadas avaliando a biocompatibilidade e osteocondutibilidade do cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) (SANTOS, 2002); e o comportamento da cicatrização óssea frente ao implante de CFtC comparada ao enxerto ósseo autógeno e à cavidade cirúrgica livre de enxerto. **Metodologia:** foram utilizados 30 ratos da raça *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar, divididos em cinco grupos. O Grupo I correspondeu ao período de três; Grupo II, de sete; Grupo III, de 14; Grupo IV, de 21; Grupo V, de 60 dias pós-operatórios. Na diáfise óssea de cada fêmur direito, houve a confecção de três cavidades ósseas, sendo designadas: teste (T), na porção proximal do fêmur, que recebeu implantação do bloco de CFtC; controle positivo (C+), na porção distal, onde foi realizada a enxertia óssea autógena; e controle negativo (C-), na porção média, que permaneceu livre de enxerto. **Resultados:** aos três dias pós-operatórios, observou-se a presença de infiltrado inflamatório, hemácias e proliferação fibroblástica em T, C- e C+. Aos sete dias, a intensa neoformação óssea foi constatada nos grupos T e C+, o que não ocorreu no grupo C-. Nesse período, verificou-se início da reabsorção do CFtC pelas células do sistema fagocitário. Aos 14 dias, houve intensa atividade osteoblástica nos três grupos, assim como em 21 dias. Aos 60 dias pós-operatórios, nos grupos T, C- e C+, o osso neoformado assemelhou-se ao osso circundante, sendo que em C- e C+ verificou-se discreta solução de continuidade no osso cortical ostectomizado. Em T, não houve a oclusão do teto da cavidade. **Conclusões:** CFtC, formulado por Santos (2002), responde a biocompatibilidade e osteotransdutividade; o osso alveolar, em ratos, frente ao implante do CFtC e ao enxerto ósseo autógeno, realiza um processo de neoformação óssea, já no período de sete dias, assim, quando comparados, o grupo C- com os grupos T e C+, declara-se uma aceleração inicial do processo cicatricial nas cavidades preenchidas; e aos 60 dias, os grupos controles apresentaram cicatrização óssea quase total, sendo assim, sugere-se, experimentalmente, tempos de implantação superiores há 60 dias, para análise da reabsorção do cimento estudado (SANTOS, 2002).

Palavras-chave: regeneração óssea; materiais biocompatíveis; enxerto ósseo autógeno.

ABSTRACT

Aims: this research claims to describe, through a histological analysis, the biocompatibility and bioactivity of α -tricalcium phosphate cement (CFtC) (SANTOS, 2002) in bone drilled cavities; and the quality of bone healing under the CFtC implant, comparing with autogenous bone graft and spontaneous healing of empty cavity. **Methodology:** were studied 30 strain rats *Rattus novergicus albinus*, Cepa Wistar, divided into five groups. Five experimental periods were determined, three (group I); seven (group II); fourteen (group III); twenty one (group IV); and sixty (group V) days. The animals were submitted to surgical procedures, which involved the femoral diaphysis, in the right side. In each bone was created three bone cavities: test (T), where were implanted CFtC blocks; positive control (C+), where were set the autogenous bone graft; and negative control (C-), which was maintained without filling. **Results:** after three days, were observed inflammatory response and fibrous proliferation in T, C- and C+ groups. After seven days, intense osteoblastic activity was observed in T and C+ groups, contrasting with C- group. In this experimental period, was verified CFtC resorption. The C- group displayed new bone only at fourteen days, and at this experimental time and after twenty one days, T and C+ groups have showed intense bone increase process. After sixty days following the surgery, in the T, C- and C+ groups, mature bone was found, and in C- and C+ was verified the wise occlusion of the cortical bone. **Conclusions:** CFtC (SANTOS, 2002), suggests to be biocompatible, bioactive and reabsorbable; the bone neoformation is stimulated by CFtC and autogenous bone graft, once after seven days, in rats; and after sixty days, the control groups has showed almost complete bone healing, thus it is suggested, experimentally, implantation times longer than sixty days, to analysis the resorption process of this cement (SANTOS, 2002).

Key-words: bone regeneration; biocompatible materials; bone transplantation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Bloco pré-curado de α -fosfato tricálcico confeccionado nas dimensões de 2X4mm, para implantação experimental em cavidades ósseas cirurgicamente criadas.....	51
Figura 2 – Placa guia confeccionada em titânio para orientação trans-cirúrgica das ostectomias (ANEXO A).....	51
Figura 3 – Broca trefina com dimensões de 1,8mm de diâmetro interno e 2mm de diâmetro externo (ANEXO B).....	52
Figura 4 – Infiltração local subcutânea, na área femural, utilizando mepivacaína 2% com adrenalina 1:100.000.....	52
Figura 5 – Incisão linear da pele (após tricotomia). A dimensão aproximada de 3cm, na parte externa do membro posterior direito, permitiu acesso à área operada	53
Figura 6 – Acesso ao fêmur direito após debridamento muscular e descolamento periostal, sendo P, a porção proximal, e, D, a porção distal do fêmur.....	53
Figura 7 – Posicionamento da placa guia sobre a superfície cortical do fêmur direito, para identificação dos pontos de ostectomia. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.....	56
Figura 8 – Identificação dos pontos de ostectomia realizada com grafite preto n.2. Observam-se as proporções e simetrias dos orifícios reproduzindo a proposta metodológica. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.....	56
Figura 9 – Ostectomia realizada com a broca trefina. Observa-se a solução de continuidade no tecido cortical e esponjoso ósseo. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.....	57
Figura 10 – Em maior aumento, as cavidades cirúrgicas permitem observar suas profundidades e fragmentos ósseos residuais que foram eliminados por irrigação. Localizam-se as cavidades T (teste), C- (controle negativo) e C+ (controle positivo), e as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.....	57
Figura 11 – Aspecto trans-cirúrgico, onde observa-se a inserção do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico na cavidade T, como primeiro preenchimento. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato..	58
Figura 12 – Aspecto trans-cirúrgico, onde observa-se a inserção do enxerto ósseo autógeno na cavidade C+, na porção distal (D) do fêmur.....	58

Figura 13 – Aspecto trans-cirúrgico da cavidade C- (livre de enxerto). Observam-se as cavidades implantadas T e C+. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.....	59
Figura 14 – Sutura da ferida cirúrgica a pontos isolados com fio não-absorvível 5-0, do tipo nylon monofilamentado.....	59
Figura 15: Três dias pós-operatórios – localização espacial das cavidades cirurgicamente criadas.....	65
Figura 16 – Três dias pós-operatórios – cavidade T: observa-se o residual ósseo no assoalho da cavidade, compatível com a luz da trefina. Visível implantação do bloco de cimento (CFtC) no interior da cavidade. Salienta-se a reposição do periósteo (P) no teto da mesma (40X).....	66
Figura 17 – Três dias-pós-operatórios – cavidade T: continuidade da medula hematopoiética, próxima ao bloco de cimento α -fosfato tricálcico, com rica presença de megacariócitos (\rightarrow) (250X).....	66
Figura 18 – Três dias pós-operatórios – cavidade C-: invaginação do periósteo (P) em direção à cavidade. Observa-se a regularidade do bordo ósseo cortical do teto (COT) após a ostectomia, e a presença de infiltrado inflamatório (I) (100X).....	67
Figura 19 – Três dias pós-operatórios – cavidade C-: A : intensa fibroplasia na cavidade livre de enxerto (40X). B : localiza-se esta área em maior aumento (100X).....	67
Figura 20 – Três dias pós-operatórios – cavidade C+: A : enxerto ósseo autógeno (EO) contido na cavidade, em posição paralela as corticais (40X). B : Inserido no tecido inflamatório, identificam-se fragmentos ósseos (FO) decorrentes da ostectomia cirúrgica. Presença de fibroplasia (F) e fibras musculares (FM) (100X).....	68
Figura 21: Sete dias pós-operatórios – localização espacial das cavidades cirurgicamente criadas.....	71
Figura 22 – Sete dias pós-operatórios – cavidade T. A : neoformação óssea trabecular a partir do endósteo circundando o bloco de cimento de fosfato tricálcico (CFtC). Presença de vasos neoformados (VN) (100X); B : angiogênese (vaso neoformado – VN) e intensa proliferação fibroblástica (250X); C : presença de tecido ósseo primário (OP) e células osteoblásticas (400X).....	72
Figura 23 – Sete dias pós-operatórios – cavidade T: A : cimento do bloco de α -fosfato tricálcico (CFtC) na cavidade. Presença da lacuna de provável reabsorção do material (L) (100X). Em maior aumento, identificam-se em B : macrófagos (M); C : células gigantes (CG); D : lacuna limitada por macrófagos e células gigantes em atividade; E : lacuna no bloco de cimento resultante da ação do sistema fagocitário.....	73

- Figura 24 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C-: lacunas resultantes da reabsorção óssea. No contorno assinalado, pode-se observar um osteoclasto (→) (400X + lente fotográfica 4.0X)..... 74
- Figura 25 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C+: fibras de Shapey (→) inserindo o tecido periosteal à cortical óssea (250X)..... 74
- Figura 26 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C+: neoformação óssea trabecular avançando em direção ao canal medular, a partir das corticais, envolvendo o canal medular. Observam-se ainda os enxertos ósseos (EO) contidos no interior da cavidade (100X)..... 75
- Figura 27 – Sete dias pós-operatórios - cavidade C+: linha basófila de reversão entre tecido ósseo primário (OP) e lamelar na cortical limitante do teto da cavidade (COt) (250X + lente fotográfica 4.0X)..... 75
- Figura 28: 14 dias pós-operatórios – localização espacial das cavidades cirurgicamente criadas..... 78
- Figura 29 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: **A:** grande atividade angioblástica próxima ao material implantado (CFtC) (100X); **B:** em maior aumento, pode-se identificar os vasos neoformados (VN) (400X)..... 79
- Figura 30 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: **A:** bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) e ruptura de ambas as corticais (40X). **B:** observa-se, em maior aumento, o material envolto em tecido conjuntivo fibroso (→) (100X)..... 78
- Figura 31 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T. **A:** neoformação óssea trabecular com a presença de tecido ósseo primário. Tecido muscular esquelético (TM) externo à cavidade (100X). **B:** presença da linha de reversão (basófila) (→) (400X)..... 80
- Figura 32 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: áreas concêntricas com invasão celular e neoformação óssea no interior do bloco de cimento (➤) (100X).. 80
- Figura 33 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: área com intensa presença de células e neoformação óssea projetada para o interior do bloco (→). Chama atenção a imagem residual focal do conteúdo do material implantado (➤) (400X)..... 81
- Figura 34 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C-: neoformação óssea predominantemente endóstea. Atividade de remodelação na cortical óssea (CO), nos bordos da ferida (250X)..... 81
- Figura 35 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C+: neoformação óssea. Presença de tecido ósseo primário (OP) e enxerto ósseo autógeno (EO) (250X)..... 82

Figura 36 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C+: linha de reversão (linha basófila) (→), no limite do tecido ósseo primário (OP) e do ósseo lamelar do enxerto ósseo (EO) (400X).....	82
Figura 37: 21 dias pós-operatórios – localização espacial das cavidades cirurgicamente criadas.....	85
Figura 38 – 21 dias pós-operatórios – cavidade T: neoformação óssea marginal, compatível com proliferação celular, invadindo, na forma de istmos ósseos, as lacunas presentes no material (CFtC) (100X).....	86
Figura 39 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C-: células adiposas (→) da medula óssea marcando a integridade e a maturidade hematopoiética (100X).....	86
Figura 40 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C+: presença de células osteoblásticas, tecido ósseo trabecular neoformado e hematopoiético com células adiposas dentro das características de medula normal (250X).....	87
Figura 41 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C+: enxerto ósseo (EO) externo à cavidade, envolto por tecido conjuntivo fibroso. Neoformação óssea, a partir do perióstio, obstruindo a solução de continuidade da cortical do teto da cavidade (COT). Tecido medular ósseo (MO) com sinais de normalidade. Presença de tecido muscular esquelético estriado (TM). (40X).....	87
Figura 42 – 60 dias pós-operatórios – localização espacial das cavidades cirurgicamente criadas.....	89
Figura 43 – 60 dias pós-operatórios – cavidade T: invasão celular junto à superfície do bloco de cimento (CFtC). Observa-se contorno de osso neoformado emoldurando a interface osso/implante (100X).....	90
Figura 44 – 60 dias pós-operatórios – cavidade C+: fragmento ósseo no assoalho do canal medular com características de acelularidade, sugestivo de residual do tecido ósseo cortical enxertado (EO) (100X).....	90
Figura 45 – Radiografia periapical (póstero-anterior) de três dias pós-operatórios, demonstrando o traço de fratura na região de C-.....	92
Figura 46 – Radiografia periapical (póstero-anterior) de sete dias pós-operatórios, demonstrando o traço de fratura na região de C-.....	92
Figura 47 – Imagens radiográficas (póstero-anterior): à esquerda, fêmur com três dias pós-operatórios; à direita, fêmur com 60 dias pós-operatórios.....	93
Figura 48 – Imagens radiográficas (perfil): à esquerda, fêmur com três dias pós-operatórios; à direita, fêmur de 60 dias pós-operatórios.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- **α -TCP** - α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; alfa-fosfato tricálcico
- **DCPD** - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; hidrogenofosfato de cálcio diidratado; fosfato dicálcico diidratado; brushita
- **HA** - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; hidroxiapatita
- **MCPM** - $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; dihidrogeno fosfato de cálcio monoidratado; fosfato monocálcico monoidratado
- **TCP** - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; fosfato tricálcico
- **TTCP**- $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$; fosfato tetracálcico
- **CC** - carbonato de cálcio
- **μm** - micrometro(s)
- **HE** - hematoxilina e eosina
- **CFtC** – cimento de α -fosfato tricálcico (SANTOS, 2002)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 TECIDO ÓSSEO.....	18
2.2 REPARO DO TECIDO ÓSSEO APÓS FRATURA.....	21
2.3 OSTEOTOMIA E OSTECTOMIA.....	25
2.4 MODELO ANIMAL EM ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	26
2.5 ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENOS.....	28
2.6 MATERIAIS ALOPLÁSTICOS.....	30
2.6.1 HIDROXIAPATITA.....	33
2.6.2 CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO.....	37
3 PROPOSIÇÃO E OBJETIVOS.....	46
4 METODOLOGIA.....	47
4.1 PARADIGMA.....	47
4.2 TIPO DE ESTUDO.....	47
4.3 LOCAL.....	47
4.4 HIPÓTESE.....	47
4.5 DESCRIÇÃO DO MATERIAL.....	48
4.6 DISPOSITIVOS METÁLICOS.....	48
4.7 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA.....	48
4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	49
4.9 MÉTODO RADIOGRÁFICO.....	60
4.10 MÉTODO HISTOLÓGICO.....	61
4.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	62
5 RESULTADOS.....	63
5.1 MÉTODO HISTOLÓGICO.....	63
5.2 MÉTODO RADIOGRÁFICO.....	91

6 DISCUSSÃO	94
7 CONCLUSÕES	105
REFERÊNCIAS	106
ANEXOS	116
ANEXO A.....	116
ANEXO B.....	117
ANEXO C.....	118
ANEXO D.....	120
ANEXO E.....	122

1 INTRODUÇÃO

Os meios para restabelecer a forma e a função dos tecidos duros humanos perdidos em tratamentos de processos patológicos e lesões traumáticas têm sido amplamente estudados.

Achados arqueológicos tanto na China como no Egito, revelaram em esqueletos mumificados ou não, enxertos ósseos assim como implantes de dentes, pedras ígneas e marfim (LEMONS; NATIELLA, 1986).

Já na época dos descobrimentos marítimos, o avanço foi estimulado pelas necessidades terapêuticas. Assim, o ouro como metal nobre, passou a ser sugerido como implante ósseo. O anatomista italiano Gabriele Fallopius, em meados do século XVI, implantou placas de ouro para restaurar um defeito ósseo craniano (SANAN; HAINES, 1997).

Avançando no conhecimento dos metais e suas ligas, surgiram indicações para o uso da prata (1827), platina (1829), aço inoxidável (1912), cobalto (1936), como implantes biologicamente compatíveis. Entretanto, a descoberta do titânio em 1951, como liga metálica, cujas propriedades de estímulo à formação óssea foi o maior passo até o momento para o desenvolvimento nos propostos de substituição e fixação de tecidos duros (CHAMPY et al., 1977; BRÅNEMARK et al., 1977).

Além da engenharia metalúrgica, a química tem desenvolvido materiais biocompatíveis. O registro das descobertas, por exemplo, das cerâmicas de óxido de alumínio em 1962, e a sinterização das hidroxiapatitas e dos fosfatos de cálcio a partir da década de 1970, impulsionaram a busca destes materiais, também biocompatíveis, como novo padrão de substituição tecidual (LEMONS; NATIELLA, 1986).

Apesar de suas propriedades físicas e químicas favoráveis, algumas limitações tanto no controle técnico como biológico, impedem a determinação destes materiais químicos

sintéticos como padrão ideal. Seu sepultamento, por exemplo, estimula reações a corpo estranho, em menor ou maior grau (KURASHINA et al., 1998).

O enxerto ósseo autógeno é considerado o “padrão ouro” para substituição deste tecido perdido. Pode ser utilizado na forma pediculado ou livre. Quando livre, pode ser vascularizado ou não (PURICELLI, 1998a; PURICELLI; BARALDI; CARDOSO, 2004; PURICELLI; BARALDI; PARIS, 2005).

Os progressos na técnica cirúrgica para obtenção de tecidos ósseos humanos na forma de enxertos autógenos, não competem com a evolução laboratorial para obtenção de materiais aloplásticos como por exemplo, os cimentos de fosfato de cálcio. As possibilidades de suas utilizações não paralelas abrem um leque de benefícios incomparáveis no tratamento dos pacientes (PURICELLI¹, 2005).

A grande demanda de enxertos ósseos autógenos livres avasculares empregados na odontologia mantém o interesse das pesquisas “*in vivo*” realizadas como cirurgias experimentais. A metodologia usada para linha de pesquisa para animais de pequeno porte, como o rato da raça *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar, já consagrou-se como oferta de resultados confiáveis em modelos propostos por Puricelli (VEECK, 1994; MARTINS, 2001; RAMIRES, 2001; KENNER, 2003; ULBRICH, 2003).

Dentre os materiais sintéticos para uso biológico - biomateriais, o cimento de fosfato de cálcio, apresenta-se na forma de pasta ou bloco pré-curado. Esses cimentos não são um componente natural do osso. Sendo absorvível, estão indicados quando a bioabsorção é desejável para posterior substituição por tecido ósseo. Quanto às suas propriedades químicas, o cimento de fosfato de cálcio produz a hidroxiapatita (HA) quando implantado *in vivo* (BROWN; CHOW, 1986; MIRTCHI; LEMAITRE; MUNTING, 1990; CHOW et al., 1991; MIRTCHI; LEMAITRE; MUNTING, 1991; BERMUDEZ et al., 1994). Já a hidroxiapatita

¹ PURICELLI, E. Comunicação pessoal. 2005.

(HA) é um elemento constituinte permanente dos tecidos duros dos vertebrados, compondo 60 a 70% dos ossos e 98% da dentina e do esmalte. Sua fórmula é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (JOHNSON, 1992).

Em seus estudos, Chow e colaboradores, em 1991, e Driessen e colaboradores, em 1997, afirmam que os cimentos de fosfato de cálcio apresentam uma série de vantagens quando utilizados em aplicações biomédicas. Por isso, são objeto de intenso estudo, principalmente por apresentarem-se como materiais biocompatíveis e bioativos. Para ser biocompatível, o material não deve causar efeitos nocivos no local de sua inserção ou no sistema biológico como um todo. Já bioativos são os materiais que em função de sua similaridade química com a parte mineral do tecido ósseo, ligam-se a ele, permitindo a osteocondução. Assim, resulta a produção de um novo osso por meio da proliferação e da migração de células osteocompetentes ao longo de um condutor. Combinando-se biocompatibilidade/bioatividade estimula-se uma deposição direta de osso na superfície dos materiais (PARIS, 2001; SCHENK, 1996).

Sendo assim, considerando a potencialidade dos cimentos de fosfato de cálcio e a escassa literatura a respeito, trabalhos experimentais como este, visam contribuir para melhor conhecimento deste material no processo de reparo ósseo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é o mais desenvolvido tecido conjuntivo de sustentação e é composto de duas matrizes: orgânica e mineral (KESSEL, 2001). Seu peso consiste em 33% de matriz orgânica que é composta de 90-95% de fibras colágenas, predominantemente colágeno tipo I, sendo o restante um meio homogêneo denominado substância fundamental amorfa, composta de proteoglicanas. Esta matriz é permeada por cálcio e fosfato na forma de cristais de hidroxiapatita (HA) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, que perfazem os 67% remanescentes do osso constituindo a matriz mineral (WHITSON, 2001). Nessa matriz, há também fosfato de cálcio não cristalino, íons citrato, bicarbonato, fluoreto, magnésio, potássio e sódio em menores quantidades (KESSEL, 2001). A hidroxiapatita e o colágeno são os responsáveis pela dureza e resistência do tecido ósseo, permitindo que ele resista à compressão e à tensão (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As células encontradas no osso são basicamente osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, sendo os dois primeiros derivados de células mesenquimais, denominadas células osteoprogenitoras (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994). Além destas células, o osso pode conter ainda, em sua estrutura, adipócitos, principalmente em indivíduos adultos (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993).

Os osteoblastos podem ser originados a partir da medula óssea, periósteo, endósteo e membrana periodontal. São as células responsáveis pela secreção de colágeno tipo I, componente principal da matriz orgânica, e que constitui a camada osteóide. Os sais de cálcio precipitam-se sobre essa matriz formando os cristais de hidroxiapatita e mineralizando o tecido. Os osteoblastos dispõem-se sempre nas superfícies ósseas, lado a lado, em um arranjo que lembra um epitélio simples. Quando em intensa atividade sintética, são cubóides, com um

citoplasma extremamente basófilo. Porém, em estado pouco ativo, tornam-se achatados e a basofilia do citoplasma diminui (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteócitos são as células osteoblásticas aprisionadas na matriz durante a secreção e mineralização óssea. Estes, transformados em osteócitos, ocupam os espaços chamados lacunas. Os osteócitos apresentam reduzida atividade metabólica, mas são fundamentais para a manutenção do tecido ósseo. São células achatadas, que lembram a forma de amêndoa. Sua morte é seguida de reabsorção da matriz (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteoclastos qualificam-se como células gigantes. São móveis e ramificadas, e podem apresentar de seis a 50 núcleos. Essas células são provavelmente derivadas do sistema macrófago-monócito. Sua atividade está presente nos processos fisiológicos e patológicos de reabsorção, participando assim do remodelamento contínuo do osso. Os sítios onde ocorre, formam cavidades conhecidas como Lacunas de Howship. Os osteoclastos têm citoplasma granuloso, fracamente basófilo nas células jovens e acidófilo nas maduras. A superfície ativa dos osteoclastos, voltada para a matriz óssea apresenta prolongamentos vilosos circundados por um citoplasma pobre em organelas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Como não existe difusão de substâncias através da matriz calcificada do osso, Junqueira e Carneiro (2004) reforçam que a nutrição do tecido ósseo depende de canais e canalículos, os chamados sistemas de Havers e Volkmann, ambos existentes na matriz.

Ross, Reith e Romrell (1993) classificam o tecido ósseo em compacto ou cortical e esponjoso ou trabecular. Além destes, encontra-se o tecido medular.

O tecido ósseo cortical é de revestimento, podendo estar coberto externamente por cartilagem articular ou periósteo. O periósteo possui uma camada externa constituída por fibras colágenas e fibroblastos e, uma porção mais profunda, celular, constituída por células osteoprogenitoras. As estruturas fibrosas que aderem o periósteo à superfície óssea são denominadas fibras de Sharpey (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; KESSEL, 2001). O

periósteo é rico em vasos sanguíneos e, assim, desempenha um importante papel no reparo ósseo. Sua ausência pode levar a um retardo ou uma falha na cicatrização. Ao contrário do tecido ósseo, o periósteo apresenta vasos linfáticos (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993). Whiteside e Lesker (1978) relatam a importância da integridade dos tecidos periostais para a reparação óssea.

O tecido ósseo esponjoso compreende a medula óssea, depositada em espaços constituídos de uma rede de placas finas e irregulares, denominadas trabéculas, separadas por espaços intercomunicantes, dando o aspecto de esponja. Nestes espaços, a medula óssea é vermelha, nos ossos jovens, e amarela, nos adultos. No tecido ósseo maduro, a medula apresenta maior quantidade de células adiposas, compatível com a degeneração graxa (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994). As trabéculas são recobertas pelo endósteo. Assim como o periósteo, o endósteo contém células da série osteogênica, que são responsáveis pelo crescimento, reparo ósseo e remodelamento contínuos.

O tecido ósseo apresenta duas formas estruturais principais: osso entrelaçado ou primário e osso lamelar ou secundário. O osso entrelaçado é uma forma imatura caracterizada por organização irregular de fibras colágenas. Durante o desenvolvimento ósseo, esta é a primeira forma de osso produzida. A seguir é remodelado para formar osso lamelar, cuja estrutura constitui a maior parte do esqueleto maduro. O osso lamelar, quando disposto arquitetonicamente de forma aberta, constitui o osso esponjoso. Este osso maduro é representado por sucessivas camadas que formam uma massa sólida, o osso cortical. (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994).

Junqueira e Carneiro (2004) referem que o tecido ósseo além de proteger órgãos vitais e alojar a medula óssea, sustenta músculos esqueléticos, proporcionando movimentos.

Para Burkitt, Young e Heath (1994), o osso constitui-se de uma forma especializada de tecido de sustentação com propriedade de rigidez e força, enquanto mantém algum grau de

elasticidade. Além disso, apresenta-se como um importante reservatório de cálcio e outros íons inorgânicos, participando ativamente na manutenção da homeostase do cálcio no corpo como um todo.

A modelação óssea é o processo pelo qual o osso altera seu tamanho e forma. Através de diferentes padrões de reabsorção e neoformação, mantém o principal mecanismo de adaptação do osso. A remodelação é descrita como a reestruturação interna da cortical e do osso esponjoso (ROBERTS; GARETTO; DECASTRO, 1989).

Sendo assim, o tecido ósseo sofre três processos ao longo da vida: o modelamento, que se caracteriza pela aquisição de forma; o remodelamento onde ocorre um processo ósseo contínuo que reduz seu ritmo durante o envelhecimento; e o reparo, que responde ao processo cicatricial (SCHWAN; SOUZA, 2000).

2.2 REPARO DO TECIDO ÓSSEO APÓS FRATURA

Grotendorst e Martin (1986) definem a cicatrização óssea como um fato não isolado. O processo de regeneração tecidual é geral, incluindo tanto tecidos moles quanto duros.

Siqueira Jr. e Dantas (2000) consideram que o objetivo desta cicatrização é restaurar a continuidade entre as margens da ferida, restabelecendo as características morfofuncionais do órgão ou tecido afetado. No processo de reparo, as células progenitoras indiferenciadas têm papel fundamental. Elas determinam uma série de eventos para restaurar o dano.

Christian (1996) afirmou que a cicatrização de uma fratura pode, na verdade, não ser absolutamente um processo de consolidação, mas um processo de regeneração óssea. Consolidação significa tornar novamente inteiro ou sólido, significa curar. Na pele ou órgão interno, a consolidação sempre deixa uma cicatriz produzida por tecido conjuntivo novo, que substitui o tecido lesado. Regeneração, por outro lado, significa formar-se novamente, tomar novamente uma forma.

Na regeneração, o tecido lesado auto-substitui-se, não havendo a formação de uma cicatriz. Assim, após uma fratura óssea, quando cessam os processos reparativos, forma-se um novo osso no local original da fratura, não havendo mais evidência da lesão anterior (FEINBERG; STEINBERG; HELMAN, 1991).

Burkitt, Young e Heath (1994) propuseram a fratura como modelo de reparo ósseo. Neste, a neoformação óssea é tanto intramembranosa como endocondral. Na ossificação intramembranosa o mineral é depositado diretamente em um tecido mesenquimal, enquanto na ossificação endocondral um modelo de cartilagem é substituído por osso. No local da fratura, forma-se um coágulo sanguíneo que é posteriormente substituído por um tecido colágeno altamente vascular (tecido de granulação). Este tecido torna-se progressivamente mais fibroso. Células mesenquimais diferenciam-se em condroblastos e substituem o tecido de granulação fibroso com cartilagem hialina, formando um calo provisório que é flexível. Este calo é fortalecido pela deposição de sais de cálcio dentro da matriz cartilaginosa. Células osteoprogenitoras do endóstio e perióstio são ativadas e depositam osso entrelaçado ao redor e dentro do calo provisório. O calo provisório é então transformado em calo ósseo. O osso entrelaçado formador do calo ósseo será lentamente remodelado para formar osso lamelar maduro. Assim, o tecido ósseo repara-se sem a formação de cicatriz.

Urist, Delande e Finermann (1983) atribuíram a formação de cartilagem no processo de reparo ósseo, a uma escassez do suprimento sanguíneo do tecido adjacente.

Diversos autores descrevem basicamente três estágios fisiológicos do reparo ósseo: inflamatório, fibroblástico e de remodelação.

Logo após a fratura, ocorre a formação de um coágulo devido à ruptura dos vasos do perióstio, osso e medula. Shafer, Hine e Levy (1987) consideram que o coágulo tem um efeito passivo no processo de reparo. Entretanto, a necrose do coágulo pode causar atraso no processo.

Segundo Junqueira e Carneiro (2004), o estágio inflamatório dura de três a cinco dias, e é dividido em duas fases, a vascular e a celular. Uma vasoconstrição inicial forma o coágulo e, após a histamina e as prostaglandinas causam vasodilatação, possibilitando a passagem do plasma e leucócitos através das células endoteliais. Evidencia-se dor, edema e calor. Células inflamatórias migram para o local da fratura acompanhadas por angiogênese e proliferação celular. O estágio inflamatório para Hupp (1996) é também referido como um estágio de intervalo, pois é um período durante o qual não ocorre nenhum ganho na consistência da ferida. O principal material contido é a fibrina, que possui pouca resistência tênsil.

No estágio fibroblástico, as células osteogênicas diferenciam-se em fibroblastos, osteoblastos e osteoclastos (GUIMARÃES, 1982). Segundo Chalmers, Gray e Rush (1975), as células osteogênicas ou estão presentes no local da lesão ou são derivadas de tecidos conjuntivos precursores. Os fibroblastos e osteoblastos produzem então, matriz fibrosa formando o calo ósseo. Há a deposição de matriz osteóide que será gradativamente calcificada e transformada em tecido ósseo primário. Nessa fase ocorre a angiogênese local, voltada para o calo da fratura.

O último estágio ou de remodelamento, inicia-se com a união clínica e radiográfica do osso e termina com a restauração do seu aspecto inicial e do canal medular. Histologicamente, o tecido ósseo primário é reabsorvido pelos osteoclastos e substituído por osso lamelar, processo que pode variar de meses a anos para se completar (SCHILLING et al., 1998).

O processo de regeneração segue os princípios da Lei de Wolf, citada por Pritchard (1963), onde a estrutura óssea final deverá corresponder às necessidades biomecânicas do sistema.

Shapiro (1988) ressalta, nas fraturas ósseas, a importância das dimensões do dano, bem como a sua estabilidade.

Enquanto se mantêm os princípios da redução das fraturas, torna-se cada vez mais importante a obtenção de métodos eficazes de fixação interna de fragmentos ósseos. Somente uma perfeita imobilização pode garantir uma cicatrização sem complicações (PURICELLI, 1981). Em 1977, Champy e colaboradores, modificaram a técnica de fixação rígida de Michelet, referindo que o princípio da aplicação da osteossíntese consiste em neutralizar as forças de tração, com fixação apenas da cortical externa.

O tecido ósseo tem alta capacidade de reparo, mas apresenta limitações, pois defeitos muito grandes são rapidamente preenchidos com tecido conjuntivo. O bloqueio da neoformação óssea exercido pelo tecido conjuntivo dá-se pela sua maior taxa de proliferação e migração celulares. E também porque algumas substâncias da sua matriz extracelular inibem a proliferação de células osteoprogenitoras (DAHLIN, 1994).

A capacidade de regeneração óssea não depende apenas do tamanho do defeito, mas também do amplo suprimento sanguíneo e estabilidade mecânica. A má oxigenação ou a ausência de estabilidade levam a formação de um tecido fibrocartilaginoso. Em condições compatíveis, a regeneração do osso segue os passos do crescimento ósseo, onde as células osteoprogenitoras das margens do defeito são ativadas e começam a depositar osso sem a fase cartilaginosa (SCHENK et al., 1994).

Ainda para SCHENK e colaboradores, em 1994, o reparo de pequenos defeitos em osso cortical ou medular ocorre da seguinte forma: na primeira semana deposita-se osso primário o qual, no período de quatro semanas, é substituído por osso lamelar. Para que defeitos ósseos sejam reparados tem-se proposto técnicas baseadas nos princípios de osteocondução, regeneração óssea guiada, distensão do calo ósseo e osteoindução.

A técnica baseada na osteocondução preconiza a colocação de um material de preenchimento no defeito ósseo. Este funciona de arcabouço para a proliferação das células ósseas. O material utilizado deve ser biocompatível e preferencialmente bioativo. Idealmente

esse material deve ser reabsorvido (durante a fase de remodelação) e substituído por tecido ósseo (SCHENK et al., 1994).

Feinberg, Steinberg e Helman (1997) descreveram um tipo diferente de reparo de fraturas, em que não havia formação de calo, e a denominaram de “cicatrização em primeira intenção”. Esse processo foi também chamado de consolidação óssea primária ou consolidação óssea direta. Esta forma de reparo ocorre em fraturas com uma redução anatômica estável e fixa, mantendo bom suprimento sanguíneo e sem cominuição.

Enlow e Hans (1998) reforçam que o tecido ósseo neoformado adquire características idênticas ao destruído devido ao processo fisiológico de remodelamento e adaptação funcional do osso.

2.3 OSTEOTOMIA E OSTECTOMIA

Puricelli (1998b) conceitua a osteotomia como preparo cirúrgico do osso que permite a reposição fragmentada ou integral do mesmo em seu sítio. A ostectomia envolve o corte do tecido ósseo sem a intenção de sua conservação ou reaproveitamento.

Segundo Bonfield e Li (1968), o aumento exagerado da temperatura focal na região das perfurações ósseas quando realizadas com fresas cirúrgicas causará necrose óssea. Os mesmos autores constataram que temperaturas acima de 50°C estão diretamente relacionadas à mudança irreversível na estrutura e nas propriedades físicas do osso.

Barone (1997) analisou o reparo ósseo, *in vivo*, após osteotomias com brocas de alta rotação, com e sem utilização de irrigação. Os meios líquidos apresentavam-se em diferentes temperaturas (ambiente e gelada). Para um dos grupos pesquisados, houve a utilização de cera para osso tamponando a ferida. Os autores concluíram que, a temperatura do líquido de irrigação não proporciona alteração no reparo ósseo. Porém, a falta de irrigação e a aplicação de cera para osso, proporcionam um reparo ósseo inferior.

Em 1999, Kerawala e colaboradores avaliaram a alteração da temperatura durante a preparação óssea para osteossíntese. Além disso, foram testadas diferentes pressões exercidas na confecção dos orifícios. Os autores concluíram que uma técnica operatória cuidadosa e a irrigação constante durante a preparação óssea, resultam em uma máxima regeneração tecidual ao redor dos parafusos de osteossíntese.

Diversos são os meios utilizados para realização do corte ósseo, entre eles as serras cirúrgicas e as brocas. Segundo Ilankovan e colaboradores, em 1998, a utilização da broca trefina resulta em uma cicatriz de menor tamanho e causa menor morbidade no sítio ostectomizado.

2.4 MODELO ANIMAL EM ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Dentre os diferentes tipos de animais utilizados para pesquisas experimentais, encontram-se coelhos (MATSUMOTO et al., 2000; SANTOS, 2002; MORAES et al., 2004), gatos (FEINBERG; VITT, 1988), cães (TIO et al., 1987; YUAN et al., 2000); e ratos (DENISSEN; MAGANO; VENINI, 1985; KURASHINA et al., 1997a; KURASHINA et al., 1997b; KURASHINA et al., 1998; VEECK, 1994; PASQUIER et al., 1996; PASQUIER et al., 1998; BATISTA, 1999; YUAN, 2000; MARTINS, 2001; RAMIRES, 2001; PARIS, 2002; KENNER, 2003; ULBRICH, 2003).

Nos modelos experimentais em ratos, os ossos mais utilizados são o fêmur (VEECK, 1994; PASQUIER et al., 1996; PASQUIER et al., 1998; BATISTA, 1999; YUAN et al., 2000; RAMIRES, 2001; ULBRICH, 2003), calota craniana (KURASHINA et al., 1998) e regiões bucomaxilofaciais (KURASHINA et al., 1997a; KURASHINA et al., 1997b; MARTINS, 2001; PARIS, 2002; KENNER, 2003).

Uma grande variedade de implantes e enxertos ósseos vem sendo utilizados em estudos experimentais em animais. Porém, a correlação entre esses estudos apresenta-se

extremamente dificultada, já que seus modelos animais mostram-se distintos. Além disso, a avaliação quanto ao reparo ósseo varia significativamente em animais da mesma espécie. Devido a estes contrastes, Schmitz e Hollinger (1986), sugerem a utilização de animais adultos e de mesma idade cronológica, como meio experimental.

Heiple e Hernon² e Hjorting-Hansen e Andreasen³, relatam que a regeneração e remodelação óssea dependerão da espécie e da idade do animal, da dimensão e localização do defeito ósseo e da manutenção do perióstio (apud SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Frame⁴ relatou que em todo estudo experimental deve ser determinado o defeito de tamanho crítico (CSD – critical size defect). O CSD é definido como o menor defeito intraósseo que não cicatrizará espontaneamente durante a vida do animal. Dessa forma, quando objetiva-se a cicatrização óssea completa deve-se optar por dimensões menores ao CSD determinado, caso contrário haverá a formação de tecido fibroso ao invés de tecido ósseo (apud SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Baseado nos referidos estudos, Schmitz e Hollinger (1986) realizaram uma revisão de literatura e sugeriram um protocolo experimental, visando a padronização do modelo animal. Porém, não houve determinação quanto às dimensões de defeitos em diáfises de fêmures de ratos.

Em 2003, segundo modelo de Puricelli, Ulbrich estudou o reparo ósseo sob o efeito permanente de campo magnético sepultado *in vivo*. As cavidades cirurgicamente criadas em fêmures de ratos mediam 2mm de diâmetro e aproximadamente 4mm de espessura. Havia a ruptura apenas de uma cortical, permitindo assim a estabilidade da estrutura e imobilização da ferida óssea. A dimensão, idealizada pelas autoras, reproduziu resultados compatíveis com reparo ósseo em primeira intenção.

² HEIPLE, K. G.; HERNDON, C. H. The pathologic physiology of nonunion. **Clin. Orthop.**, v. 43, p. 11, 1965.

³ HJORTING-HANSEN, E.; ANDREASEN, J. O. Incomplete bone healing of experimental cavities in dog mandibles. **British J. Oral Surg.** London, v. 9, p. 33, 1981.

⁴ FRAME, J. W. A composite of porous calcium sulfate dihydrate and eyanoacrylate as a substitute for autogenous bone. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 38, p. 251, 1980.

2.5 ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENOS

Defeitos ósseos resultantes de traumatismos, ressecções de tumores, infecções, entre outras causas, constituem problemas de difícil solução estético-funcionais. Nesse processo de reconstrução óssea, busca-se um material ideal para a substituição do tecido perdido.

Entre as características de um material ideal estão: a excelente biocompatibilidade tecidual, a disponibilidade em quantidades ilimitadas, a estabilidade, as capacidades de preenchimento e conformação e a capacidade de serem reabsorvidos e substituídos (SHINDO et al., 1993).

Como definição, enxerto é a transferência de um tecido de um sítio do organismo para outro do mesmo indivíduo ou de indivíduo diferente (HOUAISS, 2001). Assim, os enxertos podem ser autógenos, alógenos ou xenógenos.

Para Triplett (1996), o osso autógeno fresco é o material de enxerto ósseo ideal por ser o único a fornecer células ósseas imunocompatíveis vivas. O osso autógeno é considerado o “padrão ouro” dentre os materiais de enxerto devido às suas propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas.

Os enxertos ósseos autógenos utilizam tecido ósseo do próprio indivíduo e são os mais utilizados devido à resposta imunológica, diferentemente dos enxertos alógenos, que utilizam uma porção de tecido ósseo de um outro indivíduo e apresentam uma taxa de reabsorção de até 82% (CONSTANTINO; FRIEDMAN; LANE, 1993). Segundo Puricelli e colaboradores, em 1999, os enxertos alógenos, apresentam dificuldades quanto à instalação e manutenção de bancos de ossos e quanto ao risco de transmissão de doenças infecciosas.

Diversos autores como Burwell, em 1965, Jackson e colaboradores, em 1981, Burchardt, em 1987 e Lane, Harvinder e Sandhu, em 1987, citam a utilização dos enxertos ósseos autógenos para substituição do tecido ósseo perdido.

Em 1985, Puricelli e Chem realizaram enxerto livre de fíbula vascularizada para reconstrução mandibular, após extensa mandibulectomia, provocada por sarcoma osteogênico. O controle pós-operatório de 16 meses revelou boa evolução clínica e radiográfica do caso. Os autores relatam que os resultados de enxertos ósseos autógenos, livres avasculares, são imprevisíveis e que podem apresentar rejeições e reabsorções que levam a um prognóstico sombrio. Os insucessos dependem principalmente de dois fatores: o tipo e a nutrição do enxerto ósseo, e a sua imobilização pós-operatória.

Para Rasmusson, em 1998, os processos de reparo e incorporação dos enxertos ósseos autógenos são influenciados por fatores tais como a técnica cirúrgica, padrão e extensão da revascularização, grau de estabilidade do enxerto, invasão de tecidos não osteogênicos, presença dos fatores de crescimento e vitalidade das células enxertadas.

Garg, em 1999, definiu os três diferentes processos associados ao sucesso dos enxertos ósseos: osteogênese, osteoindução e osteocondução. Osteogênese é a formação e o desenvolvimento do osso. Osteoindução é o processo de estimulação da osteogênese. Osteocondução é quando um condutor fornece uma matriz física para a deposição de novo osso. Para o autor, esses três processos ocorrem concomitantemente na regeneração dos enxertos ósseos autógenos.

Ellis III, em 1993, formulou a teoria da osteogênese em duas fases. Nesta teoria, a regeneração do enxerto ósseo inicia com a deposição de nova matriz osteóide pelas células transplantadas. A fase I é responsável pela maior parte do osso neoformado e está diretamente relacionada à difusão de nutrientes das margens do leito receptor e à quantidade de células ósseas viáveis transplantadas. A fase II inicia após a segunda semana com intensa angiogênese e proliferação fibroblástica do leito receptor para o enxerto. Fibroblastos e outras células mesenquimais diferenciam-se em osteoblastos, dando continuidade à osteogênese, devido ao mecanismo de indução de proteínas encontradas no osso.

Rasmusson, em 1998, refere que o enxerto ósseo autógeno fornece a estrutura para nova formação óssea (osteocondução). Concomitantemente, este enxerto contém proteínas que estimulam a osteogênese, induzindo a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (osteoindução) e tem as BMPs como fator desencadeador.

Autores como Jackson e colaboradores, em 1981 e Edwards e Ousterhout⁵ (apud KURASHINA et al., 1998) referem que a aplicação dos enxertos ósseos autógenos está limitada a casos específicos: ao estado do paciente e, à localização e ao tamanho do defeito ósseo. Além disso, o uso desse tipo de enxerto apresenta numerosas desvantagens: alta morbidade do sítio doador, reabsorção, complicações pós-operatórias, maior tempo cirúrgico, dificuldade de uma conformação exata ao defeito e, em alguns casos, a indisponibilidade da quantidade de osso necessária para restaurar a cavidade defeituosa.

Autores como Lemperle, Hazan-Gauthier e Lemperle, em 1998, Puricelli e Chem, em 1985 e Puricelli e colaboradores, em 1999 referem a utilização de enxertos ósseos autógenos e implantes de materiais aloplásticos (biologicamente inertes) para a restauração de estruturas danificadas do organismo humano, obtendo resultados satisfatórios.

2.6 MATERIAIS ALOPLÁSTICOS

Diante da busca constante de um substituto ideal para tecidos humanos, devido à complexidade do tratamento reparador, tem sido dado destaque aos materiais aloplásticos. Dentre eles, podemos citar os metais (titânio, platina, ouro), os polímeros (polietileno, poliéster, polimetilmetacrilato, silicone) e as cerâmicas (hidroxiapatita, cimento de fosfato de cálcio) (PURICELLI et al., 1999; LEONEL et al., 2003).

Os biomateriais são utilizados como dispositivo terapêutico, com intenção de interagir com sistemas biológicos (WILLIAMS, 1987).

⁵ EDWARDS, M. S. B.; OUSTERHOUT, D. K. Autogenic skull bone grafts to reconstruct large or complex skull defects in children and adolescents. *Neurosurgery*, v. 20, p. 273-280, 1987.

Vários são os critérios que um material precisa atender para ser enquadrado como um biomaterial. Segundo a Conferência de Consenso em Biomateriais para Aplicações Clínicas de 1982, entende-se por biomaterial: “toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais” (WILLIAMS, 1987).

Para a aceitação de um material como implante é necessário que o mesmo atenda fundamentalmente as seguintes características:

- deve ser biocompatível, ou seja, sua presença não deve causar efeitos nocivos no local do implante ou no sistema biológico;
- não deve sofrer alteração no meio implantado, como por exemplo, a corrosão em metais;
- deve ser biofuncional, isto é, ter as características adequadas para cumprir a função desejada, pelo tempo desejado;
- deve ser passível de esterilização.

Paralelamente a biocompatibilidade, é importante que o material implantado permita o desempenho imediato e com êxito da função específica (estática e dinâmica). Esta característica está embutida no conceito de biofuncionalidade (RAVAGLIOLI; KRAJEWSKI, 1992).

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com o seu comportamento fisiológico (HENCH; WILSON, 1993):

- **Biotoleráveis:** materiais tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos circunvizinhos pela formação de cápsula de tecido fibroso. Quanto maior a espessura de tecido fibroso formado, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os

materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos assim como a grande maioria dos metais.

- **Bioinerte:** materiais também tolerados pelo organismo, onde a formação de cápsula fibrosa é mínima ou praticamente inexistente. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após a implantação. Em alguns casos, esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono.
- **Bioativos:** materiais que permitem ligações de natureza química. A similaridade química entre estes materiais e, por exemplo, a parte mineral óssea permite a osteocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.
- **Bioabsorvíveis:** materiais que em contato com os tecidos são degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais têm grande aplicação clínica-cirúrgica, visto que eliminam intervenções cruentas para sua retirada. Os principais exemplos desses materiais são o cimento de fosfato tricálcico (TCP), algumas hidroxiapatitas (HA) e o ácido polilático.

Os materiais cerâmicos foram utilizados pela primeira vez como biomateriais há cerca de 25 anos. Inicialmente, buscou-se o desenvolvimento de materiais que provocassem uma mínima ou nenhuma reação tecidual. Entretanto, a soma de conhecimentos na área dos materiais cerâmicos gerou uma proposta conceitualmente oposta: as biocerâmicas deveriam provocar reações, se possível, com uma ligação íntima entre as cerâmicas e os tecidos (HENCH; WILLSON, 1993).

Entretanto, em 1998, Kurashina e colaboradores observaram que, a maioria dos materiais aloplásticos, provoca, em maior ou menor grau, uma reação inflamatória do organismo receptor, podendo evoluir para infecção dos tecidos e extrusão do implante.

A longevidade dos implantes de biomateriais depende de um entendimento considerável do comportamento celular na interface implante-tecido. Sempre que um material não-biológico é implantado em tecido vivo, há uma inevitável resposta celular. A reação tecidual ou esta resposta celular à maioria dos materiais biocompatíveis, não-tóxicos, deve ser moderada e transitória. A forma e as características da superfície podem modificar a resposta celular (SALTHOUSE; MATLAGA, 1983).

Entre os materiais inorgânicos sintéticos, a hidroxiapatita e o cimento de fosfato de cálcio têm recebido grande atenção. São materiais de preenchimento, substitutos para os enxertos ósseos, principalmente devido a sua biocompatibilidade, bioatividade e características de osteocondução em relação ao tecido hospedeiro (TOQUET et al., 1999; SICCA et al., 2000).

2.6.1 HIDROXIAPATITA

O uso da HA tem sido muito pesquisado desde seu surgimento como biomaterial, em 1970. A Hidroxiapatita (HA) é um fosfato de cálcio hidratado, principal componente (cerca de 95%) da fase mineral dos ossos e dentes humanos. O substantivo hidroxiapatita é formado pela junção das palavras hidróxi e apatita. Hidróxi refere-se ao grupo hidroxila (OH) e apatita é uma nômima mineral. A palavra apatita vem do grego e significa “decepção” por ser confundida com turmalina, berilo e outras pedras. A hidroxiapatita é o material presente nos vertebrados, compondo o esqueleto, atuando ainda como reserva de cálcio e fósforo (SANTOS, 2002).

O material de implante pode atuar por três mecanismos: osteogênese, osteoindução e osteocondução. Na osteogênese a formação de tecido ósseo é resultante direta da ação dos osteoblastos (MARX; SAUNDERS, 1986). Na osteoindução, as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) facilitam a indução e transformação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos, promovendo maior crescimento ósseo ou mesmo formando osso em sítios não esperados (URIST, 1965). A osteocondução caracteriza-se pela aposição de novo tecido ósseo a partir de uma interface óssea pré-existente, requerendo para tal, a presença de células osteoprogenitoras. É um mecanismo mais evidente nos componentes inorgânicos (MASTERS, 1988).

Os autores Jarcho, em 1981, Kent e colaboradores, em 1986 e Rosen, em 1989, referem a similaridade química da hidroxiapatita obtida “*in vitro*” com a composição “*in vivo*” dos tecidos ósseos. Trata-se de um material de alta biocompatibilidade e caracteriza-se por estimular o crescimento ósseo pela osteocondução. Nesse processo, estabelecem-se ligações de natureza química entre ela e o tecido ósseo (bioatividade), permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas.

Denissen, Mangano e Venini, em 1985, descreveram a HA como um material biocompatível e constituinte natural do tecido ósseo, da dentina e do esmalte. Ressaltam como aspecto mais importante da microestrutura da HA sintética o fato de ela ser porosa ou densa, podendo ser reabsorvível ou não.

Jarcho, em 1986, descreveu a ocorrência de aglutinação dos grânulos de HA com o osso vital. Na tentativa de separá-los, houve uma fratura do osso. Esta, não ocorreu na interface osso/implante.

Tio e colaboradores, em 1987, relatam dois casos clínicos de aumento de crista óssea alveolar em mandíbula com o uso de HA porosa. Os autores comprovaram as propriedades

osteocondutoras e osteofílicas do material, anteriormente demonstradas em estudos experimentais em cães.

Em 1992, Ricci e colaboradores estudaram as propriedades físico-químicas da HA obtida a baixas temperaturas e sua resposta frente ao osso vivo. Essa HA, obtida a partir do fosfato de tricálcico, é reabsorvível. As obtidas em altas temperaturas mostram-se mais estáveis. Os autores concluíram ainda que a HA não é osteogênica e tampouco osteoindutora, e reafirmaram seu efeito osteocondutor e sua biocompatibilidade.

Puricelli, em 1994, indica a utilização da hidroxiapatita sinterizada densa para reconstrução volumétrica do processo alveolar atrésico e para a preservação das dimensões ósseas alveolares após perdas dentárias.

Yukna, Yukna e Mayer, em 1997, demonstrou vantagens da utilização da HA sobre o polimetilmetacrilato (PMMA) e o polihidroxietilmetacrilato, em estudo de cinco anos de acompanhamento, em lesões de furca grau II em molares humanos.

Puricelli, em 1998a, refere a utilização de HA granulada para reconstrução volumétrica dos defeitos ósseos na cortical vestibular, no tratamento cirúrgico conservador de dentes retidos. Relata que a HA é um material biocompatível que, substitui a cortical óssea vestibular em volume e função.

Em 2002, Paris utilizou 40 ratos, para estudo de implantação de grânulos de HA em defeitos periodontais cirurgicamente criados. Os procedimentos cirúrgicos envolveram a região palatina do primeiro molar superior. Nos grupos experimentais foram implantados grânulos de HA. Os resultados histológicos permitiram concluir que a HA densa sinterizada é um material não-reabsorvível, biocompatível e osteocondutor. Não foram observadas reações inflamatórias ou a corpo estranho frente aos grânulos. No grupo experimental, junto ao osso alveolar, houve intensa aposição e neoformação óssea. Já no grupo controle, houve uma maior reabsorção óssea da região.

Em 2002, Puricelli, em estudo histológico, avaliou HA (Calcitite 2040-12) não-reabsorvível, densa, sinterizada, em defeito ósseo alveolar dentado humano. Os grânulos de HA foram utilizados para correção tardia de seqüela óssea pós-extração de incisivo central superior direito. Por contigüidade, o defeito ósseo em vestibular do incisivo lateral presente foi corrigido. Dezesesseis meses após, esse dente (12), devido à fratura radicular, foi extraído sem osteotomia. Os resultados mostraram que macroscopicamente houve a fixação dos grânulos de HA sobre a raiz, envoltos por tecido mole. Os achados histológicos não demonstraram evidências de rejeição ou expulsão dos grânulos do implante. Não houve reação inflamatória ou irritação no tecido periodontal, demonstrando a biocompatibilidade do material. Os grânulos encontravam-se completamente encapsulados por tecido conjuntivo, mantendo o paralelismo das fibras periodontais humanas.

Segundo Paris, em 2002, as principais aplicações da HA são: reparo de defeitos ósseos em aplicações odontológicas e ortopédicas, aumento de rebordo alveolar, coadjuvante na colocação e recobrimento de implantes metálicos, regeneração guiada de tecidos ósseos, reconstrução bucomaxilofacial, equipamentos percutâneos, reparo e substituição de paredes orbitais e substituição do globo ocular.

Matson, em 1985, destacou, como vantagens dos materiais cerâmicos, a resistência à corrosão, a baixa condutibilidade térmica e o módulo de elasticidade semelhante ao osso trabecular. Como desvantagem, encontrou a baixa resistência aos impactos. O autor citou dentre esses materiais: o quartzo fundido, os boros-silicatos, os alumínio-silicatos de lítio ou magnésio e o cimento de fosfato de cálcio.

2.6.2 CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO

O desenvolvimento do primeiro cimento de fosfato de cálcio deve-se a Brown e Chow, em 1986. Os autores descobriram que misturas de pós de fosfato tetracálcico (TTCP) e fosfato dicálcico (DCPD) resultavam em reação de presa ao serem misturados com água.

Isso é devido à dissolução dos fosfatos de cálcio constituintes e à precipitação de finos cristais de hidroxiapatita, cujo entrelaçado proporciona a resistência mecânica do material resultante (MIYAMOTO et al., 1996).

As cerâmicas de fosfato de cálcio podem ser obtidas por sinterização. O processo envolve a utilização de um pó, compactado sob alta pressão, e sujeito a altas temperaturas (1.000 a 1.400°C). As formas densas de hidroxiapatita (HA) e fosfato tricálcico (TCP) têm uma microestrutura constituída de cristais individuais de fosfato de cálcio, que são fundidos juntos pelo processo de sinterização. Quanto às propriedades mecânicas, são resistentes à compressão, mas quebradiços, tal como o esmalte dentário. Outro método para obtenção das cerâmicas envolve os corais marinhos.

Segundo Groot, em 1984, Eggli, Muller e Schenk, em 1988, Bruijn, Bovell e Blitterswijk, em 1994 e Yamada e colaboradores, em 1997, a reabsorção do biomaterial à base de fosfato de cálcio está relacionada com a composição química, a cristalinidade e a porosidade. A degradação do fosfato de cálcio ocorre basicamente por fragmentação e dissolução química.

Em 1986, Jarcho estudou as propriedades, aplicações e comportamento da hidroxiapatita (HA) comparativamente ao fosfato tricálcico (TCP), quimicamente semelhantes. A HA é um componente natural dos tecidos duros e, em sua forma sinterizada, não é reabsorvível. Portanto, é apropriada em procedimentos restauradores e preservadores de longa duração. O TCP, por sua vez, não é um componente natural do osso. Sendo absorvível, está indicado quando a bioabsorção é desejável visando sua substituição posterior por tecido

ósseo. A bioabsorbilidade depende da dissolução química em fluidos biológicos e processos mediados por células, como a fagocitose. Assim, ao contrário da HA, acredita-se que o TCP possa ser completamente reabsorvido a uma velocidade similar à reparação óssea.

O comportamento biológico “*in vivo*” dos cimentos de fosfato de cálcio tem sido estudado em diversos modelos animais (KURASHINA et al., 1998; RAHAL et al., 2002; MORAES et al., 2004). Genericamente, estes cimentos são reabsorvidos devido à intensa atividade do sistema mononuclear fagocitário, formando ao mesmo tempo novo tecido ósseo na interface osso/implante. Este comportamento denomina-se de osteotransdutividade. A velocidade em que esse fenômeno ocorre, depende do tipo de cimento utilizado, do sítio de implantação e da idade do receptor, entre outros fatores (PARKER, 1995).

Knabe e colaboradores, em 2000, referem que a reabsorção deste material *in vivo* é contínua. O autor sugere que a reabsorção é lenta, podendo-se encontrar material até dois anos após a implantação.

O biomaterial fosfato de cálcio produz uma matriz para a deposição de osso, conduzindo seu crescimento e produzindo um calo ósseo. Jarcho, em 1986, em seus estudos, demonstrou que as cerâmicas de fosfato de cálcio podem manter as estruturas ósseas onde normalmente ocorrem reabsorções. Os preenchimentos alveolares pós-extração são exemplos. O cimento é bem tolerado pelos tecidos moles, sendo nesta área, envolto por uma cápsula de tecido fibroso inerte.

Segundo Lemaitre, Mirtchi e Mortier, em 1987, para aplicação clínica, o cimento de fosfato de cálcio deve responder a alguns requisitos como:

- ausência de toxicidade;
- ausência de propriedades alogênicas ou carcinogênicas;
- resistência mecânica apropriada e permanente;
- reabsorbilidade;

- ser condutor e estimulador da formação de novo tecido ósseo;

Feinberg e Vitt, em 1988, avaliaram os efeitos da HA não-reabsorvível porosa (Interpore 200[®]) e do fosfato tricálcico reabsorvível poroso (Augmen^{®6}) na erupção e desenvolvimento dentário. Para tanto, foram selecionados 40 gatos de três a quatro meses de idade. Após a extração do seu segundo e terceiro pré-molares decíduos direitos, os alvéolos foram preenchidos com os respectivos materiais inorgânicos. Como grupo controle foram utilizados alvéolos preenchidos com osso autógeno particulado, enquanto em um quarto grupo o alvéolo permaneceu preenchido apenas por coágulo. Os resultados do estudo indicaram que o uso da HA não-reabsorvível porosa, nos alvéolos de dentes decíduos de gatos além de impedir a erupção, deformou a coroa do dente permanente. As observações permitiram ainda sugerir anquilose do dente permanente. O fosfato tricálcico apresentou o mínimo efeito sobre a erupção e o desenvolvimento dentário. Assim, os autores concluíram que é necessária cautela no emprego da HA em alvéolos de dentes decíduos próximos a áreas de dentes retidos ou onde pretende-se a movimentação ortodôntica. Já o mesmo não parece ocorrer com o fosfato tricálcico.

Segundo Jarcho, em 1981, LeGeros e LeGeros, em 1996 e Daculsi e colaboradores, em 1990, esses cimentos são citados como substitutos de tecido ósseo em cirurgias médicas ortopédicas e odontológicas bucomaxilofaciais, devido às suas propriedades bioativas.

Lemaitre, Mirtchi e Mortier, em 1987, Lemaitre, Munting e Mirtchi, em 1992, Mirtchi, Lemaitre e Munting, em 1991, Munting, Mirtchi e Lemaitre, em 1993 e Bohner, Lemaitre e Ring, em 1996 estudaram combinações de α -fosfato tricálcico (α -TCP) com pós ou soluções aquosas de fosfato monocálcico (MCPM), carbonato de cálcio (CC) e ácido ortofosfórico. Os resultados mostraram alta atividade osteoblástica por osteocondução nos sítios preenchidos com o referido cimento.

⁶ Miter, Inc., Indianápolis, IN, EUA.

Pasquier e colaboradores, em 1996 e Pasquier e colaboradores, em 1998, testaram as propriedades biológicas e biomecânicas do fosfato de cálcio, em defeitos ósseos cilíndricos nas epífises distais de fêmures de ratos. Nesses estudos, o cimento na forma de pasta, era injetado internamente aos defeitos. Os resultados mostraram neoformação óssea e sua substituição pelo tecido hospedeiro em menos de 16 semanas.

Em 1998, Kurashina e colaboradores desenvolveram um cimento de fosfato de cálcio utilizando α -fosfato tricálcico (α -TCP), fosfato dicálcico (DCPD) e fosfato tetracálcico (TTCP). Este material foi implantado em cavidades ósseas cirurgicamente criadas em crânio de ratos. Cada cavidade media seis milímetros de diâmetro. A sua espessura relacionava-se à permitida pela dimensão óssea da região. Os resultados demonstraram que este cimento testado é um material promissor nas reconstruções ósseas. Apresentou boa osteocondutividade quando comparado ao grupo controle (sem preenchimento). Porém, quatro das 12 áreas testadas não obtiveram a mesma neoformação óssea. Segundo os autores, isso possivelmente ocorreu devido ao extenso sangramento da dura-máter, deslocando o cimento implantado. Entretanto, comparativamente com os grupos controles, apresentou maior neoformação óssea. Assim, os autores concluíram com este estudo e estudos anteriores em mandíbulas de ratos (KURASHINA et al., 1997a; KURASHINA et al., 1997b) que a completa hemostasia e a secagem do local de implante são importantes fatores no sucesso de reparação óssea com o cimento testado e que a presença de matéria orgânica inibe a formação de HA.

Toquet e colaboradores, em 1999, analisaram, sobre cerâmicas de fosfato de cálcio, o potencial osteogênico de células de medula óssea humana *in vitro*. Utilizaram como controle o próprio polipropileno da placa de cultura. As culturas continham um meio de 10% de soro fetal bovino. Até um período de dois dias de cultura, as células aderidas à superfície do material, apresentaram-se morfológicamente arredondadas. Células da mesma morfologia foram observadas dentro dos poros do material. Aos sete dias, encontraram dois tipos de

populações celulares; uma formada por células grandes, espalhadas na superfície, e a outra apresentando um aspecto arredondado. Não houve diferenças na proliferação celular tanto na cerâmica de fosfato de cálcio como no grupo controle, após 21 dias de cultura. As células mesenquimais sobre o fosfato de cálcio produziram matriz extracelular contendo fibronectina, osteocalcina e colágeno tipo I, além da precipitação de numerosos microcristais de HA. A adesão, a proliferação e expressão fenotípica das células cultivadas sobre as cerâmicas, indicaram uma expressão e conversão das propriedades osteoblásticas anterior ao primeiro mês de cultura. Estes resultados indicam que as cerâmicas de fosfato de cálcio não modificam a proliferação celular das células mesenquimais. Os autores demonstraram a compatibilidade osteogênica do material frente a estas células.

Em 2000, Yuan e colaboradores estudaram em cães, o implante de cimento de fosfato de cálcio na formulação de α -TCP, DCPD e HA com uma solução de compostos de fosfato e água destilada. Na forma de pasta, estes foram implantados em músculos dorsais e fêmures e, na forma de blocos pré-curados, em músculo da coxa. O pó foi esterilizado a seco à 160°C por duas horas e os blocos foram esterilizados em autoclave à 121°C por 30 minutos. Segundo os resultados não houve reação inflamatória local, reação a corpo estranho ou necrose tecidual em nenhum dos grupos testados. Nos cortes musculares, houve formação óssea tanto com a implantação da pasta quanto dos blocos. Nos defeitos ósseos em fêmures, houve neoformação com a substituição do cimento por tecido ósseo. Os autores concluíram que o cimento de fosfato de cálcio é biocompatível e osteocondutor.

Santos, em 2002, implantou cimento de fosfato de cálcio baseado no α -fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) em rádio de coelhos, da espécie leporina, da raça Nova Zelândia. Nas suas formulações, houve o acréscimo de poliacrilamida, fibras de carbono, fibras de polipropileno e fibras de náilon, no intuito de aumentar sua resistência, perfazendo quatro diferentes cimentos. Os blocos cilíndricos implantados mediam 2mm de diâmetro e 6mm de

comprimento e as ostectomias foram bicorticais. Os 16 animais foram radiografados e eutanasiados com 12 e 26 semanas pós-operatórias para avaliação histológica. De forma análoga, as radiografias dos animais, contendo as diferentes composições de cimento, apresentaram o mesmo aspecto radiográfico. Após o período de 26 semanas de implantação, a mesma imagem radiográfica manteve-se, sugerindo uma redução ou ausência da reabsorção do material. Tais sugestões foram comprovadas pelo exame histológico. Todas as composições de cimento de fosfato de cálcio, após 12 semanas, apresentaram formação de cápsula de tecido conjuntivo envolvendo o implante. Após 26 semanas de experimento, foi possível observar a formação de tecido conjuntivo, adjacente ao implante, proveniente do perioste e endoste, para todas as composições avaliadas. Ocorreu também, pequena reabsorção do material. Entretanto, não houveram reações a corpo estranho ou inflamatórias acentuadas. Os resultados da avaliação *in vivo* do cimento de fosfato de cálcio com e sem fibras, por 12 e 26 semanas, segundo o autor, permitiram concluir que:

- o cimento de fosfato de cálcio testado é biocompatível;
- ocorreu pequena reabsorção do cimento de fosfato de cálcio para os períodos de implantação estudados;
- ocorreu a formação de tecido conjuntivo, de espessura reduzida, junto a todos os implantes;
- parte das fibras liberadas do cimento foram envoltas por tecido fibroso, exceto as fibras de carbono.

Hong e colaboradores, em 2003, analisaram, em um estudo *in vitro*, o comportamento de células osteoblásticas, incluindo a adesão, a proliferação, a expressão de genes marcadores e a formação de matriz óssea mineralizada, em um substrato de filme de cristais de fosfato de cálcio. Foram utilizadas células osteoblásticas primárias de calvária de feto de rato em meio de cultura contendo 10% de soro fetal bovino. A superfície rugosa do material apresentou um

número maior de células aderidas, estatisticamente significativa em relação à cultura sobre discos lisos de polipropileno. As mesmas aderiram mais rapidamente ao filme de fosfato de cálcio que sobre a superfície lisa. Uma alta concentração de íons de cristais de apatita na superfície do filme de fosfato de cálcio, possivelmente, reage com os constituintes orgânicos e formam uma interface orgânica-inorgânica adsorvendo a cerâmica e acentuando a adesão osteoblástica. O fosfato de cálcio apresenta condições adequadas para a proliferação celular. Antes dos seis dias de cultura, as células osteoblásticas da calvária formaram nódulos contendo grande número de células das mesmas. Nódulos mais calcificados, foram formados sobre o filme de fosfato de cálcio, em comparação com as culturas sobre os discos lisos. As células cultivadas sobre o fosfato de cálcio, expressam genes marcadores como a fosfatase alcalina, osteocalcina, osteonectina e osteopontina, analisados a partir da técnica de transcrição reversa, seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Os resultados demonstraram que os osteoblastos cultivados sobre o fosfato de cálcio exibem atividade celular de adesão, proliferação, diferenciação e formação de matriz calcificada.

Apesar das vantagens na utilização de biomateriais à base de fosfato de cálcio e do seu sucesso diante dos estudos na sua aplicação clínica, segundo autores como Jarcho, em 1981, Hollinger, em 1996, Damien e Parsons, em 1991, Osborn, em 1991, St. John e colaboradores, em 1995, Oonish e colaboradores, em 1995, LeGeros e LeGeros, em 1996 e Steveson, Emery e Goldberg, em 1996, estes materiais apresentam algumas falhas. Segundo eles, os blocos pré-sinterizados, por exemplo, apresentam-se friáveis e frágeis quando moldados no formato do defeito, a fim de adaptá-los à superfície óssea. O preenchimento resultante é inadequado, há falta de união com o osso e, além disso, há um retardo na neoformação e remodelação ósseas. Já as pastas apresentam um perfeito preenchimento, porém, podem deslocar-se devido à instabilidade.

Nishimura e colaboradores, em 1991, Driessen e colaboradores, em 1995, Kurashina e colaboradores, em 1995, Kurashina e colaboradores, em 1997a, Kurashina e colaboradores, em 1997b, Koshino, Kubota e Morii, em 1996, Miyamoto e colaboradores, em 1996 e Tenhuisen e Brown, em 1997, vêm comprovando a biocompatibilidade dos cimentos à base de fosfato de cálcio.

Dessa forma, as vantagens do cimento de fosfato de cálcio, em suas diferentes formulações, estão na suas propriedades de biocompatibilidade e osteotransdução, agregando essa última as propriedades de osteocondução e reabsorbilidade (Kurashina et al, 1998; Santos, 2002).

Em 2005, Corsetti e colaboradores analisaram, em estudo *in vitro*, a esterilização de blocos de cimento de α -fosfato tricálcico (Santos, 2002), em peróxido de hidrogênio, autoclave e óxido de etileno, utilizando como controle a não esterilização do material. Os resultados do estudo demonstraram a eficácia dos três métodos utilizados e a contaminação do grupo controle. Há uma maior tendência da indicação do peróxido de hidrogênio e calor úmido, devido a alta toxicidade e custo e longo tempo de esterilização do processo com óxido de etileno. Os autores são enfáticos em afirmar a necessidade de esterilização do biomaterial a base de fosfato de cálcio, visto a contaminação do grupo controle.

A principal desvantagem dos cimentos, em ambas as formas, é sua baixa resistência mecânica, que no máximo consegue igualar-se à do osso trabecular. Composições mais resistentes de cimentos de fosfato de cálcio encontrariam aplicações na consolidação de fraturas múltiplas, na fixação de próteses articulares e na substituição do tecido ósseo (SANTOS, 2002).

Para isto, SANTOS, em 2002, desenvolveu uma composição de cimento baseada no α -fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (CFtC). Modificações introduzidas na sua composição, através da adição de redutor de líquido, poliacrilato de amônia, permitiram a obtenção de um novo

tipo de cimento de fosfato de cálcio. Esse cimento, utilizado na forma de blocos pré-curados, possui maior resistência, mantendo as mesmas propriedades de osteocondução e biocompatibilidade dos cimentos de fosfato de cálcio convencionais.

3 PROPOSIÇÃO E OBJETIVOS

O trabalho busca descrever, por método histológico, o processo de reparo ósseo de cavidades cirurgicamente criadas, em fêmures de ratos.

Como objetivos específicos serão avaliados:

- a biocompatibilidade, estabilidade, osteocondutibilidade e reabsorbilidade do cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (SANTOS, 2002);
- o comportamento do reparo ósseo frente ao implante de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC), quando comparada ao enxerto ósseo autógeno e à cavidade cirúrgica livre de enxerto.

4 METODOLOGIA

4.1 PARADIGMA

Este trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma tradicional quantitativo, utilizando o método descritivo.

4.2 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental, controlado. A amostragem foi selecionada de forma aleatória ou probabilística simples – randomizada, com dois grupos controles e um grupo teste.

4.3 LOCAL

O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O material inorgânico foi confeccionado no Departamento de Materiais da Escola de Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ambas localizadas em Porto Alegre, RS, Brasil.

4.4 HIPÓTESE

O cimento α -fosfato tricálcico (CFtC) (SANTOS, 2002), na forma pré-curada (sólida) é: osteocondutor e, portanto, auxilia o processo de reparo ósseo; estável, apresentando retenção na cavidade óssea; e biocompatível.

4.5 DESCRIÇÃO DO MATERIAL

O material é composto de cimento de fosfato de cálcio baseado no α -fosfato tricálcico (CFtC) ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), com modificações introduzidas na sua composição, através da adição de redutor de líquido, o poliacrilato de amônia (SANTOS, 2002).

Foram moldados 30 blocos cilíndricos pré-curados de cimento de α -fosfato tricálcico, medindo 2mm de diâmetro e 4mm de comprimento (Figura 1). As peças apresentavam-se de coloração branco-gesso, compatível com a coloração do cimento de fosfato de cálcio.

O material, separado em unidades, foi embalado em polietileno e esterilizado em Peróxido de Hidrogênio (CORSETTI et al., 2005) segundo protocolo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA, 2002).

4.6 DISPOSITIVOS METÁLICOS

A placa guia de titânio⁷ utilizada (Figura 2; ANEXO A) possui 16mm de comprimento de base com uma haste de 40mm que se continua com a base. Uma empunhadura de 10mm facilita sua apreensão. Esta placa guia possui três orifícios-guia de 2mm de diâmetro, estando equidistantes 4mm. Tais orifícios serviram para padronizar a realização das ostectomias. A integridade e continuidade do osso foram mantidas pela borda de 1mm em cada lado da placa.

Na ostectomia, utilizou-se broca trefina⁸ (Figura 3; ANEXO B), tendo como medidas na ponta ativa 2mm de diâmetro externo e 1,8mm de diâmetro interno.

4.7 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Para este estudo foram utilizados 30 ratos machos, adultos jovens, com cinco meses de idade, da raça *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar. Os animais, provenientes do Biotério do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório, do Instituto de

⁷ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

⁸ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

Ciências Básicas da Saúde, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, permaneceram alojados na mesma unidade durante todo o período do experimento. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas, com temperatura ambiente de 23°C (mais ou menos 1°C), sendo alimentados com ração comercial e água *ad libitum*.

Para cada grupo experimental foram sorteados seis animais, conferindo assim, a aleatoriedade de cada uma das amostras. Os ratos foram então subdivididos em cinco grupos, correspondendo ao Grupo I um período de três dias pós-operatório (PO), Grupo II, de sete dias PO, Grupo III, de 14 dias PO, Grupo IV, de 21 dias PO, Grupo V, de 60 dias PO. Todos animais foram submetidos à intervenção cirúrgica do fêmur direito, em um mesmo dia, na idade e peso previstos.

Durante o período pós-operatório, os animais foram submetidos a exames veterinários para a exclusão de qualquer patologia concomitante, que pudesse interferir nos resultados do presente trabalho.

4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Aos cinco meses de idade (180 dias) de vida, com um peso médio de 400g, os ratos de todos os grupos foram submetidos à cirurgia, segundo protocolo que se segue:

➤ **Assepsia e anti-sepsia**

Durante todos os procedimentos cirúrgicos foram mantidos os critérios de assepsia. O profissional estava paramentado com avental cirúrgico, luvas cirúrgicas estéreis, propés, máscara, gorro e óculos de proteção. O instrumental cirúrgico utilizado foi individualizado em conjuntos e esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

➤ **Anestesia**

Para a anestesia do animal, após a apreensão do mesmo pelo dorso, foi aplicada uma injeção intramuscular do anestésico na região interna do membro posterior esquerdo. Para tal, usou-se uma solução de Cloridrato de Xylazina⁹ e Cloridrato de Cetamina a 10%¹⁰, respectivamente, na dosagem de 0,1ml/kg e 1,0 ml/kg de peso corporal do rato (HARKNESS; WAGNER, 1993).

➤ **Infiltração anestésica local**

A área a ser incisada recebeu infiltração local no espaço subcutâneo de mepivacaína¹¹ a 2%, com adrenalina, na proporção de 1:100.000, não excedendo 0,9ml/kg (Figura 4).

➤ **Tricotomia e incisão**

Comprovado o efeito do anestésico, o animal foi colocado em decúbito lateral esquerdo. Após a realização de tricotomia manual, procedeu-se a anti-sepsia do membro posterior direito com iodofor aquoso a 2%.

Uma incisão na pele, de aproximadamente 3cm, foi realizada com bisturi Bard Parker nº 3, montado com uma lâmina de aço nº 15, na área externa do membro posterior (Figura 5).

➤ **Divulsão e descolamento dos tecidos**

Com o auxílio de tesoura romba, procedeu-se a divulsão dos tecidos por planos musculares. A seguir, realizou-se a incisão do periósteo com bisturi, e o descolamento do mesmo com sindesmótomo delicado, acessando assim a superfície cortical do fêmur (Figura 6).

➤ **Afastamento dos tecidos**

O afastamento tecidual, realizado pelo auxiliar, permitiu a visibilidade no campo cirúrgico (Figura 6).

⁹ Anasedan, Sespo Indústria e Comércio Ltda, Jacareí, SP.

¹⁰ Ketamina Anger (Ketamina 10 %), União Química Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, SP.

¹¹ Astra México S.A., Naucalpan, México.

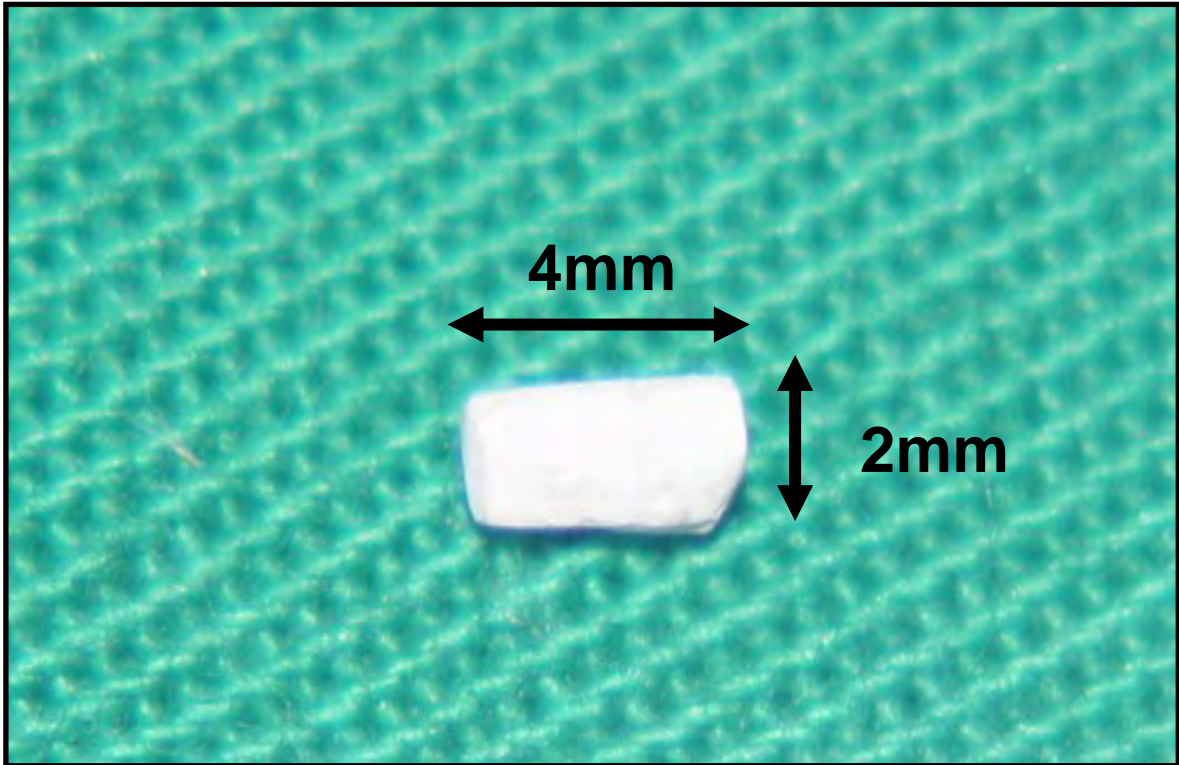


Figura 1 – Bloco pré-curado de α -fosfato tricálcico confeccionado nas dimensões de 2X4mm, para implantação experimental em cavidades ósseas cirurgicamente criadas.

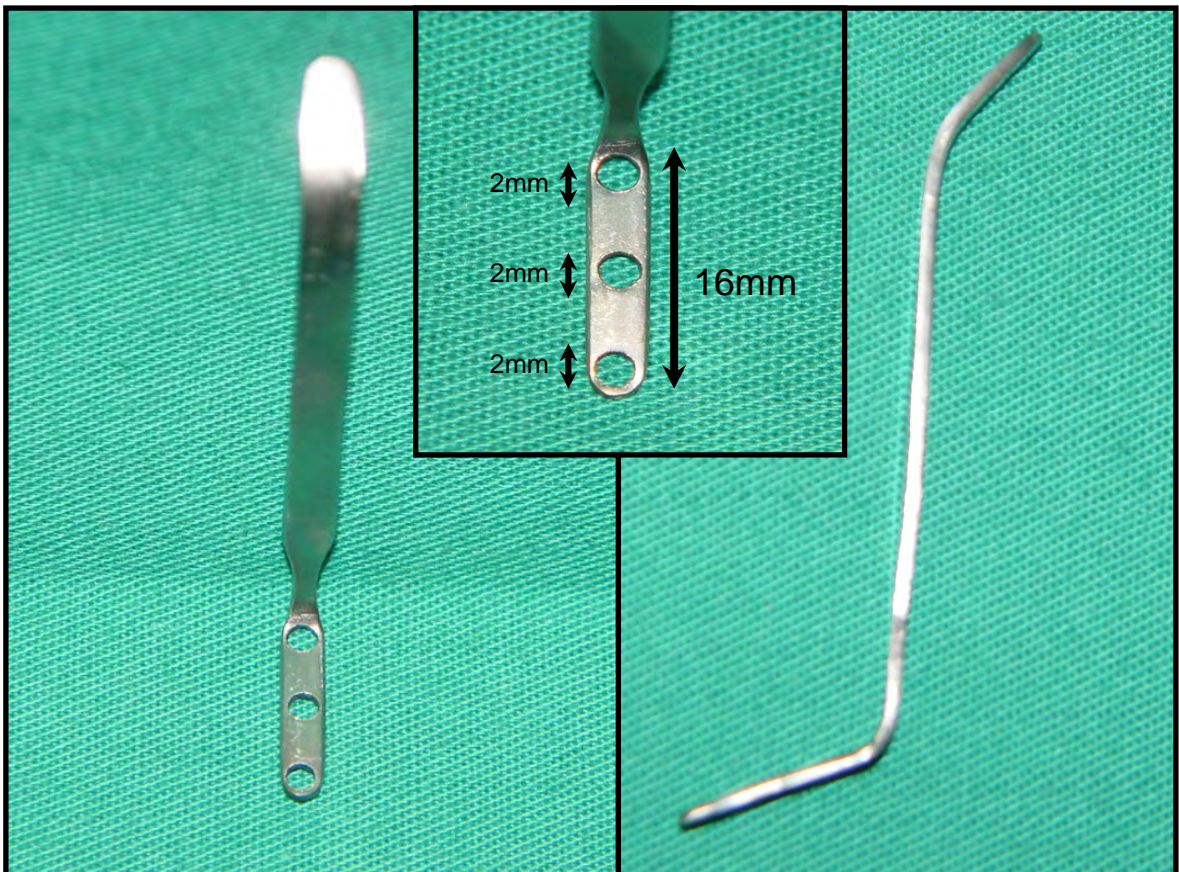


Figura 2 – Placa guia confeccionada em titânio para orientação trans-cirúrgica das ostectomias (ANEXO A).

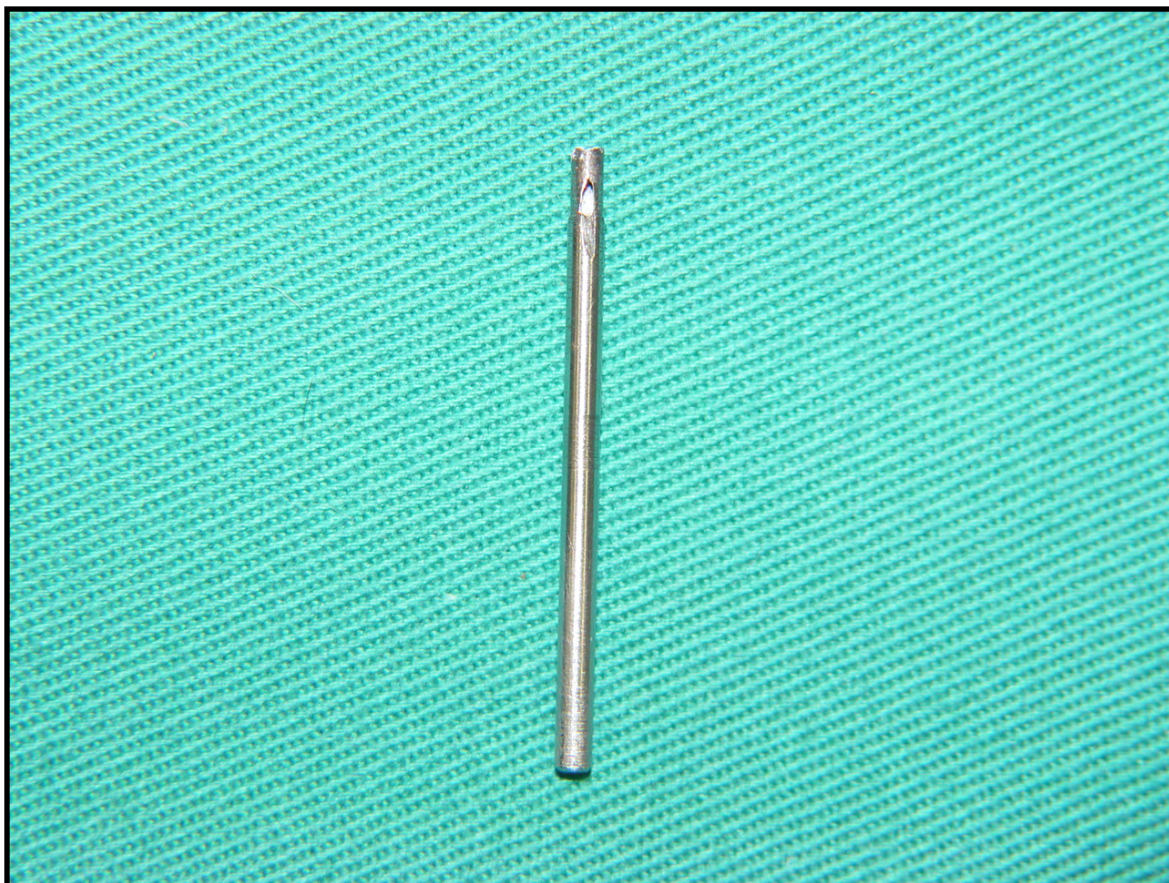


Figura 3 – Broca trefina com dimensões de 1,8mm de diâmetro interno e 2mm de diâmetro externo (ANEXO B).

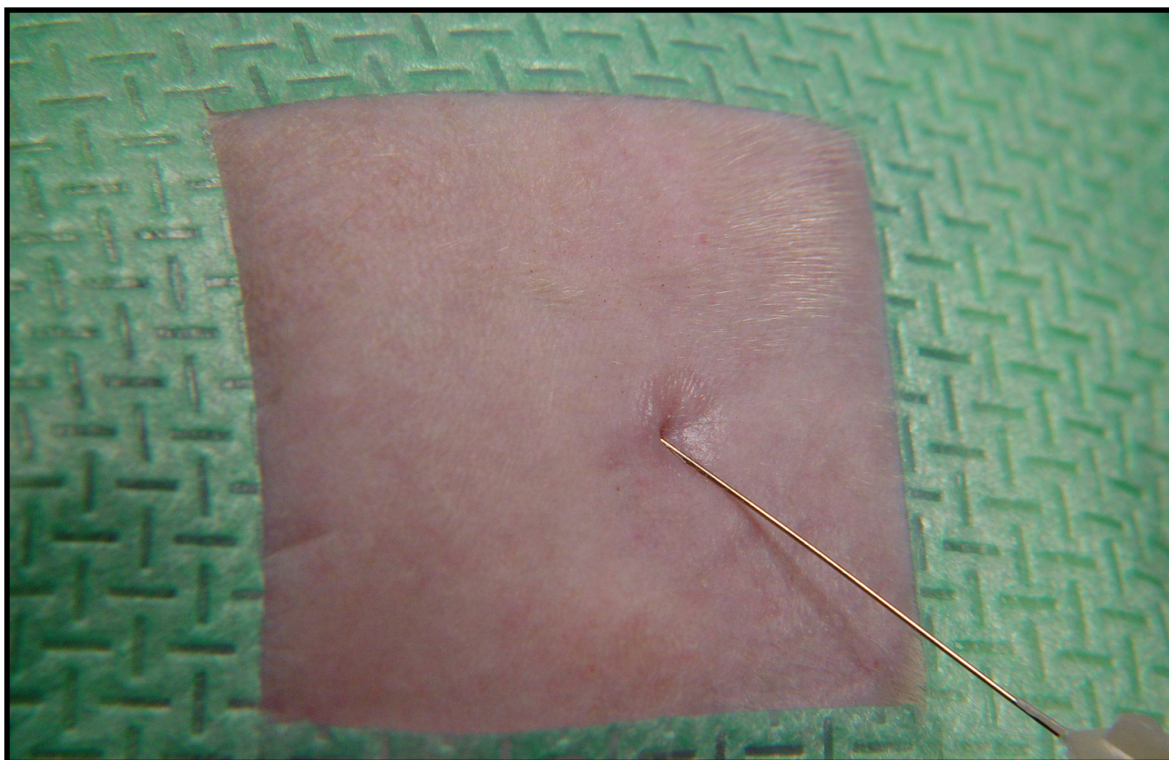


Figura 4 – Infiltração local subcutânea, na área femural, utilizando mepivacaína 2% com adrenalina 1:100.000.

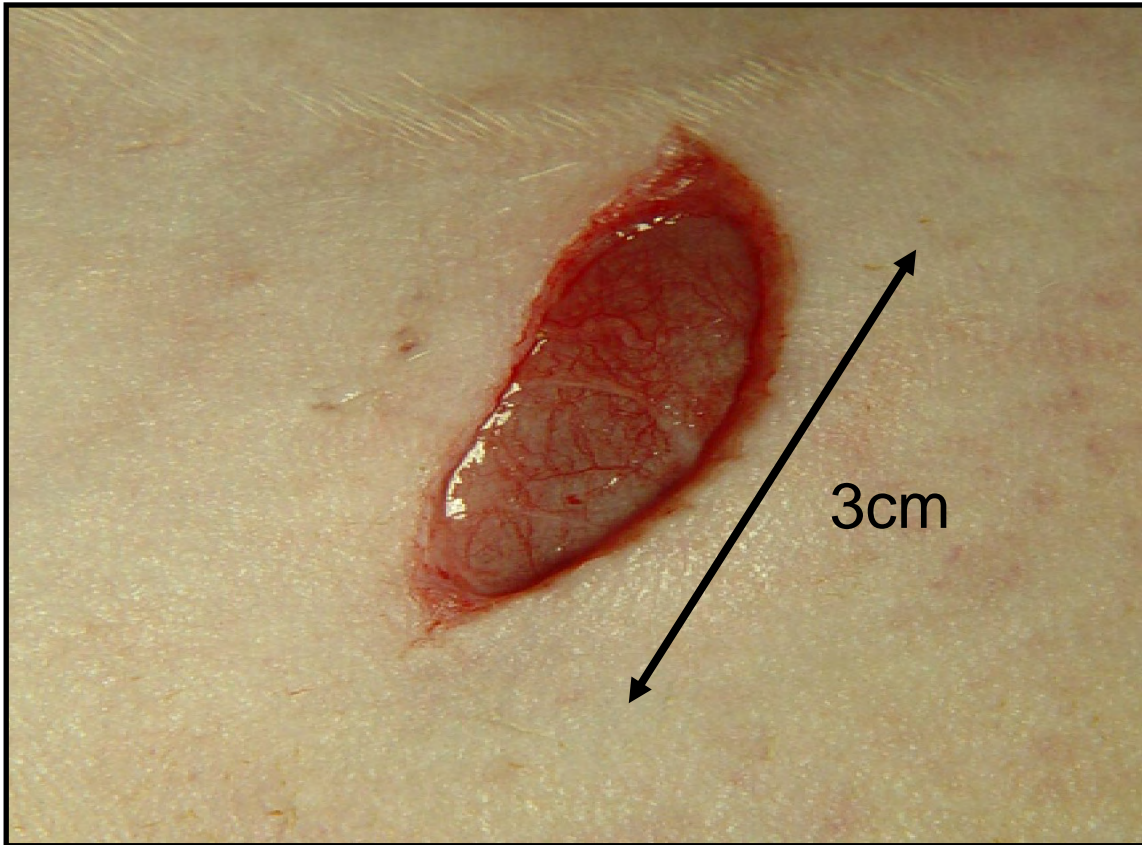


Figura 5 – Incisão linear da pele (após tricotomia). A dimensão aproximada de 3cm, na parte externa do membro posterior direito, permitiu acesso à área operada.

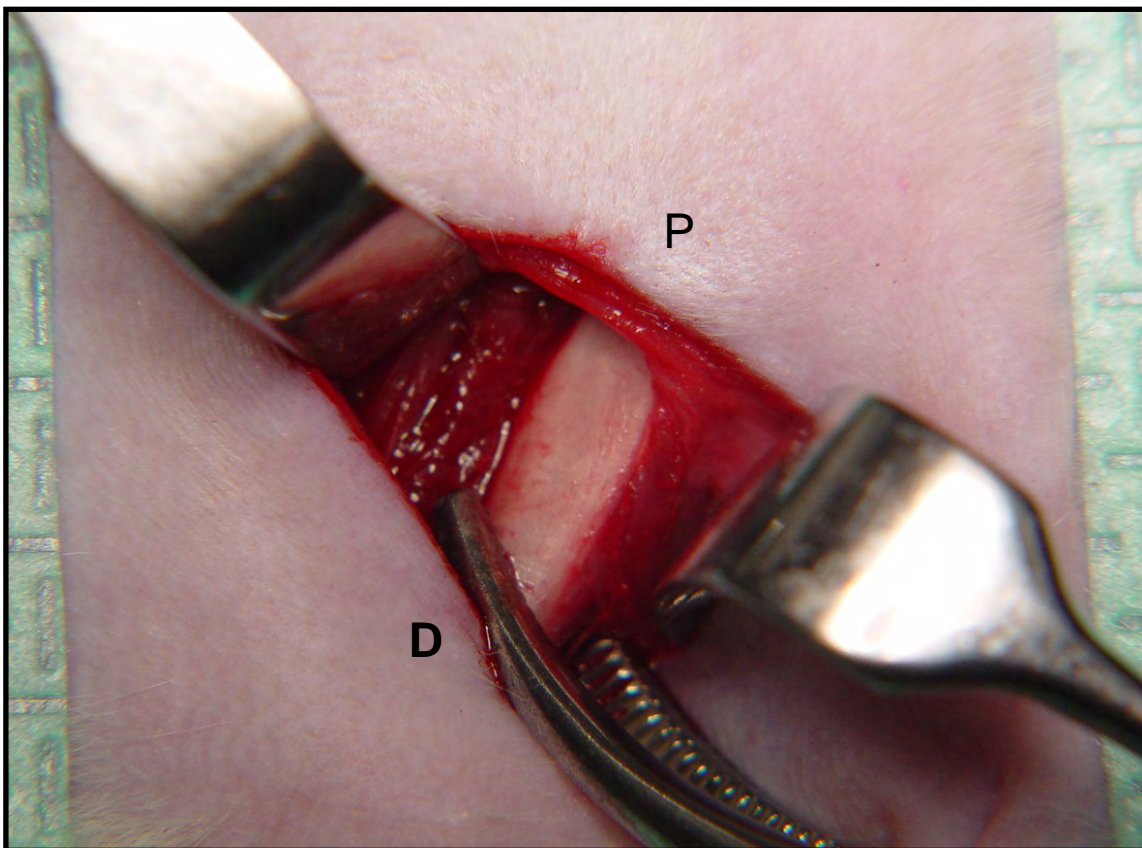


Figura 6 – Acesso ao fêmur direito após debridamento muscular e descolamento periosteal, sendo P, a porção proximal, e, D, a porção distal do fêmur.

➤ **Ostectomia**

Na ostectomia, utilizou-se broca trefina e seu corte foi ativado com motor elétrico em baixa rotação, mantendo-se irrigação constante com água destilada.

Para padronizar a confecção das cavidades cirúrgicas na cortical óssea, foi utilizada a placa guia de titânio anteriormente especificada. A mesma foi previamente esterilizada em Peróxido de Hidrogênio. Com o auxílio da placa guia, através dos orifícios, foram primeiramente marcados os pontos de ostectomia com grafite preto n.2 (Figura 7 e 8).

Cada ostectomia realizada com broca trefina, acoplada ao motor elétrico¹² em baixa rotação, teve as dimensões previamente idealizadas para as cavidades ósseas (Figura 9 e 10). Estes procedimentos foram realizados sob irrigação com soro fisiológico e aspiração constantes.

Na diáfise óssea, houve a confecção de três cavidades ósseas com dimensões de 2mm de diâmetro e 4mm de profundidade. Seguindo uma seqüência de proximal para distal do osso, as mesmas foram designadas: teste (T), localizada na porção proximal ou superior do fêmur; controle positivo (C+), localizada na porção distal ou inferior do fêmur; e controle negativo (C-), localizada na porção média do fêmur, entre T e C+.

Os fragmentos ósseos autógenos, obtidos da perfuração da cavidade T, foram removidos da trefina com sonda exploradora e armazenados em gaze esterilizada embebida em soro fisiológico.

➤ **Reconstrução**

Na cavidade ostectomizada T foi implantado o cimento de α -fosfato tricálcico, na forma de bloco pré-curado, confeccionado na dimensão da cavidade (Figura 11). Na cavidade C+ foi enxertado o fragmento ósseo removido de T (Figura 12). Em torno do enxerto

¹² Dentec, São Paulo, SP, Brasil.

autógeno, realizou-se ainda, o preenchimento de tecido medular remanescente de T. A cavidade C- não sofreu qualquer preenchimento (Figura 13).

➤ **Síntese**

Os cuidados com a ferida operatória envolveram a lavagem abundante da área com soro fisiológico.

A sutura do tecido por planos foi realizada, a pontos isolados, com fio absorvível 4-0 do tipo poliglactina¹³. A pele, foi suturada com fio não-absorvível 5-0, do tipo nylon monofilamentado¹⁴ (Figura 14).

➤ **Analgesia**

Para analgesia, foi administrada, nas primeiras 24 horas, uma gota de Paracetamol 200mg/ml¹⁵ pediátrico.

➤ **Coleta e armazenamento das peças**

Antes e após a eutanásia dos ratos, realizou-se o controle e a observação clínica da região operada. Para a coleta das amostras, os animais correspondentes a cada grupo foram eutanasiados seguindo o cronograma de três, sete, 14, 21 e 60 dias pós-operatórios.

Com base na Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA - Resolução Normativa 04/97, o êxito letal foi obtido segundo protocolo anexo (ANEXO C e D). Imediatamente após a eutanásia foi realizada a ressecção do membro locomotor posterior direito. Esta manobra consiste após a incisão e divulsão dos tecidos moles, da desarticulação do osso, obtendo-se assim a peça para análises macro e microscópica.

¹³ Vycril - Ethicon, Johnson&Johnson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil

¹⁴ Mononylon - Ethicon, Johnson&Johnson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil

¹⁵ Paracetamol, S.E.M. indústria Farmacêutica LTDA, São Bernardo do Campo, SP, Brasil.

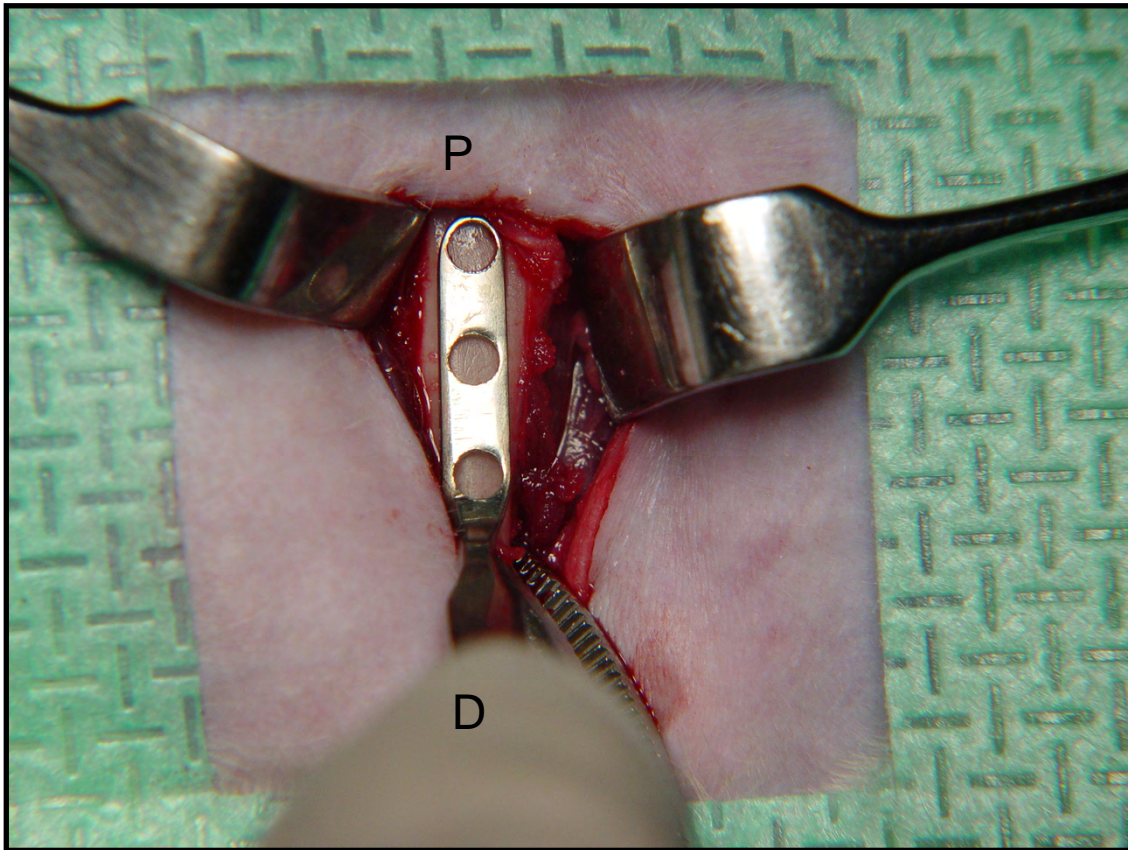


Figura 7 – Posicionamento da placa guia sobre a superfície cortical do fêmur direito, para identificação dos pontos de osteotomia. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

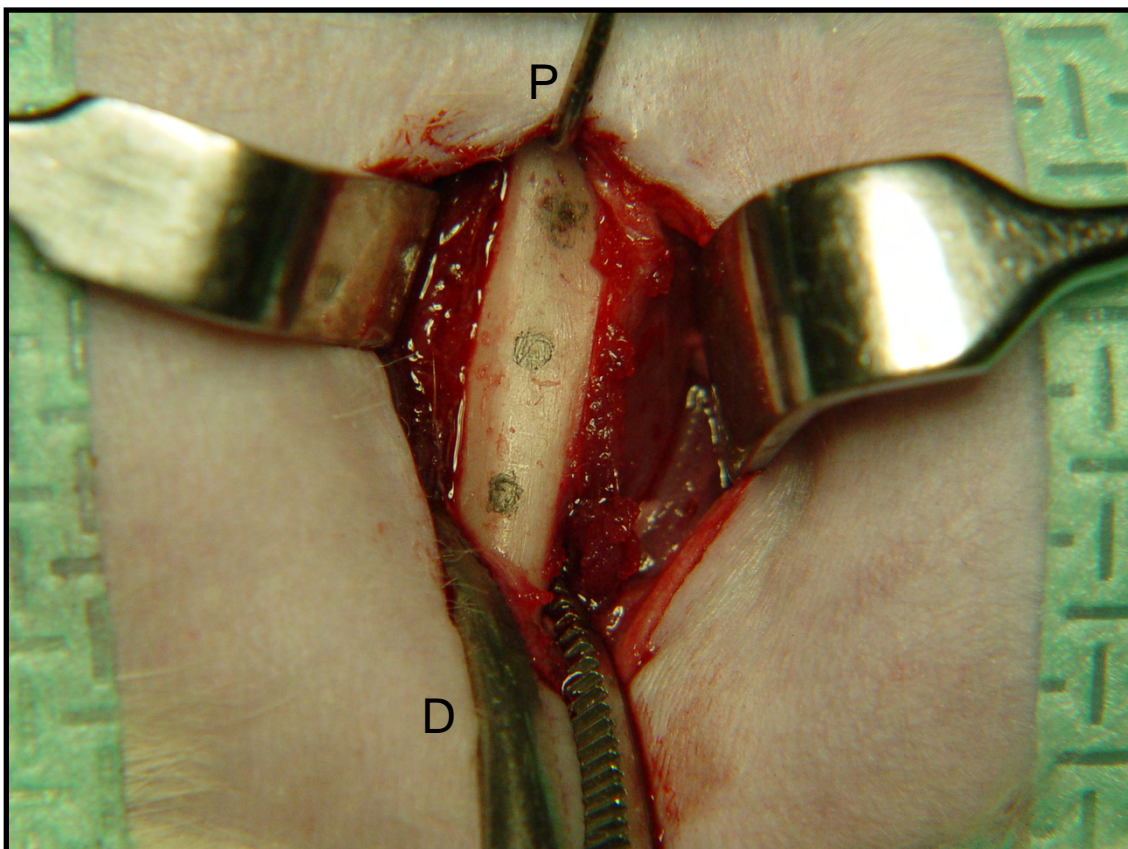


Figura 8 – Identificação dos pontos de osteotomia realizada com grafite preto n.2. Observam-se as proporções e simetrias dos orifícios reproduzindo a proposta metodológica. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

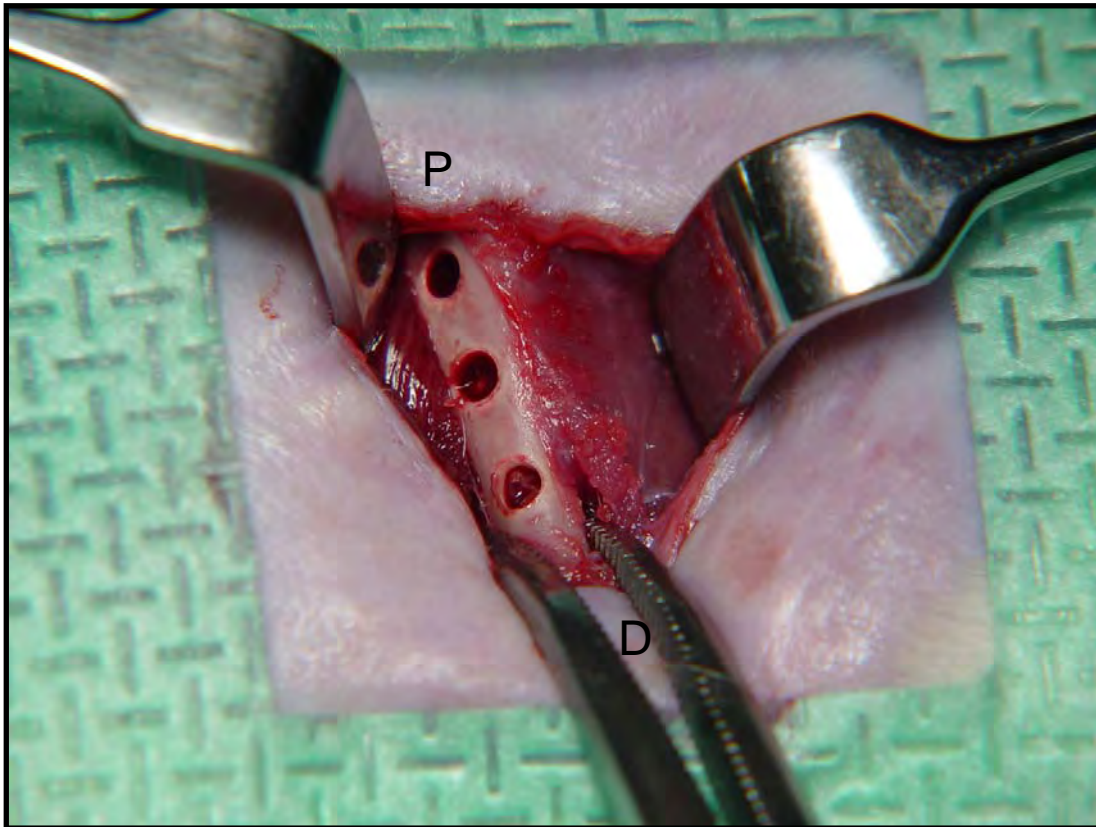


Figura 9 – Osteotomia realizada com a broca trefina. Observa-se a solução de continuidade no tecido cortical e esponjoso ósseo. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

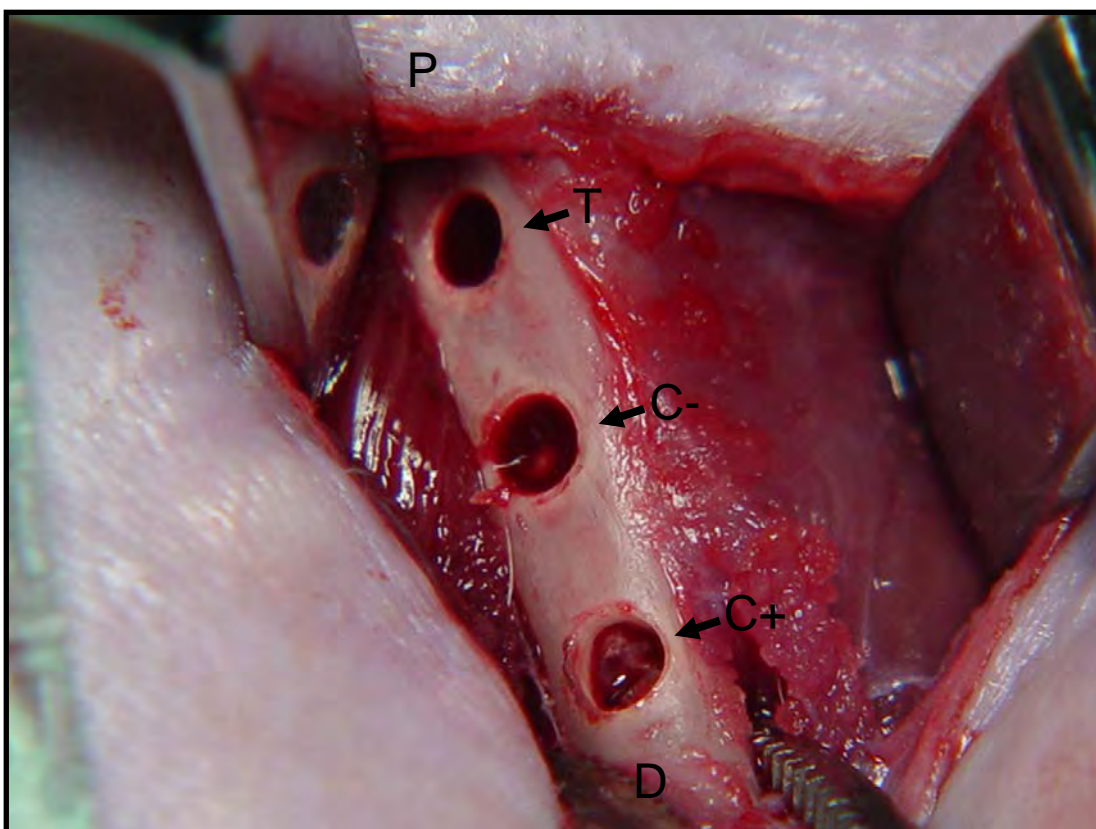


Figura 10 – Em maior aumento, as cavidades cirúrgicas permitem observar suas profundidades e fragmentos ósseos residuais que foram eliminados por irrigação. Localizam-se as cavidades T (teste), C- (controle negativo) e C+ (controle positivo), e as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

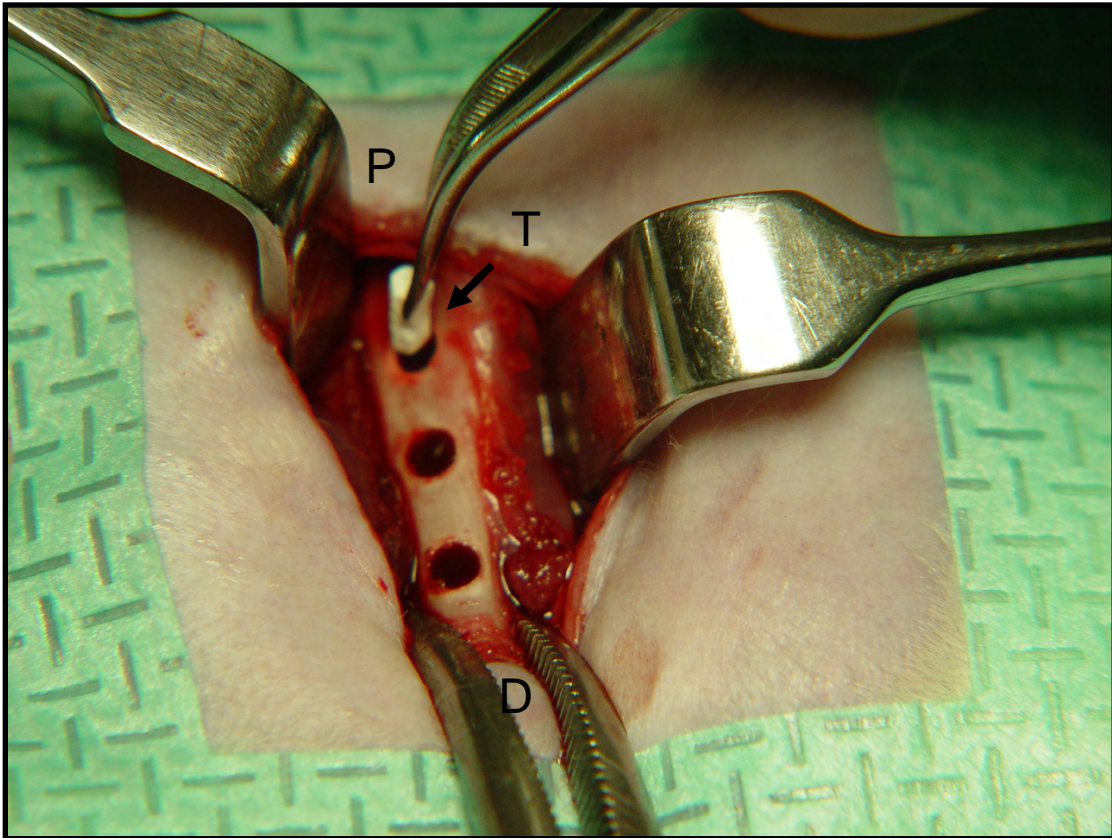


Figura 11 – Aspecto trans-cirúrgico, onde observa-se a inserção do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico na cavidade T, como primeiro preenchimento. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

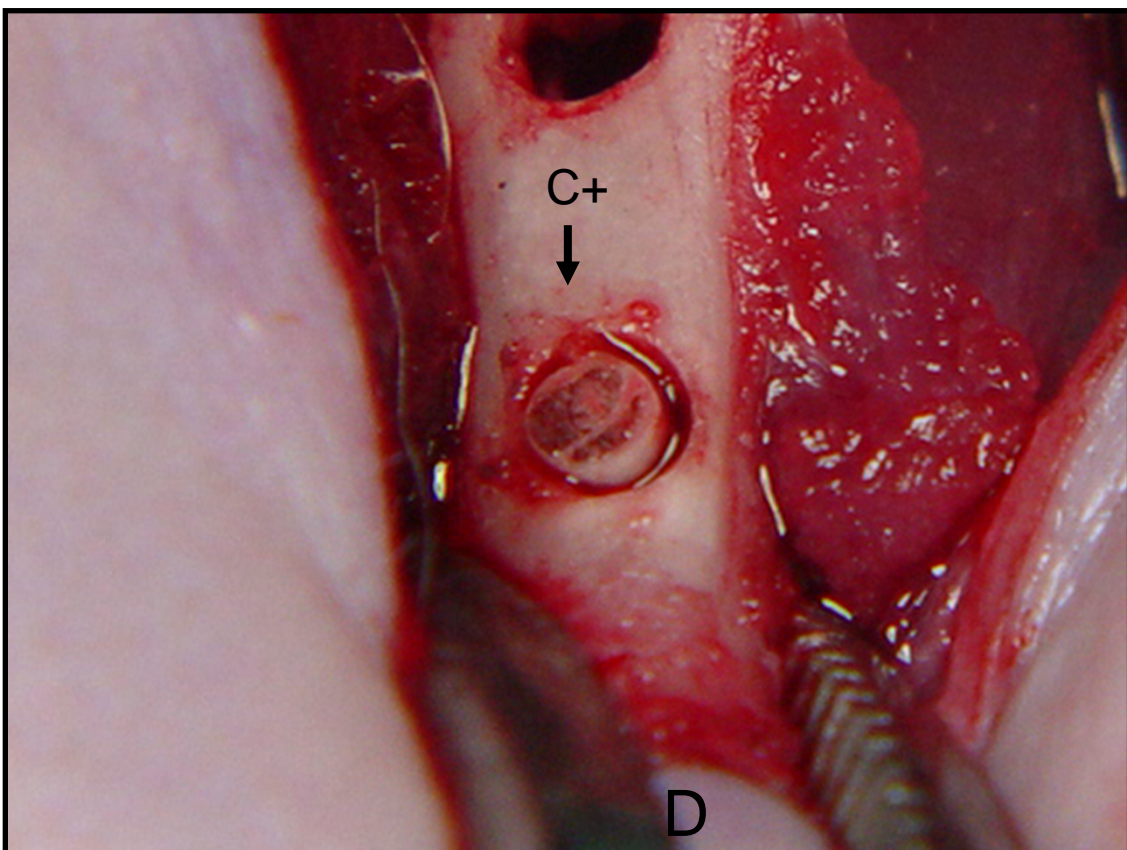


Figura 12 – Aspecto trans-cirúrgico, onde observa-se a inserção do enxerto ósseo autógeno na cavidade C+, na porção distal (D) do fêmur.

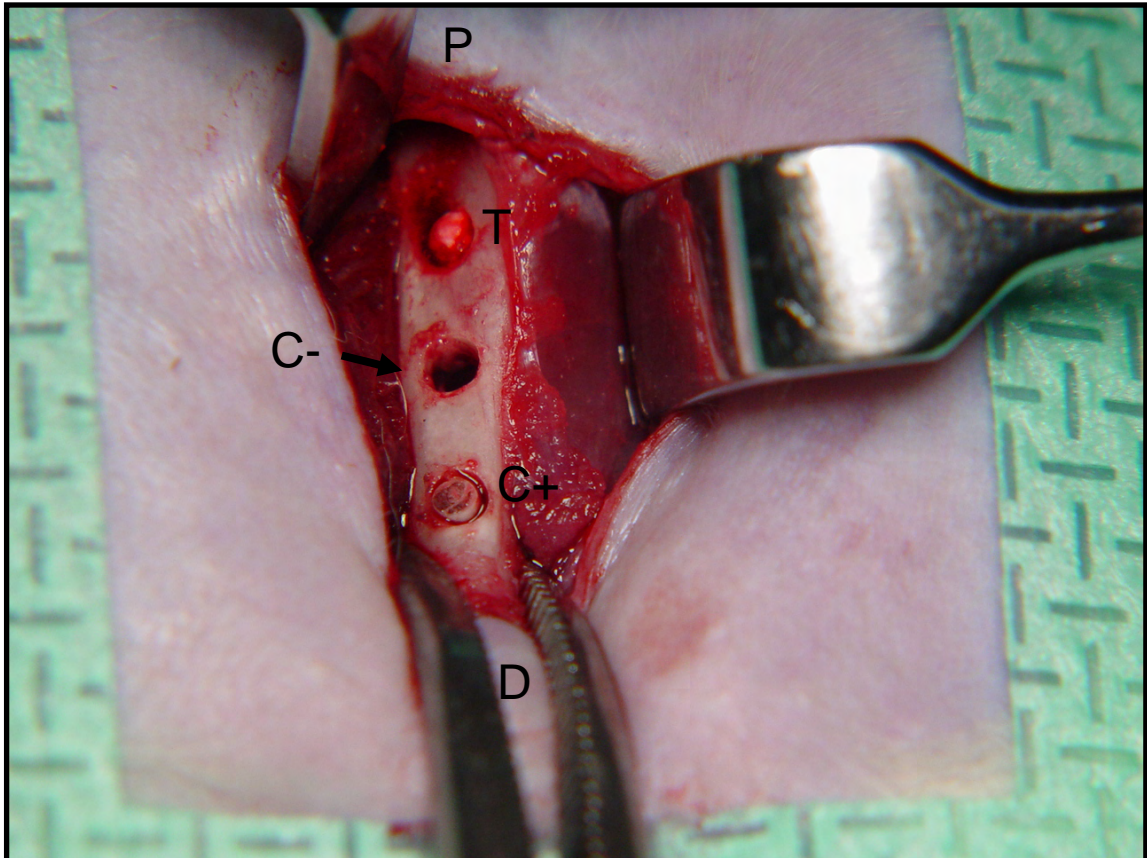


Figura 13 – Aspecto trans-cirúrgico da cavidade C- (livre de enxerto). Observam-se as cavidades implantadas T e C+. Localizam-se as extremidades proximal (P) e distal (D) do fêmur do rato.

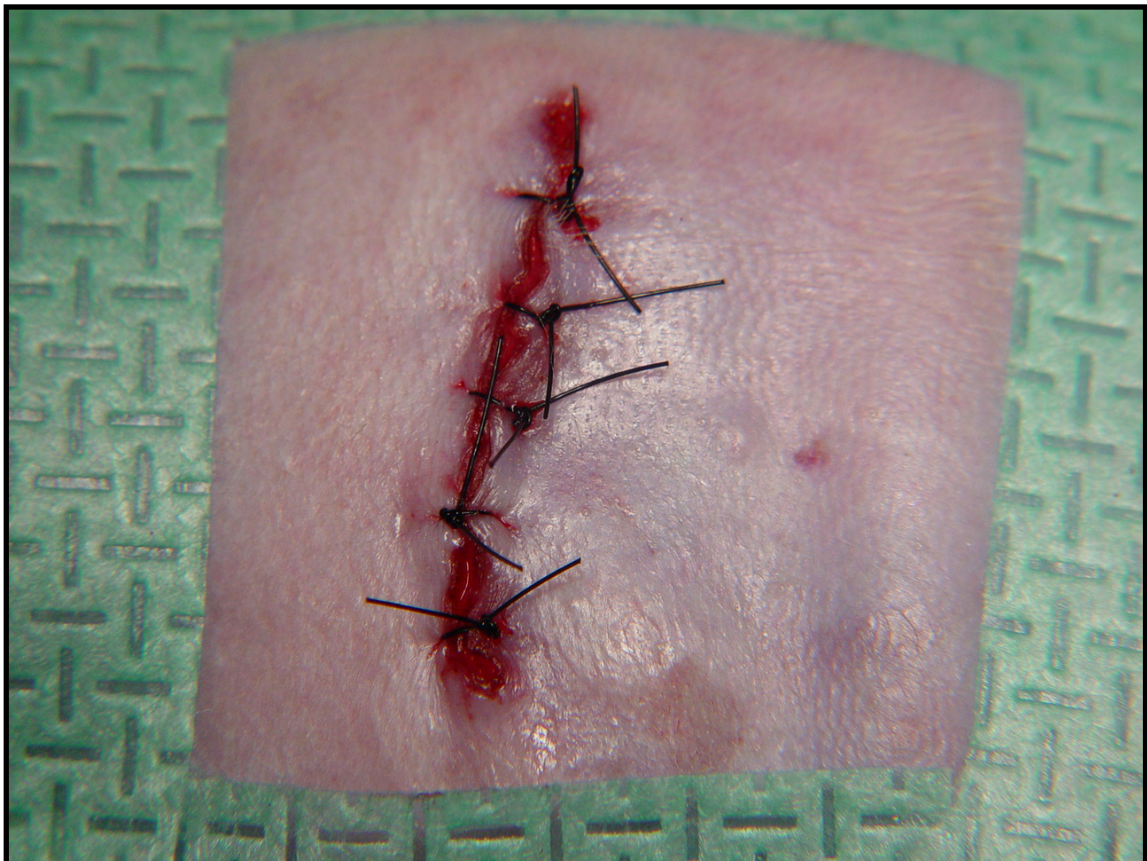


Figura 14 – Sutura da ferida cirúrgica a pontos isolados com fio não-absorvível 5-0, do tipo nylon monofilamentado.

Após exame macroscópico local, as peças operatórias foram imediatamente armazenadas em recipientes plásticos, com a finalidade de evitar as alterações *post mortem* dos tecidos. Este material identificado, foi mergulhado em formalina neutra tamponada a 10%, para fixação e conservação.

Após um período médio de sete dias de fixação em formol, as peças operatórias foram sequencialmente radiografadas. Esta análise tem como objetivo auxiliar a identificação das regiões que serão analisadas microscopicamente. Permite ainda observar possíveis deslocamentos dos materiais ou fraturas ósseas.

4.9 MÉTODO RADIOGRÁFICO

Os fêmures foram radiografados pela autora no Departamento de Radiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, utilizando-se um aparelho de Raio X Spectro 70x¹⁶, com um regime elétrico de 70kV e 8mA e filmes periapicais ultra-speed, de uso odontológico, da marca Kodak.

Os fêmures foram posicionados paralelamente ao longo eixo do filme, com sua porção anatômica proximal em direção ao marcador do mesmo. Cada peça óssea foi radiografada em seus ângulos, perfil e pósterio-anterior. Todos os filmes foram fixados sobre uma folha de papel sobreposta a uma superfície plana. Esse procedimento impediu o deslocamento do filme, visto haver uma moldura delimitante previamente desenhada ao papel. A distância foco-filme foi padronizada em 4cm e o aparelho posicionado perpendicularmente ao filme. A cada cinco radiografias realizadas, a distância foco-filme foi novamente mensurada. O tempo de exposição para melhor imagem foi determinado em 0,3s. Previamente, foram testados os tempos de 0,2s, 0,3s, 0,4s, 0,5s e 0,6s, dos quais escolheu-se o que produziu melhor contraste.

¹⁶ Dabi Atlante S.A. Indústria Médico Odontológica, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

Este procedimento de calibração do tempo de exposição foi realizado previamente às radiografias iniciais e finais.

Assim, totalizaram-se 60 radiografias, sendo duas de cada fêmur. Estas foram então processadas automaticamente¹⁷.

As radiografias dos fêmures de todos os Grupos I, II, III, IV, V contendo em cada um, um grupo teste e dois controles, foram então analisadas pela autora e professora orientadora.

Visando identificar alterações estruturais quanto a integridade óssea e a estabilidade do enxerto e do implante.

4.10 MÉTODO HISTOLÓGICO

O preparo das peças realizado em laboratório utilizou a técnica de hematoxilina e eosina (HE). O material em estudo foi descalcificado em solução de ácido nítrico a 5% (10ml) durante aproximadamente 72 horas. Seguiu-se a sua desidratação, em concentrações sucessivas de álcool (de 80% até 100%).

Na seqüência, o material recebeu processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Procedeu-se, então, os cortes longitudinais da peça, em micrótomo¹⁸, com espessura de 4µm, no sentido longitudinal segundo o longo eixo do fêmur.

Estes foram corados utilizando a técnica HE e montados em bálsamo de Canadá. A leitura e interpretação das mesmas foram realizadas utilizando-se um microscópio óptico¹⁹, em progressivos aumentos de 40, 100, 250 e 400 vezes.

A qualidade do reparo ósseo foi avaliada comparativamente entre os grupos estudados, determinando-se, de forma descritiva, as alterações teciduais ocorridas. Esse procedimento foi realizado através da calibração da autora pela professora orientadora.

¹⁷ *Processadora automática 9000® (DENT-X, Nova York - EUA), com ciclo seco a seco de 4,5 minutos.*

¹⁸ *Micrótomo Leica 2155.*

¹⁹ *Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.*

4.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto segue as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA e, segundo os conceitos atuais de bioética preconizados por Goldim e Raymundo (2003).

O referido estudo foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ANEXO E), sendo aprovado.

5 RESULTADOS

5.1 MÉTODO HISTOLÓGICO

Os resultados encontrados na leitura das lâminas estão descritos em ordem crescente dos períodos experimentais: três, sete, 14, 21 e 60 dias. Dentro de cada grupo a descrição foi dividida em cavidade cirúrgica, sendo T o teste (implante do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico - CFtC) na cavidade proximal, C- o controle negativo (cavidade cirúrgica livre de enxerto) na cavidade medial e; C+ o controle positivo (enxerto ósseo autógeno) na cavidade distal. A avaliação foi realizada quanto à quantidade de osso neoformado, presença de infiltrado inflamatório e reação a corpo estranho.

➤ **Período de três dias (Figura 15):**

✓ **Cavidade cirúrgica T**

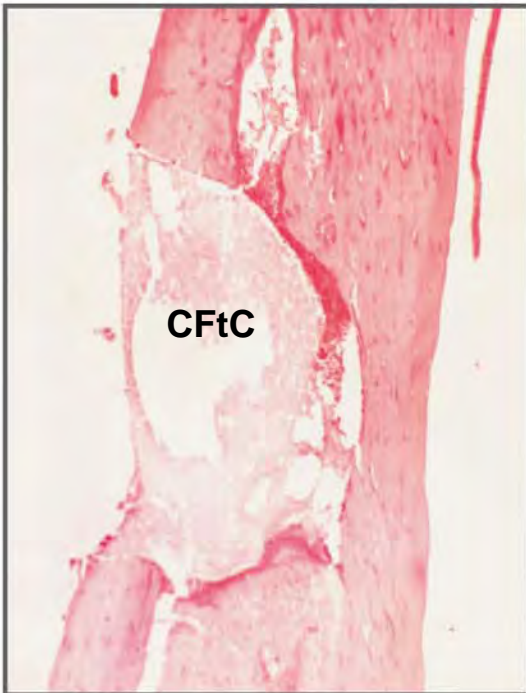
As secções revelam solução de continuidade marcadamente regular da cortical ostectomizada. Em algumas lâminas, observam-se o residual ósseo no assoalho da cavidade compatível com a luz da trefina e a adaptação da estrutura inorgânica no interior da cavidade córtico-medular (Figura 16). Não houve deslocamento do bloco de cimento (CFtC) nos cortes analisados. Há a presença de intenso infiltrado inflamatório predominantemente polimorfonuclear, hemácias e proliferação fibroblástica. Observa-se ainda a presença de fragmentos ósseos irregulares, igualmente envoltos por tecido inflamatório no assoalho da cavidade, compatível com resíduos da ostectomia cortical. Na continuidade da medula hematopoiética próxima à cavidade T constata-se a presença de megacariócitos (Figura 17).

✓ **Cavidade cirúrgica C-**

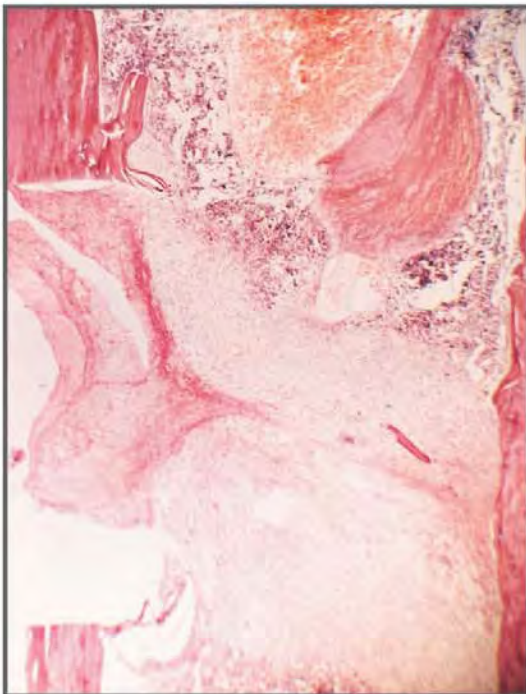
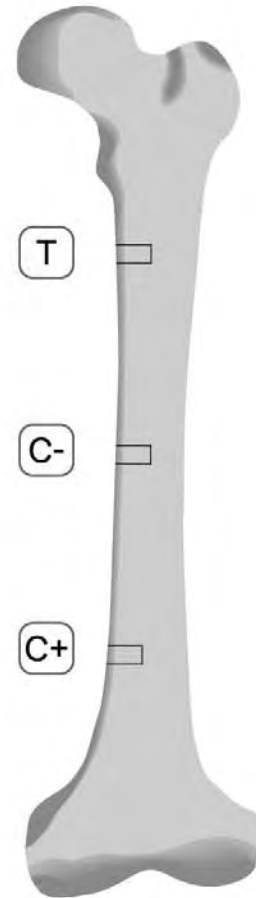
As secções revelam solução de continuidade marcadamente regular delimitando o teto e o assoalho da cavidade óssea. No espaço medular observa-se a presença de infiltrado inflamatório predominantemente polimorfonuclear e intensa proliferação fibroblástica. A fibroplasia oriunda do perióstio invagina em direção à cavidade (Figura 18). Observam-se resíduos provavelmente conseqüentes da ostectomia, caracterizados como seqüestros ósseos sepultados indistintamente na cavidade. Há a presença de hemácias e a continuidade do tecido medular circundante à cavidade apresenta-se alterado e rico em megacariócitos.

✓ **Cavidade cirúrgica C+**

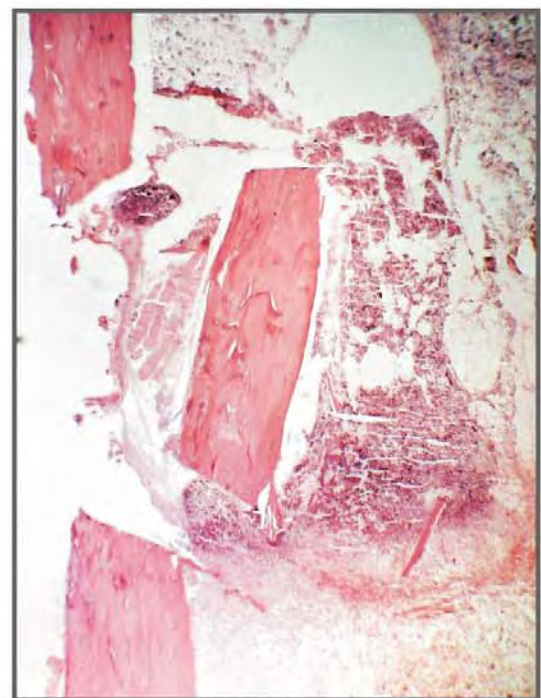
As secções revelam fragmento de tecido ósseo enxertado em posição paralela ao longo eixo do conduto medular, inferior ao nível do teto cortical ostectomizado da cavidade. Junto ao perióstio notam-se fibras musculares (Figura 19). Em todas as amostras, o enxerto apresenta-se envolto em tecido inflamatório predominantemente polimorfonuclear e intensa fibroplasia (Figura 20). Observam-se pequenos seqüestros ósseos sepultados no interior da cavidade (Figura 19). Há a presença de hemácias e a continuidade do tecido medular circundante à cavidade apresenta-se rico em megacariócitos.



T Observa-se o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) implantado na cavidade óssea. A cortical do assoalho mantém-se íntegra (40X).



C- Observa-se a cavidade livre de enxerto. Importante fibroplasia na região (40X).



C+ Observa-se o enxerto ósseo depositado horizontalmente na cavidade (40X).

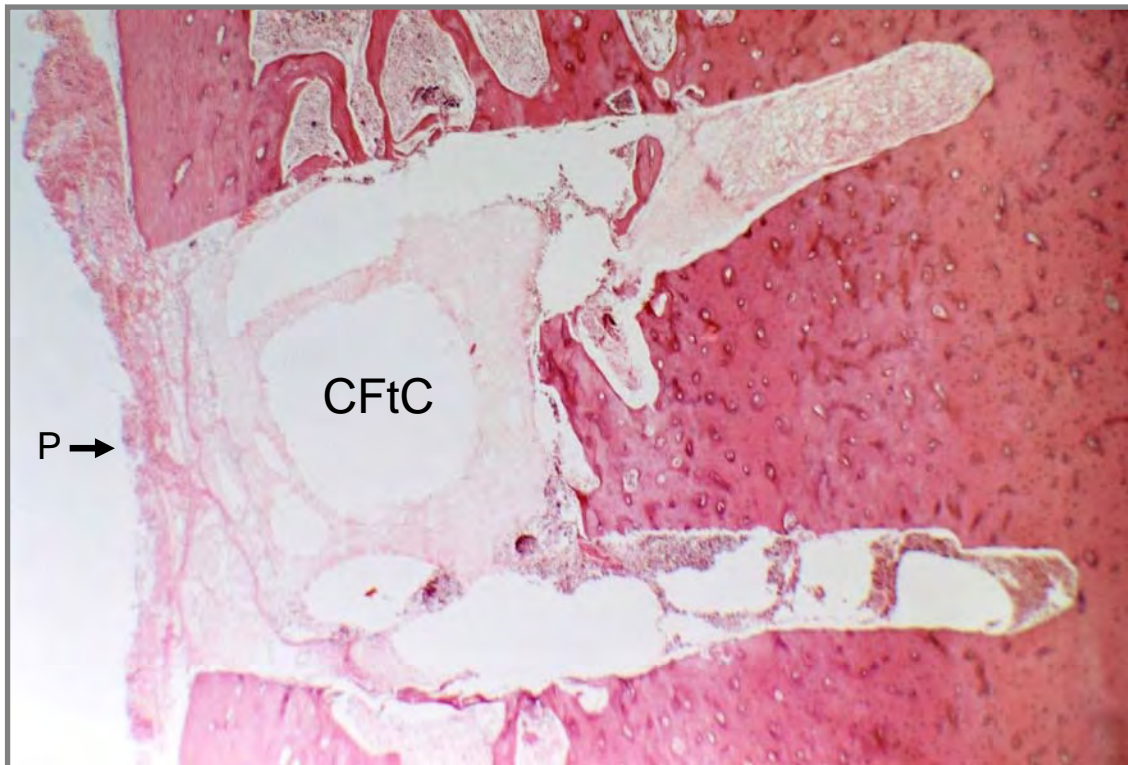


Figura 16 – Três dias pós-operatórios – cavidade T: observa-se o residual ósseo no assoalho da cavidade, compatível com a luz da trefina. Visível implantação do bloco de cimento (CFtC) no interior da cavidade. Salienta-se a reposição do periósteo (P) no teto da mesma (40X).

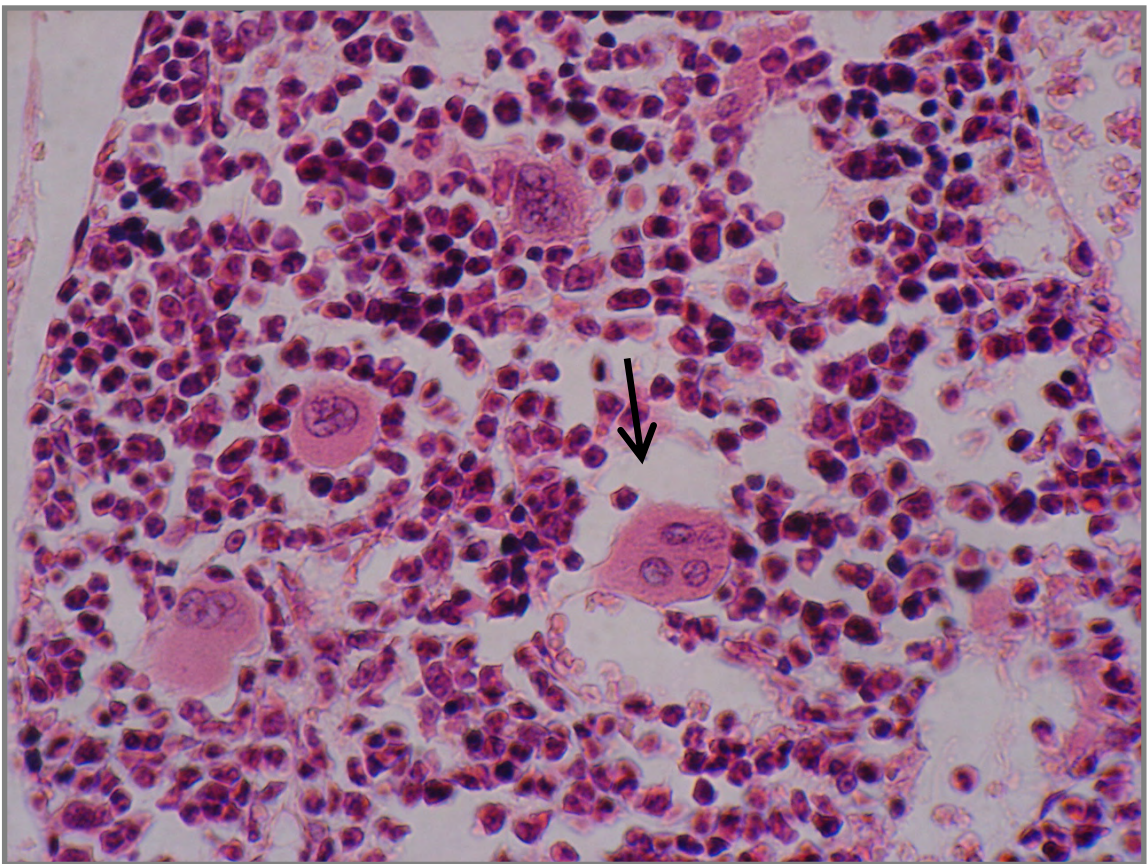


Figura 17 – Três dias-pós-operatórios – cavidade T: continuidade da medula hematopoiética, próxima ao bloco de cimento α -fosfato tricálcico, com rica presença de megacariócitos (\rightarrow) (250X).



Figura 18 – Três dias pós-operatórios – cavidade C-: invaginação do periósteo (P) em direção à cavidade. Observa-se a regularidade do bordo ósseo cortical do teto (COt) após a ostectomia, e a presença de infiltrado inflamatório (I) (100X).

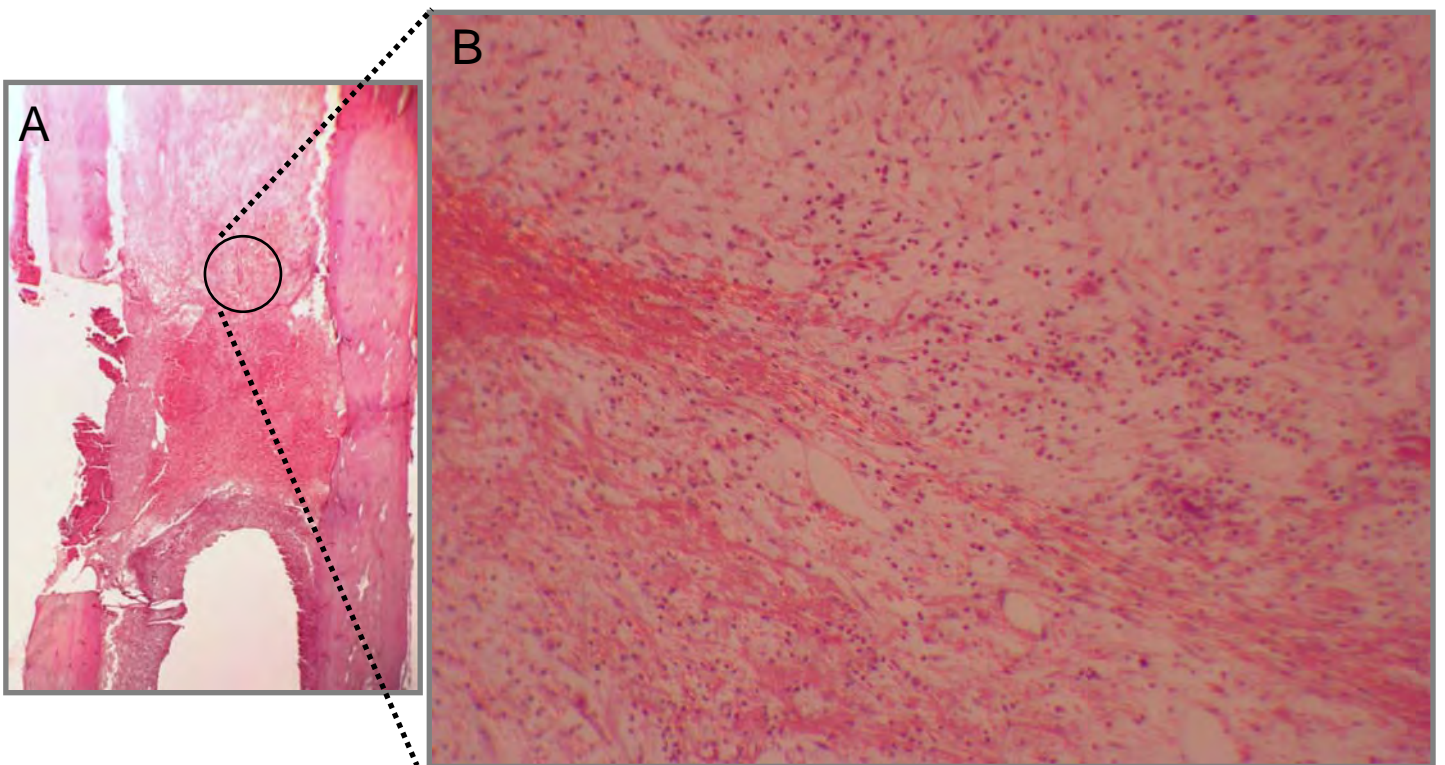


Figura 19 – Três dias pós-operatórios – cavidade C-: **A:** intensa fibroplasia na cavidade livre de enxerto (40X). **B:** localiza-se esta área em maior aumento (100X).

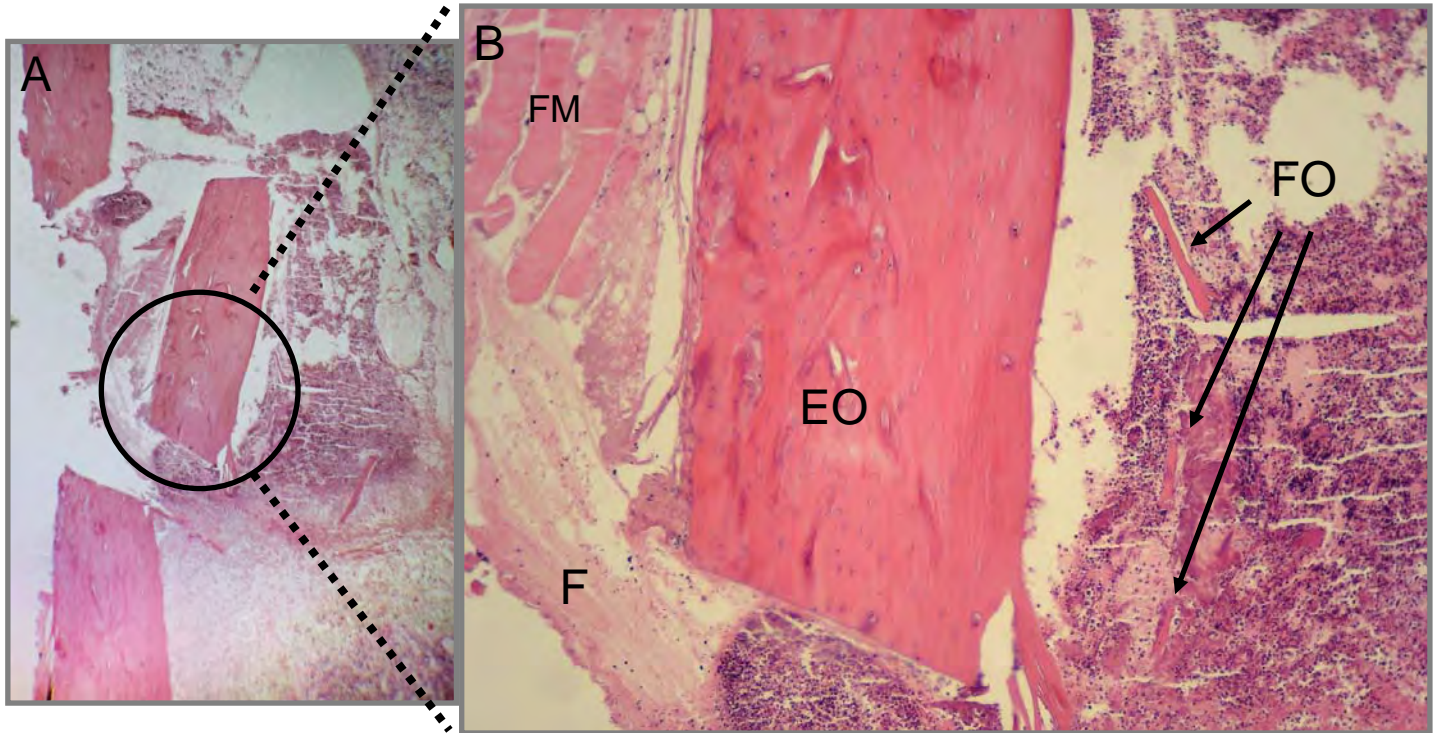


Figura 20 – Três dias pós-operatórios – cavidade C+: **A:** enxerto ósseo autógeno (EO) contido na cavidade, em posição paralela as corticais (40X). **B:** Inserido no tecido inflamatório, identificam-se fragmentos ósseos (FO) decorrentes da ostectomia cirúrgica. Presença de fibroplasia (F) e fibras musculares (FM) (100X).

➤ **Período de sete dias (Figura 21)**

✓ **Cavidade cirúrgica T**

As secções revelam a presença do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico na cavidade ostectomizada. O bloco apresenta-se estável, aparentemente sem deslocamento. Observam-se a presença de hemácias e um infiltrado inflamatório, porém com menor exuberância celular em relação ao período de três dias. Presença de tecido de granulação caracterizado pela angiogênese (Figura 22b) e intensa proliferação fibroblástica. Verifica-se neoformação óssea trabecular a partir do endóstio circundando o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (Figura 22a). Constata-se a presença de tecido ósseo primário e células osteoblásticas (Figura 22c). Este tecido caracterizado pela baixa eosinofilia mostra-se ricamente celular diferentemente do tecido lamelar. Observam-se irregularidades nas bordas do bloco de cimento (CFtC) onde é visível a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas (Figura 23).

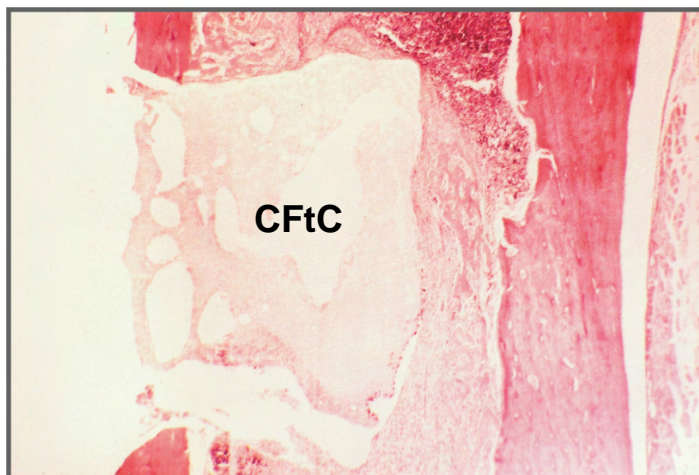
✓ **Cavidade cirúrgica C-**

As secções revelam solução de continuidade marcadamente regular da cortical ostectomizada, apresentando em seus ângulos superiores atividade osteoclástica/osteoblástica compatível com reabsorção (Figura 24) e neoformação. No espaço medular observam-se hemácias, discreta angiogênese e a presença de infiltrado inflamatório, porém menos evidente quando comparado ao período de três dias e mais limitada por tecido conjuntivo fibroso. Há a presença de tecido de granulação inflamatório tamponando a ferida. Observam-se focos de células polimorfonucleares no assoalho da cavidade. Em algumas secções pode-se assinalar inserção

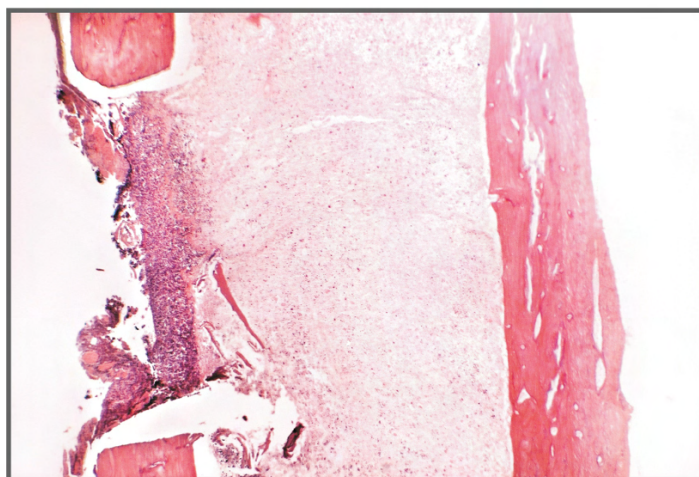
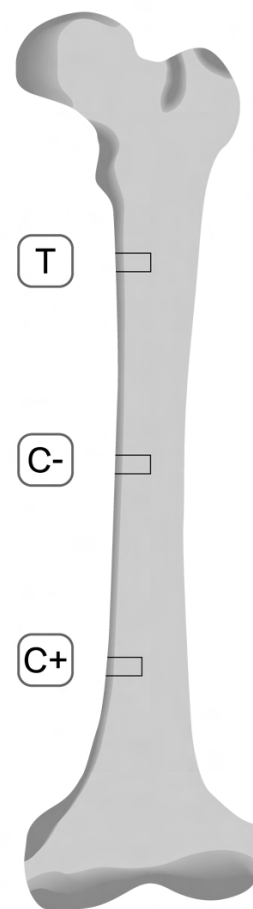
muscular associada ao tecido de granulação resultante de artefato de laboratório.

✓ **Cavidade cirúrgica C+**

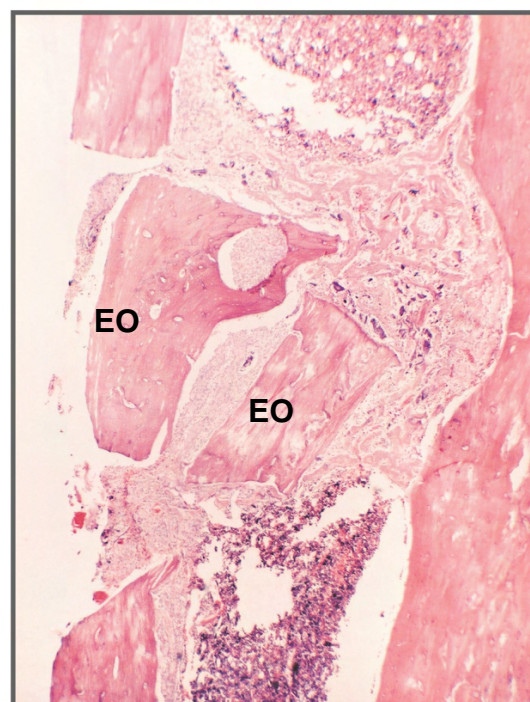
As secções revelam fragmentos de tecido ósseo enxertado e a solução de continuidade marcadamente regular do osso cortical ostectomizado. Em uma das amostras o enxerto apresenta-se na forma de dois segmentos sobrepostos e em outra (Figura 21), transversal e inclinado. Nas demais houve relativo paralelismo à cortical e ao conduto medular. Observa-se a presença do tecido periostal sobre a cortical íntegra, e as fibras de Sharpey ligando este ao osso (Figura 25). No espaço medular constata-se a presença de tecido de granulação caracterizado pela proliferação fibroblástica e angioblástica. Registra-se ainda a presença de infiltrado inflamatório, hemácias e fragmentos ósseos resultantes do corte ósseo. Na cavidade cirúrgica verifica-se neoformação óssea trabecular avançando em direção ao canal medular (Figura 26). Neste pode-se observar a estrutura hematopoiética com células adiposas. O tecido ósseo neoformado apresenta-se imaturo, constatado pela coloração basófila e células osteoblásticas ativas. Verifica-se a linha basófila de reversão no limite do tecido ósseo maduro lamelar e do tecido ósseo primário (Figura 27).



T Observa-se a estabilidade na implantação do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) na cavidade óssea (40X).



C- Observa-se a cavidade livre de enxerto com abundante fibroplasia. São identificados ainda resíduos ósseos em seu interior (40X).



C+ Observa-se enxerto ósseo (EO) em forma de dois segmentos sobrepostos (40X).

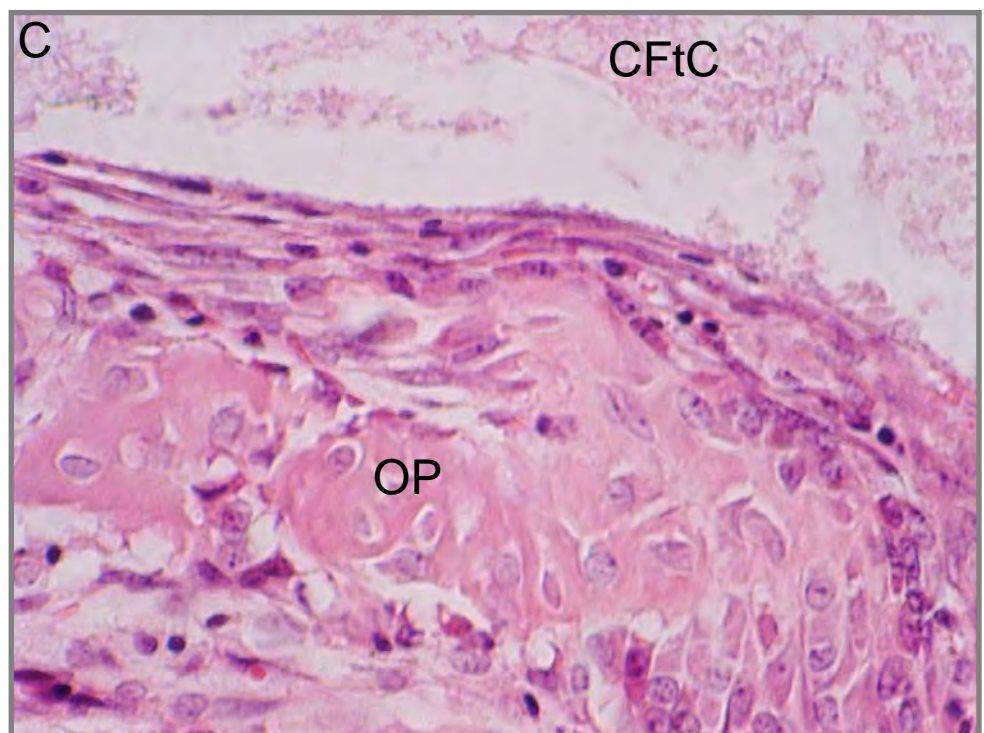
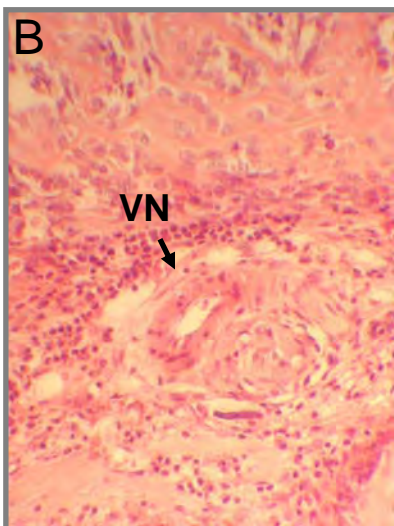
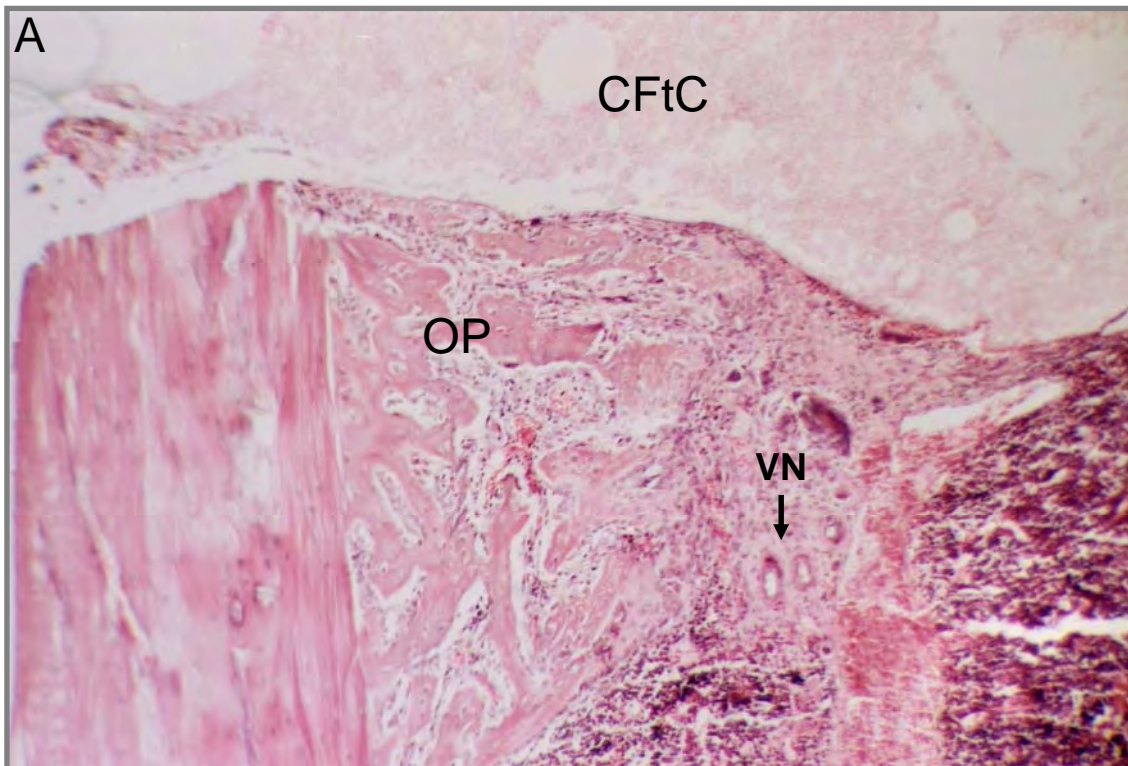


Figura 22 – Sete dias pós-operatórios – cavidade T. **A:** neoformação óssea trabecular a partir do endósteo circundando o bloco de cimento de fosfato tricálcico (CFtC). Presença de vasos neoformados (VN) (100X); **B:** angiogênese (vaso neoformado – VN) e intensa proliferação fibroblástica (250X); **C:** presença de tecido ósseo primário (OP) e células osteoblásticas (400X).

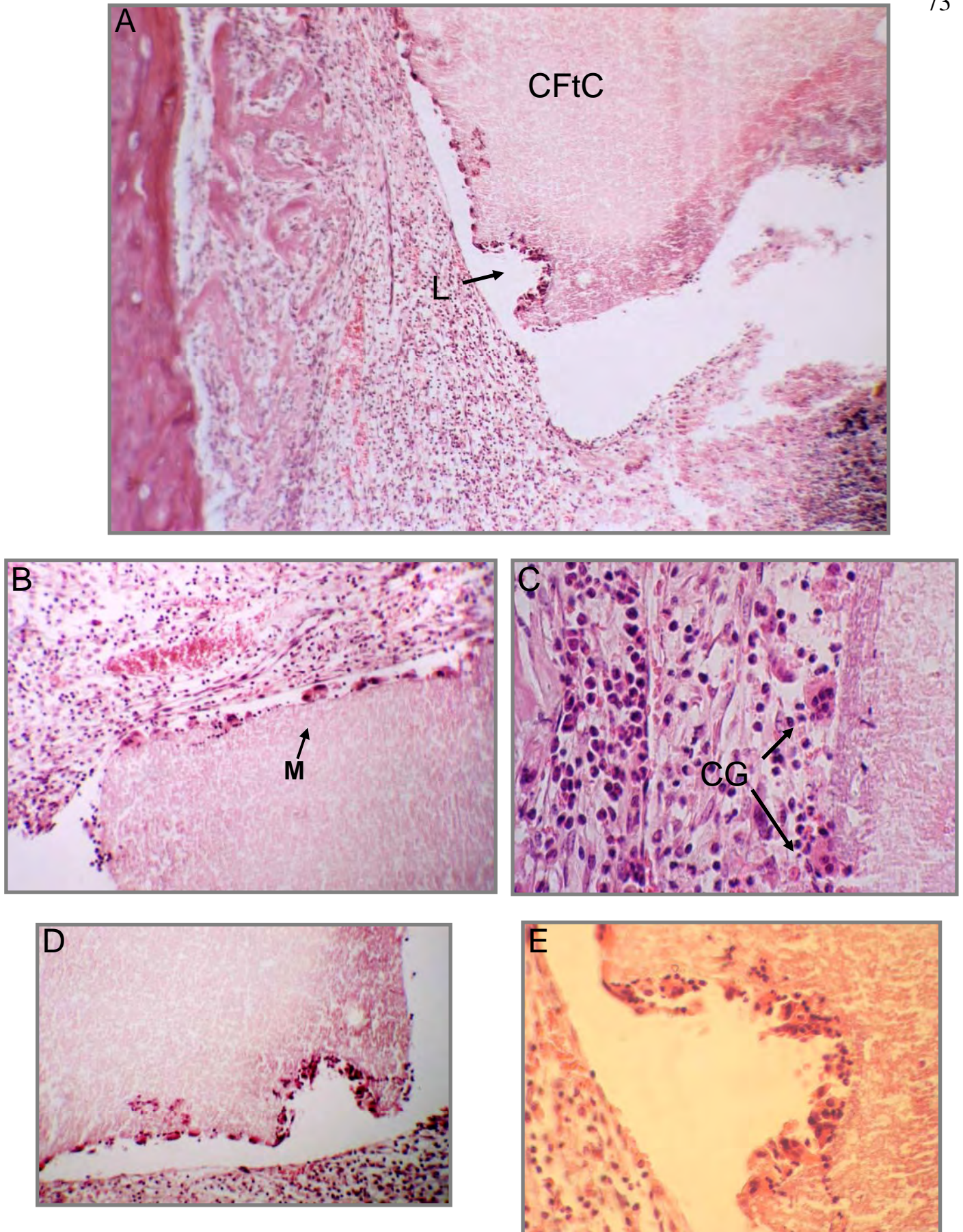


Figura 23 – Sete dias pós-operatórios – cavidade T: **A**: cimento do bloco de α -fosfato tricálcico (CFtC) na cavidade. Presença da lacuna de provável reabsorção do material (L) (100X). Em maior aumento, identificam-se em **B**: macrófagos (M); **C**: células gigantes (CG); **D**: lacuna limitada por macrófagos e células gigantes em atividade; **E**: lacuna no bloco de cimento resultante da ação do sistema fagocitário.

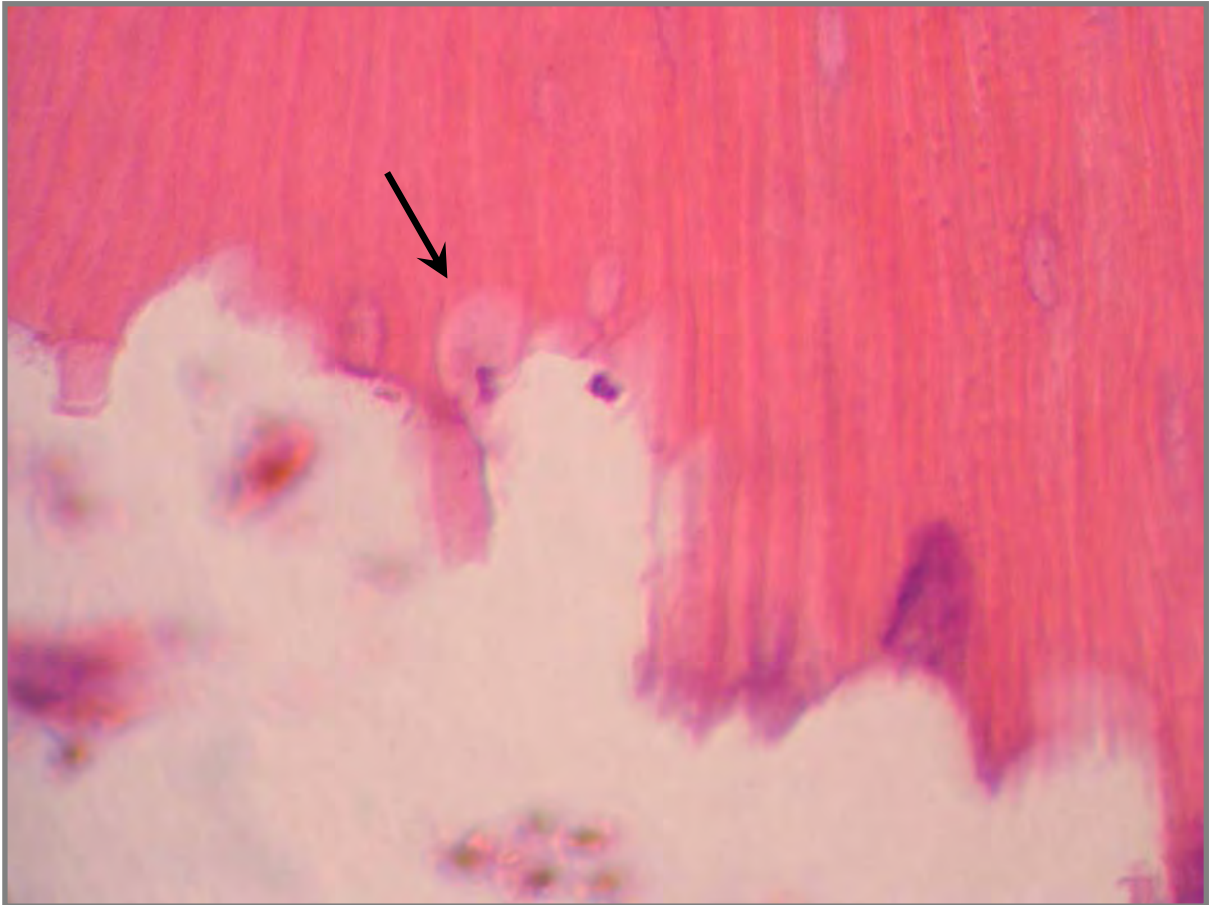


Figura 24 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C-: lacunas resultantes da reabsorção óssea. No contorno assinalado, pode-se observar um osteoclasto (→) (400X + lente fotográfica 4.0X).

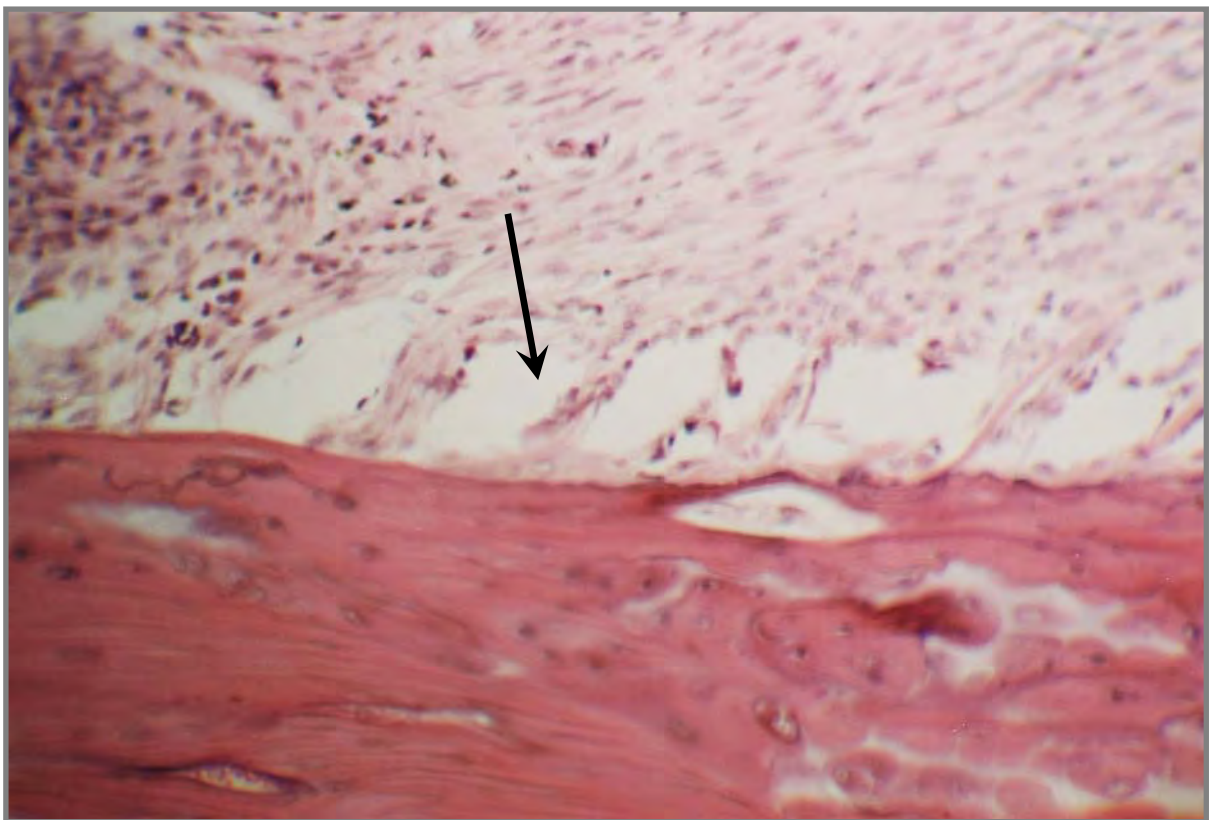


Figura 25 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C+: fibras de Sharpey (→) inserindo o tecido periosteal à cortical óssea (250X).

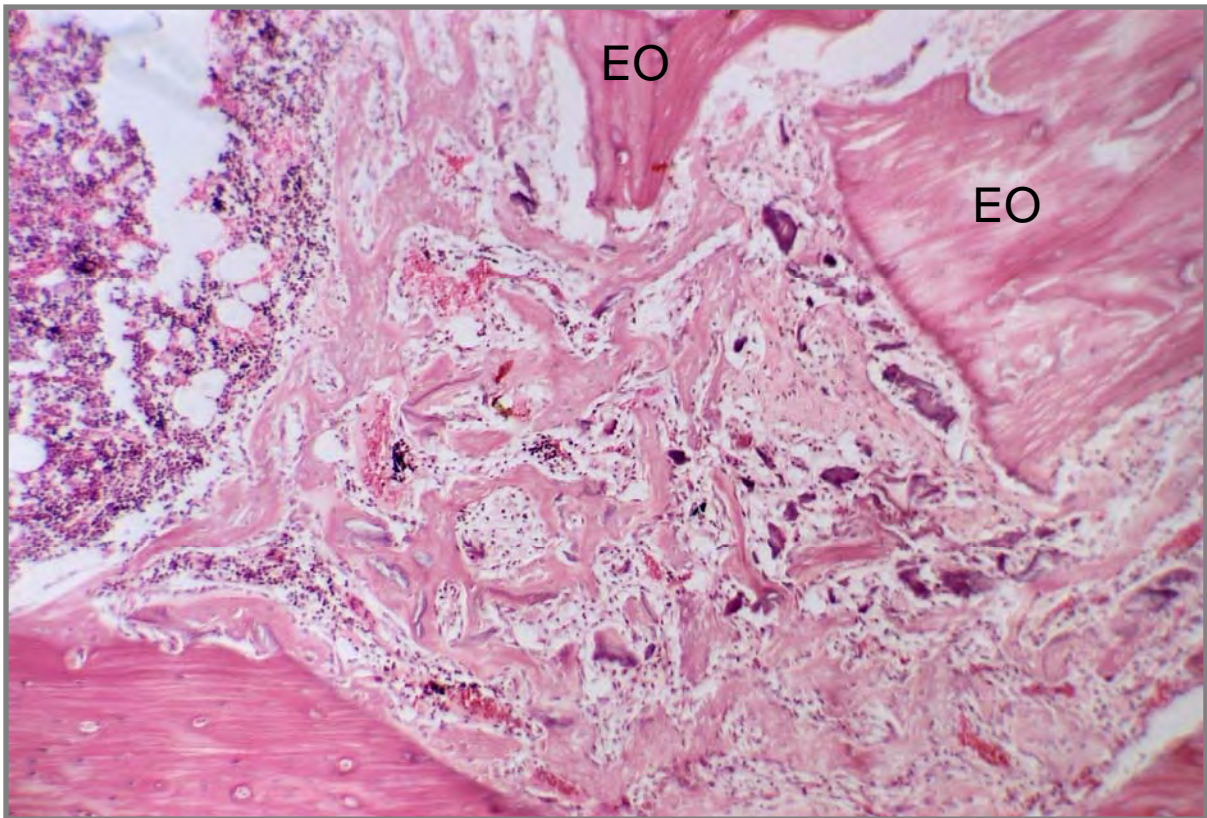


Figura 26 – Sete dias pós-operatórios – cavidade C+: neoformação óssea trabecular avançando em direção ao canal medular, a partir das corticais, envolvendo o canal medular. Observam-se ainda os enxertos ósseos (EO) contidos no interior da cavidade (100X).

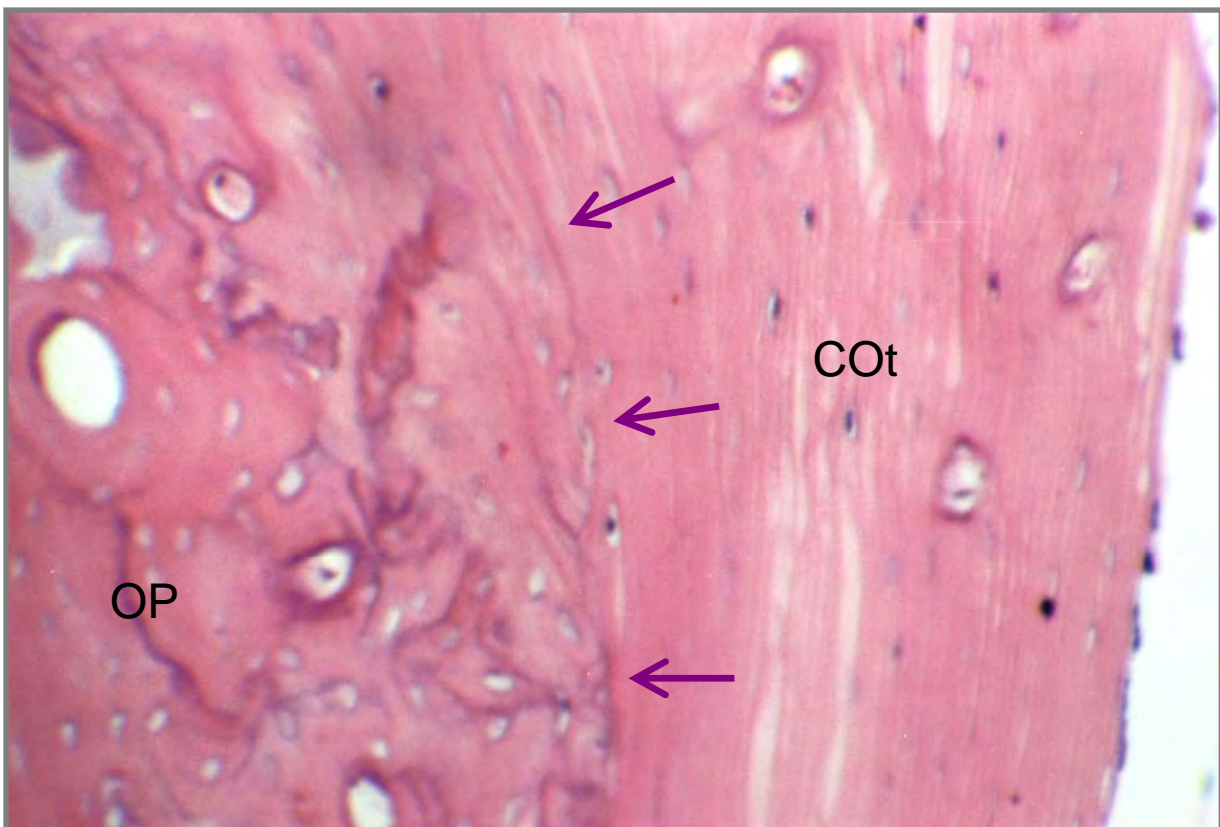


Figura 27 – Sete dias pós-operatórios - cavidade C+: linha basófila de reversão entre tecido ósseo primário (OP) e lamelar na cortical limitante do teto da cavidade (COt) (250X + lente fotográfica 4.0X).

➤ **Período de 14 dias (Figura 28)**

✓ **Cavidade cirúrgica T**

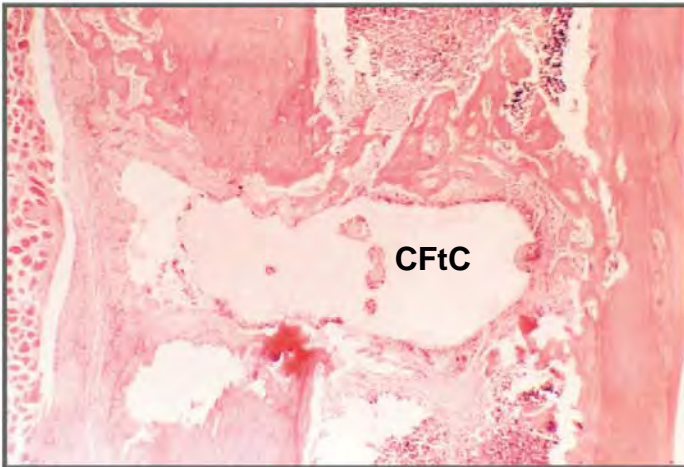
As secções revelam a estabilidade do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico na cavidade ostectomizada. Constatam-se regressão no quadro inflamatório, atividade angioblástica (Figura 29) e tecido fibroso oriundo do perióstio. Em um dos fêmures nota-se a ostectomia bicortical, onde o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico encontra-se circundado por tecido conjuntivo fibroso (Figura 30). Em todas as secções observa-se neoformação óssea trabecular a partir do endóstio constatado pela presença de tecido ósseo primário e células osteoblásticas. Presença da linha de reversão (basófila) limitando o tecido ósseo maduro lamelar e o tecido ósseo primário (Figura 31). Em outra amostra, verificam-se áreas concêntricas celulares com formação óssea no interior do bloco (CFtC) (Figura 32 e 33), presença de calo ósseo e exteriormente ao perióstio, nota-se tecido muscular esquelético estriado.

✓ **Cavidade cirúrgica C-**

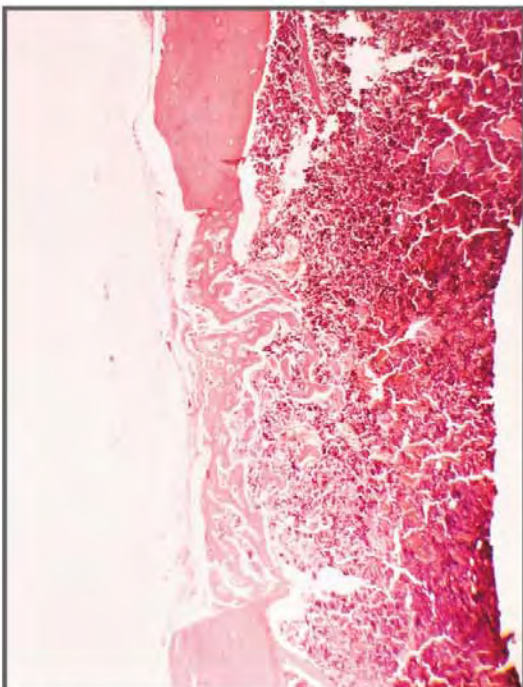
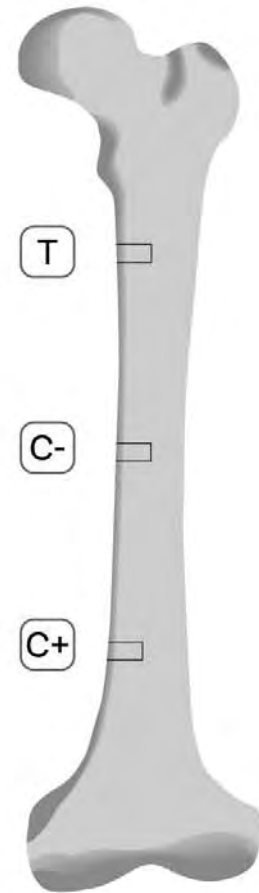
As secções revelam solução de continuidade marcadamente regular da cortical ostectomizada. No espaço medular observa-se reduzido infiltrado inflamatório e tecido fibroso. Verifica-se a intensa atividade de neoformação óssea predominantemente endóstia obstruindo a solução de continuidade entre as corticais. Segue-se grande atividade de remodelação nos bordos da ferida (Figura 34). Observa-se ainda ativa angiogênese com intensa presença de hemácias pelo campo, acercadas por uma discreta população de células graxas. O aspecto celular medular é compatível com tecido hematopoiético maduro e normal.

✓ **Cavidade cirúrgica C+**

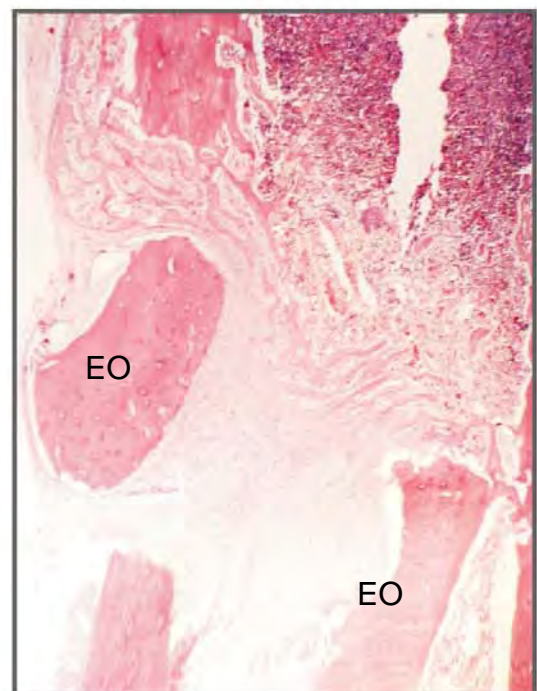
As secções revelam fragmentos de tecido ósseo compatível com resíduos do enxerto. O teto da cavidade apresenta-se em processo de reparo com projeções trabeculares. No espaço medular observa-se a regressão do quadro inflamatório caracterizado pela escassa presença de células inflamatórias e menor quantidade de tecido fibroso. A neoformação óssea é constatada pela presença de tecido ósseo primário (Figura 35) e células osteoblásticas. A presença da linha de reversão (linha basófila) evidencia o limite entre tecido ósseo lamelar e tecido ósseo primário (Figura 36). A presença de hemácias na área permite concluir a grande atividade angiogênica no local. Na área compatível com o fragmento ósseo enxertado, observa-se, em uma das amostras, um residual fragmentado e relativamente ordenado no sentido transversal ao longo eixo do conduto. A medula óssea hematopoiética de todas as secções mostra-se com características de normalidade.



T Observa-se do implante do cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) na cavidade óssea. Chama atenção as irregularidades na superfície e no interior do material já envolvida em neoformação óssea (40X).



C- Observa-se na cavidade livre de enxerto, o nivelamento do osso trabecular, prevenindo o fechamento da ferida óssea (40X).



C+ Observa-se o distanciamento dos segmentos enxertados, porém mantendo algum paralelismo. Intensa fibrose entre os enxertos ósseos (40X).

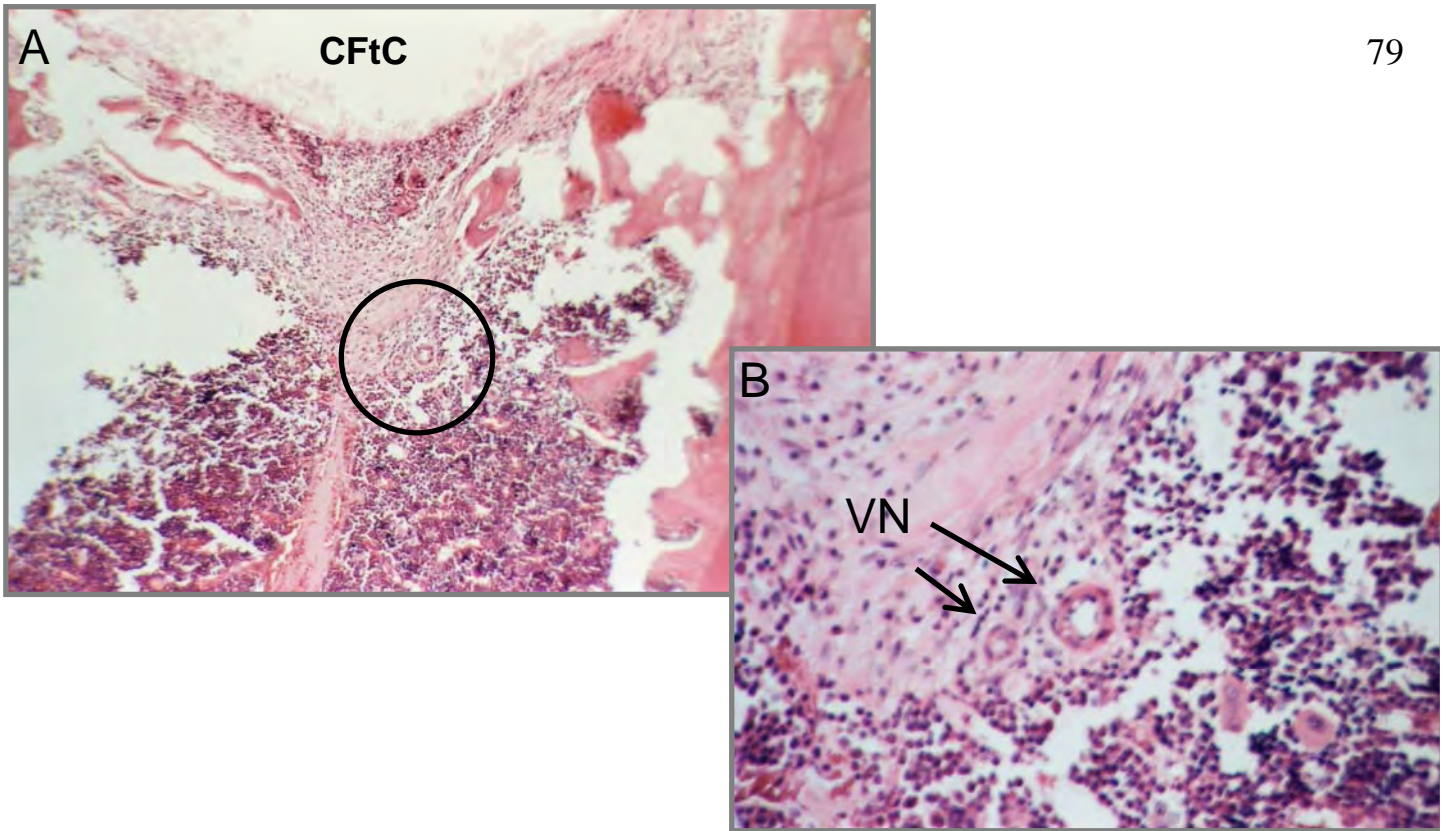


Figura 29 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: **A:** grande atividade angioblástica próxima ao material implantado (CFtC) (100X); **B:** em maior aumento, pode-se identificar os vasos neoformados (VN) (400X).

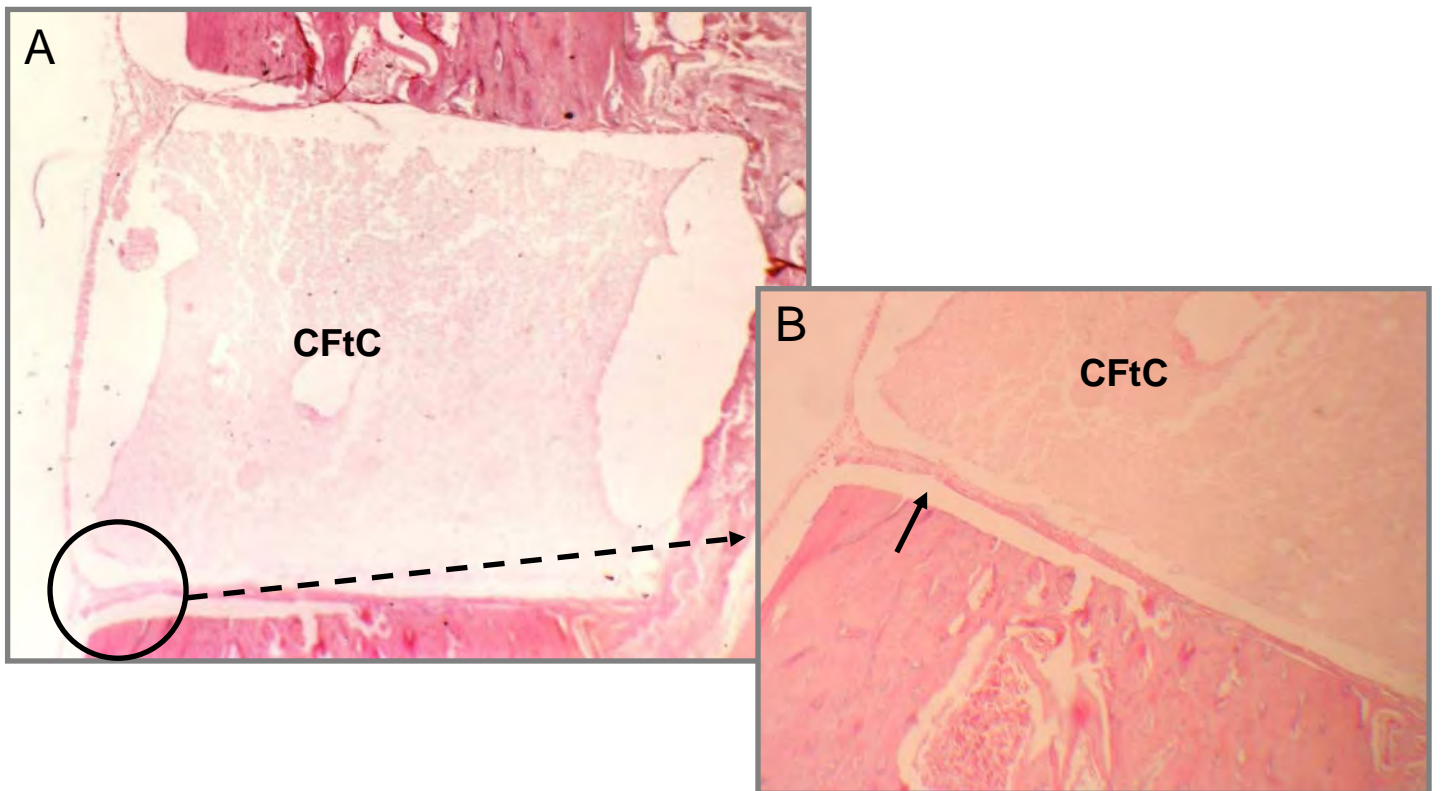


Figura 30 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: **A:** bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) e ruptura de ambas as corticais (40X). **B:** observa-se, em maior aumento, o material envolto em tecido conjuntivo fibroso (\rightarrow) (100X).

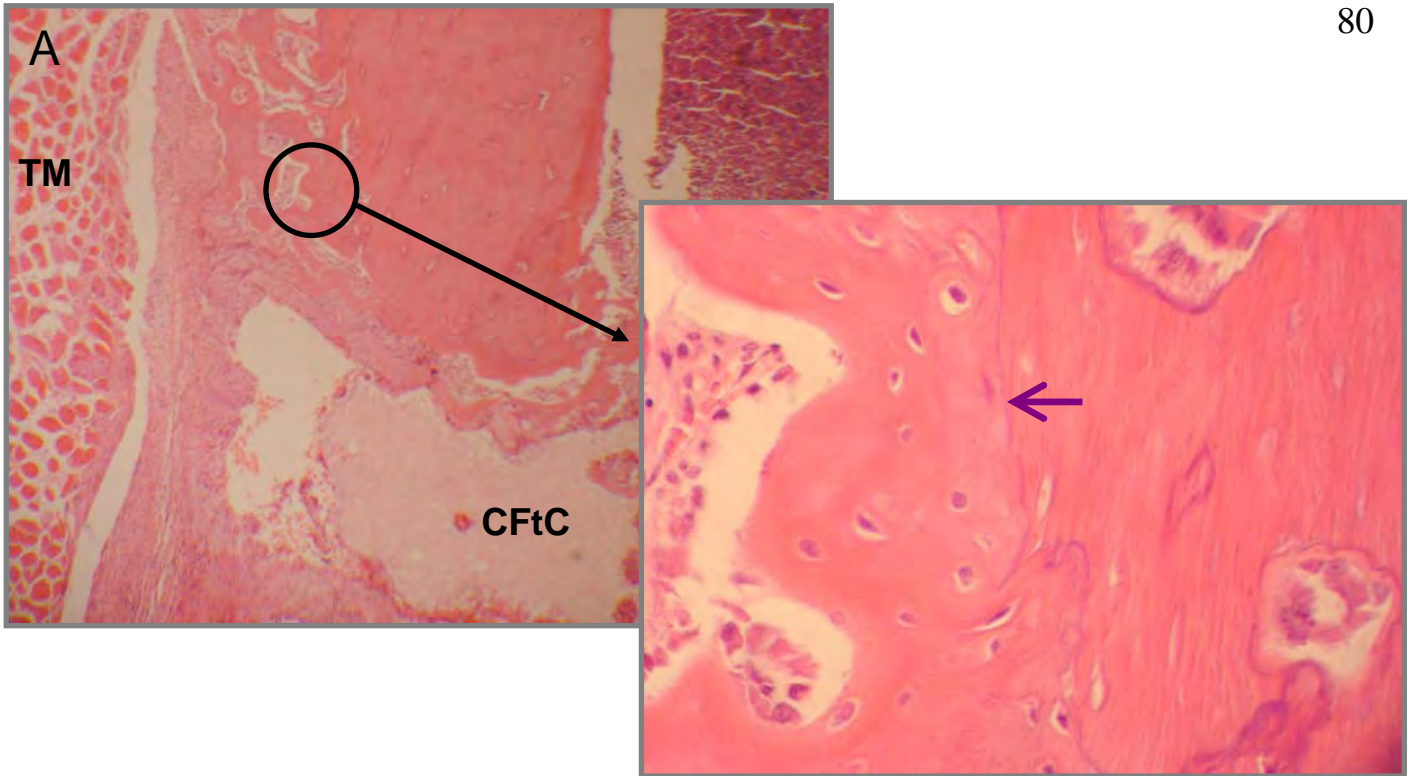


Figura 31 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T. **A:** neoformação óssea trabecular com a presença de tecido ósseo primário. Tecido muscular esquelético (TM) externo à cavidade (100X). **B:** presença da linha de reversão (basófila) (→) (400X).

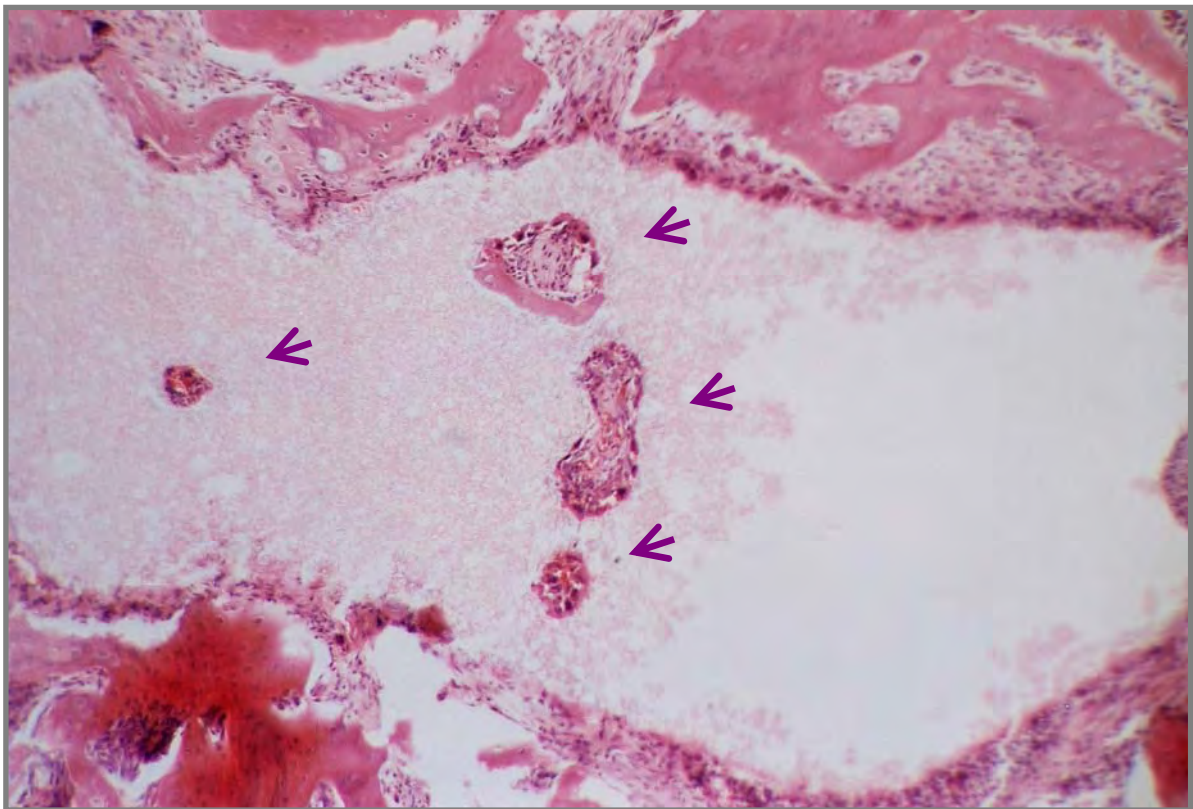


Figura 32 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: áreas concêntricas com invasão celular e neoformação óssea no interior do bloco de cimento (➤) (100X).

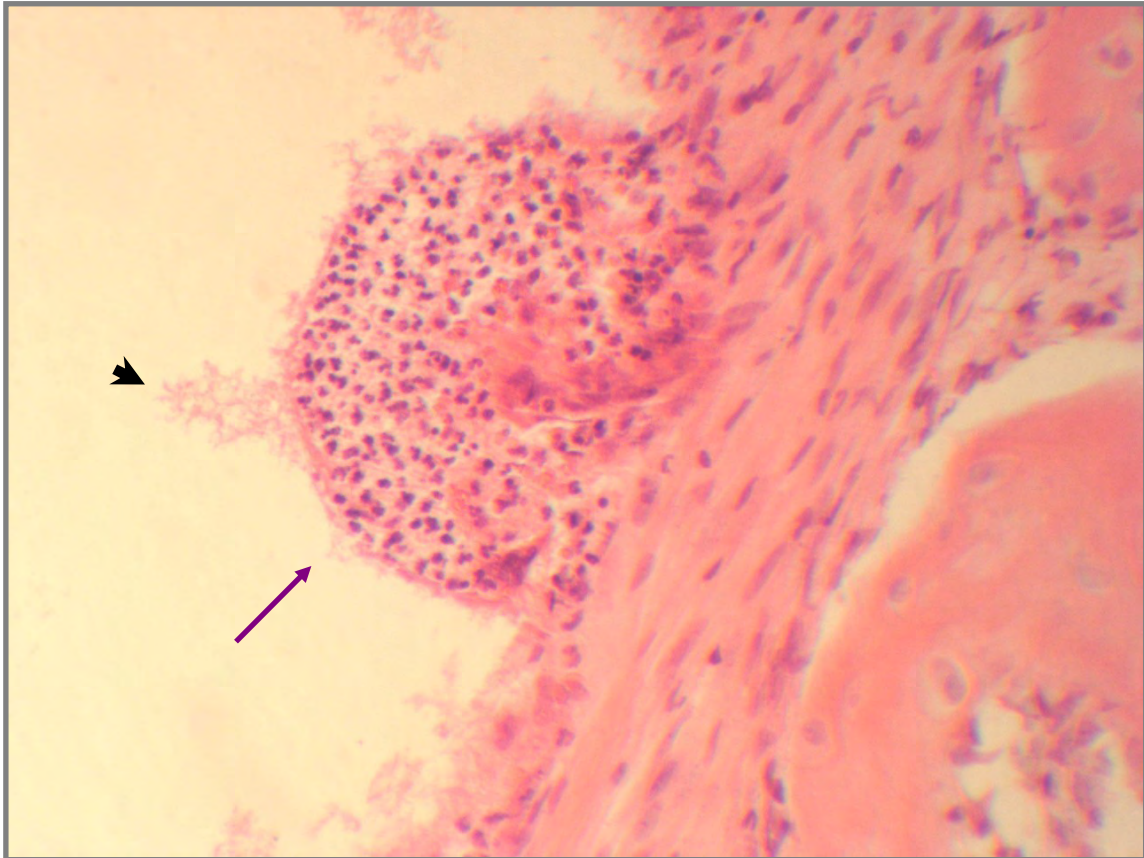


Figura 33 – 14 dias pós-operatórios – cavidade T: área com intensa presença de células e neoformação óssea projetada para o interior do bloco (→). Chama atenção a imagem residual focal do conteúdo do material implantado (➤) (400X).

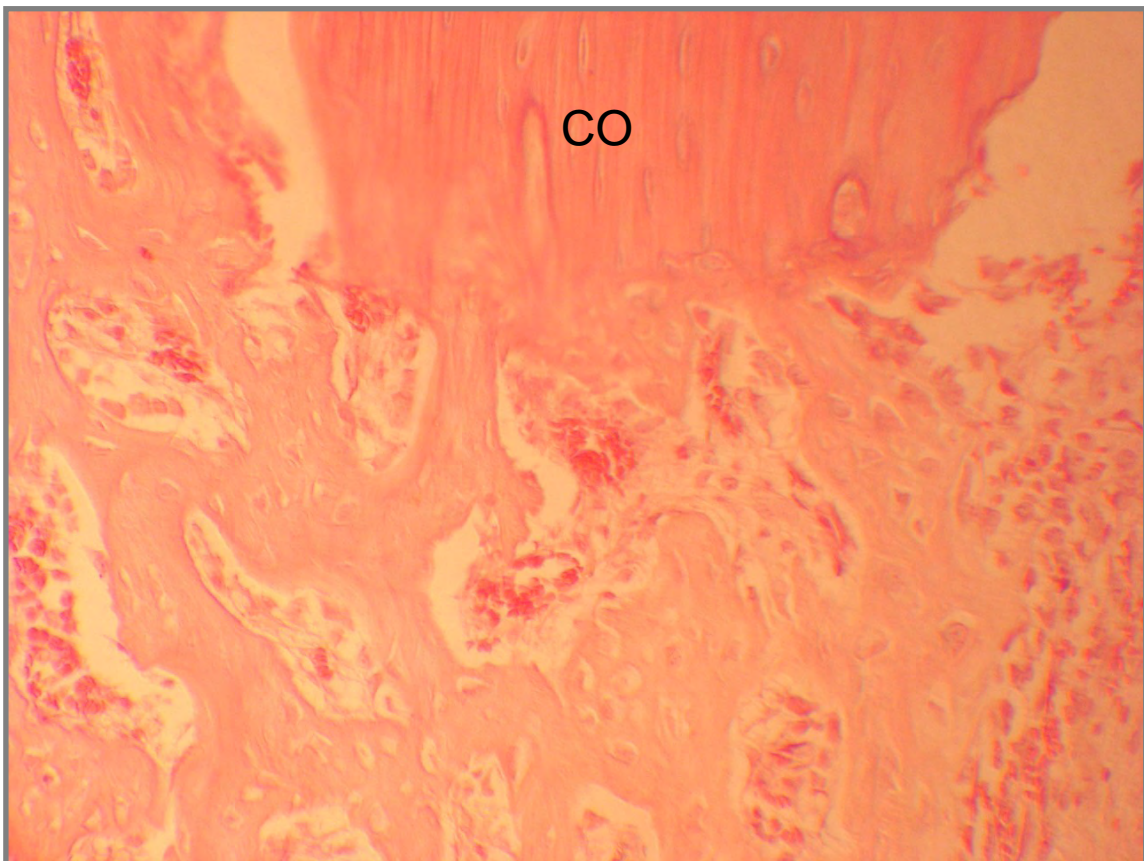


Figura 34 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C-: neoformação óssea predominantemente endóstea. Atividade de remodelação na cortical óssea (CO), nos bordos da ferida (250X).

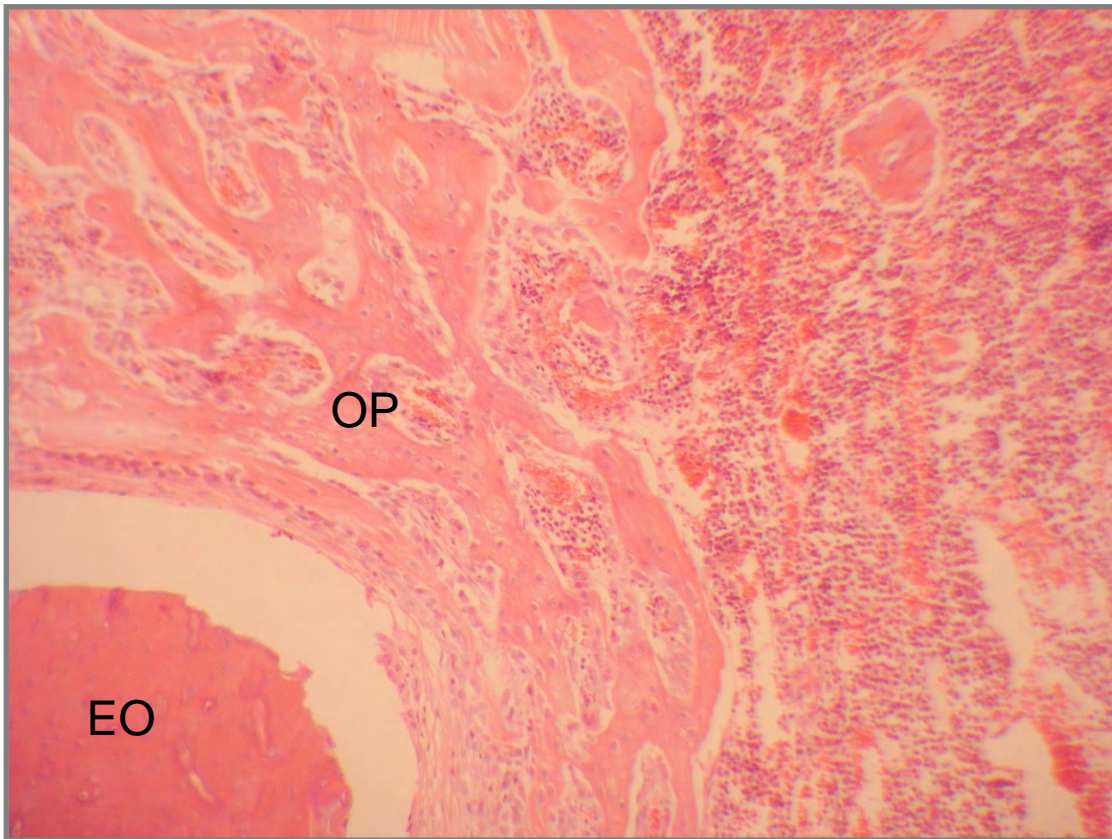


Figura 35 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C+: neoformação óssea. Presença de tecido ósseo primário (OP) e enxerto ósseo autógeno (EO) (250X).

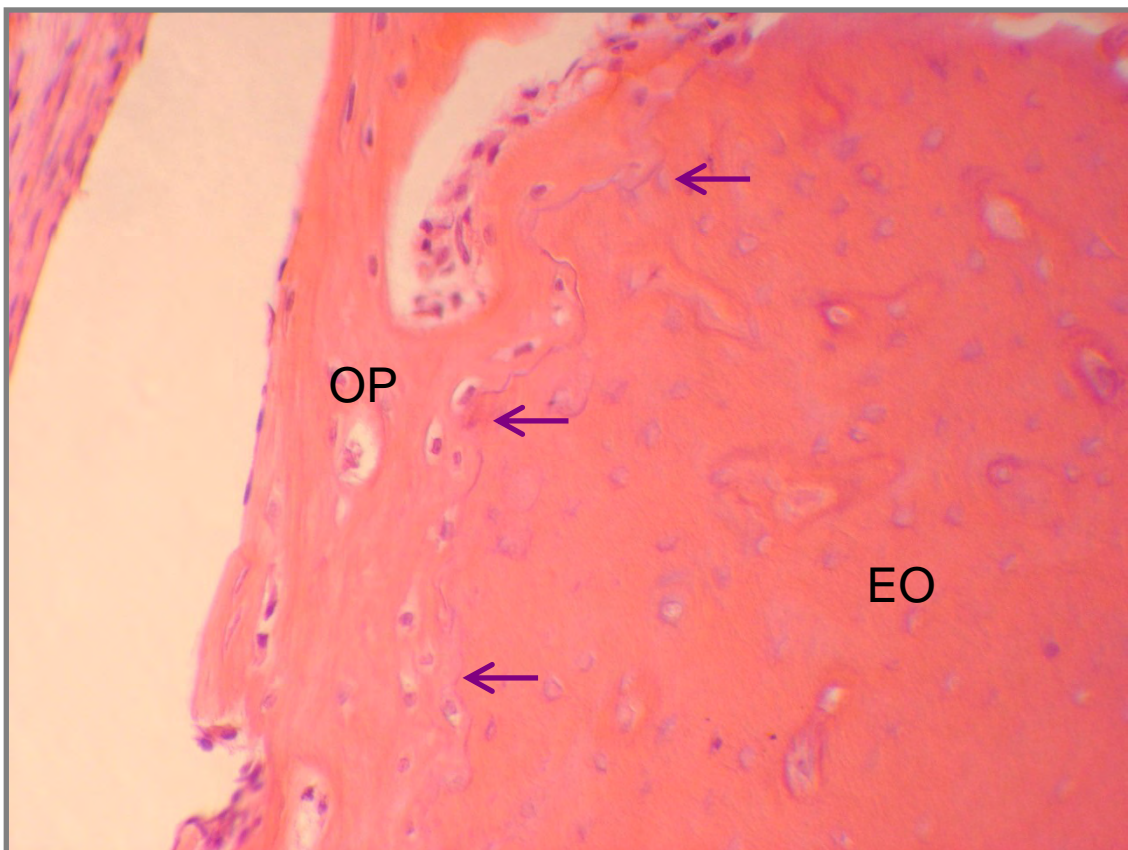


Figura 36 – 14 dias pós-operatórios – cavidade C+: linha de reversão (linha basófila) (→), no limite do tecido ósseo primário (OP) e do ósseo lamelar do enxerto ósseo (EO) (400X).

➤ **Período de 21 dias (Figura 37)**

✓ **Cavidade cirúrgica T**

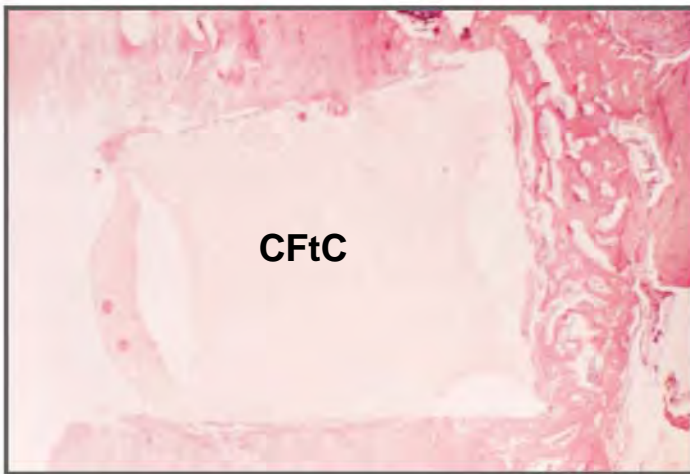
As secções revelam o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico perfeitamente adaptado na cavidade cirúrgica com as paredes regulares. Observa-se a formação trabecular a partir do endóstio que se encontra tamponando o referido material. Há a regressão no quadro inflamatório e pequena quantidade de tecido fibroso na região. A intensa neoformação óssea é constatada pela presença de tecido ósseo em diferentes graus de maturação e células osteoblásticas ativas. Uma delgada cápsula fibrosa envolve a superfície externa do bloco implantado. Salienta-se a regularidade entre as superfícies impanto-ósseas. Observa-se ainda uma marcada organização da neoformação óssea marginal com invasão de istmos ósseos ocupando eventuais irregularidades da estrutura inorgânica (Figura 38). Presença de macrófagos e células gigantes reabsorvendo o cimento (CFtC).

✓ **Cavidade cirúrgica C-**

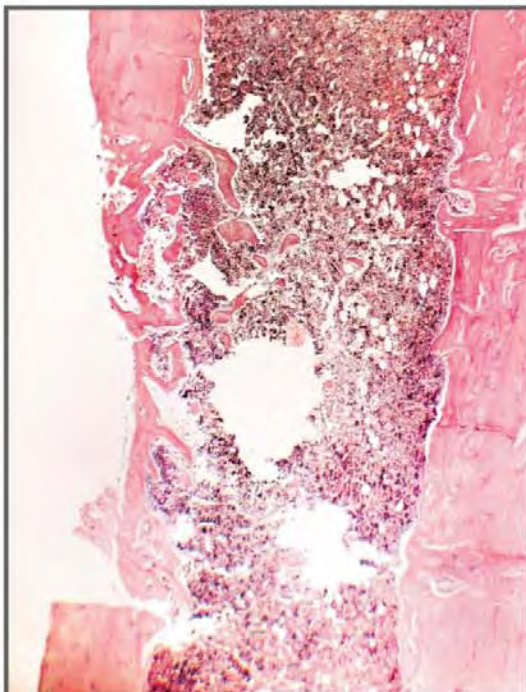
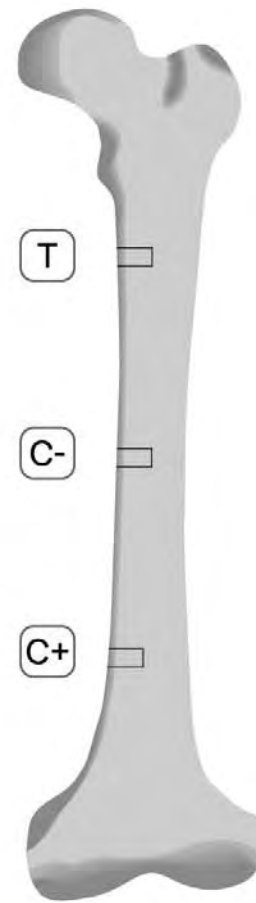
As secções revelam intensa proliferação óssea interpondo-se entre as corticais segmentadas, no teto da cavidade, com grande tendência à formação trabecular e intensa presença de medula óssea. Esse tecido atinge espessura compatível com a estrutura óssea original da região. Há cordões de células osteoblásticas e osteoclásticas em atividade. No assoalho da cavidade cirúrgica verifica-se a organização cortical com projeções trabeculares e a maturação óssea lamelar. Ordenada presença de células adiposas da medula óssea marca a maturidade hematopoiética (Figura 39).

✓ **Cavidade cirúrgica C+**

As secções revelam fragmentos de tecido ósseo enxertado. Em algumas lâminas verifica-se leve inclinação da posição do enxerto em diagonal ao longo eixo do conduto ósseo. Em uma das amostras, a camada lamelar do enxerto está voltada para o interior da cavidade e sugere a possibilidade de leve giroversão do mesmo. A formação óssea constatada pela presença de tecido ósseo em diferentes graus de maturação e células osteoblásticas no teto da cavidade (Figura 40) confunde sua estrutura trabecular com a continuidade do enxerto. Não existem linhas de reversão ou limitantes, ou de estrutura lamelar organizada, sugerindo a franca atividade osteogênica e osteoindutora do enxerto ósseo autógeno. Verificam-se ainda numerosos vasos sanguíneos no interior da estrutura óssea analisada. No assoalho da cavidade cirúrgica pode ser visto crescimento centrípeto de trabeculado ósseo resultante da ostectomia prévia. A medula hematopoiética com riqueza celular, células adiposas e vasos sanguíneos apresenta-se com aspecto de normalidade (Figura 40). Em uma das amostras, há a presença de um enxerto ósseo externo à cavidade, envolto por tecido conjuntivo fibroso (Figura 41). Nesta região há neoformação óssea obstruindo a solução de continuidade da cortical do teto da cavidade e presença de tecido muscular esquelético estriado.



T Presença maciça do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) implantado na cavidade óssea. Mantém-se limite regular da cavidade contrapondo-se às irregularidades na superfície do material (40X).



C- Continuado processo de cicatrização da cortical, no teto da cavidade cirúrgica. Observa-se ainda a progressiva regularização do conduto medular (40X).



C+ Presença do enxerto ósseo (EO) em continuidade com a área trabecular em processo de corticalização (40X).

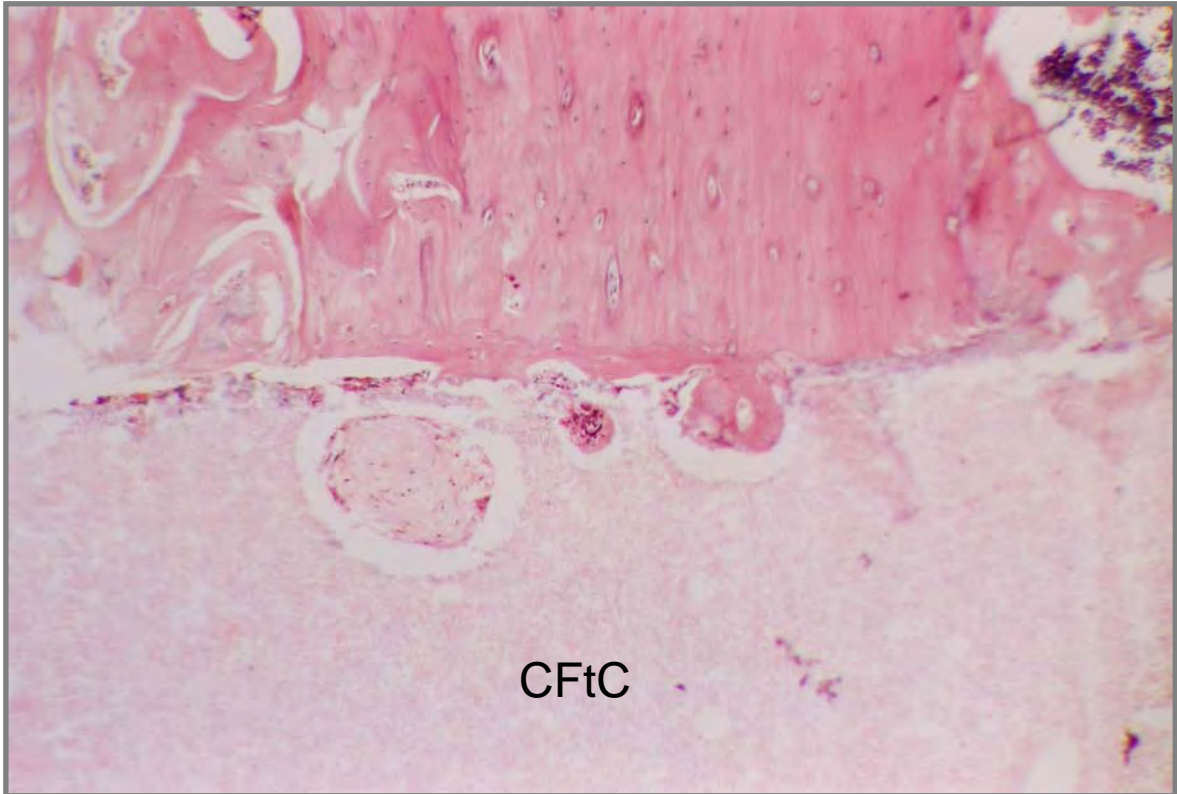


Figura 38 – 21 dias pós-operatórios – cavidade T: neof ormation óssea marginal, compatível com proliferação celular, invadindo, na forma de istmos ósseos, as lacunas presentes no material (CFtC) (100X).

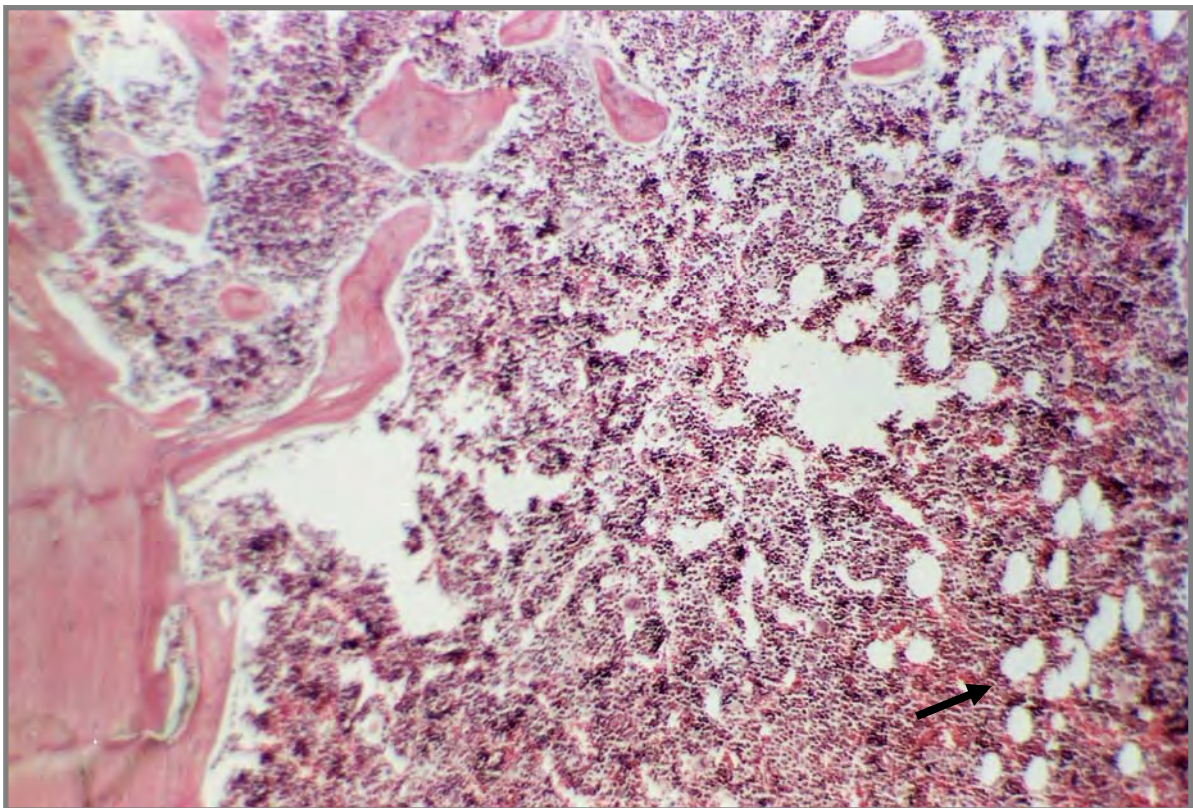


Figura 39 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C-: células adiposas (→) da medula óssea marcando a integridade e a maturidade hematopoiética (100X).

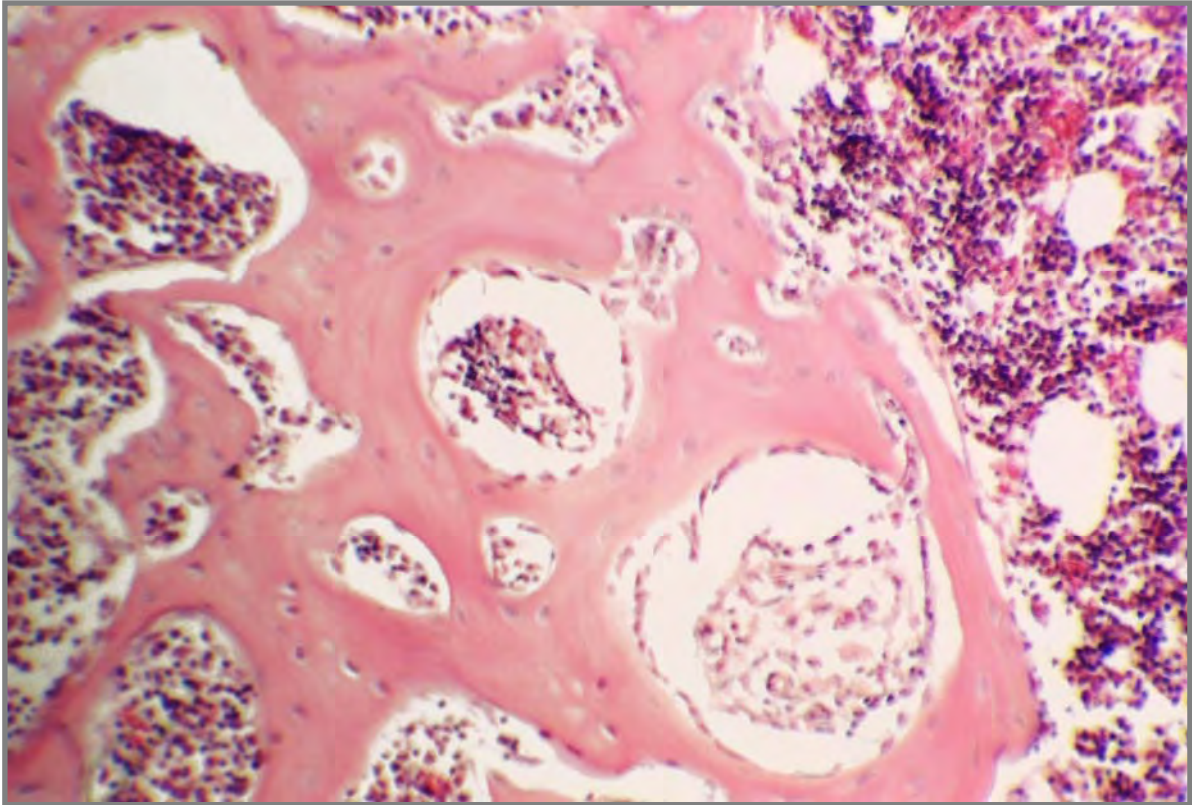


Figura 40 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C+: presença de células osteoblásticas, tecido ósseo trabecular neoformado e hematopoiético com células adiposas dentro das características de medula normal (250X).

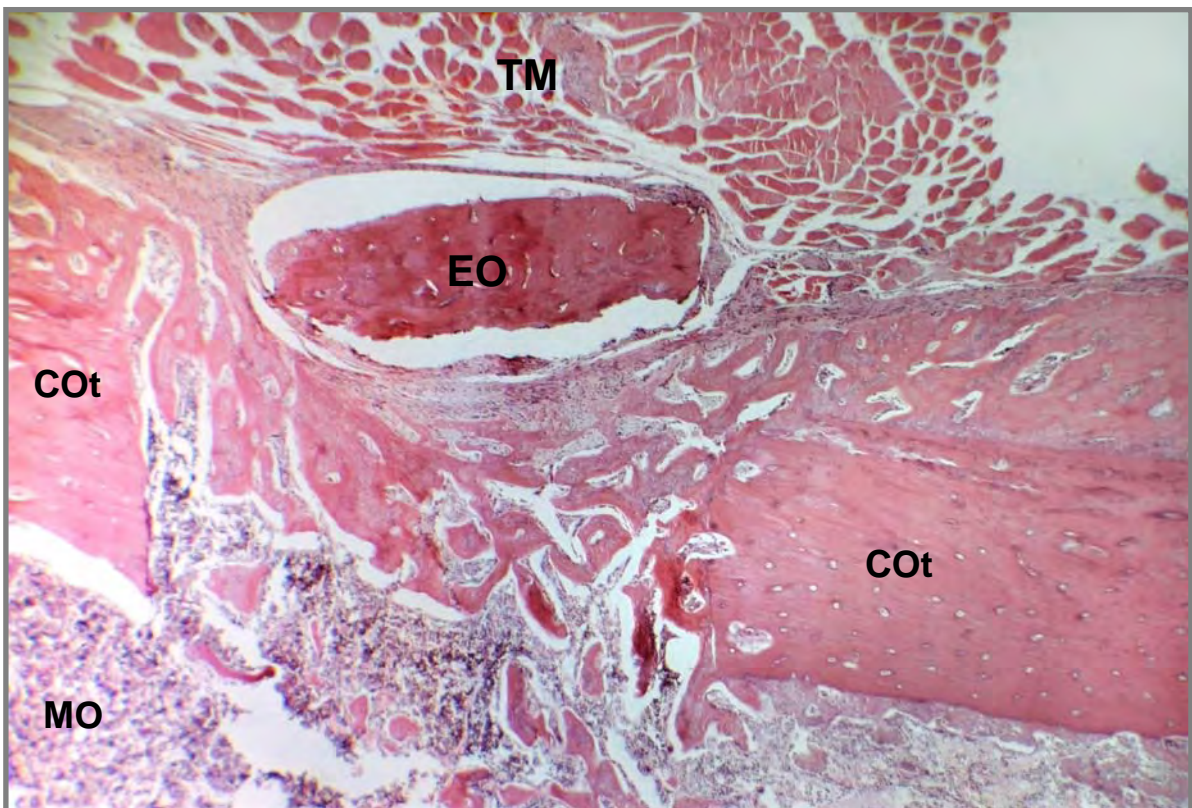


Figura 41 – 21 dias pós-operatórios – cavidade C+: enxerto ósseo (EO) externo à cavidade, envolto por tecido conjuntivo fibroso. Neoformação óssea, a partir do periósteo, obstruindo a solução de continuidade da cortical do teto da cavidade (COT). Tecido medular ósseo (MO) com sinais de normalidade. Presença de tecido muscular esquelético estriado (TM). (40X).

➤ **Período de 60 dias (Figura 42)**

✓ **Cavidade cirúrgica T**

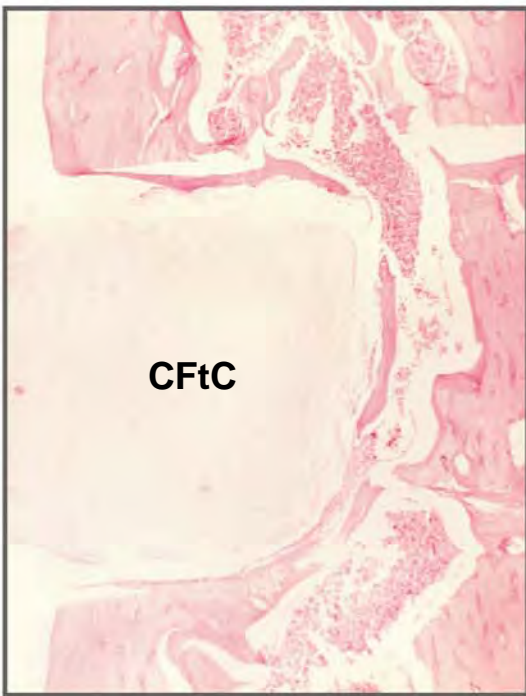
As secções revelam a estabilidade do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico na cavidade ostectomizada. Em todas secções observa-se neoformação óssea trabecular pelas células osteoblásticas. Verifica-se invasão celular junto à superfície do bloco de cimento (CFtC), e contorno de osso neoformado emoldurando a interface osso/implante (Figura 43). A reabsorção pelas células gigantes, sugere progressiva substituição deste por tecido ósseo.

✓ **Cavidade cirúrgica C-**

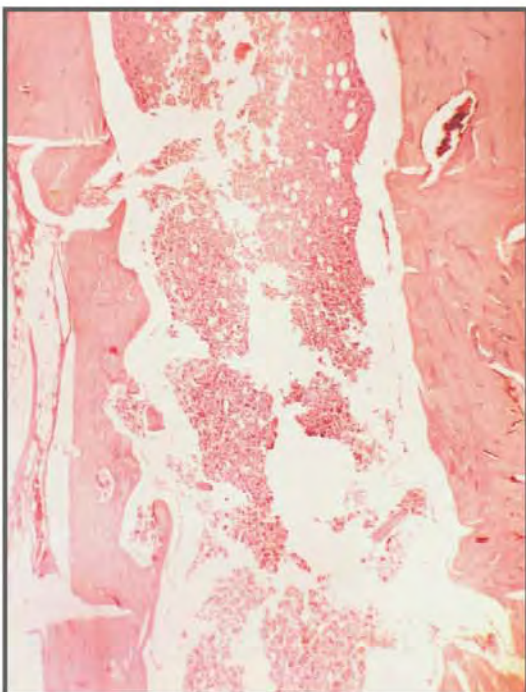
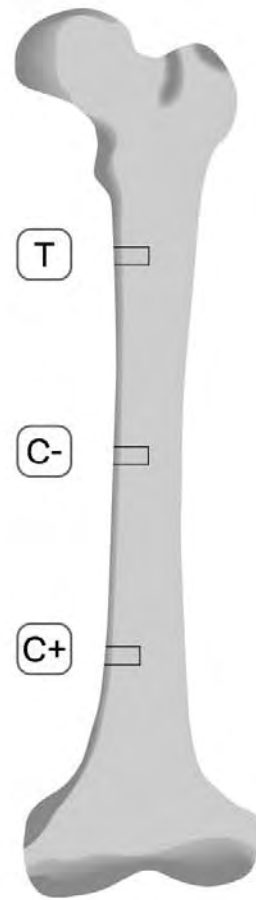
As secções revelam processo cicatricial na cortical óssea do teto da cavidade apresentando volume ósseo compatível com normalidade na área. Verifica-se, anatomicamente, discreta solução de continuidade da cortical ostectomizada. Não se verifica tecido inflamatório no local. Canal medular com dimensões e aspecto celular compatível com sinal normalidade.

✓ **Cavidade cirúrgica C+**

As secções revelam a presença de fragmentos ósseos alinhados horizontalmente no assoalho do canal medular com características de acelularidade, sugestivo de residual do tecido ósseo cortical enxertado (Figura 44). Observam-se contínua neoformação óssea pelas células osteoblásticas e reparo ósseo constatado pela discreta solução de continuidade do osso cortical. Canal medular com dimensões e celularidade compatíveis com sinais normalidade.



T Presença material (CFtC) implantado predominantemente circundado por tecido ósseo maduro (40X).



C- Avançado processo de cicatrização e remodelação óssea compatível com a normalização na área ostectomizada (40X).



C+ Oclusão do teto da cavidade ostectomizada com integração de grande parte do enxerto ósseo (EO) junto a cortical (40X).

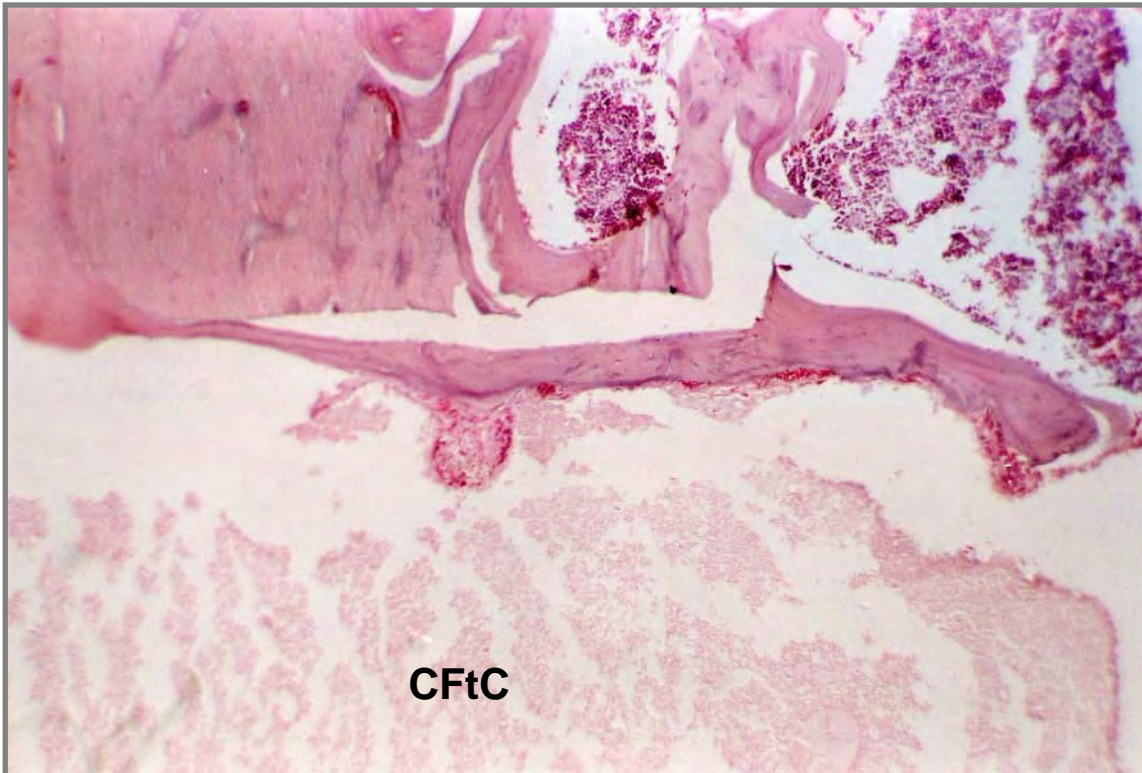


Figura 43 – 60 dias pós-operatórios – cavidade T: invasão celular junto à superfície do bloco de cimento (CFtC). Observa-se contorno de osso neoformado emoldurando a interface osso/implante (100X).

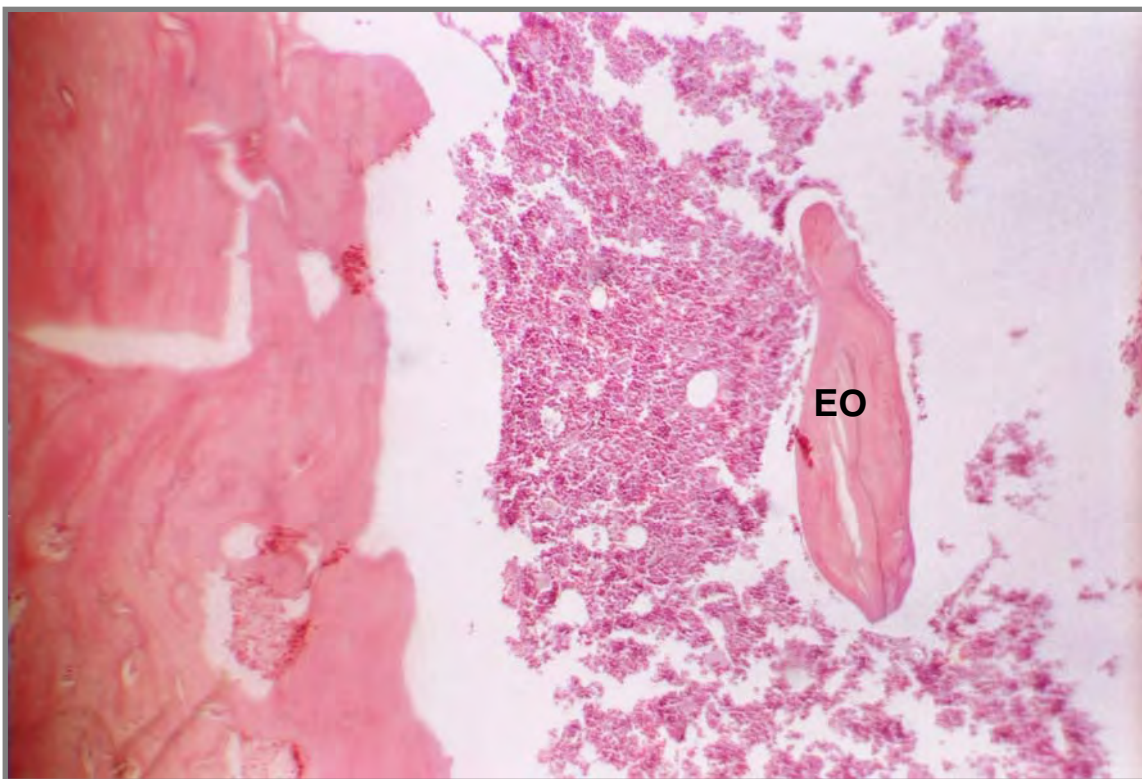


Figura 44 – 60 dias pós-operatórios – cavidade C+: fragmento ósseo no assoalho do canal medular com características de acelularidade, sugestivo de residual do tecido ósseo cortical enxertado (EO) (100X).

5.2 MÉTODO RADIOGRÁFICO:

O método radiográfico objetivou a identificação das áreas para método histológico e as possíveis fraturas ocorridas. Não foi, portanto, instrumento de aferição quanto aos objetivos propostos. Os exames radiográficos compreenderam os períodos experimentais de três, sete, 14, 21 e 60 dias. Dentro de cada tempo havia três áreas de análise: cavidade cirúrgica T (implante do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico - CFtC), C- (cavidade cirúrgica livre de enxerto) e C+ (enxerto ósseo autógeno).

Estão contemplados nesta seção apenas os achados radiográficos relevantes para os objetivos do presente trabalho.

➤ Houve solução de continuidade, caracterizando fratura, na região de C-, apenas em uma amostra nos seguintes tempos: três (Figura 45), sete (Figura 46), 21 e 60 dias.

A descrição das demais cavidades (T e C+), das amostras supracitadas, foi excluída do estudo.

➤ As imagens apresentadas (Figura 47 e 48) permitem visualizar a evolução radiográfica dos fêmures, após o procedimento metodologicamente proposto, de três e 60 dias, em duas tomadas radiográficas (PA e perfil, respectivamente).

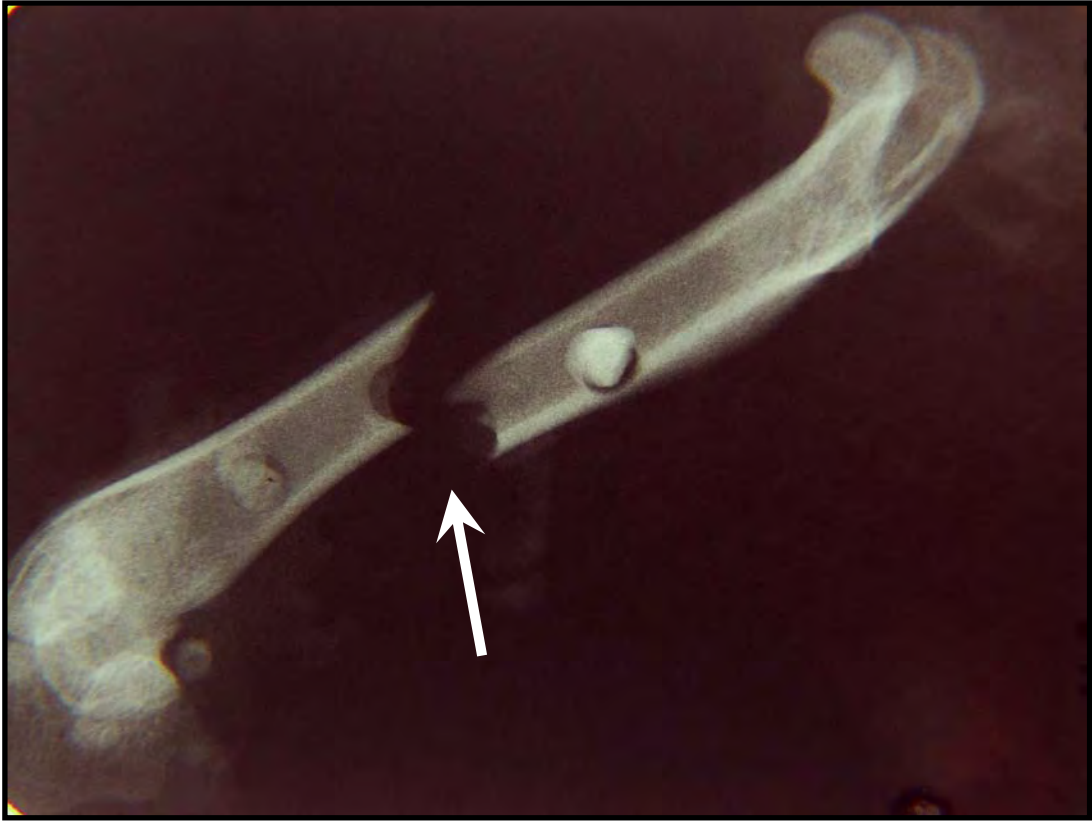


Figura 45 – Radiografia periapical (póstero-anterior) de três dias pós-operatórios, demonstrando o traço de fratura na região de C-.



Figura 46 – Radiografia periapical (póstero-anterior) de sete dias pós-operatórios, demonstrando o traço de fratura na região de C-.

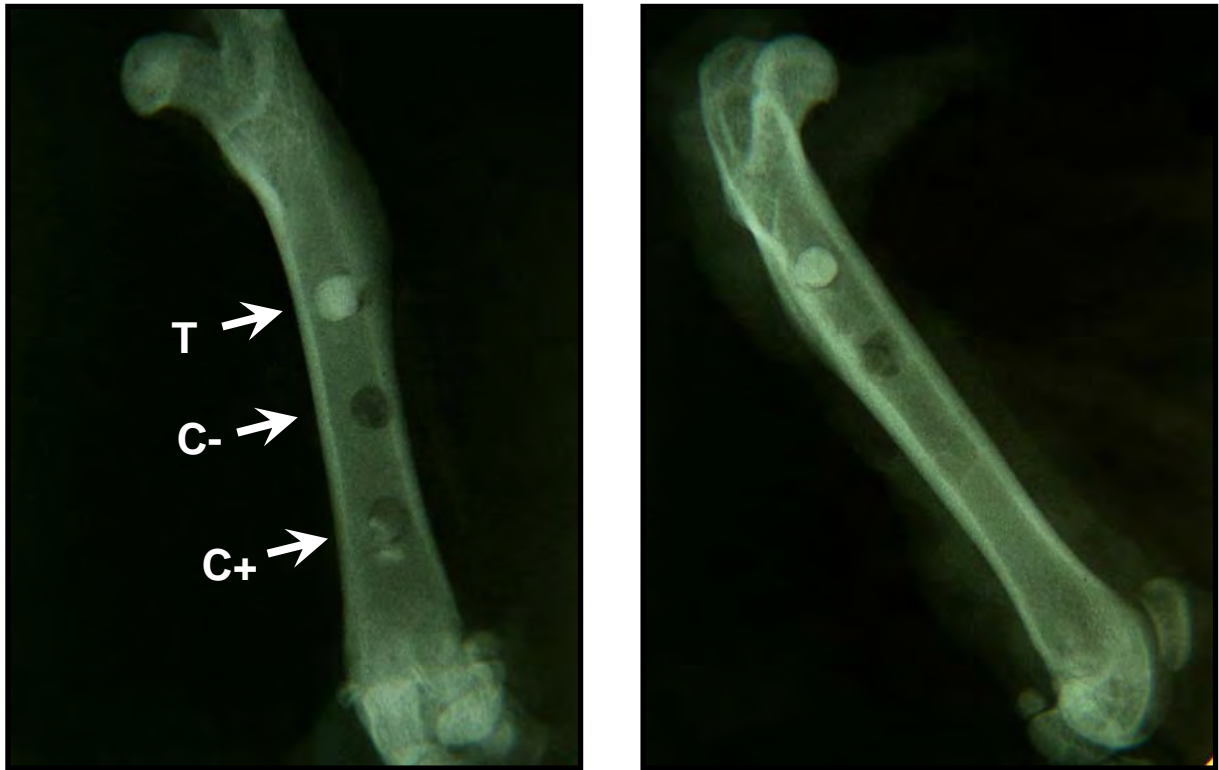


Figura 47 – Imagens radiográficas (pósterio-anterior): à esquerda, fêmur com três dias pós-operatórios; à direita, fêmur com 60 dias pós-operatórios.

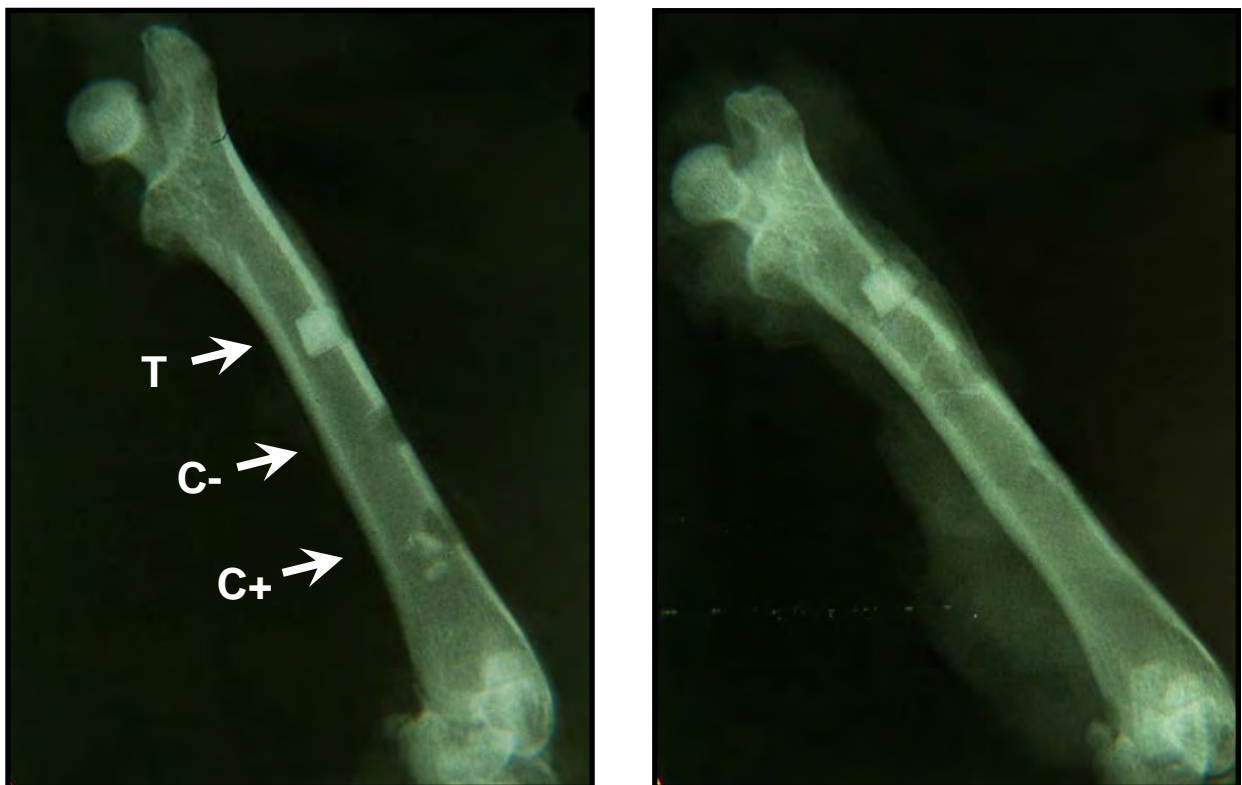


Figura 48 – Imagens radiográficas (perfil): à esquerda, fêmur com três dias pós-operatórios; à direita, fêmur de 60 dias pós-operatórios.

6 DISCUSSÃO

Visto a grande exigência da Odontologia, principalmente na área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, em restaurar tecidos ósseos perdidos, é de fundamental importância os estudos com biomateriais que se propõe a substituir ou estimular o reparo ósseo.

O modelo experimental utilizado justifica-se uma vez que inexistem alternativas não-animais para a verificação deste tipo de estudo, concordando com os conceitos atuais de bioética, segundo Goldim e Raymundo, em 2003. Desta forma, o modelo proposto utiliza fêmeas de ratos da raça *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar, para avaliação do processo de reparo ósseo, em cavidades cirurgicamente confeccionadas, após implante de cimento de α -fosfato tricálcico, enxerto ósseo autógeno e cavidade livre de enxerto.

O uso freqüente de tais espécimes animais em experimento ocorre (DENISSEN, 1985; VEECK, 1994; KURASHINA et al., 1998; PASQUIER et al., 1996; PASQUIER et al., 1998; BATISTA, 1999; YUAN et al., 2000; MARTINS, 2001; RAMIRES, 2001; PARIS, 2002; KENNER, 2003; ULBRICH, 2003), por estes facilitarem o acesso e manipulação técnicos, além da instituição (UFRGS) disponibilizar um biotério adequado para sua manutenção, apresentarem um menor custo financeiro e revelarem-se adaptados aos objetivos propostos. Segundo estes parâmetros, selecionaram-se animais nascidos e criados em cativeiro laboratorial. O número reduzido de animais para este experimento, não causa prejuízo quanto à validação científica do mesmo, segundo Siegel, em 1975 e Barbetta, em 1999. Ainda dentro dos conceitos da bioética garantiu-se as melhores condições de alojamento e alimentação destes animais, assegurando-se o atendimento das necessidades básicas aos mesmos.

Os animais selecionados, todos do sexo masculino, com cinco meses de idade, e aproximadamente 400g, excluíram qualquer viés quanto às condições de reparo ósseo, como

considerado nos estudos de Schmitz e Hollinger, em 1986. A presença de numerosas células adiposas na medula hematopoiética sadia comprovam a maturidade do tecido ósseo dos animais selecionados para o presente trabalho, conforme citado por Burkitt, Young e Heath, em 1994.

As técnicas de incisão e remoção de tecido ósseo, conceituados por Puricelli, em 1998b, respectivamente como osteotomia e ostectomia, têm sido tecnicamente analisadas por diversos autores, tendo em vista a sua grande aplicação como modelo de estudo experimental na área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, conforme já exposto Veeck, em 1994, Ramires, em 2001, Martins, em 2001 e Ulbrich, em 2003. As ostectomias, segundo Puricelli, em 1998b, envolvem o corte do tecido ósseo sem a intenção de sua autoconservação ou reaproveitamento local.

O tipo de reparo ósseo a ser avaliado, após ostectomias, pode ser considerado como forma padrão de cicatrização das feridas ósseas. Ao contrário, autores como Burkitt, Young e Heath, em 1994, propõem as fraturas ósseas como modelo de estudo dos reparos ósseos. Entretanto, este método por fratura pode ser dificultado pela necessidade de meios de fixação óssea associado a animais de médio e grande porte.

Estas cavidades, cirurgicamente criadas, segundo Puricelli (RAMIRES, 2001; ULBRICH, 2003), apresentam apenas uma cortical rompida, permitindo assim, as condições indispensáveis para reprodução de um calo ósseo. Assim, concorda com as citações de Champy e colaboradores, em 1977, Shapiro, em 1988, Schenk e colaboradores, em 1994, Burkitt, Young e Heath, em 1994 e Feinberg, Steinberg e Helman, em 1997, que a fratura óssea cicatriza em primeira intenção quando encontra-se anatomicamente reduzida, estável e fixada.

A escolha do tecido ósseo femural de ratos, como local para o presente estudo, baseia-se na facilidade técnica de sua manipulação, estrutura óssea compatível para observação

histológica e resistência funcional, concordando com Veeck, em 1994, Pasquier e colaboradores, em 1996, Pasquier e colaboradores, em 1998, Batista, em 1999, Yuan e colaboradores, em 2000, Ramires, em 2001 e Ulbrich, em 2003. As cavidades teste e controles foram realizadas no fêmur direito de um mesmo animal, buscando-se manter as mesmas variáveis possíveis para todos os grupos.

Os estudos de Frame, em 1980, levaram Schmitz e Hollinger, em 1986, à definição de um protocolo experimental que visa à padronização de um tamanho crítico do defeito, porém não há contemplação quanto ao modelo animal estudado. Sendo assim, o experimento apresentado propôs-se a confecção de cavidades cirúrgicas em lugar de defeitos.

A dimensão das cavidades foi de 2mm de diâmetro e 4mm de profundidade, sendo definida segundo comprimento e espessura dos fêmures dos animais, que são de aproximadamente 30mm e 5mm, respectivamente. Este protocolo, proposto anteriormente por Puricelli e realizado por Ulbrich, em 2003, mostrou-se confiável.

Em todos os grupos e tempos experimentais, neste estudo, verificou-se a marcada regularidade da estrutura cortical ostectomizada. A broca trefina mostrou-se eficaz na padronização da confecção das cavidades e na manutenção do tecido ósseo adjacente sadio concordando com Ilankovan e colaboradores, em 1998.

Para Bonfield e Li, em 1968, Barone, em 1997 e Kerawala e colaboradores, em 1999, a falta de irrigação constante durante a ostectomia está diretamente relacionada com a necrose óssea local. No presente estudo, não houve sinais de morte tecidual em nenhuma das amostras, confirmando sua realização conforme padrões metodologicamente explicitados, gerando apenas dano tecidual previsível.

Houve cuidado quanto à manutenção do tecido periosteal envolvido, visto seu importante papel no processo de reparação óssea, baseado em estudos de Whiteside e Lesker, em 1978, Hjorting-Hansen e Andreasen e Heiple e Hernon (apud SCHMITZ; HOLLINGER,

1986) e Ross, Reith e Romrell, em 1993. Após seu descolamento, finalizada a intervenção na estrutura óssea, este foi reinsertado junto à área original correspondente. No estudo histológico, foi possível observar sua proliferação na superfície das cavidades ósseas cirurgicamente criadas, com as fibras de Sharpey inserido-o ao tecido ósseo cortical.

Aos três dias pós-operatórios, observou-se, em todas as amostras dos três grupos analisados (T, C- e C+), a presença de infiltrado inflamatório, hemácias e proliferação fibroblástica, concordando com os padrões citados por Junqueira e Carneiro, em 2004. Apesar da presença do enxerto ósseo autógeno (C+) e do implante de cimento de α -fosfato tricálcico (T), o processo reacional inicial foi semelhante em todas as amostras.

No período de sete dias pós-operatórios, igualmente nos três grupos (T, C- e C+), todas as cavidades confeccionadas cirurgicamente, mostraram-se preenchidas por tecido de granulação, concordando com as observações de Burkitt, Young e Heath, em 1994 e Junqueira e Carneiro, em 2004. Este tecido, caracteriza-se pela proliferação fibroblástica e angioblástica. A presença de infiltrado inflamatório foi de menor intensidade quando comparado ao período de três dias.

A confecção da cavidade livre de enxerto, designada controle negativo ou C-, foi idealizada como padrão de reparo ósseo do animal. Aos três dias pós-operatórios, não foi observada neoformação óssea. Já aos 7 dias, foi observada intensa fibroplasia e da mesma forma, ausência de neoformação óssea. Aos 14 dias, verificou-se atividade de neoformação óssea predominantemente endóstea, obstruindo a solução de continuidade entre as corticais. Aos 21 dias pós-operatórios, a organização cortical mostrou-se com projeções trabeculares e houve maturação óssea lamelar. No período de 60 dias, a discreta solução de continuidade da cortical conferiu o aspecto de fechamento da cavidade. O processo de neoformação óssea decorreu conforme padrão de reparo ósseo após fraturas, definido por Burkitt, Young e Heath, em 1994.

Diversos autores como Burwell, em 1965, Jackson e colaboradores, em 1981, Burchardt, em 1987, Lane, Harvinder e Sandhu, em 1987, Puricelli e Chem, em 1985, Puricelli, em 1998a, Puricelli, em 2002, Puricelli, Baraldi e Paris, em 2005, Garg, em 1999, Triplett, em 1996 e Rasmusson, em 1998, definem o enxerto ósseo autógeno como “padrão ouro” dentre os enxertos, devido às suas propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas. Dessa forma, este estudo utilizou o enxerto ósseo autógeno como modelo de reparo ósseo consagrado, sendo portanto designado controle positivo (C+).

Nas cavidades C+, deste trabalho experimental, podem-se observar as propriedades biológicas do enxerto ósseo autógeno, já a partir de 7 dias. Há um acelerado processo de neoformação óssea quando comparado à cavidade C-. Aos 14 dias, verifica-se a presença de tecido ósseo primário e células osteoblásticas. Registra-se ainda, a presença da linha de reversão (linha basófila) entre tecido ósseo lamelar e tecido ósseo primário. A medula óssea hematopoiética, aos 14 dias, mostra-se com tendências de normalidade. Aos 21 dias, a formação óssea constatada pela presença de tecido ósseo em diferentes graus de maturação e células osteoblásticas no teto da cavidade confunde sua estrutura trabecular com a continuidade do enxerto. Sugere-se a franca atividade osteogênica e osteocondutora do enxerto ósseo autógeno. Aos 60 dias, observam-se progressiva neoformação óssea pelas células osteoblásticas e reparo ósseo confirmado pelo fechamento do osso cortical.

Uma das amostras, contendo o enxerto ósseo autógeno, aos 21 dias pós-operatórios, revelou a presença de um fragmento ósseo externo à cavidade, envolto por tecido conjuntivo fibroso. Tal imagem levanta a suposição de um possível deslocamento do enxerto. Entretanto, houve neoformação óssea no local, obstruindo a solução de continuidade da cortical do teto da cavidade. O deslocamento de enxerto ósseo autógeno, em cavidades ósseas cirurgicamente criadas, foi igualmente observado por Ramires (2001).

No presente trabalho, sugere-se que os diferentes deslocamentos do enxerto ósseo autógeno na cavidade C+ possam ocorrer devido a não fixação do mesmo. A necessidade de sua estabilização e fixação, já foi proposto por Ramires, em 2001, Puricelli, Baraldi, Cardoso, em 2004 e Puricelli, Baraldi e Paris, em 2005.

O cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC), aqui estudado, foi proposto por Santos, em 2002, pela primeira vez. As modificações obtidas pela adição de um redutor de líquido permitiram a obtenção de um novo tipo de cimento de maior resistência. Segundo o mesmo autor, esta é a principal desvantagem apresentada pelos cimentos de fosfato de cálcio. Não houve qualquer fratura do bloco de cimento ou do tecido ósseo na região de implante do mesmo, permitindo discordar dos estudos de Jarcho, em 1981, Hollinger e colaboradores, em 1996, Damien e Parsons, em 1991, Osborn, em 1991, St. John e colaboradores, em 1995, Oonish e colaboradores, em 1995, LeGeros e LeGeros, em 1996 e Stevenson, Emery e Goldberg, em 1996. Estes autores afirmaram que, as diferentes formulações do cimento de fosfato de cálcio, na forma de blocos pré-curados, apresenta-se como um material friável e frágil. Matson, em 1985, refere que a baixa resistência ao impacto é uma desvantagem dos materiais cerâmicos, e cita o cimento de fosfato de cálcio. Considera-se portanto, que as modificações propostas por Santos, em 2002, na composição do cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC), são relevantes.

De acordo com os requisitos propostos por Ravaglioli e Krajewski, em 1992, para um material ser aceito como implante é necessário que o mesmo seja biocompatível. Quanto a estes materiais de implante, a biocompatibilidade está intimamente relacionada com o comportamento celular do tecido ósseo, quando em contato com estes, e, particularmente, com a ausência de reação tecidual a corpo estranho no local da implantação. A biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio já foi demonstrada por Nishimura e colaboradores, em 1991, Driessen e colaboradores, em 1995, Kurashina e colaboradores, em

1995, Kurashina e colaboradores, em 1997a, Kurashina e colaboradores, em 1997b, Koshino, Kubota e Morii, em 1996, Miyamoto e colaboradores, em 1996, Tenhuisen e Brown, em 1997 e Santos, em 2002. Neste estudo, a ausência de um compromisso inflamatório ou reação a corpo estranho, exuberante ou duradoura, fez-se clara em todas as cavidades que receberam o implante do referido cimento (CFtC).

Não houve, igualmente, sinal de infecção nos tecidos adjacentes, que segundo Kurashina e colaboradores, em 1998 é uma das causas de rejeição dos implantes. Segundo protocolo de Corsetti e colaboradores, em 2005, o material foi esterilizado em Peróxido de Hidrogênio, sendo um coadjuvante na manutenção da cadeia asséptica, evitando complicações pós-operatórias.

Segundo Santos, em 2002, a pouca reabsorção do cimento de fosfato tricálcico, avaliado, em 26 semanas de controle pós-operatório, pode ser explicada pela presença do polímero de acrilamida, diminuindo a condição de solubilização do cimento e, conseqüente redução da velocidade de fagocitação do material. Outra explicação poderia ser a maior resistência mecânica do cimento acrescido de fibras, que implica uma maior energia de ligação entre as partículas do cimento e, assim, uma maior dificuldade para sua reabsorção *in vivo*.

Para Schenk e colaboradores, em 1994, o material ideal deve ser reabsorvido durante a fase de remodelação, sendo substituído por tecido ósseo. Neste estudo, é evidente a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas na periferia do bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) a partir de 7 dias pós-operatórios. Assim como Groot, em 1984, Jarcho, em 1986, Lemaitre, Mirtchi e Mortier, em 1987, Egli, Muller e Schenk, em 1988, Bruijn, Bovell e Blitterswijk, em 1994 e Yamada e colaboradores, em 1997, referem em seus estudos, concorda-se que reabsorvibilidade do material é uma propriedade desejável.

Aos 60 dias pós-operatórios, houve reabsorção parcial do material estudado. Pode-se inferir que este cimento funciona como leito para as células osteoblásticas no processo de neoformação óssea. As observações histológicas levam a concordar com Parker, em 1995 e Jarcho, em 1986, de que o cimento é fagocitado pelos macrófagos e células gigantes multinucleadas, ao mesmo tempo que forma novo tecido ósseo na interface osso/implante, agregando a suas propriedades, a osteotransdutividade.

No grupo T, aos 3 dias pós-operatórios, não observou-se qualquer sinal de neoformação óssea. Já aos sete dias, verificou-se acelerada neoformação óssea e presença de células osteoblásticas associadas a tecido ósseo imaturo, circundando o material (CFtC). Tal evolução não foi observada em C-. Aos 14 dias pós-operatórios, verificou-se a presença da linha de reversão entre o tecido ósseo cortical antigo e neoformado, e de áreas concêntricas celulares com formação óssea no interior do bloco. Estas áreas sugerem invasão celular em superfície porosa do bloco de cimento (CFtC). Os achados do presente estudo corroboram os estudos de Toquet e colaboradores, em 1999, que estudando o potencial osteogênico de células da medula óssea humana, verificou células da mesma dentro dos poros da cerâmica de fosfato de cálcio, sugerindo a porosidade do material. Aos 21 dias pós-operatórios, foram visualizadas áreas de tecido ósseo em diferentes graus de maturação e células osteoblásticas ativas. Aos 60 dias, a neoformação caracteriza-se como um tecido ósseo maduro. Os resultados demonstram a intensa propriedade osteocondutora do cimento de fosfato de cálcio, corroborando os estudos de Jarcho, em 1981, Daculsi e colaboradores, em 1990, Lemaitre, Mirtchi e Mortier, em 1987, Lemaitre, Munting e Mirtchi, em 1992, Mirtchi, Lemaitre e Munting, em 1990, Mirtchi, Lemaitre e Munting, em 1991, Munting, Mirtchi e Lemaitre, em 1993, Bohner, Lemaitre e Ring, em 1996, Pasquier e colaboradores, em 1996, Pasquier e colaboradores, em 1998, Kurashina e colaboradores, em 1998, Toquet e colaboradores, em 1999, Yuan e colaboradores, em 2000, Santos, em 2002 e Hong e colaboradores, em 2003.

O conceito da osteocondução preconiza a colocação de um material biocompatível e bioativo no preenchimento da cavidade óssea. Nas cavidades cirurgicamente preparadas, do grupo T e C+, as observações histológicas, em comparação ao grupo C-, destacam resultados que mostram formação trabecular exuberante a partir do endóstio, já aos sete dias pós-operatórios. Tais imagens permitem sugerir uma atividade de cicatrização óssea estimulada por um condutor, no caso o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) e o enxerto ósseo autógeno, respectivamente. Concordando com Schenk e colaboradores, em 1994, esses materiais serviriam de arcabouço para a proliferação das células ósseas.

Kurashina e colaboradores, em 1998, relata o insucesso de quatro dos 12 implantes de cimento de fosfato de cálcio devido ao deslocamento do mesmo. Para tanto, torna-se importante a manutenção da interface implante/tecido ósseo sem que haja deslocamento da estrutura implantada. Em todas amostras deste estudo, o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC) permaneceu estável, apresentando-se retido na cavidade. Kurashina e colaboradores, em 1998, utilizou uma composição de cimento de fosfato de cálcio baseada na mistura de α -fosfato tricálcico (α -TCP), fosfato dicálcico (DCPD) e fosfato tetracálcico (TTCP), diferente do presente estudo.

A formulação de Santos (CFtC) (2002), atende o requisito de estabilidade proposto por Shindo e colaboradores, em 1993. Para os autores, as características de um material ideal envolvem, além da disponibilidade em quantidade ilimitada, sua capacidade de preenchimento.

Aos 14 dias pós-operatórios, em uma das amostras do grupo T, há a formação de uma cápsula fibrosa circundando o bloco de cimento de α -fosfato tricálcico (CFtC), devido a osteotomia bicortical, igualmente realizada por Santos, em 2002. Propõe-se que o material em questão seja fixado, para que seu deslocamento, com possível mobilidade, não induza à formação de tecido fibroso, comprometendo o reparo ósseo. Dahlin, em 1994, afirma que o

bloqueio da neoformação óssea exercido pelo tecido conjuntivo dá-se pela sua maior proliferação e migração celulares. No estudo apresentado, a manutenção da cortical do assoalho da cavidade permitiu a retenção e estabilidade do bloco na cavidade cirúrgica.

Considera-se importante a observação histológica da atividade hematopoiética na medula óssea. O processo de cicatrização depende da habilidade dos tecidos circunvizinhos de repor o suprimento sanguíneo na área injuriada. Baseado no estudo de Urist, Delange e Finermann, em 1983, não houve, no presente estudo, prejuízo no aporte sanguíneo para a região. O estudo corrobora afirmações de Burkitt, Young e Heath, em 1994 e Junqueira e Carneiro, em 2004, de que a função do osso leva à remodelação da superfície óssea. Salienta-se como resultado a progressiva remodelação já discutida pelo autor com detalhes.

Em todos os grupos do presente trabalho, em velocidades variadas de neoformação óssea, houve primeiramente, a formação de osso entrelaçado ou imaturo sendo progressivamente remodelado para formação de osso lamelar maduro, processo este consagrado e descrito por Chalmers, Gray e Rush, em 1975, Burkitt, Young e Heath, em 1994, Schenk e colaboradores, em 1994, Schilling e colaboradores, em 1998 e Junqueira e Carneiro, em 2004.

O exame radiográfico das peças operatórias deste estudo, visou à identificação das áreas a serem analisadas e as possíveis fraturas ocorridas. Constatou-se fratura óssea do osso femural apenas no grupo controle negativo (C-), denotando a fragilidade da região. Sugere-se que o não preenchimento da cavidade tenha representado fator coadjuvante na etiologia destas fraturas. Porém, o relato de fraturas quando da utilização de fêmur de ratos como modelo de estudo não é inédito (BATISTA, 1999; RAMIRES, 2001).

Aos 60 dias pós-operatórios, nos grupos T, C- e C+, o osso neoformado assemelhou-se ao osso circundante, sendo que em C- e C+ verificou-se discreta solução de continuidade no osso cortical ostectomizado, enquanto que em T, não houve oclusão do teto da cavidade.

Concordando com Schilling e colaboradores, em 1998, o processo de reparo ósseo pode variar de meses a anos para se completar. Com relação ao material estudado, Knabe e colaboradores, em 2000, afirma que a reabsorção dos cimentos à base de fosfato de cálcio é lenta, podendo-se encontrar material até dois anos após a implantação.

O presente estudo foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ANEXO E). Desta forma, pode ser considerada uma pesquisa bioeticamente aprovada.

7 CONCLUSÕES

A metodologia empregada na realização deste experimento permite concluir, a partir da análise histológica, *in vivo*, o processo de reparo ósseo de cavidades cirurgicamente criadas, frente à implantação de cimento de α -fosfato tricálcico (SANTOS, 2002), enxertia óssea autógena e, cavidade cirúrgica livre de enxerto, que:

a) o cimento de α -fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), formulado por Santos, em 2002, responde a biocompatibilidade e osteotransdutividade; além de mostrar-se estável, com retenção em todas cavidades das amostras;

b) em ratos, o tecido ósseo frente ao implante do cimento de α -fosfato tricálcico (SANTOS, 2002) e ao enxerto ósseo autógeno, realiza um processo de neoformação óssea, com intensa aposição, já no período de sete dias. Pode-se declarar uma aceleração inicial do processo cicatricial nas cavidades preenchidas (T e C+), quando comparadas com a cavidade livre de enxerto (C-), mostrando esta, uma maior fibroplasia e conseqüente atraso na ossificação endóstia.

c) Aos 60 dias, os grupos controles apresentaram cicatrização óssea quase total, sendo assim, sugere-se, experimentalmente, tempos de implantação superiores há 60 dias, para análise da reabsorção do referido cimento (SANTOS, 2002).

REFERÊNCIAS¹

- BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**. 3.ed. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1999.
- BARONE, C. M. Analysis of bone formation after cranial osteotomies with a high-speed drill. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 8, no. 6, p. 466-470, Nov. 1997.
- BATISTA, P. S. **Avaliação microscópica do processo de reparo em cavidades ósseas submetidas a implante de osso liofilizado bovino (Bio-oss[®]) em fêmur de ratas**. 1999. 90f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- BERMUDEZ, O. et al. Development of some calcium phosphate cements from combination of α -TCP, MCPM and CaO. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 5, p. 160-63, 1994.
- BOHNER, M.; LEMAITRE, J.; RING, T.A. Effects of sulfate, pyrophosphate, and citrate ions on the physicochemical properties of cements made of α -tricalcium phosphatephosphoric acid-water mixtures. **J. Am. Ceram. Soc.**, Westerville, v. 79, no. 6, p. 1427-34, 1996.
- BONFIELD, W.; LI, C. H. The temperature dependence of the deformation of bone. **J. Biomechanics**, New York, v. 1, no. 4, p. 323-29, Dec. 1968.
- BRÅNEMARK, P. I. et al. Osseointegrated implants in Treatment of the Edentulous Jaw. Experience from a 10-year period. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery**. Gotemborg: The Almquist & Wiksell Periodical Company, 1977. Supplementum 16, 119 p.
- BROWN, W. E.; CHOW, L. C. A new calcium phosphate, water-setting cement. In: BROWN, P. W. (ed.) Cements Research Progress. **American Ceramic Society**, Westerville, OH, 1986. P. 351-79.
- BRUIJN, J. D.; BOVELL, Y. P.; BLITTERSWIJK, C. A. Osteoblast and osteoclast responses to calcium phosphates. **Bioceramics**, New York, v. 7, p. 293-8, 1994.
- BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. **Orthop. Clin. North. Am.**, Philadelphia, v. 18, p. 187-196, 1987.
- BURWELL R. G. Osteogenesis in cancellous bone grafts. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 40, p. 35-47, 1965.
- BURKITT, H. G.; YOUNG, B.; HEATH, J. W. **Wheater Histologia Funcional**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409p.
- CHALMERS, J.; GRAY, D. H.; RUSH, J. Observations of the induction of bone in soft tissues. **J. Bone Joint Surg. Br.**, London, v. 57, no. 1, no. 36-45, Feb. 1975.

¹ De acordo com a NBR6023, de agosto de 2002, e as abreviaturas dos títulos dos periódicos com o Medline.

CHAMPY, M et al. Osteosyntheses mandibulaires selon la technique de Michelet. I Bases Biomecaniques. **Rev. Stomatol.**, Paris, v. 3, p. 569, 1977.

CHOW, L. C. et al. Self-setting calcium phosphate cements. **Mater. Res. Soc. Symp. Proc.**, v. 179, p. 3-24, 1991.

CHRISTIAN, C. A. General Principles of Fracture Treatment. In: CANALE, S. T.; DAUGHERTY, K.; JONES, L. (Ed.). **Campbell's Operative Orthopaedics**. 9th ed. St. Louis: Mosby, 1996. V. 3, cap. 46, p. 1993-2041.

CONSTANTINO, P. D.; FRIEDMAN, C. D.; LANE, A. Synthetic biomaterials in facial plastic and reconstructive surgery. **Facial Plastic Surg.**, New York, v. 9, p. 1-15, 1993.

CORSETTI, A. et al. Esterilização de blocos de cimento de fosfato de cálcio utilizando três diferentes técnicas. **Rev. Bras. Cir. Bucomaxilofacial**. Em processo de publicação, 2005.

DACULSI, N. G. et al. Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 24, p. 379-396, 1990.

DAHLIN, C. Scientific Background of Guided Bone Regeneration. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. **Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry**, Chicago: Quintessence, 1994. Cap. 2, p. 31-48.

DAMIEN, C. J.; PARSONS, J. R. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. **J. Appl. Biomater.**, New York, v. 2, p. 187-208, 1991.

DENISSEN, H. W.; MAGANO, C.; VENINI, G. **Hydroxiapatite implants**. Pádua: Piccin, 1985. 168p.

DRIESSEN, F. C. M. et al. *In vivo* behaviour of three calcium phosphate cements and a magnesium phosphate cement. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 6, p. 272-8, 1995.

DRIESSEN, F. C. M. et al. Calcium phosphates and ceramic bone cements vs. acrylic cements. **Anal. Quim. Int. Ed.**, v. 93, p. 38-43, 1997.

EGGLI, P.S.; MULLER, W.; SCHENK, R. K. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 232, p. 127-38, 1988.

ELLIS III, E. Reconstrução cirúrgica dos defeitos da mandíbula. In: PETERSON, L. J. (Ed.) **Cirurgia oral e maxillofacial contemporânea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap. 27, p. 606-616.

ENLOW, D. H.; HANS, M. G. **Noções básicas sobre crescimento facial**. São Paulo: Liv. Santos, 1998. 304p.

FALLOPIUS, G. **Opera omnia Francofurti**. Wecheli A, v. 1, 1600.

FEINBERG, S. E.; VITT, M. Effect of Calcium Phosphate Ceramic Implants on Tooth Eruption. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 46, no. 2, p. 124-127, Feb. 1988.

FEINBERG, S. E.; STEINBERG, B.; HELMAN, J. I. Healing of Traumatic Injuries. In: FONSECA, R. J.; WALKER, R. V. (Ed.). **Oral and Maxillofacial Trauma**. Philadelphia: Saunders, 1991. V. 1, cap. 2, p. 13-57.

GARG, A. K. Grafting materials in repair and restoration. In: LINCH, S. E.; GENCO, R. J.; MARX, R. E. (Ed.) **Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics**. Chicago: Quintessence, 1999. Cap. 5, p. 83-101.

GOLDIM, J. R.; RAYMUNDO, M. M. **Pesquisa em animais**, 2003. Disponível em: <<http://www.bioetica.ufrgs.br/animrt.html>> Acesso em: 01 de julho de 2005.

GROOT, K. Calcium phosphate ceramics: their current status. In: Boretos, J. W., Eden, M. (ed.) **Contemporary biomaterials**. USA: Noyes Publications, 1984. P. 477-92.

GROTENDORST, G. R.; MARTIN, G. R. Cell movements in wound-healing and fibrosis. **Rheumatology**, Oxford, v. 10, p. 385-89, 1986.

GUIMARÃES, S. A. C. Processo de reparo. In:_____. **Patologia básica da cavidade bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 8, p. 282-315.

HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. *Biologia Clínica de Coelhos e Roedores*. 3 edição. Rocca, 1993.

HCPA - Implicações na Prática da Enfermagem. **Atualização em Centro de Material e Esterilização**, Porto Alegre. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. p. 61-80, 2002.

HENCH, L. L.; WILSON, J. Introduction to bioceramics. **Singapore: Word Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.**, Singapore, p. 1-15, 1993.

HOLLINGER, J. O. et al. Role of bone substitute. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 324, p. 55-66, 1996.

HONG, J. Y. et al. Osteoblastic cell response to thin film of poorly crystalline calcium phosphate apatite formed at low temperatures. **Biomaterials**, Liverpool, v. 24, p. 2977-2984, 2003.

HOUAISS, A. *Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa*. Rio de Janeiro: Objetiva LTDA., 2001. P. 1174.

HUPP, J. R. Reparação das feridas. In: PETERSON, L. J. *et al.* (Ed.). **Cirurgia oral e maxillofacial contemporânea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 4, p. 54-62.

ILANKOVAN, V. et al. A prospective study of trephined bone grafts of the tibial shaft and iliac crest. **British J. Oral Maxillo. Surg.**, London, v. 36, p. 434-439, 1998.

JACKSON, I. T. et al. Bone Marrow grafting in the secondary closure of alveolar palatal defects in children. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v. 34, p. 422-425, 1981.

JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. **Clin. Orthop. Rel Res.**, Philadelphia, v. 157, p. 259-78, 1981.

JARCHO, M. Biomaterial Aspects of Calcium Phosphates. Properties and Applications. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v. 30, no. 1, p. 25-47, Jan. 1986.

JOHNSON, B. W. HA – coated dental implants: long – term consequences. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 20, no. 6, p. 10, Sept. 1992.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido Ósseo. In: Junqueira, L. C., Carneiro, J. (ed.) **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.

KENNER, M. E. **Estudo microscópico do reparo ósseo em alvéolos de ratos irradiados com laser de Er:YAG**. 2003. 102f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas, Área de Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) - Faculdade de Odontologia de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

KENT, J. N. et al., Hydroxyapatite alveolar ridge reconstruction: clinical experience, complications and technical modifications. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 44, p. 37-49, 1986.

KERAWALA, C. J. et al. The effects of operator technique and bur design on temperature during osseous preparation for osteosynthesis self-tapping screws. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 88, no. 2, p. 145-150, Aug. 1999.

KESSEL, R. G. Tecido conjuntivo: Osso e Formação Óssea. In: Kessel, R. G. (ed.). **Histologia Médica Básica**. A Biologia das Células, Tecidos e Órgãos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. P. 129-146.

KNABE, C. et al. Evaluation of Calcium Phosphates and Experimental Calcium Phosphate Bone Cements using Osteogenic Cultures. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 52, p. 498-508, 2000.

KOSHINO, T.; KUBOTA, W.; MORII, T. Bone formation as a reaction to hydraulic hydroxyapatite thermal decomposition product used as bone cement in rabbits. **Biomaterials**, Oxford, v. 16, p. 125-128, 1996.

KURASHINA, K. et al. Calcium phosphate cement: *in vitro* and *in vivo* studies of α -tricalcium phosphate-dicalcium phosphate dibasic-tetracalcium phosphate monoxide system. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 6, p. 340-347, 1995.

KURASHINA, K. et al. *In vivo* study of calcium phosphate cements: implantation of an α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste. **Biomaterials**, Oxford, v. 18, p. 539-543, 1997.

KURASHINA, K. et al. *In vivo* study of calcium phosphate cement consisting of α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide. **Biomaterials**, Oxford, v. 18, p. 147-152, 1997.

KURASHINA, K. et al. Experimental cranioplasty and skeletal augmentation using α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement: a preliminary short-term experiment in rabbits. **Biomaterials**, Oxford, v. 19, p. 701-706, 1998.

LANE, J. M.; HARVINDER, S. S.; SANDHU, H. S. Current approaches to experimental bone grafting. **Orthop. Clin. North. Am.**, Philadelphia, v. 18, p. 213-225, 1987.

LeGEROS, R. Z.; LeGEROS, J. P. Calcium phosphate biomaterials in medical application. **Bioceramics**, New York, v. 9, p. 7-10, 1996.

LEMAITRE, J.; MIRTCHI, A.; MORTIER, A. Calcium phosphate cement for medical use: state of the art and perspectives of development. **Sil. Ind. Ceram. Sci. Technol.**, v. 52, p. 141-146, 1987.

LEMAITRE, J.; MUNTING, E.; MIRTCHI, A. Setting, hardening and resorption of calcium phosphate hydraulic cements. **Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.**, Paris, v. 93, no. 3, p. 163-165, 1992.

LEMONS, J.; NATIELLA, J. Biomaterials, Biocompatibility, and Peri-Implant Considerations. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v. 30, no. 1, p. 3-23, Jan. 1986.

LEMPERLE, G.; HAZAN-GAUTHIER, N.; LEMPERLE, M. PMMA microspheres (Artecoll) for Long-Lasting Correction of Wrinkles: Refinements and Statistical Results. **Aesth. Plast. Surg.**, New York, v. 22, p. 356-365, 1998.

LEONEL, E. C. F. et al. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea – Estudo em ratos. **Cienc. Odontol. Bras.**, São Paulo, v. 6, n. 3, p. 19-24, jul/set. 2003.

MARTINS, G. L. **Estudo microscópico do reparo ósseo na mandíbula de ratos submetida a ostectomias a fresa cirúrgica e laser de Er:YAG**. 2001. 137f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas, Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) - Faculdade de Odontologia de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARX, R. E.; SAUNDERS, T. R. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: FONSECA, R. J.; DAVIS, W. H. **Reconst. Preprost. Oral and Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, Saunders, 1986. P. 347-428.

MASTERS, D. H. Implants. Bone and bone substitutes. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 16, no. 1, p. 56-65, 1988.

MATSON, E. Biomateriais. In: SERSON, D. **Implantes orais: teoria e prática**, São Paulo: Artes Médicas, 1985. P. 50-54.

MATSUMOTO, H. et al. Pulsed electromagnetic fields promote bone formation around dental implants inserted into the femur of rabbits. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 11, no. 4, p. 354-360, Aug. 2000.

MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J.; MUNTING, E. Calcium phosphate cements: study of the β -tricalcium phosphate-dicalcium phosphate-calcite cements. **Biomaterials**, Oxford, v. 11, p. 83-88, 1990.

MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J.; MUNTING, E. Calcium phosphate cements: effect of fluorides on the setting and hardening of β -tricalcium phosphate-dicalcium phosphate-calcite cements. **Biomaterials**, Oxford, v. 12, p. 505-510, 1991.

MIYAMOTO, Y. et al. Non-decay type fast-setting calcium phosphate cement: setting behaviour in calf serum and its tissue response. **Biomaterials**, Oxford, v. 17, p. 1429-1435, 1996.

MORAES, P. C. et al. Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no rádio de coelhos. **Acta Cir. Bras.**, v. 19, n. 4, jul/aug. 2004.

MUNTING, E.; MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J. Bone repair of defects filled with α -phosphocalcic hydraulic cement: an in vivo study. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 4, p. 337-344, 1993.

NISHIMURA, N. et al. A new bioactive bone cement: its histological and mechanical characterization. **J. Appl. Biomater.**, New York, v. 2, p. 219-229, 1991.

OONISHI, H. et al. Comparative bone formation in several kinds of bioceramic granules. **Bioceramics**, New York, v. 8, p. 137-144, 1995.

OSBORN, J. F. The biological profile of hydroxyapatite ceramic with respect to the cellular dynamics of animal and human soft tissue and mineralized tissue under unloaded and loaded conditions. In: Barbosa, M. A. (ed.) **Biomaterials degradation**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 185-225.

PARIS, M. F. **Reconstrução de osso alveolar, em área dentada, com uso de hidroxiapatita: estudo experimental em ratos *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar**. 2002. 124f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre, Porto Alegre.

PARKER, R. B. Injertos ósseos en cirurgia de pequenos animais. **Waltam Focus**, v. 5, n. 2, p. 90-99, 1995.

PASQUIER, G. et al. Injectable percutaneous bone biomaterials. An experimental study in a rabbit model. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 7, p. 683-690, 1996.

PASQUIER, G. et al. Experimental evaluation of percutaneous injectable biomaterial used in ratio- interventional bone filling procedures. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 9, p. 333-336, 1998.

PRITCHARD, J. J. Bone Healing. **Sci. Basis Med. Annu. Rev.**, London, p. 286-301, 1963.

PURICELLI, E. Osteossíntese sem Fixação Intermaxilar. **Rev. Gaúcha de Odontol.**, v. 29, n. 2, p. 118-121, abr/jun. 1981.

PURICELLI, E.; CHEM, R. C. Reconstrução de mandíbula com fíbula. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 33, n. 2, p. 124-127, 1985.

PURICELLI, E. Procedimentos Cirúrgicos em Prótese Fixa. In.: MEZZOMO, E. **Reabilitação Oral para o Clínico**, São Paulo: Santos, 1994. Cap. 7, p. 213-228.

PURICELLI, E. Retenção Dentária: Novos Conceitos no Tratamento Ortocirúrgico. In: GONÇALVES, E. A. N.; FELLER, C. **Atualização na Clínica Odontológica: A Prática da Clínica Geral**, São Paulo: Artes Médicas, 1998. Cap. 1, p. 3-28.

PURICELLI, E. Primeiro Molar Permanente: desafio cirúrgico para soluções não radicais. In: PURICELLI, E. (Coord.). **Primeiro molar permanente: uma biografia da Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, 1998. Cap. 24, p. 117-125.

PURICELLI, E. et al. Estudo histológico do polímero poliuretano da mamona implantado no ângulo mandibular de ratos. **R. Fac. Odontol. UFRGS**, Porto Alegre, v. 40, n. 1, p. 38-41, set. 1999.

PURICELLI, E. Avaliação histológica de implantes de hidroxiapatita em defeito ósseo alveolar dentado em humano: relato de caso. **R. Fac. Odontol. UFRGS**, Porto Alegre, v. 43, n. 1, p. 34-36, 2002.

PURICELLI, E.; BARALDI, C. E.; CARDOSO, C. F. R. Princípios cirúrgicos para enxertos ósseos nas reconstruções alveolares. **22° CIOSP – Congresso Internacional de São Paulo**, São Paulo, 2004. Cap. 2, p. 13-35.

PURICELLI, E.; BARALDI, C. E.; PARIS, M. F. Reconstruções ósseas alveolares. **23° CIOSP – Congresso Internacional de São Paulo**, livro virtual, cap. XX, 20 p., 2005.

RAHAL, S. C. et al. Densitometria óptica radiográfica na avaliação do hiperparatireoidismo secundário nutricional induzido em gatos jovens. **Ciênc. Rural**, v. 32, n. 3, p. 421-425, 2002.

RAMIRES, F. B. **Avaliação histológica da regeneração óssea guiada em ratos após enxerto ósseo autógeno e implante de membrana reabsorvível**. 2001. 113f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas, Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) - Faculdade de Odontologia de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RASMUSSEN, I. **On implant integration in membrane-induced and grafted bone**. 1998. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Institute for Surgical Sciences, Goteborg University, Goteborg.

RAVAGLIOLI, A.; KRAJEWSKI, A. **Bioceramics: materials, properties, applications**. New York: Chapman & Hall, 1992.

RICCI, J. L. et al. Evolution of a Low-Temperature Calcium Phosphate Particulate Implant Material: Physical-Chemical Properties and In Vivo Bone Response. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 50, no. 9, p. 969-978, Sept. 1992.

ROBERTS, W. E.; GARETTO, L. P.; DECASTRO, R. A. Remodeling of Devitalized Bone Threatens Periosteal Margin Integrity of Endosseous Titanium Implants with Threaded or Smooth Surfaces: Indications for Provisional Loading and Axially Direct Occlusion. **Journal of Indiana Dental Association**, Indianapolis, v. 68, no. 4, p. 19-24, Jul/Ago. 1989.

ROSEN, H. M. Porous, block hydroxyapatite as an interpositional bone graft substitute in orthognathic surgery. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v. 83, p. 985-990, 1989.

ROSS, M. H.; REITH, E. J., ROMRELL, L. J. Osso. In: Ross, M. H., Reith, E. J., Romrell, L. J. (ed.). **Histologia: texto e atlas**. São Paulo: Panamericana, 1993. P. 141-160.

SALTHOUSE, T. N.; MATLAGA, B. F. Some cellular effects related to implant shape and surface. In: **Biomaterials in Reconstructive Surgery**, St. Louis: Ed. The C. V. Mosby Company, 1983.

SANTOS, L. A. **Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica**. 2002. 247f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Mecânica de Campinas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SANAN, A.; HAINES, S. J. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. **Neurosurgery**, v. 40, no. 3, p. 588-603, 1997.

SCHAWN, L.; SOUZA, A. C. A. Imobilização e osteoporose. In: Jeckel-Neto EA, Cruz IBMd (ed.). **Aspectos biológicos e geriátricos do envelhecimento II**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2000. P. 253-274.

SCHENK, R. K. et al. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 9, no. 1, p. 13-29, Jan./Feb. 1994.

SCHENK, R. K. Regeneração óssea: bases biológicas. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. **Regeneração óssea guiada na Implantodontia**, Chicago: Quintessence books, 1996. Cap. 3, p. 49-100.

SCHILLING, T. et al. Influence of inflammation-mediated osteopenia in the regional acceleratory phenomenon and the systemic acceleratory phenomenon during healing of a bone defect in the rat. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 63, no. 7, p. 160-166, Aug. 1998.

SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical Size Defect as an Experimental Model for Craniomandibulofacial Nonunions. **Clin. Orthop. Res.**, Philadelphia, v. 205, p. 299-307, Apr. 1986.

SHAFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, B. M. Cicatrização das feridas bucais. In: _____. **Tratado de patologia bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. Cap. 11, p. 549-567.

SHAPIRO, F. Cortical bone repair. The relationship of the lacunar-canalicular system and intercellular gap junctions to the repair process. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Needham, v. 70, no. 7, p. 1067- 1089, Aug. 1988.

SHINDO, M. L. et al. Facial skeletal augmentation using hydroxyapatite cement. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Chicago, v. 119, p. 185-190, 1993.

SICCA, C. M. et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. **Rev. Fac. Odontol Bauru**, v. 8, n. 1/2, p. 1-10, jan./jun. 2000.

SIEGEL, S. **Estatística Não-paramétrica para as Ciências do Comportamento**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1975.

SIQUEIRA Jr., J. F.; DANTAS, C. J. S. Reparação tecidual: aspectos biodinâmicos. In:_____. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação**. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. Cap. 17, p. 197-225.

ST. JOHN, K. R. et al. Histological and electron microscopic analysis of tissue response to synthetic composite bone graft in the canine. **J. Appl. Biomater.**, New York, v. 6, p. 89-97, 1995.

STEVENSON, S.; EMERY, S. E.; GOLDBERG, V. M. Factors affecting bone graft incorporation. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 324, p. 66-73, 1996.

TENHUISEN, K.S.; BROWN, P. W. Variation in solution chemistry during calcium-deficient and stoichiometric hydroxyapatite formation from $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 36, p. 233-241, 1997.

TIO, F. O. et al. Osteogenesis in Replamineform Hydroxyapatite Porous (RHAP) Ceramics Implants Used for Human Mandibular Ridge Augmentation: Report of Two Cases. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 45, no. 2, p. 188-194, Feb. 1987.

TOQUET, J. et al. Osteogenic potencial *in vitro* of human bone marrow cells cultured on Macroporous biphasic calcium phosphate ceramic. **J. Biomed. Mat. Res.**, New York, v. 44, no. 1, p. 98-108, Jan. 1999.

TRIPLETT, R. G. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge with autogenous bone before inserction of implants. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 54, no. 10, p. 1185-1186, 1996.

ULBRICH, L. M. **Avaliação do efeito de um campo magnético permanente na cicatrização óssea em fêmures de ratos**. 2003. 95f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas, Área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) - Faculdade de Odontologia de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, Washington, v. 150, no. 3698, p. 893-899, Nov. 1965.

URIST, M. R.; DELANDE, R. J.; FINERMANN, G. A. M. Bone cell differentiation and growth factors. **Science**, Washington, v. 220, no. 4598, p. 680-686, May. 1983.

VEECK, E. B. **Análise do comportamento do osso e medulla hematopoiética em relação a implante de titânio e hidroxiapatita: estudo experimental em fêmur de rato.** 1994. 125f. Tese (Doutorado em Estomatologia Clínica) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WHITESIDE, L. A.; LESKER, P. A. The effects of extraperiosteal and subperiosteal dissection on fracture healing. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Needham, v. 60, no. 1, p. 26-30, Jan. 1978.

WHITSON, S. W. Osso. In: TEN CATE, A. R. **Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 7, p. 101-122.

WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials. **Progress in Biomedical Engineering**, Guildford, v. 4, 1987.

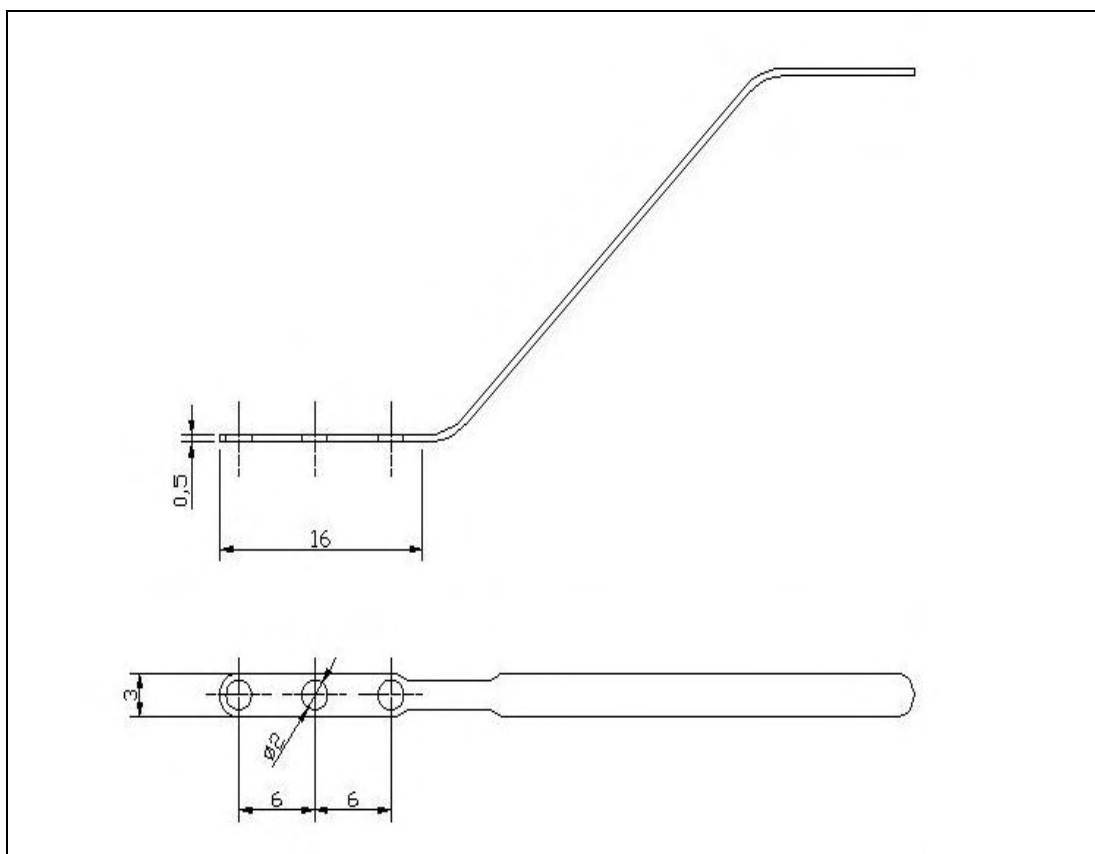
YAMADA, S. et al. Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramics with different hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ratios. **Biomaterials**, Oxford, v. 18, p. 1037-1041, 1997.

YUAN, H. et al. Tissue responses of calcium phosphate cement: a study in dogs. **Biomaterials**, Oxford, v. 21, p. 1283-1290, 2000.

YUKNA, R. A.; YUKNA, C. N.; MAYER, E. T. HTR Polymer Grafts in Human Molar Furcations After Five Years. **Journal Dental Research**, Orlando, v. 76 (Special Issue 3430), p. 442, Mar. 1997.

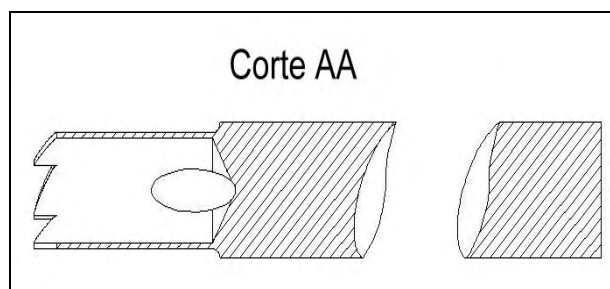
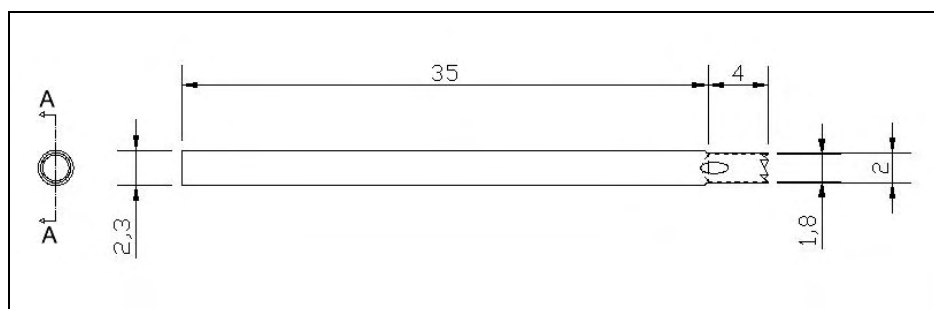
ANEXOS

Anexo A:

**Promm**

Nome da peça: Guia
Material: Titânio - 2004
Dimensões em mm
Telefone: (051) 3342-3136

Anexo B:



Promm

Nome da peça: Trefina
Material: Titânio - 2004
Dimensões em mm
Telefone: (051) 3342-3136

Anexo C:

Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA
Resolução Normativa 04/97

A Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde credenciada, junto a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde, como Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), vinculada ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o objetivo de estabelecer normas para a utilização de animais em projetos de pesquisa submetidos à apreciação desta Comissão, com base nos princípios e normas internacionalmente aceitas, dispõe que:

- a) a utilização de animais em pesquisas científicas deve ocorrer somente após ser provada a sua relevância para o avanço do conhecimento científico, considerando-se a impossibilidade de utilização de métodos alternativos como: modelos matemáticos; simulações computadorizadas; sistemas biológicos “*in vitro*” ou outro método adequado;
- b) a espécie utilizada e o cálculo do tamanho da amostra devem ser adequados para a obtenção de resultados válidos;
- c) deve ser oferecido alojamento, transporte, alimentação e cuidados adequados à espécie através de assistência qualificada;
- d) procedimentos que possam causar dor ou angústia devem ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia, salvo quando forem os mesmos o objetivo da pesquisa. Devem ser, igualmente, observados cuidados com assepsia e prevenção de infecções, assim como cuidados para minimizar o desconforto e estresse dos animais em estudo;
- e) necessitando de imobilização física e/ou de privação alimentar ou hídrica, os pesquisadores devem procurar manter estas condições pelo menor período de tempo possível, evitando prolongar a angústia, desconforto e dor;
- f) quando for necessário ao estudo, ou após o mesmo, se indicado, que os animais devam ser sacrificados, este procedimento deve ser realizado de forma rápida indolor e irreversível;
- g) as técnicas aceitas para o sacrifício de animais são as seguintes: hipoxia por barbitúricos, anestésicos inalatórios, dióxido de carbono e monóxido de carbono (engarrafado), metanesulfonato de tricaina, benzocaína e irradiação por microondas;
- h) as técnicas aceitas, de forma condicional, são as seguintes: hipoxia por deslocamento cervical, por nitrogênio ou argônio, decapitação, concussão cerebral e dano medular;

i) não serão aceitas, salvo exceções extremamente justificadas, as seguintes técnicas de sacrifício de animais: sangramento, descompressão, congelamento rápido, embolismo gasoso, afogamento, atordoamento, uso isolado de estriquinina, nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio, agentes curariformes, clorofórmio e cianeto.

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. Resolução Normativa 04/97 - Utilização de Recursos Financeiros em Projetos de Pesquisa. Aprovada na reunião conjunta das Comissões Científica e de Pesquisa e Ética em Saúde de 08 de maio de 1997.

Anexo D:

Código Estadual de Proteção aos Animais

**Lei Estadual Nº 11.915
21 de maio de 2003
Rio Grande do Sul**

Art. 17 - VETADO

**TÍTULO II
CAPÍTULO I
Dos Animais de Laboratório**

**Seção I
Da Vivissecção**

Art. 18 - Considera-se vivissecção os experimentos realizados com animais vivos em centros de pesquisas.

Art. 19 - Os centros de pesquisas deverão ser devidamente registrados no órgão competente e supervisionados por profissionais de nível superior, nas áreas afins.

Art. 20 - É proibida a prática de vivissecção sem uso de anestésico, bem como a sua realização em estabelecimentos escolares de ensino fundamental e médio.

Parágrafo único - Os relaxantes musculares parciais ou totais não serão considerados anestésicos.

Art. 21 - Com relação ao experimento de vivissecção é proibido:

I - realizar experiências com fins comerciais, de propaganda armamentista e outros que não sejam de cunho científico humanitário;

II - utilizar animal já submetido a outro experimento ou realizar experiência prolongada com o mesmo animal.

Art. 22 - Nos locais onde está autorizada a vivissecção, deverá constituir-se uma comissão de ética, composta por, no mínimo, 03 (três) membros, sendo:

I - um (01) representante da entidade autorizada;

II - um (01) veterinário ou responsável;

III - um (01) representante da sociedade protetora de animais.

Art. 23 - Compete à comissão de ética fiscalizar:

I - a habilitação e a capacidade do pessoal encarregado de prestar assistência aos animais;

II - verificar se estão sendo adotados os procedimentos para prevenir dor e o sofrimento do animal, tais como aplicação de anestésico ou analgésico;

III - denunciar ao órgão competente qualquer desobediência a esta Lei.

Art. 24 - Todos os centros de pesquisas deverão possuir os recursos humanos e materiais necessários a fim de zelar pela saúde e bem-estar dos animais.

Seção II

Das Disposições Finais

Art. 25 - As penalidades e multas referentes às infrações definidas nesta Lei serão estabelecidas pelo Poder Executivo, em espécie.

Art. 26 - O Poder Executivo definirá o órgão estadual encarregado de fiscalizar o cumprimento das disposições desta Lei.

Art. 27 - O Poder Executivo regulamentará esta Lei no prazo de 30 (trinta) dias da data de sua publicação.

Art. 28 - Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 29 - Revogam-se as disposições em contrário.

PALÁCIO PIRATINI, em Porto Alegre, 21 de maio de 2003.

Anexo E:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**RESOLUÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

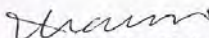
Número: 35/04

Título do projeto: AVALIAÇÃO DO REPARO ÓSSEO EM FÊMURES DE RATOS APÓS IMPLANTE EM BLOCOS DE CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO E ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO

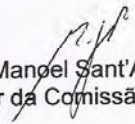
Investigador(es) principal(ais): Profa. Dra. Edela Puricelli, Adriana Corsetti

O mesmo foi aprovado na reunião do dia 15/06/2004, ata nº 07/04 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente, e de acordo com as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme a Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde GPPG/HCPA.

Porto Alegre, 15 de junho de 2004.


Profa. Marisa Maltz

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa


Prof. Manoel Sant'Ana Filho
Coordenador da Comissão de Pesquisas