

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

**IMPLANTE DE UM FLOCULADO DE RESINA DERIVADA DO ÓLEO
DE MAMONA (*Ricinus communis*) EM ALVÉOLO DE RATOS
IMEDIATAMENTE APÓS A EXTRAÇÃO DENTAL.
AVALIAÇÕES HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA DA
BIOCOMPATIBILIDADE E DA CRONOLOGIA DO REPARO ÓSSEO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia - Área de concentração em Reabilitação Oral

Aluno: Romeu Felipe Elias Calixto

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Teresa L. Lamano Carvalho

RIBEIRÃO PRETO

2001

Calixto, Romeu Felipe Elias

Implante de um floculado de resina derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*) em alvéolo de rato imediatamente após a extração dental. Avaliações histológica e histométrica da biocompatibilidade e da cronologia do reparo ósseo.

Ribeirão Preto, 2001.

90 p. : il. ; 30cm

Tese de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Lamano Carvalho, Teresa Lúcia.

Sumário

	Pág.
1. Introdução.....	01
2. Revisão da Literatura.....	04
2.1. Enxertos Autógenos	
2.2. Enxertos Homógenos e Heterógenos	
2.3. Enxertos Aloplásticos	
3. Proposição.....	16
4. Material e Métodos.....	18
4.1. Tratamento dos Animais	
4.2. Extração Dental e Implante	
4.3. Sacrifícios, Coleta e Processamento das Hermimaxilas Direitas	
4.4. Análise Histométrica do Alvéolo Dental	
4.5. Análise Estatística	
5. Resultados.....	22
5.1. Exame Histológico: Controles	
5.2. Exame Histológico: Implantados	
5.3. Análise Histométrica: Controles x Implantados	
6. Discussão.....	37
6.1. Cronologia do Reparo Alveolar	
6.2. Biocompatibilidade do Material	
7. Resumo e Conclusões.....	56
8. Summary.....	60
9. Referências Bibliográficas.....	63
10. Apêndice.....	76

1 . INTRODUÇÃO

Alguns problemas de difícil solução, na Medicina e na Odontologia, incluem as falhas ósseas de grandes dimensões provocadas por processos infecciosos, por fraturas, por ressecções neoplásicas ou decorrentes de malformações congênitas, que deixadas ao seu livre curso não lograriam regenerar-se ou o fariam muito lentamente e de forma incompleta. Situações desta natureza se beneficiam do uso de biomateriais para reconstrução, substituição ou preenchimento dos defeitos ósseos. Um exemplo relativamente freqüente da indicação de uso de biomaterial na área odontológica seriam as extrações dentais, que podem resultar na reabsorção do osso alveolar e retração dos tecidos moles, acarretando uma prótese final insatisfatória, passível de comprometer a função mastigatória e a estética. Este resultado indesejável pode ser evitado pela utilização do enxerto intra-alveolar de um biomaterial para preenchimento da cavidade de extração dental, visando manter as dimensões do rebordo alveolar (CHRISTENSEN, 1996).

Os resultados mais previsíveis para substituição, reconstrução ou preenchimento de falhas ósseas ainda são obtidos com a utilização dos enxertos ósseos. Os enxertos ósseos autógenos, no entanto, tem o inconveniente da morbidade cirúrgica da fonte doadora, além da disponibilidade limitada de material. Os enxertos homogêneos e heterogêneos, por sua vez, apesar de grandemente diminuídos os riscos de transmissão de infecção e de ativação do sistema imunológico do hospedeiro pelos processos de liofilização e congelamento, ainda apresentam a desvantagem dos altos custos dos bancos de ossos.

Em vista disso, tem-se intensificado as pesquisas visando o desenvolvimento de materiais aloplásticos que apresentem as características adequadas de biocompatibilidade e osseointegração, e que superem as desvantagens da utilização dos enxertos ósseos. No entanto, apesar dos inegáveis avanços na área dos biomateriais, reconstituir a função e a estética do sistema estomatognático continua um desafio para cientistas e cirurgiões.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O termo **biomaterial** pode ser definido como uma substância ou combinação de duas ou mais substâncias farmacologicamente inertes, de natureza sintética ou natural, que são utilizadas para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou integralmente, tecidos e órgãos (WILLIAMS, 1987). Nas clínicas médica e odontológica tem-se utilizado uma grande diversidade de biomateriais, cada um deles apresentando características químicas e físicas mais adequadas para necessidades específicas.

Tomando como referência a origem do biomaterial, os enxertos podem ser classificados como autógeno (ou autólogo - material orgânico obtido e empregado no mesmo indivíduo), homogêneo (também denominado alógeno ou homólogo - material orgânico obtido de um outro indivíduo da mesma espécie), heterogêneo (também denominado xenógeno ou heterólogo - material orgânico obtido de indivíduo de espécie diferente) e aloplástico (materiais sintéticos ou orgânicos modificados em laboratório) (MELLONIG, 1998).

2.1. Enxertos Autógenos

Os resultados mais previsíveis para substituição, reconstrução ou preenchimento de falhas ósseas ainda são obtidos com a utilização dos enxertos ósseos autógenos, especialmente de osso esponjoso que, além de fornecer fatores de indução óssea, possuem uma estrutura porosa que favorece o crescimento fibro-vascular e osteogênico em seu

interior. No entanto, este tipo de enxerto tem a inconveniência da morbidade cirúrgica da fonte doadora, além da disponibilidade limitada de material. Na prática odontológica, os enxertos ósseos autógenos podem ter origem extra-bucal, sendo a fonte doadora mais comum a crista anterior do osso ilíaco, embora sejam utilizadas também porções de costela, da calota craniana e da tíbia, entre outros (SCHALLHORN, 1972). Os enxertos de origem intra-bucal são originários geralmente da tuberosidade maxilar, dos alvéolos e de cavidades ósseas em cicatrização, dos ramos ascendentes do processo coronóide da mandíbula e da sínfise mentoniana (STAHL e cols., 1983).

2.2. Enxertos Homógenos e Heterógenos

Os enxertos ósseos homógenos, assim como os heterógenos, são uma opção viável porém, em que pese a marcante diminuição dos riscos da transmissão de infecção e de ativação do sistema imunológico do hospedeiro pelos processos de liofilização e congelamento (QUATTELBAUM e cols., 1988), existe o inconveniente dos altos custos dos bancos de ossos. Para enxertos heterógenos tem-se utilizado principalmente ossos de origem bovina, que parecem desenvolver alto grau de integração com o tecido ósseo hospedeiro (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998). O material para enxertos homogêneo ou heterogêneo pode constar de fragmento ósseo não-descalcificado ou descalcificado e liofilizado (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993). Enquanto o primeiro funciona apenas como uma superfície para crescimento do osso novo reparacional (material

osteocondutor), o osso descalcificado induz a diferenciação de células mesenquimais do hospedeiro em osteoblastos, estimulando a neoformação óssea (material osteoindutor). A indução óssea torna-se possível porque a desmineralização expõe as proteínas indutoras (proteínas morfogenéticas do osso) presentes na matriz orgânica do tecido ósseo (GOLDBERG & STEVENSON, 1987).

Proteínas Morfogenéticas do Osso

A matriz colagenosa do osso é rica em fatores de crescimento, incorporados a ela durante o processo de formação óssea. Vários estudos tem-se direcionado aos fatores de crescimento derivados do osso, principalmente a um grupo de proteínas com potencial de indução óssea, as proteínas morfogenéticas do osso (*bone morphogenetic proteins - BMPs*). As BMPs, liberadas da matriz durante a reabsorção óssea osteoclástica, induzem a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas, presentes na região medular e nos tecidos moles adjacentes, em osteoblastos, estimulando desta forma a formação de osso nos processos de remodelação e reparo (MANOLAGAS & JILKA, 1995)

Os experimentos para identificação e purificação das BMPs começou quando URIST (1965) induziu neoformação de cartilagem e osso em sítios ectópicos, implantando fragmentos de osso desmineralizado no interior de tecidos muscular e subcutâneo de camundongos. Sabe-se, hoje, que o potencial osteogênico e dentinogênico das matrizes óssea e dentinária

deve-se à presença de BMPs, que são sintetizadas e secretadas pelos osteoblastos e odontoblastos. Na última década, por meio de técnicas moleculares, evidenciou-se uma família de BMPs estruturalmente relacionadas (são 9 proteínas com capacidade de indução óssea ectópica), encontradas em humanos e em diferentes espécies animais (GONÇALVES e cols., 1998 para referências).

A ação das BMPs sobre células mesenquimais indiferenciadas consiste de quimiotaxia (promovendo migração de células mesenquimais indiferenciadas e monócitos para o local do implante), estímulo à proliferação celular e diferenciação em condroblastos e osteoblastos, à síntese dos componentes da matriz, à maturação, mineralização e finalmente remodelação, resultando na formação de um ossículo (KIRKER-HEAD, 1995).

O uso de BMPs para a indução da osteogênese em procedimentos reconstrutores representa uma alternativa para os enxertos ósseos. No entanto, a dificuldade para sua utilização clínica está no fato de que, por serem solúveis em água e rapidamente difusíveis, elas devem estar associadas a um carreador. Um pretense carreador de BMPs deve ser biocompatível e insolúvel no meio tissular, deve ser imunologicamente inerte e proteger as BMPs contra atividades proteolíticas, deve ser biodegradável num ritmo compatível ao da neoformação óssea, mecanicamente estável e permitir a liberação lenta das BMPs por meio de degradação biológica controlada (GONÇALVES e cols., 1998).

Numerosas pesquisas tem-se voltado para o desenvolvimento de substratos carreadores que permitam o uso clínico de BMPs com atividade osteoindutora intacta. Entre os biomateriais testados estão os vários componentes da matriz extracelular, isolados ou combinados (colágeno, fibronectina, glicosaminoglicanas), e também materiais sintéticos como a hidroxiapatita e o fosfato de cálcio (RUTHERFORD e cols., 1994).

2.3. Enxertos Aloplásticos

Os materiais aloplásticos mais comumente utilizados nas cirurgias médica e odontológica são os metais ou ligas metálicas (titânio, titânio-alumínio-vanádio, cobalto-cromo-molibdênio, ferro-cromo-níquel), as cerâmicas (hidroxiapatita, fosfato tricálcio, aluminatos de cálcio), os polímeros (silicones, poliamida, ácido polilático, ácido glicólico, polipropileno, polietileno, polimetilmetacrilato, politetrafluoretileno, poliuretanas), os compósitos (cerâmicas de vidro, cimentos de ionômero de vidro) e, mais recentemente, os vidros bioativos.

Numerosos trabalhos foram desenvolvidos para avaliar histológica, histométrica e radiograficamente a biocompatibilidade e o sucesso dos **implantes metálicos** intraósseos, principalmente de titânio, em humanos e em diferentes espécies animais, em diferentes situações experimentais e em localizações diversas (PARR e cols., 1993 para referências). Atualmente, os metais tem sido utilizados principalmente na forma de pinos, parafusos, placas e malhas para fixação de fraturas ósseas

e de elementos dentais. O uso de implantes metálicos para substituição ou reconstrução de osso está em desuso pois as cerâmicas, polímeros, compósitos e vidros bioativos tem se mostrado mais adequados para estas finalidades.

As **cerâmicas de fosfato de cálcio** tem sido largamente utilizadas por sua presumível capacidade de ligar-se quimicamente ao osso - na superfície do implante formam-se micro-cristais de CO_3 -apatita semelhante à apatita óssea, o que deve favorecer a aposição direta de tecido ósseo (osseointegração). Além disso, elas apresentam porosidades que permitem o crescimento fibro-vascular e ósseo para seu interior (osteocondução) e, conseqüentemente, a fixação do material ao tecido ósseo. As cerâmicas de fosfato de cálcio mais freqüentemente utilizadas são a hidroxiapatita e o fosfato tricálcio, nas formas densa (microporosa) e macroporosa, indicadas para preenchimento de defeitos ósseos, aumento do rebordo alveolar e cobertura de implantes metálicos (*plasma-sprayed coating*) (DENISSEN e cols., 1980; TRACY & DOREMUS, 1984; DE LANGE e cols., 1990; JARCHO, 1992; MATSUI e cols., 1994; OGUCHI e cols., 1995). Apesar de as cerâmicas de fosfato de cálcio apresentarem maior biocompatibilidade que materiais inertes como o titânio, sendo portanto mais desejáveis para implantes intra-ósseos (BLOCK e cols., 1987), elas têm a desvantagem de serem quebradiças, apresentando baixa resistência ao impacto. A avaliação do sucesso do uso desses materiais em diferentes situações clínicas tem mostrado resultados conflitantes (BLOCK & KENT, 1986; De WIJS e cols., 1993). Na opinião de alguns autores, o

implante de cerâmicas de fosfato de cálcio em sítios de extração dental não resultaria em qualquer benefício, por não promover a restauração das estruturas originais no local mas apenas a manutenção da altura do rebordo alveolar em razão da presença do próprio implante e não pela presença de osso (BLOCK & KENT, 1986).

Dentre os compósitos, os **cimentos de ionômero de vidro** são materiais originalmente desenvolvidos para a restauração de tecidos dentais (Mc LEAN, 1988). Relatos recentes, no entanto, sugerem que esses materiais possam ter uma aplicação mais ampla na Odontologia e Ortopedia como substitutos ósseos em cirurgias maxilofaciais (SALATA e cols., 1999) e como materiais de interface na substituição de juntas (JONK & GRABELAAR, 1990; BROOK e cols., 1992; SASANALUCKIT e cols., 1993), em face de suas propriedades mecânicas e físicas e também de sua suposta capacidade osteogênica. Há, no entanto, uma gama de cimentos de ionômero de vidro com propriedades físicas e biológicas diferentes, dependendo de sua composição. Parece que a resposta biológica favorável relatada para certos cimentos está associada à liberação de fosfato de cálcio, de pequenas quantidades de flúor e/ou da cristalização da fase de vidro em apatita durante a produção do ionômero, conferindo ao cimento potencial osteogênico (WILSON & Mc LEAN, 1989; WOOD & HILL, 1991; SASANALUCKIT e cols., 1993). Estudos realizados em nosso laboratório mostraram a biocompatibilidade e o potencial osteogênico de grânulos de cimento de ionômero de vidro tipo III (indicado como material restaurador e para selamento de fissuras) implantados imediatamente após a extração

dental, em ratos (BRENTGANI e cols., 1997). Existe atualmente, no mercado, uma variante de cimento de ionômero de vidro em forma particulada (Ionogran[®], Germany) para utilização como substituto ósseo (SALATA e cols., 1999).

Os **vidros bioativos** são compostos à base de fosfato de cálcio e sílica, numa formulação que favorece a neoformação óssea em sua superfície e o estabelecimento de uma interface direta com o tecido ósseo (osseointegração). Na superfície do material forma-se uma camada rica em sílica e, mais externamente, uma camada amorfa de fosfato de cálcio, sendo que a parte central sofre degradação desenvolvendo uma área passível de preenchimento por tecido ósseo (SHAPOFF e cols., 1997; FURUSAWA e cols., 1998). Embora a quantidade de estudos com estes materiais ainda seja pequena, eles tem-se mostrado promissores como material de preenchimento de falhas ósseas, por serem reabsorvidos mais rapidamente e resultarem em maior formação óssea comparativamente às cerâmicas de fosfato de cálcio (FROUM e cols., 1998).

Diferentes **polímeros**, sintéticos ou naturais, tem sido empregados na medicina e odontologia na forma de fibras, hastes, parafusos, placas, grampos, material de sutura, em próteses ortopédicas e na reconstrução maxilofacial. Os polímeros de poliuretano emergiram como materiais de implante devido a suas propriedades mecânicas, estabilidade química e natureza biocompatível (HENNING e cols., 1989; SCHIMITT-FOURNIER e cols., 1989; OTA, 1989; BAKKER e cols., 1990). Relatos recentes mostram resultados promissores de uma resina poliuretana de

origem vegetal, derivada do óleo de mamona, testada como matriz para reposição de tecido ósseo e de juntas, com ampla possibilidade de aplicação em ortopedia e cirurgia plástica (IGNÁCIO, 1995; OHARA e cols., 1995; SOUZA & LEITE, 1995; VILARINHO & HETEM, 1996; COSTA e cols., 1997; MAGRO-FILHO e cols., 1998).

Resina Poliuretana Derivada do Óleo da Mamona

As resinas poliuretanas são formadas por cadeias de polímeros de uretana originadas da reação química entre um grupo isocianato e um grupo hidroxila; a reação de um composto com dois ou mais isocianatos e um polioliol configura a polimerização das poliuretanas. As poliuretanas de origem vegetal são produtos de polióis e pré-polímeros sintetizados a partir de moléculas derivadas de ácidos graxos vegetais. A poliuretana da mamona (*Ricinus communis* - divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida*, sub-classe *Rosidae*, ordem *Euforbiales*, família *Euforbiaceae*) resulta da polimerização do poliéster de polioliol vegetal com diisocianatos lineares alifáticos (difенилmetanodiisocianato, hexametilenodiisocianato isofuranodiisocianato) acrescida de carbonato de cálcio. A função do carbonato de cálcio é fornecer íons para facilitar a troca iônica na interface osso-resina, aumentar a deposição de cálcio na matriz colagenosa e aumentar o nível de dissolução do material, mantendo a superfície em constante troca iônica (COSTA e cols., 1997).

OHARA e colaboradores (1995) apontaram, dentre as vantagens da utilização de resinas poliuretanas, a processabilidade, a flexibilidade de formulação, a versatilidade da temperatura de cura e o controle do pico exotérmico na transição líquido-gel, além da ausência de emissão de irritantes químicos ou de vapores tóxicos. Os autores ressaltaram o interesse da obtenção de resinas poliuretanas a partir da biomassa de origem vegetal, em um país com potencial agroindustrial como o Brasil, salientando o potencial oleoquímico de oleaginosas como a mamona. Implantes da resina poliuretana de mamona, de diferentes tamanhos e formas, tem-se mostrado biocompatíveis em condições experimentais diversas: intra-ósseo e intra-articular em coelhos (IGNÁCIO, 1995; OHARA e cols., 1995) e ratos (MAGRO-FILHO e cols., 1998), na câmara anterior do olho de camundongos (VILARINHO & HETEM, 1996) e nos tecidos subcutâneos de ratos (COSTA e cols., 1997).

Em trabalho anterior desenvolvido em nosso laboratório (LAMANO CARVALHO e cols., 1997 b,c) testamos a biocompatibilidade da resina poliuretana de mamona implantada no interior do alvéolo dental de ratos, imediatamente após a extração dental. O material era preparado no próprio laboratório, misturando-se o pré-polímero, o polioli e o carbonato de cálcio fornecidos pelo fabricante (C.O.R. COMPOSTO ÓSSEO de RICINUS, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA, Araraquara, SP) e, enquanto ainda em fase de moldagem, eram manualmente confeccionados grânulos de cerca de 1,8 mm de diâmetro, sendo implantados 5 grânulos por alveólo dental. O material mostrou-se

biocompatível, sofrendo incorporação progressiva ao tecido ósseo que se formava no decorrer do reparo da ferida de extração dental.

3 . PROPOSIÇÃO

Considerando que biocompatibilidade e capacidade de osseointegração não são propriedades exclusivas da composição química dos biomateriais, mas também de atributos físicos como tamanho, forma e número de partículas implantadas, e dando continuidade aos testes de biocompatibilidade da resina poliuretana derivada do óleo de mamona, este trabalho teve por objetivo testar a biocompatibilidade de um enxerto floculado de resina de mamona, comercialmente disponível (**AUG-EX, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA, Araraquara, SP**).

Utilizando-se o mesmo modelo experimental do trabalho anterior, isto é, o reparo da ferida de extração dental de rato, foram realizadas:

- a) a avaliação histológica da reação dos tecidos vizinhos ao implante, nos períodos de 1, 2, 3 e 6 semanas pós-implantação;
- b) a análise histométrica da cronologia do reparo ósseo no terço alveolar contíguo ao do material implantado, nos períodos de 2 e 6 semanas após a extração dental ou extração + implante.

4 . MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Tratamento dos Animais

Foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar) com peso corporal variando ao redor de 180 g, obtidos no Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto - USP. Os animais foram mantidos em condições controladas de iluminação (12 horas luz/12 horas escuro) e temperatura ($22 \pm 3^\circ \text{C}$), e receberam água e ração balanceada CIZIP (Centro Interdepartamental de Zootecnia e Indústria Pecuária, USP, Pirassununga) a vontade, exceto pela suspensão do alimento sólido nas primeiras 24 horas após a extração dental. Os animais foram divididos em 2 grupos experimentais:

Grupo Controle : 40 ratos submetidos à extração do incisivo superior direito e sacrificados após 1, 2, 3 e 6 semanas (n=10 por período);

Grupo Implantado : 40 ratos que receberam implante do floculado da resina poliuretana de mamona imediatamente após a extração do incisivo superior direito, sacrificados nos períodos de 1, 2, 3 e 6 semanas pós-cirurgia (n = 10 por período).

4.2. Extração Dental e Implante

Os animais foram anestesiados com 2,2,2, tribromoethanol (Aldrich, Milwaukee, USA), administrado por via intraperitoneal na dose de 25 mg/100g de peso corporal, e os incisivos superiores direitos foram extraídos com instrumental especialmente adaptado para esse fim, sob condições apropriadas de desinfecção.

Imediatamente após as exodontias, os animais do grupo Implantado tiveram o alvéolo parcialmente preenchido com cerca de 4,0 mg do enxerto floculado (flocos de 700-1200 μm) da resina de mamona (AUG-EX, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA, Araraquara, SP), misturado em quantidade mínima de soro fisiológico e introduzido com auxílio de um porta amálgama adaptado para esta finalidade. Em seguida à extração ou à extração + implante, os tecidos moles superficiais foram suturados com fio mononylon 4-0 e os animais receberam dose única intramuscular de 0,2 ml de Pentabiótico Veterinário (Laboratórios WYETH-WHITEHALL LTDA, São Bernardo do Campo, SP).

4.3. Sacrifício, Coleta e Processamento das Hemi-Maxilas Direitas

Os animais foram sacrificados por decapitação, as mandíbulas foram separadas das maxilas com o auxílio de uma tesoura e a maxila direita separada da esquerda por uma incisão ao nível do plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar. Um corte com tesoura reta tangenciando a face distal dos molares possibilitou a obtenção da peça contendo o alvéolo dental superior direito.

As peças assim obtidas foram fixadas por imersão em solução de formol a 10% durante 48 horas e a seguir descalcificadas por 4 dias em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 30% (técnica de MORSE modificada), trocando-se a solução a cada 48 horas. Após lavagem por 24 horas em água corrente, as peças foram desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina,

orientadas de maneira a permitir cortes semi-seriados longitudinais de 6 μm de espessura (intervalos de 60 μm), que foram corados pela hematoxilina e eosina.

4.4. Análise Histométrica do Alvéolo Dental

A fração de volume (densidade volumétrica) dos componentes reparacionais da ferida de extração dental foi estimada por um método de contagem diferencial de pontos, em imagens histológicas analisadas ao microscópio óptico munido de uma ocular contendo um retículo com 100 pontos eqüidistantes (aumento final de 100X).

Utilizando-se um contador de células, foram contados 500 pontos no terço apical de cada alvéolo dental, nos períodos de 2 e 6 semanas após a extração dental, sendo a porcentagem de pontos distribuídos sobre coágulo sangüíneo, tecido conjuntivo e trabéculas ósseas proporcional ao volume relativo de cada um destes elementos.

4.5. Análise Estatística

As comparações entre os resultados dos grupos controles e implantados foram realizadas pelos testes estatísticos não-paramétricos de Kruskal-Wallis (comparações múltiplas) e Mann-Whitney (comparações 2 a 2) (GMC *Basic Software*, versão 7.3).

5 . RESULTADOS

5.1. Exame Histológico: Controles

O exame histológico dos alvéolos dos ratos controles mostrou a evolução do reparo da 1^a para a 6^a semana pós-extração, iniciando com a formação do tecido de granulação e culminando com o preenchimento da cavidade de extração dental com osso neoformado.

Ao final da primeira semana, a cavidade de extração encontrava-se preenchida por um tecido de granulação (tecido conjuntivo jovem rico em fibroblastos e em vasos sanguíneos neoformados, apresentando um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário) entremeado por remanescentes do coágulo sanguíneo e por delicadas trabéculas ósseas imaturas (tecido osteóide) circundadas por osteoblastos (Figura 1), mais abundantes nas superfícies internas das corticais ósseas vestibular e palatina e no *fundus* alveolar.

A partir da segunda semana, observou-se neoformação e maturação óssea progressivas, paralelamente à diminuição da densidade do infiltrado inflamatório e do volume relativo de tecido conjuntivo e de remanescentes do coágulo sanguíneo (Figuras 2A, 3A, 4A). O reparo alveolar culminou, ao final da sexta semana pós-exodontia, com o preenchimento da cavidade de extração por trabéculas ósseas mais espessas e maduras circundando espaços medulares preenchidos por tecido conjuntivo frouxo (Figura 4A).

5.2. Exame Histológico : Implantados

Embora apresentando o mesmo padrão de reparo descrito para os ratos controles, o exame histológico do alvéolo dos animais implantados sugeriu um atraso na neoformação óssea, com áreas mais extensas da cavidade de extração preenchidas por tecido conjuntivo e/ou remanescentes do coágulo sangüíneo, em todos os períodos experimentais (Figuras 2B, 3B, 4B).

Os flocos da resina de mamona, de forma irregular e tamanho variável, localizavam-se entre os terços médio e cervical dos alvéolos dentais, na maioria dos animais (Figura 5). Ao final da primeira semana pós-implantação, o material encontrava-se circundado por tecido de granulação rico em um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, com a presença de trabéculas osteóides formando-se nas suas proximidades (Figura 6).

A partir da segunda semana, uma quantidade progressivamente maior de tecido ósseo em maturação dispunha-se entre e ao redor dos flocos da resina de mamona, no geral com a presença de um tecido conjuntivo interposto, mas em algumas regiões estabelecendo um aparente contato direto com o material (Figuras 7, 8, 9), embora se tenha observado, com freqüência, a ocorrência de áreas sem preenchimento tissular em suas superfícies côncavas.

Uma quantidade discreta de células gigantes tipo corpo estranho, aderidas à superfície dos flocos, foi observada em todos os períodos experimentais (Figura 10).

5.3. Análise Histométrica : Controles x Implantados

Como o material implantado localizava-se entre os terços médio e cervical dos alvéolos dentais, a histometria do reparo alveolar foi efetuada no terço apical, nos períodos de 2 e 6 semanas pós-exodontia (Figura 11, Tabelas 1 a 3 do Apêndice).

A análise histométrica confirmou as observações histológicas mostrando, da segunda para a sexta semana após a extração dental, o aumento progressivo do volume relativo de trabéculas ósseas ocorrendo paralelamente à diminuição do volume relativo de tecido conjuntivo. Apesar da grande variabilidade observada entre os animais de um mesmo grupo experimental nos valores de volume relativo de coágulo sangüíneo, pode-se notar uma tendência à diminuição das medianas com a evolução do reparo alveolar.

Comparando-se a cronologia do reparo alveolar entre os ratos implantados e respectivos controles, observou-se um atraso significativo nos primeiros. A neoformação óssea tendeu a ser menor nos ratos implantados após 2 semanas (mediana de volume percentual 15% menor, embora não alcançando significância estatística) e foi significativamente menor 6 semanas após a cirurgia. O volume percentual de tecido conjuntivo, por outro lado, tendeu a ser maior nos ratos implantados após 2 semanas (mediana 18% maior, embora não alcançando significância estatística) e foi significativamente maior (42%) 6 semanas após a cirurgia. O volume percentual de coágulo sangüíneo foi 3,7 vezes maior nos ratos implantados do que nos respectivos controles após 2 semanas, e tendeu a permanecer maior (2,3 vezes) 6 semanas após a cirurgia.

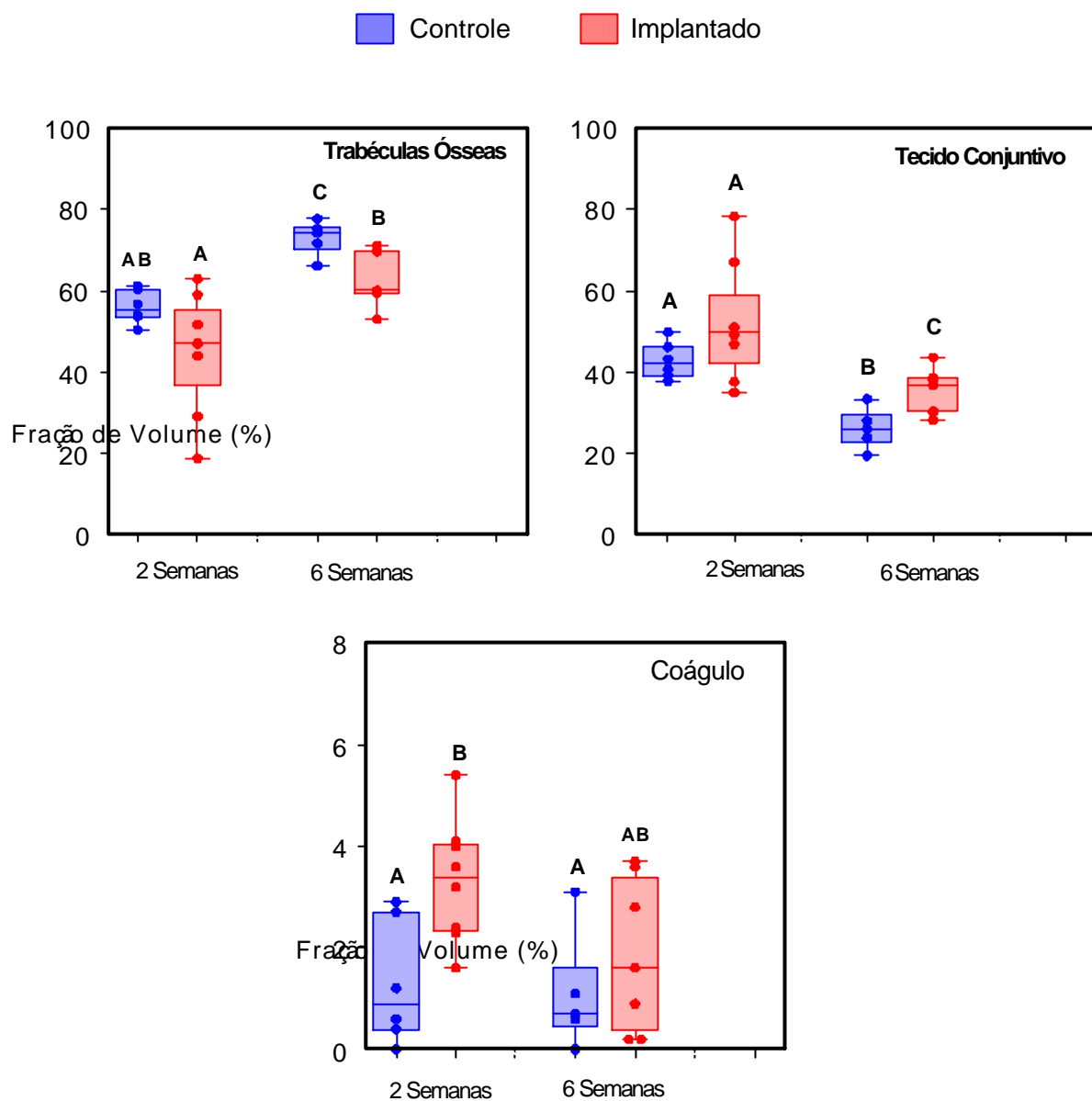


FIGURA 11. Gráfico de percentis, mostrando a fração de volume de tecidos ósseo e conjuntivo e de remanescentes do coágulo sanguíneo, no terço apical do alvéolo dental de ratos controles e implantados, nos períodos de 2 e 6 semanas após a cirurgia. O limite inferior da caixa representa o percentil de 25%, o limite superior o percentil de 75% e a barra intermediária a mediana; os pontos representam os dados amostrais. Para cada elemento reparacional (osso, conjuntivo ou coágulo), letras diferentes assinalam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos amostrais ($A \neq B \neq C$, teste de Mann-Whitney, $\alpha = 0,05$).

6 .DISCUSSÃO

6.1 Cronologia do Reparo Alveolar

No presente trabalho, o exame histológico dos alvéolos dos ratos controles, assim como a análise histométrica, mostraram uma evolução do reparo da ferida de extração dental compatível com dados da literatura, incluindo resultados anteriores de nosso laboratório (CARVALHO & OKAMOTO, 1987; LIN e cols., 1994, LAMANO CARVALHO e cols., 1997a).

Denomina-se reparo alveolar, ou reparo da ferida de extração dental, ao conjunto de reações teciduais desencadeadas no interior do alvéolo após a exodontia, que levam ao preenchimento progressivo da cavidade deixada pela ausência do dente por tecido ósseo reparacional. Este fenômeno apresenta a mesma seqüência da resposta óssea reparativa observada em outras regiões, com algumas particularidades locais.

Imediatamente após a exodontia, a cavidade de extração é preenchida por sangue extravasado em decorrência do rompimento dos vasos do feixe vascular apical. O coágulo que se forma a seguir é progressivamente reabsorvido, à medida em que é invadido por células endoteliais e fibroblastos que, originados de restos do ligamento periodontal, proliferam e migram para seu interior. Forma-se então o tecido de granulação, isto é, um tecido conjuntivo jovem reparacional, ricamente vascularizado e infiltrado por células inflamatórias linfoplasmocitárias (organização do coágulo). A seguir, à medida em que o tecido conjuntivo se torna progressivamente mais maduro pelo aumento da síntese de colágeno,

diminui a quantidade de células inflamatórias e de vasos sanguíneos e começam a aparecer os osteoblastos.

Analisando os cinco primeiros dias do reparo alveolar do rato, por técnica radioautográfica após administração de timidina triciada, LIN e colaboradores (1994) confirmaram que os fibroblastos do ligamento periodontal são a principal fonte dos osteoblastos responsáveis pela neoformação óssea, com participação mais discreta de fibroblastos endosteais e paravasculares. No entanto, os autores sugeriram que os fibroblastos do ligamento periodontal devem atuar como uma "população de amplificação de trânsito", ou seja, eles se originariam de células osteoprogenitoras localizadas nos espaços endosteais e ao redor e vasos sanguíneos.

Os osteoblastos sintetizam a matriz óssea, dando origem a um trabeculado ósseo imaturo (tecido osteóide) que é gradativamente mineralizado pela deposição de cálcio, na forma de cristais de hidroxiapatita. As fibras colágenas orientam a formação das trabéculas ósseas, que se dá de forma concêntrica, a partir do terço apical em direção ao terço cervical e das paredes vestibular e palatina para o centro do alvéolo (CARVALHO & OKAMOTO, 1987; LIN e cols., 1994; LAMANO CARVALHO e cols., 1997a).

Ainda nos períodos iniciais do reparo, começa a reabsorção das cristas ósseas alveolares, que em seguida apresentam indícios de mineralização. Concomitantemente ao reparo ósseo, o epitélio da mucosa gengival prolifera sobre o coágulo e/ou sobre o tecido conjuntivo jovem, reestabelecendo a continuidade da cobertura epitelial do rebordo alveolar. O

reparo é considerado completo quando o alvéolo apresenta-se preenchido por trabéculas ósseas espessas, com pequenos espaços medulares e com a crista alveolar remodelada, o que leva cerca de 21 dias no rato, 48 dias no cão e 64 dias na espécie humana (CARVALHO & OKAMOTO, 1987, para referências). Trabalho mais recente de nosso laboratório, no entanto, baseado em análise quantitativa (histométrica) do reparo alveolar do rato, mostrou que ele progride para além das 3 semanas após a extração dental (LAMANO CARVALHO e cols., 1997a).

Os resultados histométricos do presente trabalho mostraram que a presença do floculado de resina de mamona nos terços médio/cervical provocou um atraso discreto (da ordem de 13% a 20%) na neoformação óssea reparacional no terço apical dos alvéolos dentais, de alguma forma relacionado com distúrbio na organização/remissão do coágulo sangüíneo. Embora exibindo o mesmo padrão histológico de reparo descrito para os ratos controles, os ratos implantados apresentaram menor volume relativo de trabéculas ósseas, paralelamente à maior fração de volume de tecido conjuntivo e de remanescentes do coágulo sangüíneo, nos períodos de 2 e 6 semanas pós-extração dental.

Sabe-se que, além do controle hormonal, o metabolismo ósseo é regulado por uma série de fatores locais (controle parácrino) que modulam a diferenciação, proliferação e migração celular. Dentre eles, destacam-se os fatores de crescimento angiogênico (AGF), epidérmico (EGF) e derivado de plaquetas (PDGF), os fatores transformadores de crescimento (TGF), as proteínas morfogenéticas do osso (BMP), as

prostaglandinas e as interleucinas (revisões de BILEZIKIAN e cols., 1996). No caso específico do reparo ósseo alveolar, alguns fatores de crescimento derivados do coágulo sangüíneo, tais como o PDGF e o TGF- β , parecem ter particular importância. Os fibroblastos originados do ligamento periodontal expressam receptores para o PDGF e apresentam forte resposta mitogênica e quimiotáxica a este fator, *in vitro*, enquanto o TGF- β inibe a proliferação de fibroblastos mas estimula a formação de osso imaturo, *in vivo* (LIN e cols., 1994, para referências). Baseados nestas evidências experimentais, LIN e colaboradores (1994) sugeriram que o PDGF estimularia a proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal e sua migração para o interior do coágulo sangüíneo, nos estágios iniciais do reparo, enquanto o TGF- β seria importante na fase final de diferenciação dos fibroblastos em osteoblastos.

Embora os mecanismos pelos quais a presença do material implantado alterou o reparo ósseo não tenham sido objeto da presente investigação, é plausível supor-se uma possível interferência com o complexo controle local da neoformação óssea reparacional. Este é um campo de interesse para futuras investigações.

6.2 Biocompatibilidade do Material

Em que pese a grande variabilidade de materiais que tem sido desenvolvidos, testados e clinicamente utilizados para preenchimento ou substituição óssea, cada um deles com composição química e características físicas mais adequadas para cada situação, o requisito

mínimo para a implantação no interior de tecidos biológicos é a biocompatibilidade. Qualquer material estranho colocado deliberada ou acidentalmente no interior de tecidos vivos provoca uma resposta, e não é a resposta em si, mas sua extensão, intensidade e duração que definem a biofuncionalidade do implante, e portanto sua biocompatibilidade.

Biofuncionalidade refere-se a propriedades mecânicas e físicas que habilitam um implante a desempenhar as funções esperadas, enquanto **biocompatibilidade** é definida como "um estado de mútua coexistência entre um material e o ambiente fisiológico, sem que um exerça efeito desfavorável sobre o outro" (BOSS e cols., 1995).

Os testes de biocompatibilidade são realizados tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Entende-se que os primeiros testes *in vitro* devam ser complementados por estudos *in vivo*, primeiramente em animais de laboratório, seguidos por investigações clínicas em humanos, todos estes passos necessários para a avaliação completa de biomateriais em potencial. A resposta ideal dos tecidos biológicos a um material implantado em seu interior seria aquela em que a resposta inflamatória inicial (aguda) fosse rapidamente resolvida, sem a permanência de infiltrado inflamatório crônico.

Osseointegração Verdadeira e Integração Fibro-Óssea

No caso dos implantes intra-ósseos espera-se que o material implantado, além de biocompatível, seja capaz de uma **osseointegração verdadeira**, definida como "a conexão estrutural e funcional direta entre o tecido ósseo vivo e organizado e a superfície do

implante submetido a forças" (BRANEMARK e cols., 1977), ou "a fixação rígida, clinicamente assintomática de um material aloplástico com o tecido ósseo, mantida durante um trabalho funcional" (ALBREKTSSON e cols., 1988).

Os biomateriais implantados no interior do tecido ósseo podem estabelecer com o osso circundante dois tipos de integração: (1) **osseointegração direta ou verdadeira**, quando se estabelece um contato direto entre o osso e a superfície do implante e, (2) **indireta ou fibro-óssea**, quando uma cápsula fibrosa se interpõe entre o implante e a superfície do osso (LeGEROS & CRAIG, 1993). A credita-se que a fixação bem sucedida de um implante seja diretamente proporcional à porcentagem de áreas de osseointegração direta. A integração fibro-óssea é aceitável apenas nos estágios iniciais pós-implantação, sendo considerada um fator desfavorável à estabilidade dos implantes, a longo prazo, pois as fibras colágenas podem fixar-se ao osso mas não à superfície do material. A persistência de encapsulamento fibroso parece decorrer de irritação mecânica (instabilidade) ou da rejeição biológica ao material.

Materiais Bioinertes, Biotolerantes e Bioativos

A resposta do tecido ósseo aos implantes posicionados nas suas vizinhanças ou em seu interior permite classificar os materiais como bioinertes, biotolerantes ou bioativos (LeGEROS & CRAIG, 1993; KIESWETTER e cols., 1996). Os materiais **biotolerantes** não estabelecem

osseointegração verdadeira, havendo formação de uma cápsula fibrosa, geralmente delgada, acelular e contínua, sendo que a formação de tecido conjuntivo fibroso é interpretada como uma resposta do tecido ao material, que estimula as células adjacentes a sintetizar, secretar e manter um tecido conjuntivo na interface (KIESWETTER e cols., 1996). Os materiais **bioinertes**, por outro lado, estabelecem contato direto com o tecido ósseo circundante. Os materiais **bioativos**, como as cerâmicas de fosfato de cálcio e os vidros bioativos, não só estabelecem osseointegração direta como também interagem com os tecidos vizinhos de forma a estimular a proliferação de células, a síntese de produtos específicos e a adesão celular (KIRKPATRICK & MITTERMAYER, 1990).

Materiais Osteocondutores, Osteoindutores e Osteogênicos

Quanto à relação que estabelecem com o tecido ósseo, os materiais podem ser também classificados como osteocondutores, osteoindutores ou osteogênicos. Os materiais **osteocondutores** servem como substrato para a formação óssea, atuando como um arcabouço para a formação de tecido mineralizado sem, no entanto, induzir modificações celulares ou estimular a diferenciação de osteoblastos. Quando implantados em sítios não ósseos, não induzem a formação de osso ectópico, isto é, não induzem a osteogênese. Os materiais **osteoindutores** induzem a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em condroblastos ou osteoblastos e, quando implantados em locais não ósseos, induzem a

formação de tecido ósseo ectópico. Os enxertos ósseos descalcificados são materiais osteoindutores graças à presença e liberação das proteínas morfogenéticas do osso, presentes na matriz orgânica do tecido ósseo (GOLDBERG & STEVENSONS, 1987). Portanto, a diferença entre os materiais osseindutores e osseocondutores recai no fato de os primeiros serem biologicamente ativos, enquanto os segundos são totalmente inertes, servindo apenas como um material de preenchimento (URIST e cols., 1983). O material é **osteogênico** quando possui osteoblastos viáveis que, transplantados para um tecido hospedeiro, determinam a formação de novo osso; como exemplo, tem-se os enxertos ósseos autógenos ou material coletado de cavidades ósseas em fase de cicatrização (MARX e cols., 1979).

Considera-se, hoje, que biocompatibilidade e capacidade de osseointegração não são propriedades exclusivas da composição química dos biomateriais, mas dependem também, e talvez principalmente, de seus atributos físicos. A maneira como os tecidos hospedeiros respondem ao biomaterial, determinando o sucesso ou fracasso do implante, parece ser determinada principalmente pelas características físicas da superfície, mais do que pela composição química (BOSS e cols., 1995). Propriedades como tamanho e forma das partículas, rugosidade superficial, existência e tamanho de poros são fatores relevantes para a determinação da biocompatibilidade e osseointegração (SHAPOFF e cols., 1980; MISIEK e cols., 1984; LeGEROS & CRAIG, 1993; BOSS e cols., 1995; KIESWETTER e cols., 1996). A quantidade de partículas implantadas também parece

contribuir para a extensão, intensidade e duração da reação inflamatória que se desenvolve em decorrência da implantação (BOSS e cols., 1995).

Forma e Tamanho das Partículas

Utilizando implantes de polietileno de formas e tamanhos diferentes para substituição de juntas, reconstrução de ligamentos e em próteses articulares, BOSS e colaboradores (1995) mostraram que o implante de partículas grandes, de forma regular e superfície lisa costuma evocar uma resposta inflamatória de curta duração, seguida da incorporação adequada do material ao tecido hospedeiro. Partículas pequenas, de forma irregular e pontiagudas, por outro lado, suscitam uma reação granulomatosa de células gigantes, acompanhada de destruição e reabsorção dos tecidos vizinhos.

Estudos utilizando implantes de osso heterógeno e de vidro bioativo mostraram que o tamanho das partículas interfere com a atividade osteogênica e a osseointegração do biomaterial. Partículas menores de enxerto ósseo heterógeno (100-300 μm) parecem estimular em maior grau a osteogênese, provavelmente por oferecerem maior área superficial para: (1) a própria reabsorção, que resultaria na liberação de maior quantidade de fatores indutores de osteogênese; (2) uma reabsorção mais rápida e, portanto, a substituição mais rápida pelo osso reparacional (SHAPOFF e cols., 1980). Partículas de vidro bioativo também parecem requerer um tamanho ideal para o estímulo da osteogênese: partículas menores que 200

μm seriam rapidamente reabsorvidas, provocando reação inflamatória, enquanto partículas maiores que $400 \mu\text{m}$ não seriam reabsorvidas e não reagiriam com os tecidos vizinhos para estimular a neoformação óssea; partículas entre $300\text{-}350 \mu\text{m}$ seriam progressivamente reabsorvidas e/ou fagocitadas, apresentando propriedades osteocondutoras e ósseo-estimulatórias (FURUSAWA e cols., 1998).

Presença e Tamanho dos Poros

Desde o final da década de 60 tem-se confirmado a vantagem das superfícies porosas - produzidas pela sinterização de esferas de vários tamanhos sobre a superfície de implantes metálicos, pela incorporação de fibras metálicas ao implante ou pela cobertura da superfície metálica com outros materiais (*plasma sprayed coating*) - para a fixação de implantes metálicos ao tecido ósseo (KIESWETTER e cols., 1996). O tamanho dos poros parece ser determinante da quantidade e qualidade do tecido ósseo formado nas vizinhanças do implante. Investigando a fixação óssea de implantes metálicos com cobertura porosa, BOBYN e colaboradores (1980 a, b) mostraram que implantes com poros variando entre $50\text{-}400 \mu\text{m}$ apresentaram maior resistência ao cisalhamento do que implantes com poros menores, que não favoreciam uma formação óssea uniforme. Implantes com poros maiores que $400\text{-}800 \mu\text{m}$ apresentaram, inicialmente, baixa resistência ao cisalhamento, que aumentou com o tempo, provavelmente pela necessidade de formação de maior volume de tecido

ósseo para estabelecer um travamento mecânico; porém uma vez formado, a maior superfície óssea tornava-se mais efetiva para ancoragem do implante.

Baseados em estudos de implantes intra-ósseos, KIESWETTER e colaboradores (1996) confirmaram que a superfície do material implantado parece determinar sua habilidade em se incorporar com sucesso aos tecidos vizinhos. Da combinação da composição química do material com características físicas da sua superfície (principalmente textura/aspereza/rugosidade) resultaria uma energia superficial que parece determinar quais proteínas do meio tissular são adsorvidas à ele, assim como se e quais células são recrutadas para aderir à superfície do implante, secretar um repertório de fatores de crescimento e citocinas necessários para o estímulo da proliferação e diferenciação celular, resultando no estímulo à osteogênese e incorporação do material ao novo osso.

Biocompatibilidade da Resina Poliuretana de Mamona

A biocompatibilidade da resina poliuretana de mamona tem sido testada em diferentes modelos experimentais. A biocompatibilidade da resina de mamona foi comparada com a de cimento de óxido de zinco e eugenol, em implantes subcutâneos dorsais de tubos de polietileno contendo um ou outro material, em ratos. O exame histológico mostrou que, nos primeiros períodos pós-implantação (7 e 15 dias), a resina de mamona provocou reação inflamatória moderada, com predomínio de células

mononucleares e de vasos sanguíneos novos, ao lado de degradação colágena; estes eventos foram menos relevantes no caso do cimento de óxido de zinco e eugenol. Com o passar do tempo notou-se regressão dos eventos histopatológicos e reparação progressiva dos tecidos junto à abertura dos tubos contendo os materiais. Nos últimos períodos pós-implantação (30 e 60 dias), um tecido fibroso denso envolvia os tubos de polietileno, sendo que para ambos os materiais, o tecido conjuntivo adjacente apresentava características histológicas de normalidade. O cimento de óxido de zinco e eugenol foi considerado menos irritante que a resina poliuretana de mamona, embora ambos tenham apresentado nível aceitável de biocompatibilidade (COSTA e cols., 1997).

A resina poliuretana de mamona, acrescida ou não de carbonato de cálcio, também foi testada na câmara anterior do olho de camundongos, após o implante de fragmentos de 1 mm de diâmetro por 1mm de comprimento. O exame histológico mostrou que o material foi bem tolerado, suscitando uma reação inflamatória inicial que diminuiu com o passar do tempo, apesar da presença de células multinucleadas que propiciou a reabsorção bastante lenta do implante. A resposta dos tecidos hospedeiros foi semelhante para ambas as formulações, não havendo osteoindução nem na presença do carbonato de cálcio (VILARINHO & HETEM, 1996).

Implantes intra-ósseos e intra-articulares, respectivamente na forma de corpos-de-prova com cálcio e em gel, foram testados em coelhos. Os corpos-de-prova em forma de gel foram implantados intra-

articularmente no joelho, enquanto os corpos-de-prova calcificados (cilindros de 0,5 cm) foram implantados no côndilo medial do joelho. O exame histológico das articulações mostrou a presença de sinovite e derrame sinovial estéril, após 3 dias, evoluindo para a ausência de reação inflamatória tardia ou granulomatosa do tipo corpo estranho, após 15 e 40 dias. No côndilo medial observou-se, após 3 dias, reação fibrosa ao redor do implante, do tipo “pseudo-encistamento”, que evoluiu para neoformação óssea preenchendo inclusive as lacunas internas do corpo-de-prova, após 15 e 40 dias. A ausência de alterações comportamentais e de alterações patológicas nas vísceras (fígado, baço e rins) demonstrou a não toxicidade da resina de mamona. Os autores concluíram que, em coelhos, a resina de mamona não é tóxica, não produz reação inflamatória tardia da sinovial e, quando implantada no osso, produz reação fibrosa que evolui para neoformação óssea, sem sinais de rejeição (OHARA e cols., 1995).

IGNÁCIO (1995) produziu falhas osteoperiostais de 2,0 cm (correspondente a aproximadamente 30% do comprimento total do osso), em raios de coelhos e preenchendo-as com cimento derivado do polímero da mamona. O exame histológico mostrou o biomaterial envolto por tecido fibroso sem reação inflamatória significativa, após 2 semanas, e a presença de tecido ósseo neoformado proliferando pela bainha fibrosa que envolve o polímero, após 4 semanas. Na oitava semana pós-implantação observou-se progressão da proliferação óssea, formando uma camada cortical incompleta interposta entre o polímero e o tecido fibroso inicial; após 16 semanas a cortical óssea apresentava-se bem definida, envolvendo o polímero e

interposta entre ele e o tecido fibroso. O autor concluiu que o cimento derivado do polímero mostrou-se biocompatível, não desencadeou reação de corpo estranho e apresentou osteocondutividade, atuando como um espaçador biológico e permitindo que o osso neoformado se desenvolvesse por toda sua superfície externa.

A resina poliuretana de mamona associada com o carbonato de cálcio, nas formas compacta e porosa, foi testada no preenchimento de falhas ósseas de 1 cm de diâmetro por 0,8 cm de espessura produzidas em metáfises distal do fêmur e proximal da tíbia bilateralmente, em cães. O exame histológico mostrou que até nos períodos mais longos de observação (12 meses após o procedimento cirúrgico) tanto os corpos de prova compactos quanto os de porosidade apresentaram-se envolvidos por tecido conjuntivo com alta densidade de fibras colágenas, dispostas paralelamente à sua superfície. O material mostrou-se biocompatível, não apresentou sinais de reabsorção e não foi capaz de osteointegração, comportando-se apenas como um espaçador biológico (IGNÁCIO, 1999).

O implante do polímero de mamona, manipulado no momento do ato operatório ou previamente, foi testado em cavidades (perfurações) realizadas na tíbia de ratos. A cavidade proximal não foi preenchida por nenhum material; a cavidade intermediária foi preenchida com polímero de mamona preparada no ato operatório; a cavidade distal recebeu no seu interior peças previamente moldadas de polímero de mamona, esterilizadas em autoclave de óxido de etileno. O exame histológico mostrou, nos períodos iniciais, que os implantes pré-moldados

apresentaram melhores resultados que aqueles manipulados no momento da cirurgia, pois na reação de polimerização há liberação de certa quantidade de calor e também há a presença de monômero residual. Em períodos tardios, os implantes foram revestidos por uma fina cápsula fibrosa, sem infiltrado inflamatório, e em alguns pontos observou-se crescimento ósseo em íntimo contato com o polímero; não houve crescimento ósseo no interior dos poros do implante e o material não sofreu reabsorção (MAGRO-FILHO et al., 1998).

O estudo em animais de laboratório tem gerado uma quantidade significativa de dados que permitem a determinação parcial dos riscos/benefícios do uso de materiais de implante, além de contribuir para a compreensão de sua toxicidade, biocompatibilidade e possibilidade de uso específico. É importante, no entanto, que se utilizem novos modelos experimentais que permitam avançar nos conhecimentos sobre a biocompatibilidade desses materiais, factíveis de serem empregados em humanos, em áreas específicas da medicina e odontologia. Por se constituir em um fenômeno biológico bastante conhecido, o reparo alveolar pode ser um modelo adequado para o estudo da biocompatibilidade e da capacidade de osseointegração de materiais, pois qualquer interferência com a evolução normal do processo pode ser facilmente reconhecida.

Em trabalho anterior, testamos a biocompatibilidade da resina de mamona com uma apresentação comercial que permitia a moldagem do implante pelo próprio usuário (C.O.R. COMPOSTO ÓSSEO de RICINUS, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA,

Araraquara, SP). O pré-polímero, o polioli e o carbonato de cálcio foram espatulados segundo as especificações do fabricante e, enquanto ainda em fase de moldagem, foram manualmente confeccionados grânulos de cerca de 1,8 mm de diâmetro que, após secagem completa, foram esterilizados em álcool 70° e implantados imediatamente após a extração de incisivos superiores direitos de ratos (5 grânulos por alveólo dental). O exame histológico mostrou, ao final da primeira semana pós-implantação, os grânulos do polímero localizados no terço cervical dos alvéolos dentais, apresentando formato regular e completamente circundados por cápsula de natureza inflamatória. A partir da segunda semana, a cápsula ao redor dos grânulos apresentava-se fibrosa e progressivamente mais delgada até que, após seis semanas, em algumas áreas os grânulos eram circundados por uma cápsula bastante delgada, enquanto em outras regiões trabéculas ósseas maduras estabeleciam íntimo contato com o material implantado. Não se observou persistência de reação inflamatória ou a presença de células gigantes tipo corpo estranho em qualquer período experimental. Os resultados mostraram que o material foi biocompatível, sofrendo incorporação progressiva ao tecido ósseo neoformado no decorrer do reparo da ferida de extração dental (LAMANO CARVALHO e cols., 1997b). Apesar disto, à semelhança do que se observou no presente trabalho, a presença dos grânulos da resina no terço cervical provocou um retardo discreto (9-22%) na neoformação óssea reparacional nos terços médio e apical dos alvéolos dentais (LAMANO CARVALHO e cols., 1997c).

No presente trabalho, testou-se a biocompatibilidade da resina poliuretana de mamona na forma de flocos de formato irregular e tamanho variável (700 a 1200 μm), indicado pelo fabricante para preenchimento de falhas ósseas em cirurgias de Regeneração Tecidual/Óssea Guiadas em Periodontia e Implantodontia, em cirurgias buco-maxilo-faciais menores, para elevação de seio maxilar e para manutenção da altura do rebordo alveolar, após a exodontia. Implantado na cavidade alveolar de ratos, imediatamente após a extração dental, a resina de mamona mostrou-se biocompatível e capaz de certo grau de osseointegração direta, dentro do período da investigação. A presença do material não suscitou uma resposta inflamatória persistente, em que pese a ocorrência de uma quantidade discreta de células gigantes tipo corpo estranho aderidas a sua superfície, em todos os períodos experimentais. Os flocos foram inicialmente circundados por tecido de granulação, com a presença de trabéculas osteóides formando-se em suas proximidades. Com o progresso do reparo, quantidades gradativamente maiores de tecido ósseo em maturação foram observadas entre e ao redor dos flocos da resina, no geral com a presença de um tecido conjuntivo interposto, mas em algumas regiões estabelecendo um aparente contato direto com eles, indicando áreas de osseointegração verdadeira. No entanto, comparando com os trabalhos anteriores do nosso laboratório, parece que o formato irregular dos flocos não se mostrou tão favorável à aderência aos tecidos reparacionais, uma vez que ao redor das superfícies côncavas foram observadas, no geral, áreas sem preenchimento tissular.

Embora os presentes resultados tenham sido obtidos em ratos, um animal cujo sistema biológico é bastante semelhante ao de seres humanos, não é possível uma extrapolação direta. Observações clínicas, aliadas à caracterização das propriedades físicas do material, poderão eventualmente definir sua aplicabilidade em áreas específicas da Medicina e/ou Odontologia.

7. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo do presente trabalho foi testar a biocompatibilidade de um enxerto floculado de resina de mamona (AUG-EX, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA, Araraquara, SP), utilizando-se como modelo experimental o reparo da ferida de extração dental de rato. Para tanto, foram realizadas a avaliação histológica da reação dos tecidos vizinhos ao implante e a análise histométrica da cronologia do reparo ósseo no terço alveolar contíguo ao do material implantado.

Imediatamente após a extração dos incisivos superiores direitos, os animais do grupo Implantado tiveram o alvéolo parcialmente preenchido com o enxerto floculado da resina de mamona, misturado em quantidade mínima de soro fisiológico. Nos períodos de 1, 2, 3 e 6 semanas após a extração dental ou extração + implante, as hemi-maxilas direitas dos ratos controles e implantados foram coletadas, fixadas em solução de formol a 10%, a seguir descalcificadas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina para obtenção de cortes longitudinais semi-seriados de 6 μ m de espessura, que foram corados com hematoxilina e eosina. A fração de volume dos componentes reparacionais da ferida de extração dental (coágulo sangüíneo, tecido conjuntivo e trabéculas ósseas) foi estimada por um método de contagem diferencial de pontos, em imagens histológicas analisadas ao microscópio óptico munido de uma ocular contendo um retículo com 100 pontos eqüidistantes, nos períodos de 2 e 6 semanas após a extração dental. As comparações entre os resultados dos

grupos controles e implantados foram realizadas pelos testes estatísticos não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney.

O exame histológico mostrou os flocos da resina de mamona, de forma irregular e tamanho variável, localizados entre os terços médio e cervical dos alvéolos dentais; o material mostrou-se biocompatível e capaz de certo grau de osseointegração direta, dentro do período da investigação. Os flocos foram inicialmente circundados por tecido de granulação, com a presença de trabéculas osteóides formando-se em suas proximidades. Com o progresso do reparo, quantidades gradativamente maiores de tecido ósseo em maturação foram observadas entre e ao redor dos flocos da resina, no geral com a presença de um tecido conjuntivo interposto, mas em algumas regiões estabelecendo um aparente contato direto com eles. Comparando com trabalhos anteriores do nosso laboratório, no entanto, parece que o formato irregular dos flocos não se mostrou tão favorável à aderência aos tecidos reparacionais, uma vez que ao redor das superfícies côncavas foram observadas, no geral, áreas sem preenchimento tissular. A presença do material não suscitou uma resposta inflamatória persistente, em que pese a ocorrência de uma quantidade discreta de células gigantes tipo corpo estranho aderidas a sua superfície, em todos os períodos experimentais.

Embora apresentando o mesmo padrão de reparo alveolar descrito para os ratos controles, a análise histométrica do terço apical do alvéolo dos ratos implantados comprovou um atraso da ordem de 13% a 20% na neoformação óssea reparacional, com áreas mais extensas da

cavidade de extração preenchidas por tecido conjuntivo e/ou remanescentes do coágulo sangüíneo, em todos os períodos experimentais.

8.SUMMARY

The aim of the present study was to evaluate the biocompatibility of a natural resin made from fatty acids extracted from *Ricinus communis* (AUG-EX, POLIQUIL ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS LTDA, Araraquara, SP), using as experimental model the rat alveolar healing following tooth extraction. The histological analysis of tissue reaction around the resin flakes and the histometric analysis of bone repair in the alveolar third next to the implanted material were carried out.

Immediately after extraction of the upper right incisors, the alveoli of the implanted group were partially filled with the resin flakes mixed in a minimal amount of saline. The animals were killed 1, 2, 3, and 6 weeks after tooth extraction or extraction + implant, the right hemi-maxilla of the control and implanted groups were removed, fixed in 10% phormol, decalcified and processed for paraffin embedding. Longitudinal semi-serial 6 μm thick sections were stained with hematoxylin and eosin. The volume fraction of the alveolar healing components (blood clot, connective tissue and bone trabeculae) were estimated by a differential point-counting method, in histological images analyzed with an optical microscope containing a grid with 100 equidistant points, 2 and 6 weeks after tooth extraction. Results of the control and implanted groups were compared by the non-parametric Kruskal–Wallis and Mann–Whitney tests.

Histological analysis showed that the material was biocompatible and capable of some degree of direct osteointegration. The resin flakes, exhibiting an irregular shape and a variable size, partially filled the middle/cervical thirds of the dental alveoli. No persistent inflammation

was evoked, although a discreet foreign body reaction was observed in all the experimental periods. The material was initially encircled by granulation tissue, with the presence of delicate newly formed bone trabecula in its proximity. Progressive bone formation and maturation were noted among and around the flakes, in some areas establishing an apparent direct contact with its surface. However, it seems that the irregular shape of the flakes did not favor the adherence of biological tissues, since areas with no tissular filling were in general observed around their concave surfaces.

The histometric analysis, used to quantify the healing process in the apical third from control and implanted rats, showed a small but significant delay in new bone formation in the later, which showed more extensive areas of the extraction socket filled with connective tissue and/or remaining of the blood clot, in all the experimental periods.

9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AICHELMANN-REIDY, M.E.; YUKNA, R.A. Bone replacement grafts: the bone substitutes. **The Dental Clinics of North Am**, v. 42, n. 3, p. 491-503, 1998.

AKBREKTSSON, T.; DAHL, E.; ENBOM, L.; ENGEVALL, S.; ENQUQUIST, B.; ERIKKSSON, A.R.; FELDMAN, G.; FREIBERG, N.; GLANTZ, P-O.; KJELLMAN, O.; KRISTERSSON, L.; KVINT, S.; KONDELL, P-A.; PALMQUIST, J.; WENDAHL, L.; ASTRAND, P. Osseointegrated oral implants - A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. **J Periodontal**, v. 59, p. 287-296, 1988.

BAKKER, C.A.; BLITTERSWIJK, S.C.; HESSELING, H.K.; KUJERS, W.; GROTE, J.J. Biocompatibility of a polyether urethane, polypropylene oxide and a polyether polyester copolymer. A qualitative and quantitative study of three alloplastic tympanic membrane materials in the rat middle ear. **J Biomed Mater Res**, v. 24, n.4, p. 489-515, 1990.

BILEZIKIAN, J.P.; RAISZ, L.G., RODAN, G.A. **Principles of Bone Biology**. 1ª edição, San Diego, Academic Press, 1996.

BLOCK, M.S.; KENT, J.N. A comparison of particulate and solid root forms of hydroxylapatite in dog extraction site. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 44, n. 2, p. 89-93, 1986.

BLOCK, M.S.; KENT, J.N.; KAY, J.F. Evaluation of hydroxylapatite-coated titanium dental implants in dogs. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 45, n. 7, p. 601-607, 1987.

BOBYN, J.D.; PILLIAR, R.M.; CAMERON, H.U.; WEATHERBY, G.C.; KENT, G.M. The effect of porous surface configuration on the tensile strength of fixation of implants by bone growth. **Clin Orthop**, v. 149, p. 291-298, 1980a.

BOBYN, J.D.; PILLIAR, R.M.; CAMERON, H.U.; WEATHERBY, G.C. The optimum pore size for the fixation of porous coated metal implants by the ingrowth of bone. **Clin Orthop**, v. 150, p. 263-270, 1980b.

BOSS, J.H.; SHAJRAWI, I.; AUNULLAH, J.; MENDES, D.G. The relativity of biocompatibility. A critical of the concept of biocompatibility. **Israel J Med Sci**, v. 31, n. 4, p. 203-209, 1995.

BRANEMARK, P-I.; HANSSON, B.O.; ADELL, R.; BREINE, U.; LINDSTROM, J.; HALLEN, O.; OHMAN, A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw: Experience from a 10-year period. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v. 11, suppl. 16, 1977.

BRENTEGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F.; LAMANO CARVALHO, T.L.

Histologic evaluation of the biocompatibility of a glass-ionomer cement in rat alveolus. **Biomaterials**, v. 18, n.2, p. 137-140, 1997.

BROOK, I.M.; GRAIG, G.T.; HATTON, P.V.; JONCK, L.M. Bone cell

interactions with a granular glass-ionomer bone substitute material: *in vivo* and *in vitro* culture models. **Biomaterials**, v. 13, p. 721-725, 1992.

BRUNSVOLD, M.A.; MELLONIG, J.T. Bone grafts and periodontal

regeneration. **Periodontology 2000**, v. 1, p. 80-91, 1993.

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. Reparação do alvéolo dental. In:

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. **Cirurgia bucal. Fundamentos experimentais aplicados à clínica**. São Paulo, Editorial Médica Panamericana, 1987, p. 55-80.

COSTA, C.A.S.; MARCANTONIO, R.A.C.; HEBLING, J.; TEIXEIRA,

H.M.; KURAMAE, M. Biocompatibilidade do polímero de poliuretana vegetal derivada do óleo de mamona em estudo comparativo com cimento de óxido de zinco e eugenol. Avaliação histopatológica de implantes subcutâneos de ratos. **Odonto 2000- Odontologia do Século XXI**, v. 1, p. 44-48, 1997.

CHRISTENSEN, G.J. Ridge preservation: why not? **J Am Dent Assoc**, v. 127, n. 5, p. 669-670, 1996.

DE LANGE, G.L.; DE PUTTER, C.; DE WIJS, F. Histological and ultrastructural appearance of the hydroxylapatite-bone interface. **J Biomed Mater Res**, v. 24, n. 7, p. 829-845, 1990.

DENISSEN, H.W.; GROOT, K.; MAKKES, P.C.; VAN DEN HOOFF, A.; KLOPPER, P.J. Tissue response to dense apatite implants in rats. **J Biomed Mater Res**, v. 14, n.6, p. 713-721, 1980.

DE WIJS, F.L.J.A.; DE PUTTER, C.; DE LANGE, G.L.; DE GROOT, K. Local residual augmentation with solid hydroxylapatite blocks. Part II - correction of local resorption defects in 50 patients. **J Prosthet Res**, v. 69, n.5, p. 510-513, 1993.

FROUM, S.J.; WEINBERG, M.A.; TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. **J Periodontol**, v. 69, p. 698-709, 1998.

FURUSAWA, T.; MIZUNUMA, K.; YAMASHITA, S.; TAKAHASHI, T.

Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandibule. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 13, p. 672-676, 1998.

GOLDBERG, V.M., STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. **Clin Orthop Rel Res**, v. 225, p. 7-16, 1987.

GONÇALVES, E.A.L.; GUIMARÃES, S.A.C.; GARCIA, R.B. Proteínas morfogênicas ósseas: terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.12, n. 3, p. 299-304, jul./set. 1998.

HENNING, E.; JOHN, A.; ZARTNACK, F.; LEMM, W.; BUCHERT, E.S.; WICK, G.; GERLACH, K. Biostability of polyurethanes. **Z Exp Chir Transplant Kuntliche Organe**, v. 22, n. 4, p. 204-220, 1989.

IGNÁCIO, H. **Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento da falha óssea. Estudo experimental em coelhos.** Ribeirão Preto, 1995. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

JARCHO, M. Retrospective analysis of hydroxyapatite development for oral implant applications. **Dental Clinics of North Am**, v. 36, n. 1, p. 19-26, 1992.

JONCK, L.M.; GROBBELAAR, C.J. Ionos bone cement (glass-ionomer): an experimental and clinical evaluation in joint replacement. **Clin Mater**, v. 6, p. 323-359, 1990.

KIESWETTER, K.; SCHWARTZ, Z.; DEAN, D.D.; BOYAN, B.D. The role of implant surface characteristics in the healing of bone. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 7, n.4, p. 329-345, 1996.

KIRKER-HEAD, C.A. Recombinant bone morphogenetic proteins: novel substances for enhancing bone healing. **Veterinary Surg**, v. 24, p.408-419, 1995.

KIRKPATRICK, C.J.; MITTERMAYER, C. Theoretical and practical aspects of testing potential biomaterials in vitro. **J Mater Sci Mater Med**, v.1, p. 9-13, 1990.

LAMANO CARVALHO, T.L.; BRENTAGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F.

Histometric analysis of rat alveolar wound healing. **Braz Dent J**, v. 8, n. 1, p. 9-12, 1997a.

LAMANO CARVALHO, T.L.; ALBUQUERQUE ARAÚJO, C.A.C.;

TEÓFILO, J.M.; BRENTAGANI, L.G. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 26, p. 149-152, 1997b.

LAMANO CARVALHO, T.L.; TEÓFILO, J.M.; ALBUQUERQUE

ARAÚJO, C.A.C.; BRENTAGANI, L.G. Chronology of alveolar healing following immediate implantation of Ricinus communis polyurethane resin: Histometric analysis in rats. **J Biomed Mater Res**, v. 37, p. 449-452, 1997c.

LeGEROS, R.Z.; CRAIG, R.G. Strategies to affect bone remodeling:

osteointegration. **J Bone Mineral Res**, v. 8, Supl. 2, p. S583-S596, 1993.

LIN, W.L.; McCULLOCH, C.A.G.; CHO, M.I. Differentiation of periodontal

ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. **Anat Rec**, v. 240, p. 492-506, 1994.

MAGRO-FILHO, O.; GARCIA Jr, I.R.; OKAMOTO, T.; SUGUIMOTO, R.M.;
SOUZA, A.M.M.; SANTOS, J.R.P. Implante de polímero de mamona em
cavidades cirúrgicas experimentais realizadas em tibia. Estudo histológico em
ratos. **Innovations Magazine**, v. 2, n.2, p. 10-14, 1998.

MANOLAGAS, S.C.; JILKA, R.L. Bone marrow, cytokines and bone
remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis.
New Engl J Med, v. 332, n. 5, p. 305-311, 1995.

MARX, R.E.; SNYDER, R.M.; KLINE, S.N. Cellular survival of human
marrow during placement of marrow-cancellous bone grafts. **J Oral Surg**,
v.37, p.712-718, 1979.

MATSUI, Y.; OHNO, K.; MICHI, K.I.; TACHIKAWA, T. Histomorphometric
examination of healing around hydroxylapatite implants in 60 Co-irradiated
bone. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 52, p. 167-172, 1994.

Mc LEAN, J.W. Glass-ionomer cements. **Brit Dent J**, v. 164, p. 293-300,
1988.

MELLONIG, J.T. Periodontal Regeneration: Bone Grafts. In: NEVINS, M.;
MELLONIG, J.T. **Periodontal Therapy**, Chicago, Quintessence,
1998, Capítulo 15, p. 233, 1998.

MISIEK, D.J.; KENT, J.N.; CARR, R.F. Soft tissue responses to hydroxylapatite particles of different shapes. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 42, p. 150-160, 1984.

OGUCHI, H.; ISHIKAWA, K.; MIZOUE, K.; SETO, K.; EGUCHI, G. Long-term histological evaluation of hydroxyapatite ceramics in humans. **Biomaterials**, v. 16, p. 33-38, 1995.

OHARA, G.H.; KOJIMA, K.E.; ROSSI, J.C.; TELLES, M.; SOARES, T.V.C.; SALOMÃO, C.; SANDA, M. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intra - óssea e intra-articular em coelhos. **Acta Ortop Bras**, v. 3, n. 2, p. 62-68, 1995.

OTA, K. Towards an ideal polyurethane graft for hemodialysis. **J Biometer Appl**, v. 4, n. 2, p. 141-157, 1989.

PARR, G.R.; STEFLIK D.E.; SISK, A.L. Histomorphometric and histologic observations of bone healing around immediate implants in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 8, p. 534-540, 1993.

QUATTELBAUM, J.B.; MELLONING, J.T.; HENSEL, N.F. Antigenicity of freeze-dried cortical bone allograft in human periodontal osseous defects. **J Periodontol**, v. 59, p. 394-397, 1988.

RUTHERFORD, R.B.; CHARETE, M.; RUEGER, D. Role of osteogenic (bone morfogenetic) protein and platelet-derived growth factor in periodontal wound healing. In: GENKO, R. et al. **Molecular basis of periodontal disease**. Whashington: American Society for Microbiology. v. 34, p. 427-437, 1994.

SALATA, L.A.; SVERZUT, C.E.; XAVIER, S.P. Recent advances in use of glass ionomers: bone substitutes. **Rev Odontol USP**, v. 13, n. 2, p. 203-207, 1999.

SASANALUCKIT, P.; ALBUSTANY, K.R.; DOHERTY, P.J.; WILLIAMS, D.F. Biocompatibility of glass-ionomer cements. **Biomaterials**, v. 14, p. 906-916, 1993.

SCHALLHORN, R.G. Postoperative problems associated with iliac transplants. **J Periodontol**, v. 43, p. 3-9, 1972.

SCHIMITT-FOURNIE, J.A.; SERTL, G.O.; SKONDIA, V. The use of a biocompatible orthopaedic polymer in the treatment of loose total hip prostheses. **J Int Med Res**, v. 17, n. 3, p. 254-261, 1989.

SHAPOFF, C.A.; BOWERS, G.M.; LEVY, B.; MELLONIG, J.T.; YUKNA, R.A.

The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. **J Periodontol**, v. 51, n. 11, p. 625-630, 1980.

SHAPOFF, C.A.; ALEXANDER, D.C.; CLARK, A.E. Clinical use of a

bioactive glass particulate in the treatment of human osseous defects. **Compendium Continuing Educ Dent**, v. 18, p. 352-358, 1997.

SOUZA, R.P.; LEITE, M. Óleo de ouro. **Globo Ciência**,

v. 49, n. 5, p. 14-15, agosto 1995.

STAHL, S.; FROUM, S.; KUSHNER, L. Healing responses of human teeth

following the use of debridement grafting and citric acid root conditioning II. Clinical and histologic observations: one year post-surgery. **J Periodontol**, v. 54, p. 325-338, 1983.

TRACY, B.M.; DOREMUS, R.H. Direct electron microscopy studies of the

bone-hydroxylapatite interface. **J Biomed Mater Res**, v. 18, n. 7, p. 719-726, 1984.

URIST, M.R. Bone: formation by autoinduction. **Science**,

v. 150, n. 3698, p. 893-899, Nov. 1965.

URIST, M.R.; DE LANGE, R.J.; FINERMAN, G.A.M.; Bone cell differentiation and growth factors. **Science**, v. 220, p. 680-683, 1983.

VILARINHO, R.H.; HETEM, S. Implante de resina poliuretana vegetal na camara anterior do olho de camundongo. **Odonto 2000 - Odontologia do Século XXI**, v. 1, n.00, p. 25-29, 1996.

WILLIAMS, D.F. Definitions in Biomaterials, New York, Elsevier, 1987.
Apud: MARCANTÔNIO JÚNIOR, E; MARCANTÔNIO, R.A.C.; CIRELLI, J.A. Regeneração óssea: vertical e horizontal. In: TUNES, U.R. **Atualização em periodontia e implantodontia**. São Paulo, Artes Médicas, 1999, p. 295-316.

WILSON, A.D.; Mc LEAN, J. **Glass-ionomer cements**. Chicago, Quintessence, 1989.

WOOD, D.; HILL, R. Glass ceramic approach to controlling the properties of a glass-ionomer bone cement. **Biomaterials**, v. 12, p. 164-170, 1991.

10 . APÊNDICE

TABELA 1 - Volume percentual de TRABÉCULAS ÓSSEAS no terço apical do alvéolo dental de ratos controles e implantados, nos períodos de 2 e 6 semanas após a exodontia ou exodontia + implante.

	2 SEMANAS		6 SEMANAS	
	CONTROLE	IMPLANTE	CONTROLE	IMPLANTE
	56.6	51.6	66.1	69.6
	54.0	62.8	77.7	59.6
	60.4	28.9	71.7	69.8
	61.2	47.0	75.2	60.0
	53.6	18.6	74.2	52.9
	50.3	43.9		59.3
		59.0		71.0
		46.8		
Mediana	55.3 ^(AB)	46.9 ^(A)	74.2 ^(C)	60.0 ^(B)
Percentil 25%	53.6	36.4	70.3	59.4
Percentil 75%	60.4	55.3	75.8	69.7

Letras diferentes assinalam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (A ≠ B ≠ C, $\alpha = 0,05$).

Teste de Kruskal-Wallis: $H = 16,32$; $P(H_0) = 0,10\%$

Teste de Mann-Whitney (após acusada a significância da diferença entre alguns dos grupos):

Grupos	Decisão	Nível de Significância
Controle 2 sem. x Implante 2 sem.	não-significante	----
Controle 2 sem. x Controle 6 sem.	significante	$\alpha = 0,001$
Controle 2 sem. x Implante 6 sem.	não-significante	----
Implante 2 sem. x Controle 6 sem.	significante	$\alpha = 0,001$
Implante 2 sem. x Implante 6 sem.	significante	$\alpha = 0,001$
Controle 6 sem. x Implante 6 sem.	significante	$\alpha = 0,05$

TABELA 2 - Volume percentual de TECIDO CONJUNTIVO no terço apical do alvéolo dental de ratos controles e implantados, nos períodos de 2 e 6 semanas após a exodontia ou exodontia + implante.

	2 SEMANAS		6 SEMANAS	
	CONTROLE	IMPLANTE	CONTROLE	IMPLANTE
	43,1	34,8	19,2	36,6
	39,0	67,0	27,8	30,0
	37,6	46,7	23,7	38,4
	46,0	49,0	25,8	43,5
	49,7	78,2	33,2	37,9
	40,7	50,7		28,0
		37,4		30,2
		50,9		
Mediana	41,9 ^(A)	49,5 ^(A)	25,8 ^(B)	36,6 ^(C)
Percentil 25%	39,0	42,0	22,6	30,0
Percentil 75%	46,0	58,9	29,1	38,3

Letras diferentes assinalam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (A ≠ B ≠ C, $\alpha = 0,05$).

Teste de Kruskal-Wallis: $H = 16,20$; $P(H_0) = 0,10\%$

Teste de Mann-Whitney (após acusada a significância da diferença entre alguns dos grupos):

Grupos	Decisão	Nível de Significância
Controle 2 sem. x Implante 2 sem.	não-significante	----
Controle 2 sem. x Controle 6 sem.	significante	$\alpha = 0,001$
Controle 2 sem. x Implante 6 sem.	significante	$\alpha = 0,05$
Implante 2 sem. x Controle 6 sem.	significante	$\alpha = 0,001$
Implante 2 sem. x Implante 6 sem.	significante	$\alpha = 0,01$
Controle 6 sem. x Implante 6 sem.	significante	$\alpha = 0,05$

TABELA 3 - Volume percentual de COÁGULO SANGÜÍNEO no terço apical do alvéolo dental de ratos controles e implantados, nos períodos de 2 e 6 semanas após a exodontia ou exodontia + implante.

	2 SEMANAS		6 SEMANAS	
	CONTROLE	IMPLANTE	CONTROLE	IMPLANTE
	2.7	1.6	0.7	0.2
	2.9	2.3	3.1	3.7
	0.6	4.1	0.6	0.2
	1.2	4.0	1.1	1.6
	0.4	3.2	0.0	3.6
	0.0	5.4		2.8
		3.6		0.9
		2.4		
Mediana	0.9 ^(A)	3.4 ^(B)	0.7 ^(A)	1.6 ^(AB)
Percentil 25%	0.4	2.3	0.4	0.4
Percentil 75%	2.7	4.0	1.6	3.4

Letras diferentes assinalam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (A ≠ B, $\alpha = 0,01$).

Teste de Kruskal-Wallis: $H = 8,34$; $P(H_0) = 3,95\%$

Teste de Mann-Whitney (após acusada a significância de diferença entre alguns dos grupos):

Grupos	Decisão	Nível de Significância
Controle 2 sem. x Implante 2 sem.	significante	$\alpha = 0,01$
Controle 2 sem. x Controle 6 sem.	não-significante	-----
Controle 2 sem. x Implante 6 sem.	não-significante	-----
Implante 2 sem. x Controle 6 sem.	significante	$\alpha = 0,01$
Implante 2 sem. x Implante 6 sem.	não-significante	-----
Controle 6 sem. x Implante 6 sem.	não-significante	-----