

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

FÁBIO PINTO NOGUEIRA

**REGENERAÇÃO ÓSSEA COM HIDROXIAPATITA GRANULADA.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM CALVÁRIA DE COELHOS**

**BAURU
2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

FÁBIO PINTO NOGUEIRA

**REGENERAÇÃO ÓSSEA COM HIDROXIAPATITA GRANULADA.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM CALVÁRIA DE COELHOS**

Dissertação apresentada à Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Biologia Oral, sob orientação do Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães.

**BAURU
2007**

Ficha Catalográfica elaborada pela seção técnica de aquisição e tratamento da informação
Divisão técnica de biblioteca e documentação – USC – Bauru
Bibliotecária responsável: Danielle Pinheiro

N778r	<p>Nogueira, Fabio Pinto</p> <p>Regeneração óssea com hidroxiapatita granulada: estudo experimental em calvária de coelhos/ Fábio Pinto Nogueira -- 2007</p> <p>102 f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães</p> <p>Dissertação de Mestrado (Biologia Oral) - Universidade do Sagrado Coração – Bauru - SP.</p> <p>1.Regeneração óssea 2. Morfometria 3. Defeito ósseo crítico 4. Substituto ósseo 5. Hidroxiapatita 6. Coelhos I.Guimarães, Sérgio Augusto II. Título</p>
-------	--



Universidade do Sagrado Coração

PRPPG
Pró-reitoria
de Pesquisa e
Pós-graduação

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE FÁBIO PINTO NOGUEIRA, ALUNO(A) DO PROGRAMA DE MESTRADO EM BIOLOGIA ORAL, DA UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO, USC, BAURU.

No dia 21 de agosto de 2007, em sessão pública, na Universidade do Sagrado Coração, na presença da Banca Examinadora, composta pelos(as) docentes: *Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães*, Professor(a) Doutor(a) da Universidade do Sagrado Coração; *Prof.ª Dr.ª Angela Mitie Otta Kinoshita*, Professor(a) Doutor(a) da Universidade do Sagrado Coração; e *Prof. Dr. José Roberto Ferreira Santiago*, Professor(a) Doutor(a) do(a) UNESP - Faculdade de Medicina de Botucatu; tiveram início os trabalhos de julgamento da Prova de DISSERTAÇÃO de MESTRADO para obtenção do Grau de Mestre em BIOLOGIA ORAL, pelo(a) mestrando(a) **FÁBIO PINTO NOGUEIRA**. Os(as) examinadores(as), observando o tempo regulamentar, argüiram o(a) candidato(a) sobre a DISSERTAÇÃO que o(a) mesmo(a) havia apresentado, intitulada "*Regeneração óssea com hidroxiapatita Granulada. Estudo Experimental em Calvária de Coelho*", tendo o(a) candidato(a) procurado explicar e/ou rebater as críticas formuladas pelos(as) argüidores(as). Após a conclusão da prova de DISSERTAÇÃO de MESTRADO, foi suspensa a sessão pública e, em sessão secreta, os(as) argüidores(as) atribuíram seus conceitos. Reaberta a sessão pública, foram anunciados os resultados: *Prof. Dr. José Roberto Ferreira Santiago*, aprovado; *Prof.ª Dr.ª Angela Mitie Otta Kinoshita*, aprovado; *Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães*, aprovado. Conceito Final: aprovado, fazendo jus, portanto, ao título de Mestre em BIOLOGIA ORAL, de acordo com o artigo 43 do Regimento Geral da Pós-graduação da USC. Nada mais havendo a registrar, foi lavrada a presente ata, que vai por mim assinada, Angela Lemes de Moraes e pelos (as) Senhores (as) Membros da Comissão Examinadora. Universidade do Sagrado Coração – USC, ao(s) 21 de agosto de 2007.

Prof. Dr. José Roberto Ferreira Santiago

Prof.ª Dr.ª Angela Mitie Otta Kinoshita

Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães
(Presidente da Banca e Orientador)

Angela Lemes de Moraes
(Secretária *Stricto Sensu*)

Dedico esse trabalho à minha avó materna, Deise de Almeida Leite Marques, “Dona Deise”, pelo exemplo de bondade e respeito às pessoas humildes. Pelo caminho que trilhou em sua vida de amor ao próximo. Pelo carinho, zelo e afeto que dispensou, dispensa e sempre dispensará aos seus netos.

Aos meus pais, que souberam dosar amor, honra e disciplina na minha formação como ser humano. Foram exemplos de trabalho e dedicação forjando meu caráter desde minha tenra infância.

Aos meus queridos irmãos, Lisiane, Nivaldo, Ricardo, e meus sobrinhos, Lucas e Nathália, que me amam e torcem por mim.

À minha esposa Karina, que tanto amo, pela sua compreensão nas horas difíceis e na minha ausência, privando-se da minha convivência, permitindo, assim, o meu crescimento profissional.

Ao meu filho Gabriel, que, com sua chegada, dá-me forças para continuar lutando e vencendo os desafios que a vida me impõe.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me abençoar e ter me dado força e saúde para concluir minhas tarefas.

Ao Professor Doutor Sérgio Augusto Catanzaro, que me permitiu ter acesso e compartilhar sua mais absoluta inteligência e pela confiança depositada em minha capacidade.

Agradeço à Cibele Ereno, pela sua presteza e força de vontade ímpar, sem a qual seria impossível a confecção desse trabalho. Tenho certeza de que, com sua dedicação, a vida lhe guarda uma grata surpresa.

Aos meus amigos, Tatiana e Leandro, pela disponibilidade e auxílio nos procedimentos cirúrgicos desse trabalho.

À Professora Doutora Ângela Kinoshita, pelo incentivo e ensinamentos durante minha jornada nessa Universidade.

Ao professor Orivaldo Tavano, pelo seu conhecimento e competência, estando sempre disponível para auxílios nos percalços desse trabalho.

A todos os professores do curso de Mestrado em Biologia Oral, pela dedicação com que acompanham o curso.

Aos funcionários Angela Moraes e Ricardo Borgo, pela amizade e paciência que tiveram comigo desde o início dessa jornada.

A todos os funcionários da Pró-reitoria de Pós-graduação que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Objetivo: A importância da regeneração óssea é diretamente proporcional à dificuldade de reparar grandes falhas ósseas. Perdas ósseas de grande magnitude como as produzidas por traumas, infecções, tumores, são um desafio à ciência médica. Sabendo da limitação dos estoques ósseos autógenos e da dificuldade do uso medicinal de outros enxertos, passamos a considerar o uso de substâncias substitutas para o preenchimento e para a reparação dessas perdas. **Métodos:** O presente estudo utilizou a hidroxiapatita granulada em defeitos ósseos em calvária de coelhos Nova Zelândia. Foram utilizados 44 coelhos, divididos em grupos de 32 coelhos no grupo controle e 12 no grupo experimental: Os defeitos confeccionados não receberam nenhuma barreira de proteção. No grupo experimental, foi adicionado ao defeito da calvária a hidroxiapatita granulada, misturada ao coágulo sanguíneo da própria ferida. Avaliações foram realizadas com 15, 30, 60, 120 dias de pós-operatório, através de métodos de histomorfometria e radiografias digitais. **Resultados:** A análise microscópica demonstrou a ausência de reação inflamatória do tipo corpo estranho e formação de material osteóide firmemente aderido à superfície dos grânulos de hidroxiapatita, indicando processo de osteocondução no grupo experimental. As radiografias digitalizadas mostraram a formação de tecido ósseo já com 30 dias da cirurgia nesse grupo. Destacamos que a hidroxiapatita granulada mostrou degradação e substituição por osso autógeno. Houve formação óssea imatura nos períodos de 15, 30 e 60 dias e formação óssea madura nos períodos de 30 e 60 dias com $p < 0,05$. **Conclusão:** Concluímos pela histocompatibilidade da hidroxiapatita, além das propriedades de enchimento e manutenção da estabilidade mecânica e volumétrica no defeito ósseo crítico.

Palavras-chave: regeneração óssea; morfometria; defeito ósseo crítico; substituto ósseo; hidroxiapatita; coelhos.

ABSTRACT

Objective: The importance of bone regeneration is directly proportional to the difficulty to repair large bone defects. Large bone losses, such as those caused by trauma, infections or tumors, are a great challenge to medical practice. Due to the limited autogenous bone available and difficult utilization of other grafts for medical purposes, the use of substitute materials to fill and repair these losses has been considered. **Methods:** The present study employed granulated hydroxyapatite in bicortical bone defects in calvarias of New Zealand rabbits. A total of 44 rabbits were used, divided into 32 rabbits in the control group and 12 in the study group. Defects in the control group did not receive any protective barrier. In the study group, granulated hydroxyapatite mixed with blood clot of the wound was placed in calvaria defects. Evaluations were performed at 15, 30, 60 and 120 days postoperatively, by histomorphometry and digital radiographs. **Results:** Microscopic analysis revealed absence of foreign body inflammatory reaction and formation of osteoid material firmly attached to the surface of hydroxyapatite granules, indicating an osteoconductive process. The digital radiographs revealed formation of bone tissue at 30 days after surgery. It should be highlighted that the granulated hydroxyapatite presented degradation and replacement by autogenous bone. There was formation of immature bone at 15, 30 and 60 days and of mature bone at 30 and 60 days, with $p < 0.05$. **Conclusion:** This demonstrated the histocompatibility of hydroxyapatite, as well as the properties of filling and mechanical and volumetric stability in critical size bone defect.

Key words: bone regeneration; morphometry; critical size defect; bone substitute; hydroxyapatite; rabbits.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Delineamento experimental.....	39
Figura 2 – Material cirúrgico utilizado.....	40
Figura 3 – Anestesia local após anestesia geral.....	41
Figura 4 – Incisão interessando porção mediana de calvária.....	41
Figura 5 – Confeção de defeito ósseo de forma elíptica com motor cirúrgico sob irrigação.....	42
Figura 6 – Defeito ósseo de forma elíptica.....	43
Figura 7 – Defeito ósseo preenchido com massa hidroxiapatita/sangue.....	43
Figura 8 – Sutura final de couro cabeludo em pontos contínuos.....	44
Figura 9 – Overdose da anestésicos para a eutanásia.....	45
Figura 10 – Anestésicos usados para anestesia e eutanásia.....	45
Figura 11 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do <i>Sistema Digora for Windows 1.51</i> , ampliada quatro vezes no monitor. B. Avaliações da imagem radiográfica do período zero dia, usando a ferramenta <i>Density Measurements área</i> , do programa <i>Digora for Windows 1.51</i> .	51
Figura 12 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do <i>Sistema Digora for Windows 1.51</i> , ampliada quatro vezes no monitor. B. Avaliações da imagem radiográfica do período de quinze dias, usando a ferramenta <i>Density Measurements área</i> , do programa <i>Digora for Windows 1.51</i> .	52
Figura 13 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do <i>Sistema Digora for Windows 1.51</i> , ampliada quatro vezes no monitor. B. Avaliações da imagem radiográfica do período de trinta dias, usando a ferramenta <i>Density Measurements área</i> , do programa <i>Digora for Windows 1.51</i> .	54
Figura 14 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do <i>Sistema Digora for Windows 1.51</i> , ampliada quatro vezes no monitor. B. Avaliações da imagem radiográfica do período de sessenta dias, usando a ferramenta <i>Density Measurements área</i> , do programa <i>Digora for Windows 1.51</i> .	55
Figura 15 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do <i>Sistema Digora for Windows 1.51</i> , ampliada quatro vezes no monitor. B. Avaliações da imagem radiográfica do período de cento e vinte dias, usando a ferramenta <i>Density Measurements área</i> , do programa <i>Digora for Windows 1.51</i> .	57
Figura 16 – Resultados da medidas da densidade e dimensão dos <i>pixels</i> das áreas selecionadas da imagem radiográfica do defeito cirúrgico do grupo experimental nos períodos de avaliação: zero, 15, 30, 60 e 120 dias.	58
Figura 17 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 15 dias no grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.	60
Figura 18 – Corte histológico do defeito com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 15 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original 10x.	60
Figura 19 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 30 dias no grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.	61
Figura 20 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 30 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.	62
Figura 21 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 60 dias do grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.	63
Figura 22 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 60 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.	64
Figura 23 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 120 dias. Grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.	64
Figura 24 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 120 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.	65
Figura 25 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de osso imaturo, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * p < 0,05.	69
Figura 26 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de osso maduro, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * p < 0,05.	70

Figura 27 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de estroma fibrovascular, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * p< 0,05.....	70
Figura 28 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de trabéculas ósseas obtidos, por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * p< 0,05.	71
Figura 29 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de HA no grupo experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral.	71
Figura 30 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular e trabéculas ósseas no grupo controle, em função dos períodos de observação.	72
Figura 31 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular, trabéculas ósseas e hidroxapatita no grupo experimental, em função dos períodos de observação.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das biocerâmicas.....	29
Tabela 2 – Valor médio dos <i>pixels</i> e o desvio padrão e a dimensão dos defeitos ósseos em relação aos períodos de avaliação, pelo programa <i>Digora for Windows 1.51</i>.	58
Tabela 3 – Valor mínimo, máximo e médio da densidade dos <i>pixels</i> nos defeitos ósseos em relação aos períodos de avaliação, pelo programa <i>Digora for Windows 1.51</i>.....	59
Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular e trabéculas ósseas no grupo controle e experimental e hidroxiapatita (apenas grupo experimental) em defeitos ósseos obtidos por craniotomia em função dos períodos de observação.	69

LISTAS DE SIGLAS

μm	Micrômetro
ANOVA	Análise de variância
BMP	Proteína Morfogenética Óssea
BMPb-HA	Proteína Morfogenética Óssea associada à Hidroxiapatita
$\text{Ca}_{10}((\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$	Hidroxiapatita
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Fosfato tricálcico
cm	Centímetro
CO_3^{2-}	Fosfato tricálcico (TCP)
HA	Hidroxiapatita
HCA	Hidroxicarboxiapatita
kVp	Quilovolt
mA	Miliampére
mAs	Miliampére por segundo
Mg^{2+}	Íon Magnésio
mm	Milímetro
pixels	Unidade de área digital
PTFE	Politetrafluoretileno
PVPI	Polivinilpirrolidona
Sr^{2+}	Íon Estrôncio
USC	Universidade do Sagrado Coração

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 PERDAS E DEFEITOS ÓSSEOS	21
2.2 ENXERTOS ÓSSEOS	22
2.3 SUBSTITUTOS ÓSSEOS	23
2.4 BIOMATERIAIS	25
2.4.1 BIOPOLÍMEROS ABSORVÍVEIS	25
2.4.2 BIOPOLÍMEROS NÃO ABSORVÍVEIS	26
2.4.3 BIOVIDROS	28
2.4.4 BIOCERÂMICAS	28
2.4.4.1 SÍNTESE E MORFOLOGIA DE BIOCERÂMICAS	29
2.4.4.2 BIOCERÂMICAS DE HIDROXIAPATITA	31
3 PROPOSIÇÃO	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 LOCAL E GRUPO DE ESTUDO.....	38
4.2 MATERIAL, REAGENTES E SOLUÇÕES	39
4.3 MATERIAL CIRÚRGICO	39
4.4 TÉCNICAS E PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	40
4.5 ANÁLISES DAS AMOSTRAS	44
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5 RESULTADOS	50
5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	50
5.1.1 GRUPO CONTROLE.....	50
5.1.2 GRUPO EXPERIMENTAL	50
5.2 IMAGENS RADIOGRÁFICAS DIGITALIZADAS	50
5.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA	59
5.3.1 PERÍODO DE 15 DIAS	59
5.3.1.1 GRUPO CONTROLE.....	59
5.3.1.2 GRUPO EXPERIMENTAL	60
5.3.2 PERÍODO DE 30 DIAS	61
5.3.2.1 GRUPO CONTROLE.....	61
5.3.2.2 GRUPO EXPERIMENTAL	61
5.3.3 PERÍODO DE 60 DIAS	62
5.3.3.1 GRUPO CONTROLE.....	62
5.3.3.2 GRUPO EXPERIMENTAL	63
5.3.4 PERÍODO DE 120 DIAS.....	64
5.3.4.1 GRUPO CONTROLE.....	64
5.3.4.2 GRUPO EXPERIMENTAL	65
5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	65
DISCUSSÃO	73
CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	92
ANEXO B – GRÁFICOS, FIGURAS E TABELAS	93

INTRODUÇÃO

Grandes perdas ósseas no esqueleto humano são de difícil manejo, pois muitas vezes não podem ser supridas facilmente, uma vez que, constantemente, deparamo-nos com pacientes em que há falta de reserva óssea ideal, crianças com pouco estoque ósseo, baixa compleição esquelética e outras particularidades que dificultam sobremaneira a captação dessa reserva óssea.

No organismo adulto, a evolução da regeneração de uma lesão óssea recapitula vários estágios do crescimento esquelético, na mesma ordem temporal, podendo ocorrer de forma indireta, com formação de tecido de granulação mesenquimal, cartilagem, osso imaturo e osso remodelado; ou de forma direta, com formação imediata de calo osteogênico constituído, em seqüência, por tecido de granulação mesenquimal, osso imaturo não osteonal e osso remodelado osteonal maduro. Este processo resulta na recuperação completa da estrutura óssea original, sem qualquer cicatriz detectável, tornando o tecido ósseo neoformado indistinguível do tecido derivado da embriogênese (SCHENK, 1994).

A regeneração do tecido ósseo exibe várias características singulares e se modifica não só conforme as diferentes localizações anatômicas, como também dentro de um mesmo osso, requerendo, por vezes, a utilização de procedimentos diferenciados para alcançar a regeneração óssea desejada.

Determinadas magnitudes de perdas ósseas têm capacidade de se regenerarem e o próprio arcabouço ósseo local consegue uma neoformação e o preenchimento do defeito. Outros defeitos ósseos podem não ter a mesma capacidade de regenerarem por si só. É o conceito de defeito crítico, em que é provocado um defeito ósseo que o organismo por si só não consegue preencher novamente com tecido ósseo, sendo invadido primeiramente por tecido fibroso que ocupa o espaço desta perda e impede a neoformação óssea. Esse defeito

crítico é particular em sua dimensão e varia com cada tipo de osso, da espécie e do local, entre outros fatores (SCHMITZ, 1986; CONNOR, 2006).

O crânio é formado por um mosaico de componentes individuais, cada um com crescimento próprio durante o desenvolvimento e para manter sua estabilidade promovem estratégias diferenciadas para a restauração de sua integridade morfológica e funcional diante de uma grande perda óssea. Enxertos utilizando ossos autógenos de origem intramembranosa, embora constituam a modalidade de tratamento de maior preferência, geram dificuldades devido à taxa de reabsorção irregular ou apresentam limitações na estabilidade mecânica do defeito. Ossos de origem endocondral, freqüentemente da crista ilíaca e costela, apresentam reabsorção acelerada quando implantados na calvária (BELMONTE et al., 2005). A insuficiência desse tecido para a reconstrução pode, ainda, inviabilizar procedimentos com ossos autógenos; outras limitações e desvantagens incluem complicações como infecções, hematomas, morbidade da área doadora, dores prolongadas e perda sensorial (ZHANG, 2001).

Dessa forma, têm sido propostos tratamentos para o reparo de grandes defeitos ósseos que utilizam diversos princípios de biologia óssea como osteoindução, osteocondução e osteopromoção.

Para contornar o problema de reparação de defeitos ósseos críticos, foram pesquisadas outras maneiras para estimular a regeneração óssea e impedir a invasão de tecido conjuntivo que impossibilita o processo de reparo ósseo.

Uma das possibilidades é o emprego de enxertia óssea, tais como os autógenos, alógenos, e heterólogos ou até mesmo substitutos ósseos. O osso autógeno é retirado do próprio indivíduo; os alógenos são da mesma espécie e os heterólogos retirados de outra espécie.

Segundo Schenk (1994), além da osteocondução, outras condições ideais para o crescimento ósseo são apresentadas pelo osso autógeno esponjoso, tais como:

- Densidade e volume total 20 a 30% (porosidade 70 a 80%);
- Diâmetro dos bastonetes ou feixes em torno de 200 μ m;
- Poros com tamanho médio intratrabecular de aproximadamente 500 μ m;
- Amplas interligações dos poros.

A obtenção de enxerto autógeno promove uma segunda intervenção cirúrgica sujeita a algumas complicações, tais como infecção, aumentando ainda a morbidade. O uso de enxertos heterólogos e xenógenos tem como riscos principais a não-compatibilidade e as contaminações.

Materiais osteocondutores são substâncias que não promovem, por si, a formação de tecido ósseo, servindo apenas de arcabouço para a invasão de tecido ósseo vizinho em defeitos ósseos críticos. Servem de barreira física à ocupação dos tecidos moles e sua arquitetura tridimensional porosa permite a formação de neovasos e a invasão de células indiferenciadas osteoprogenitoras. Deve ter duas propriedades, a saber: estrutura com material bioinerte/bioativo e ter forma para facilitar a deposição óssea tecidual. Material bioinerte/bioativo é aquele que fornece união química e ligação firme ao osso. São exemplos a hidroxiapatita (HA) natural, HA de osso bovino, HA sintética, sulfato de cálcio, fosfato beta tricálcico, carbonato de cálcio e vidro bioativo (CALONGNE, 2001).

Osteopromoção é o uso de barreira física na forma de membrana oclusiva biocompatível, reabsorvível ou não, para proteção de defeito ósseo, separando-o dos tecidos moles altamente proliferativos, esperando que as células de linhagem osteogênica ocupem esse local formando novo tecido ósseo.

A ausência de um substituto biológico que atenda perfeitamente às necessidades cirúrgicas levou diversos pesquisadores a procurarem biomateriais sintéticos para eventuais substituições ósseas. Nesse sentido, esforços foram dirigidos para se conseguir um substituto ósseo adequado. Foram estudados diversos materiais com propriedades que permitissem seu uso em seres vivos sem ou com poucas reações lesivas ao organismo hospedeiro.

Alguns materiais alternativos vêm sendo estudados, como polímeros, hidrogéis e cerâmicas, entre outros, baseados em materiais naturais ou sintéticos, abrindo um amplo espectro de pesquisas e aplicações.

Os polímeros biológicos constituem uma classe de materiais biocompatíveis, podendo ser naturais ou sintéticos. Os mais utilizados em pesquisas são o silicone, ácido polilático, ácido poliglicólico, polietileno, polipropileno, metilmetacrilato e ao poliuretano.

Segundo Constantino (1992), o implante ideal deve possuir algumas características como:

- Forte o suficiente para tolerar traumas na região;
- Resistente a infecções;
- Maleável para contornar defeitos;
- Estável por longo tempo;
- Pouca resposta inflamatória;
- Radiopacidade para visualização em diagnóstico de imagens;
- Não ser alérgico e carcinogênico;
- Sintético (diminui possibilidade de transmissão de doenças).

A utilização desses materiais como substitutos de tecidos ósseos levaram os estudiosos a considerar a influência desses na resposta tecidual e reação interfacial. Fatores

como biocompatibilidade, forma, tipo de superfície e condições do tecido receptor parece interferir nos resultados obtidos (ANDRADE, 1997).

Segundo Hench (1991), os biomateriais utilizados para implantes ósseos são classificados em quatro tipos principais, de acordo com a resposta à interface tecido vivo/implante.

Tipo 1 – material denso (microporoso), quase inerte

Tipo 2 – material poroso (macroporoso), quase inerte

Tipo 3 – material denso (microporoso), superfície reativa

Tipo 4 – material reabsorvível

Os materiais tipo 1 são aqueles que provocam a formação de uma cápsula fibrosa de espessura, que varia de acordo com o implante e separa o material do tecido ósseo hospedeiro. Esta cápsula, apesar de ser adjacente ao tecido, não é ligada química ou biologicamente ao implante e resulta no movimento da interface tecido/biomaterial, quando sob estresse, limitando a vida útil de muitos materiais. Exemplos deste tipo de material são as cerâmicas de alumina densa, borracha de silicone, aço inoxidável.

Os do tipo 2 permitem o crescimento de tecido ósseo através de seus poros, resultando em uma ligação mecânica que aumenta a resistência do implante devido ao grande entrelaçamento ocorrido. Exemplos são as cerâmicas porosas de alumina, cerâmicas porosas de hidroxiapatita, metais revestidos com hidroxiapatita.

Os do tipo 3 induzem uma reação biológica, resultando na formação de osso na superfície do implante através de uma ligação química, ao contrário do que fazem os do tipo 1 e 2. Exemplos são biovidros, cerâmicas vítreas bioativas.

Os materiais tipo 4 são desenvolvidos para serem substituídos por tecido em

regeneração ao mesmo tempo em que sofrem degradação. Exemplos são o sulfato de cálcio e o fosfato de cálcio.

Substâncias como o ácido polilático e ácido poliglicólico são materiais biossintéticos, isentos de riscos de patologias cruzadas, que apresentam várias aplicabilidades biológicas (ALPISTE-ILLUECA et al., 2006).

Em nossa interpretação, na implantodontia, pode ser empregado nos procedimentos de regeneração óssea guiada. Sob as formas de pó, espuma e gel, utilizadas separadamente ou em conjunto, visa à substituição dos materiais de enxertos convencionais, favorecendo a proliferação das células osteogênicas em seu interior. Possui um tempo de reabsorção variável entre três/quatro até seis/oito meses e não impede a ossificação local.

Materiais como gesso, cimento acrílico (metilmetacrilato) vêm sendo utilizados ao longo do tempo; contudo, apresentam inconvenientes mecânicos e biológicos e podem causar reações lesivas adversas sobre os tecidos circunvizinhos (NI, 2006).

O vidro bioativo é um material composto de sais de cálcio e sódio, fosfato e dióxido de sílica), na forma granular está disponível para uso de tratamento de defeitos intra-ósseos decorrentes da doença periodontal, exodontias ou perdas ósseas ortopédicas. As partículas são irregulares e variam de 90 a 710 μ m, *in vivo*, o vidro bioativo desencadeia uma série de reações químicas, resultando na formação de câmaras de hidroxicarbonatoapatita (HCA) na superfície das partículas. Moléculas orgânicas, como sulfato de condroitina e glicosaminoglicanas, incorporam-se a estas câmaras, contribuindo para a atuação de células osteogênicas que levam à sua ossificação (ANDEREEG; ALEXANDER; FRIEDMAN, 1999).

As cerâmicas bioativas (fosfato de cálcio) compõem a maior família de materiais aloplásticos usados em procedimentos para incremento do volume ósseo, em que estão incluídos o fosfato de cálcio e as hidroxiapatitas sintéticas.

Os fosfatos de cálcio (hidroxiapatita – HA, fosfato tricálcio – TCP) apresentam excelente biocompatibilidade e se ligam diretamente ao osso, sem interposição de qualquer outro tipo de tecido. O cálcio e o fosfato são necessários para a mineralização de osso novo no local do enxerto. Uma das fontes minerais para o tecido ósseo é o material cerâmico implantado. Pela análise da literatura, ficou claro que a formação óssea pode ser otimizada quando estes minerais estão prontamente disponíveis no local do implante. Alguns dos compostos do fosfato de cálcio envolvidos na formação óssea e mineral ou como implantes são: dicálcio fosfato desidratado, ortofosfato de cálcio, fosfato de cálcio amorfo, tricálcio fosfato e hidroxiapatita. Estudos que avaliaram a biocompatibilidade destas biocerâmicas não encontraram reações de corpo estranho ou outras formas de resposta inflamatória crônica (KURASHINA, 1998).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERDAS E DEFEITOS ÓSSEOS

Perdas ósseas ocorrem em grande variedade de situações e sua reconstituição é importante para prover o esqueleto de estabilidade mecânica e reabilitação completa do organismo. Essas perdas podem ocorrer por consequência de tumores, infecções, deformidades congênitas, traumas, são comuns no dia-a-dia dos grandes centros médicos.

Os defeitos críticos, assim chamados por não permitirem reparação primária a contento, são de difícil manejo e requerem incremento de técnicas para o sucesso desses reparos. Ainda assim, permanecem discutíveis na literatura os pormenores envolvendo a conceituação desses defeitos. Ferreira et al. (2004) consideraram defeito crítico as ocorrências com magnitudes de 8mm de diâmetro em clavícula de ratos, preenchidos com hidroxiapatita sintética e concluíram que as BMPb-HA não são bons carreadores para as BMPs expressarem seu potencial indutor, além de reação inflamatória tipo corpo estranho que inibiu a formação óssea. Jaime et al. (2005) consideram que um defeito crítico ósseo experimental deve ser tão grande que não ocorra reparo espontâneo, pois só nesta situação o potencial osteogênico do implante, enxerto ou medicamento pode ser considerado real. Em seu trabalho, provocaram defeito ósseo de 8mm de diâmetro em calvária de ratas adultas. O defeito intra-ósseo de tamanho crítico seria aquele de menor tamanho, que não pode ser reparado espontaneamente durante toda a vida do animal, segundo o protocolo sugerido por Schmitz e Hollinger (1990).

2.2 ENXERTOS ÓSSEOS

O uso de enxertos ósseos tem se mostrado de grande valor. Os enxertos ósseos autógenos têm propriedades exclusivas de compatibilidade entre doador e receptor e, apesar da morbimortalidade aumentada, é indicado quando possível.

O termo enxerto é ainda vago na literatura e sua definição a despeito da origem varia conforme definição de cada autor. Garg 2004, define enxerto ósseo em três tipos primários: Autógenos, alógenos e aloplásticos. Descreve os autógenos como sendo capaz de osteogênese e osteoindução. Os alógenos como sendo retirados de cadáveres, com propriedades osteocondutoras e possíveis propriedades indutoras, mas não osteogênicas. Aloplásticos são capazes apenas de osteocondução. Ainda, segundo o autor, enxertos xenógenos são uma subclassificação dos alógenos.

Enxertos autólogos mostraram-se úteis na reconstrução de falhas ósseas, apesar de alguns riscos, como transmissão de doenças, incompatibilidade, infecção e outros. Apresenta ainda como inconvenientes, como a limitada disponibilidade do material e a morbidade cirúrgica no local doador. Vialogo (1999) enalteceu a superioridade do enxerto ósseo autólogo para fechamento de orifícios de trepanação em crânio humano submetidos a neurocirurgias. Considerou-o, ainda, superior nos aspectos de morbimortalidade, econômicos e biológicos. Enneking et al. (1975) usaram enxertos autógenos de fíbula de cães em transplantes contralaterais e notaram que esse tipo de enxerto osteointegrou e levou cerca de 48 semanas para remodelação.

Enxertos heterólogos mostraram-se úteis na reconstrução de falhas ósseas, apesar de alguns riscos, como transmissão de doenças, incompatibilidades, infecções entre outras. Park et al. (2004), em seu trabalho com fêmures de coelhos, notaram que enxerto ósseo bovino associado mostrou-se, tanto química como morfológica e histologicamente, de grande

potencial de regeneração óssea e promissor papel como substituto ósseo autológico em defeitos ósseos. Gália et al. (2005) em seu estudo, considerando os resultados obtidos quanto à capacidade de osteointegração e antigenicidade, concluíram que utilização de enxertos ósseos heterólogos liofilizados pode ser uma alternativa na correção desses defeitos.

Tendo em vista a dificuldade e a limitação com esses enxertos ósseos, atualmente, vêm-se buscando alternativas para solução de defeitos que não podem ser tratados com enxertos ósseos.

2.3 SUBSTITUTOS ÓSSEOS

Os substitutos ósseos podem ser classificados de diversas maneiras, porém, atuam basicamente de duas formas: ou promovem o crescimento ósseo de forma ativa, ou servem como barreira para a penetração de tecidos competidores e de arcabouço tridimensional para a invasão de material ósseo. Segundo Ignácio (2002), tais substitutos têm despertado grande interesse no sentido de permitir o crescimento do tecido ósseo vizinho em sua estrutura (osteocondução) ou estimular a neoformação óssea do tecido hospedeiro adjacente (osteoindução). Essas substâncias indutoras podem ser celulares ou fatores de crescimento, tais como as proteínas morfogenéticas ósseas, colágeno, lipossomas, entre outras.

Ciani et al. (2006) utilizaram mistura de BMPs, hidroxiapatita, colágeno liofilizado e osso inorgânico envolvido por membrana de pericárdio bovino liofilizado em raios de coelhos. Comparado com o lado controle contralateral, notaram que a regeneração óssea foi inibida nos defeitos ósseos tratados com esse material. Franco et al. (2001) estudaram hidroxiapatita pura, associada a lipossoma, a colágeno e compararam ao grupo controle em tíbias de cães. Fizeram controle histopatológico com 8, 30, 60, 120, 180 dias e notaram a neoformação óssea no controle, hidroxiapatita pura e associada a lipossoma, não observado

no grupo com colágeno. Turk et al. (1993) compararam cinco grupos de coelhos com defeitos em crânio, com HA, HA + BMP, ácido polilático e poliglicólico e ácido polimetilmetacrilato + BMP e notaram melhor crescimento e neoformação óssea nos grupos que utilizaram elementos osteoindutores (BMPs) e osteocondutores associados.

Gomes et al. (2001) compararam matriz dentária desmineralizada em defeito de crânio de coelhos usando membrana amniótica humana no grupo, notaram que a remodelação óssea foi mais rápida no grupo com essa membrana. Nilsson et al. (1986) usaram BMPs de osso bovino em ulna de cães e demonstraram que essas proteínas são capazes de diferenciar outras células e células pró-osteogênica, melhorando o processo de regeneração óssea.

A osteointegração é definida como uma interligação estrutural e funcional entre um osso organizado e o implante, sendo que a formação de uma cápsula fibrosa na interface deveria ocorrer somente nas fases iniciais. Borges et al. (2000), usando tíbias de cães, implantaram hidroxiapatita sintética e compararam com o lado contralateral. Usando histologia e microscópio eletrônico, avaliaram a formação óssea e concluíram que a osteointegração da hidroxiapatita é semelhante ao processo normal de reabsorção-aposição óssea.

Dórea Neto (2004) estudou a artrodese do carpo em gatos, usando como enxerto a hidroxiapatita e fixando a artrodese com fixador externo. Após 60 dias, apesar da soltura dos pinos do fixador, havia sinais de osteointegração da artrodese. Figueiredo et al. (2004) em seu trabalho, compararam a osteointegração do osso autógeno, osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita de coral e poliuretano de mamona em defeitos ósseos de fêmures de coelhos. Notaram maior potencial osteogênico no osso autógeno, maior reação inflamatória no osso bovino desvitalizado. Hidroxiapatita e poliuretano foram invadidos por osso neoformado e concluíram que o osso bovino desvitalizado induz à reação tecidual guiada mais lenta que o osso autógeno, a hidroxiapatita e o poliuretano de mamona.

2.4 BIOMATERIAIS

As alternativas para a reparação incluem a utilização dos implantes de biomateriais, dentre eles os materiais metálicos, as cerâmicas e os biopolímeros reabsorvíveis ou não. Esses polímeros biológicos constituem uma classe de materiais biocompatíveis, tais como a poliuretana, o polietileno e polipropileno, silicone, ácido polilático, ácido poliglicólico e metilmetacrilato.

2.4.1 BIOPOLÍMEROS ABSORVÍVEIS

Hing et al. (2006) experimentaram implantes siliconados com hidroxiapatita em fêmures de coelhos e os compararam com o grupo controle apenas com HA, notando que a formação óssea era mais significativa nos elementos siliconados, desde a primeira semana até a vigésima segunda semana.

Elias et al. (1997), concluíram que implantes de ácido poliglicólico e polilático mostraram-se capazes de substituir implantes metálicos em fratura de tornozelos de humanos com a vantagem de uma perda gradual de dureza, chegando a seis semanas com dureza semelhante do osso *in vivo*. A degradação ocorre principalmente por hidrólise e, parcialmente, por processo enzimático. Imbronito (1999) estudou o uso de membranas de ácido polilático em defeitos em mandíbulas de cães, concluindo que houve importante neoformação óssea nos defeitos recobertos com membranas de ácido polilático, quando comparado ao grupo controle.

Poliuretanas são produtos alternativos compostos por polióis e pré-polímeros, sintetizados a partir de moléculas de ácidos graxos vegetais. Apresentam vantagens como a processabilidade, maleabilidade de temperatura de cura e controle de pico exotérmico na transição líquido-gel, flexibilidade de formulação e ausência de emissão de vapores tóxicos.

Ignácio et al., em 1997, empregaram a poliuretana da mamona em defeitos produzidos em raios de coelho, comprovaram a biocompatibilidade desse material, sem formação de cápsula fibrosa na interface osso-resina e verificaram que o material foi biocompatível, não apresentou reação tipo corpo estranho e permitiu a osteocondução. Barsam et al. (2003) pesquisaram a confecção dos espaçadores de polímero da mamona em tendões flexores de patas de coelhos e a compararam com espaçadores de silicone. Os achados permitiram concluir que a reação tecidual a ambos os materiais foi praticamente a mesma, demonstrando que o polímero de mamona é biocompatível e pode ser usado como espaçador.

2.4.2 BIOPOLÍMEROS NÃO ABSORVÍVEIS

Polímeros de polietileno, polipropileno e outros podem ser classificados de acordo com o material de fabricação, sendo basicamente de fibra de carbono ou de polímeros de hidrocarbonetos. Estes últimos, no entanto, são fabricados por diferentes empresas, apresentando diferenças quanto a sua composição, forma e nomenclatura, como, por exemplo: Goretex, ligamento de polipropileno, próteses de poliéster, entre outros.

Cohen (1994) utilizou o politetrafluoretileno em associação com ligamento biológico autógeno em reconstrução ligamentar de joelhos humanos e notou que o implante caracterizou-se pela adequada biocompatibilidade, boa penetração do tecido conjuntivo fibroso e pela satisfatória resistência às forças de cisalhamento. Camargo et al., em 2001, também concluíram que a implantação de próteses ligamentares de hidrocarbonetos para reconstrução do ligamento cruzado anterior leva a resultados inicialmente satisfatórios, que tendem a se deteriorar em médio prazo.

Cordioli, Pustiglioni e Georgetti (2000) estudaram a neoformação óssea em alvéolos de molares humanos com e sem oclusão de membranas de PTFE. Notou que a formação óssea

no interior desses alvéolos era semelhante tanto no controle como no grupo recoberto com membrana e ainda a qualidade do osso formado foi semelhante em ambos. Barros Filho et al. (2003) utilizaram membranas de PTFE em medulas de ratos pós-laminectomizados tentando a diminuição da fibrose pós-operatória. Notou que essa membrana não produziu os efeitos desejáveis, porém, mostrou-se ser material inerte. Macedo et al. (2003) compararam duas membranas em defeitos de tíbia de ratos, usando uma membrana como barreira não porosa de politetrafluoretileno, blocos de hidroxiapatita de coral e outro grupo controle para comparação, e notaram importante qualidade de osso neoformado nos dispositivos com barreiras físicas, mais notadamente na barreira de politetrafluoretileno.

Materiais acrílicos à base de metilmetacrilato mantêm-se úteis e com indicações precisas oferecem excelentes resultados. Estudos recentes em fístulas oroantrais de humanos demonstram bons resultados em colocação de placas de polimetilmetacrilato, fixadas em defeitos por retalhos de partes moles não tensionados. Raiser et al., em 2001, empregaram a resina acrílica autopolimerizável com sucesso para a redução de abertura palatina em um gato, que já havia passado por duas cirurgias corretivas com recidivas. Wooley et al. (2002), ao analisarem a diferenciação celular em resposta ao biomaterial, em contraste com a predominância de composição fibroblástica no modelo-controle, verificaram que a introdução do acrílico resultou em maior acúmulo de macrófagos e presença de eosinófilos e células gigantes. Ni et al. (2006) demonstraram a formação óssea em cimentos contendo cimento de polimetilmetacrilato nas revisões de artroplastias de quadril em humanos. Houve formação de tecido fibroso na interface cimento-osso.

2.4.3 BIOVIDROS

Dentre estes materiais, os biovidros têm demonstrado histologicamente biocompatibilidade e íntimo contato com tecido ósseo (BIFANO et al., 1998; SANTOS 2003). Koberle e Castro (1981) implantaram biovidro em fêmures de cães e notaram boa tolerância, sem apresentar formação de tecido fibroso na interface osso-implante, mesmo quando analisado à microscopia óptica e eletrônica. Santos (2005) estudou essa substância em regeneração óssea guiada, comparando com enxerto autógeno, HA e cimento de sulfato de cálcio. Exaltou a biocompatibilidade e as propriedades biomecânicas próximas do tecido ósseo. So et al. (2006) adicionaram à hidroxiapatita uma substância biodegradável e a compararam com HA pura. Notaram a aceleração da formação óssea e foi mais facilmente e completamente degradada, concluindo que compostos biodegradáveis, como o biovidro associado à hidroxiapatita, têm futuro promissor na ortopedia.

2.4.4 BIOCERÂMICAS

O uso das biocerâmicas varia desde seu uso isolado até outras formas de utilização, como por exemplo, no revestimento de próteses metálicas ou na associação com materiais poliméricos, tais como o colágeno. Assim, afirma Vallet-Regí (1997), em termos gerais, as biocerâmicas são classificadas em bioinertes e bioativas. Como exemplos de biocerâmicas bioinertes podemos citar a alumina, zircônia e dióxido de titânio. Por outro lado, uma biocerâmica bioativa é aquela que induz a uma atividade biológica específica. São exemplos a hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, o fosfato tricálcico $[Ca_3(PO_4)_2]$ e os biovidros já citados anteriormente (KAWACHI et al., 2000). Hench (1998) classificou de outra forma, agrupando

as cerâmicas em quatro classes, de acordo com a resposta na interface tecido vivo/implante, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação das biocerâmicas.

Tipo de biocerâmica	Interação com os tecidos	Exemplos
Inertes	Não há interações químicas nem biológicas	Alumina
Porosas	Ocorre o crescimento interno dos tecidos através dos poros	Aluminatos e hidroxiapatita porosos
Bioativas	Ocorre uma forte ligação na interface osso-implante	Biovidros, hidroxiapatita e vitrocerâmicas
Reabsorvíveis	As cerâmicas são degradadas e substituídas pelos tecidos	Gesso e fosfato tricálcico

Fonte: KAWACHI et al., 2000.

As biocerâmicas têm sido empregadas na forma densa e na forma porosa. O aumento da porosidade do material diminui sua resistência mecânica, mas a existência de poros com determinadas dimensões favorecem o crescimento de tecido através deles, promovendo um entrelaçamento do tecido com o implante, aumentando a resistência do material *in vivo*.

2.4.4.1 SÍNTESE E MORFOLOGIA DE BIOCERÂMICAS

De acordo com Vallet-Regí (1997), o preparo de uma biocerâmica envolve três etapas fundamentais: 1) preparo do pó; 2) secagem parcial do bloco conformado e 3) aquecimento a altas temperaturas para obtenção do bloco sinterizado. Após a síntese, as partículas do pó são moldadas na forma desejada, por compactação a altas pressões ou umectação do pó, e posteriormente submetidas à sinterização a temperaturas elevadas. Outra alternativa é a compactação sob pressão e aquecimento de maneira simultânea. Para melhorar a coesão das partículas e tornar os corpos mais densos, pode ser feita a adição de água ou substâncias orgânicas, como o poliálcool vinílico, seguida da secagem parcial do bloco.

Durante a última etapa do processo de obtenção de cerâmicas, o aquecimento do material a altas temperaturas (até aproximadamente $2/3$ da temperatura de fusão do material, normalmente acima de 1.000°C), as partículas do pó são levadas à fusão superficial, fazendo com que elas se aglomerem e formem um bloco sólido e denso. No entanto, este procedimento resulta em cerâmicas com poros da ordem de μm (micra), dimensão pouco interessante para materiais utilizados em implantes ósseos (KAWACHI et al., 2000).

Hulbert, Morrison e Klavitter (1972) definiram a porosidade ótima das biocerâmicas em poros de $100\mu\text{m}$, uma vez que favorecem o crescimento do osso através do material. Esta dimensão de poro fornece suprimento sanguíneo ao tecido conetivo em crescimento, permitindo o desenvolvimento de capilares entremeados com a cerâmica porosa. Afirma ainda o autor que é importante salientar que o conceito de material poroso, sob a óptica da biocompatibilidade, é completamente diferente do que é usual para a Química. Para ele, um biomaterial macroporoso é aquele que apresenta poros de 50 a $250\mu\text{m}$.

Sepúlveda (1999) estudou uma nova técnica para a produção de hidroxiapatita porosa feita através da agitação de suspensões cerâmicas aquosas contendo tensoativos. Esse método permite alta resistência mecânica e boa porosidade. Em estado imaturo “verde”, manteve propriedade de suportar cortes e torneamento, mantendo a temperatura de sinterização (tratamento térmico que é dado às amostras de cerâmica “verde”) em 1.350° Celsius.

Rosa, Shareef e Van Noort (2000) demonstraram que as porcentagens de porosidade das partículas de hidroxiapatita sofrem alterações diretas da carga utilizada na compactação de partículas e da temperatura de sinterização. Segundo estes autores, a sinterização, o tratamento térmico dado à cerâmica “verde”, passando do estado de aglomeração simples para estado onde há fusão entre essas partículas.

2.4.4.2 BIOCERÂMICAS DE HIDROXIAPATITA

Os vários fosfatos de cálcio são classificados através de sua razão molar Ca/P. Possuem razão variando de 0,5 a 2,0 e podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato e em condições alcalinas ou ácidas. Estes materiais podem ser transformados em cerâmicas biocompatíveis e osteocondutoras (LAYMAN; ARDOIN, 1998).

Kruyt et al. (2006) estudaram defeitos ósseos em coluna de cabras, usando células de estroma da medula em quatro diferentes materiais tais como a hidroxiapatita a 1150° e 1250°, fosfato de cálcio bifásico (BCP) e fosfato tricálcico (TCP). Notou que o crescimento ósseo sobre determinada arquitetura pré estabelecida e a osteocondução eram melhores com BCP e TCP, quando avaliados histomorfometricamente. Stubbs et al. (2004) compararam o sulfato de cálcio sozinho e o sulfato de cálcio adicionado à hidroxiapatita de coral marinho em defeitos ósseos de tíbias de ratos, obtendo melhores resultados, quando a substância foi agregada com hidroxiapatita.

Compostos de hidroxiapatita com fosfato tricálcio mostraram-se capazes de osteoindução em tecido celular de coelhos, efeito não visualizado em outros compostos de hidroxiapatita sem o fosfato e ainda, que, aos seis meses, o composto guardava suas propriedades estruturais com pouca degradação (KURASHINA et al., 2002).

Ripamonti (1996) implantou no reto abdominal de animais (coelhos, cachorros e primatas) material contendo hidroxiapatita e notou que houve formação óssea após 90 dias maior no primata e, em menor escala, no coelho e cachorro. Esse estudo demonstra a propriedade osteoindutora da HA, segundo o autor. Wahl e Czernuszka (2006) demonstraram que a associação de colágeno com hidroxiapatita promoveu osteocondução, sendo excelente substituto para enxertos autógenos em falhas ósseas. Kazakia et al. (2006) estudaram a

hidroxiapatita *in vitro* demonstrando sua capacidade de formação óssea, quando usada como enxerto em falhas ósseas. Foi avaliada do ponto de vista de fluorescência e microscopia eletrônica e comprovada a capacidade osteoindutora dessa substância. Xie et al. (2006) relataram o uso de hidroxiapatita em artrodeses cervicais em humanos e notaram a falência do enxerto com formação de tecido fibroso na interface osso-hidroxiapatita, desencorajando o uso desses enxertos em cirurgias ortopédicas.

A hidroxiapatita com razão Ca/P igual a 1,67, por sua semelhança ao osso, é a mais utilizada para as finalidades clínicas, porém, seu uso é limitado devido à sua lenta biodegradação. De Groot (1980) e Van Blitterswijk (1985) demonstram ainda que a hidroxiapatita inicia gradativamente sua reabsorção após quatro ou cinco anos da implantação. Conz, Granjeiro e Soares (2005) citaram a diferença entre as hidroxiapatitas encontradas no mercado brasileiro, chamando a atenção para cristalinidade, superfície de área, composição e biodegradabilidade.

Para Williams (1987), único trabalho encontrado que relata, de forma genérica, as biocerâmicas, observou que elas degradam em uma velocidade diferente, a saber: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$. A reabsorção do material pela dissolução depende de:

- Produto de solubilidade do material;
- pH local no meio fisiológico;
- Desintegração física das pequenas partículas;
- Fatores biológicos como fagocitose, leucócitos, mediadores químicos diminuem o pH local.

Afirma ainda o autor que a velocidade de reabsorção é proporcional ao aumento da área superficial (pó > sólido poroso > sólido denso), com o decréscimo da cristalinidade e, no caso da hidroxiapatita, pela substituição de CO_3^{2-} nos sítios de fosfato e por Mg^{2+} e Sr^{2+} nos sítios de cálcio.

Gao et al. (1997) afirmam que, dentre esses materiais reabsorvíveis, um dos mais estudados é o fosfato tricálcico, com razão Ca/P igual a 1,5. É biocompatível e biodegradável, sendo, dependente da porosidade, parcialmente reabsorvido entre 6 e 15 semanas após sua implantação. Segundo Miranda et al. (2005), o uso de hidroxiapatita em grânulos associada a fosfato de cálcio favorece a consolidação de fraturas provocadas em rádio de coelhos. Tiveram melhor índice de reparação óssea tanto radiográfica como histologicamente, indicando para o uso de rotina desse material em cirurgias ortopédicas. Foram realizadas radiografias e histologia em períodos de 15, 30, 60 e 75 dias. Os autores anteriores ressaltaram ainda a importância da presença de células progenitoras e fatores indutivos para o bom andamento dessa reparação óssea.

Duarte (2003) usou hidroxiapatita sintética em mandíbula de cães e notou sua degradação progressiva, quando da formação óssea lamelar direta, com intensa proliferação de osteoblastos e neovascularização. Apontou para a biocompatibilidade e a degradação progressiva ao processo de neoformação óssea. Caporali (2004), ao experimentar a hidroxiapatita absorvível em raios de coelhos, notou que houve reação tipo corpo estranho. Hasegawa et al. (2006) implantou em fêmures de coelhos, dois tipos de compostos com HA, analisando-os após a morte natural dos coelhos, em uma média de quatro anos, e notou que ambos os compostos com ou sem cálcio foram parcialmente reabsorvidos. Houve importante crescimento ósseo no defeito e em volta das partículas não absorvidas da HA.

Rogero, Braga e Higa (1999) avaliaram, através de um método de contagem de células, a citotoxicidade de biocerâmicas de fosfato de cálcio usando cultura de células de

ovário de ratos em contato com extratos diluídos de biocerâmicas. Considerando pirofosfato de cálcio, hidroxiapatita sintética e hidroxiapatita proveniente de osso de boi, apenas este último apresentou efeito citotóxico. Em outro trabalho, Chen et al. (1999) estudaram o efeito sobre a estrutura do fibrinogênio (principal proteína do plasma) quando da sua adsorção em superfícies cerâmicas, usando métodos como calorimetria de varredura diferencial, dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência. Através da análise dos resultados, os autores sugeriram que o mecanismo de adsorção do fibrinogênio é controlado principalmente pelas interações eletrostáticas da proteína com a superfície da cerâmica.

Kawachi, Bertran e Kubota (1998) analisaram o potencial na interface das biocerâmicas por meio de medidas potenciométricas. Usando hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico (TCP) para construção de eletrodos, o comportamento do potencial de interface das cerâmicas/fluido que mimetiza o líquido extracelular foi determinado em uma faixa de pH que corresponde à observada em processos inflamatórios no corpo humano e a temperaturas ambiente e fisiológica. Os resultados mostraram que HA e TCP atingem mais rapidamente o potencial de interface de equilíbrio com a diminuição do pH da solução e o aumento da temperatura. Afirmam os autores que a formação da camada rica em cálcio está diretamente ligada à dissolução que ocorre mais rapidamente em pH baixos, como as associadas às lesões cirúrgicas intraoperatórias.

Segundo Borges (1998), preenchendo defeitos ósseos em tíbias de cães com hidroxiapatita sintetizada percebeu-se crescimento vascular e ósseo no interior da hidroxiapatita. Notou-se ainda, em análise por microscópico eletrônico, a não-interposição de tecido fibroso na interface hidroxiapatita e osso, indicando-o como substituto ósseo. Shuroff (2004), estudou fêmures de ratos preenchido com HA, comparou-os com defeito ósseo sem preenchimento, concluiu que não houve diferença no reparo ósseo. Houve diferença apenas histológica na concentração de osteoclastos e radiológica na reconstituição medular.

Albuquerque (2004) estudou a hidroxiapatita em tíbia de ratos com três grupos, sendo um controle só com HA, outro com HA e plasma rico em plaquetas e ainda um terceiro grupo de HA com dexametasona, destacando que na primeira semana o plasma rico em plaquetas acelerou a deposição óssea, mas que, após quatro semanas, a deposição final de matriz óssea foi a mesma nos três grupos.

Hidroxiapatita misturada a outros materiais também foram testados por Ni et al. (2006). Adicionada a íons de estrôncio e colocada em defeitos ósseos de quadril de coelhos e avaliando-se por seis meses, notou-se crescimento semelhante à hidroxiapatita isolada. Braz et al. (2003) provocaram defeitos em crânios de ratos e compararam o controle com hidroxiapatita associada à matriz óssea bovina desvitalizada. Após análise histológica, verificaram que, com 60 dias, apresentava maior quantidade de osteoblastos e presença de osso do que no lado controle, observando que tal combinação favorece a reparação óssea.

Resende et al. (2006) pesquisaram a neoformação óssea em fissuras longitudinais de fêmures de coelhos preenchidos com hidroxiapatita, também, indicando esse material como substituto ósseo. Kim et al. (2005) estudaram compostos gelatinosos com colágeno e hidroxiapatita e notaram boa resposta à formação de matriz óssea a partir de osteoblastos *in vitro*. Segundo Ishikawa et al. (2001), o tendão de Aquiles foi inserido em túnel ósseo de fêmur de coelho e, no grupo estudado, foi inserido gel, contendo colágeno com hidroxiapatita. No grupo controle, apenas solução salina. Foi notada, após quatro semanas, a formação óssea no grupo com gel de hidroxiapatita enquanto que, no grupo controle, apenas fibrose.

Coathup et al. (2005) realizaram fixações de componentes acetabulares de artroplastias de quadris com diversas substâncias, entre elas a hidroxiapatita em componentes porosos e notou que esse composto mostrou ter a melhor fixação entre implante e osso, com formação e crescimento ósseo entre as partículas e com menor número de “debris” (micropartículas que se soltam ao atrito), quando comparado com implantes cimentados.

Chris-Arts et al. (2006) pesquisaram a fixação de componentes acetabulares de próteses em humanos com composto de hidroxiapatita (Ostin®) e notaram boa estabilidade mecânica, além de crescimento ósseo, embora observassem remanescentes do composto entre o tecido ósseo integrado. Ni et al. (2006) demonstraram a formação óssea em cimentos bioativos, contendo hidroxiapatita em comparação ao cimento polimetilmetacrilato nas revisões de artroplastias de quadril em humanos. O cimento bioativo contendo hidroxiapatita promoveu crescimento ósseo na interface cimento-osso, enquanto que no metilmetacrilato houve formação de tecido fibroso.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é o estudo histomorfométrico da capacidade de regeneração do tecido ósseo, usando como meio condutor a hidroxiapatita granulada em falhas ósseas previamente realizadas em calvárias de coelho, especificando sua reabsorção, osteointegração e biocompatibilidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL E GRUPO DE ESTUDO

Foram utilizados 44 coelhos da raça Nova Zelândia, de ambos os gêneros, com peso entre 2.986 e 3.650 gramas, adquiridos pelo Biotério da USC. Doze coelhos foram, aleatoriamente, separados para o grupo experimental. O grupo controle como 32 coelhos, e outro grupo experimental com 12 coelhos acomodados em gaiolas individuais de alumínio galvanizadas em galpão próprio construído de alvenaria, coberto com telhas de amianto, sem forro, alimentados *ad libidum* com ração balanceada da marca FRI-RIBE^R, FRI-Coelhos RL e água à vontade. Antes de iniciar os procedimentos cirúrgicos, os animais foram submetidos a um período de aclimação durante um mês. Os procedimentos cirúrgicos ocorreram em sala própria, pertencente ao prédio do Biotério da USC e os coelhos foram recolocados em suas gaiolas e foram oferecidas ração e água da mesma forma que antes do procedimento cirúrgico.

A eutanásia foi realizada com 15, 30, 60 e 120 dias, 8 coelhos do grupo controle e 3 do grupo experimental com hidroxiapatita, sendo procedidas com *overdoses* de anestésicos (cerca de quatro vezes a dose preconizada para anestesia). Após a morte dos animais, eram cuidadosamente retiradas as calotas cranianas para estudos e análises. Foram utilizados oito coelhos para o grupo controle, devido ao fato desses fazerem parte de um estudo multicêntrico dessa universidade. O delineamento experimental consta na Figura 1.

Para a avaliação radiográfica foi utilizado um coelho com hidroxiapatita granulada preenchendo seu defeito e submetido à eutanásia pelo mesmo processo dos demais, logo após o término do procedimento operatório.

Todos os passos metodológicos foram previamente analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da USC, protocolo n.º 074/2005 (Anexo A).

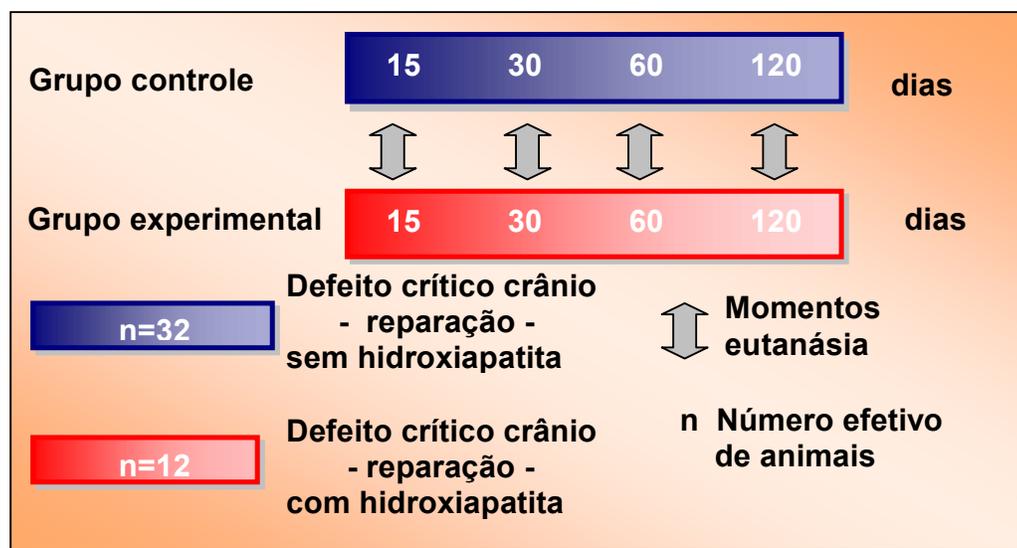


Figura 1 – Delineamento experimental.

4.2 MATERIAL, REAGENTES E SOLUÇÕES

Hematoxilina, eosina, tricrômico de Masson polivinilpirrolidiona – iodo (PVPI), anestésico Ketalar, antibiótico tetraciclina, solução de citrato de sódio – ácido fórmico, solução de Ringer, microscópio e máquina fotográfica.

4.3 MATERIAL CIRÚRGICO

Bisturi cirúrgico descartável, lâmina de bisturi n.º 22 descartável, afastadores cirúrgicos, pano de campo, brocas tipo trefina 0,5cm, seringas anestésicas descartáveis, sindesmótomo, espátula 7, porta-agulha, pinça homostática curva e reta, gaze estéril, fio de sutura absorvível e fio de sutura montado, seringa de insulina descartável e aparelho de micromotor (Figura 2).



Figura 3 – Anestesia local após anestesia geral.

A técnica cirúrgica consistiu em incisão sagital, interessando a pele e o subcutâneo em incisão única, realizada com bisturi lâmina n.º 22. Após essa abertura, era feita a hemostasia compressiva com gaze (Figura 4).



Figura 4 – Incisão interessando porção mediana de calvária.

Foi realizada uma segunda incisão, agora separando o periósteo e procedida a dissecação desse tecido com instrumento rombo até visualização da calvária para realização do defeito ósseo. O defeito ósseo foi realizado em plano coronal, ao nível da região posterior do espaço interorbital e com trefina giratória de cinco milímetros de diâmetro com duas mil rotações por minuto, sempre com irrigação de soro fisiológico durante o uso desse motor (Figura 5). O defeito realizado consistiu de uma seqüência linear de três defeitos circulares justapostos, adquirindo forma elíptica na dimensão de 1,5cm x 0,5cm, tomando-se o cuidado de remover todo o osso cortical e esponjoso (díploe), tendo suas bordas regularizadas com osteótomos para melhor uniformidade do defeito. Esse defeito ósseo compreendeu tanto a retirada de tábua externa com tábua interna do osso craniano, tomando-se cuidado com a preservação da integridade da duramáter (Figura 6).

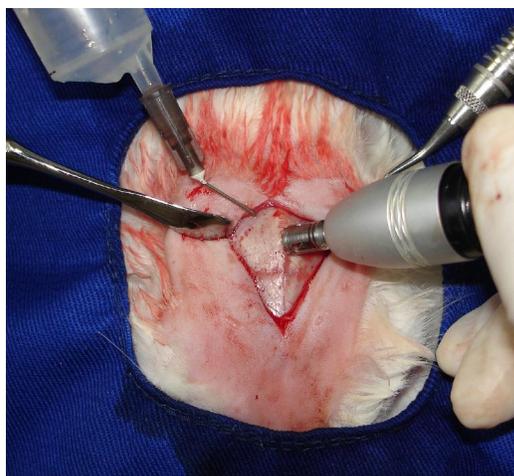


Figura 5 – Confecção de defeito ósseo de forma elíptica com motor cirúrgico sob irrigação.

Uma vez delineado o defeito ósseo, foi colocada hidroxiapatita não absorvível em grânulos marca Consulmat®, que variavam em uma faixa de tamanho de 250 a 1.000 μ m, até chegar próximo ao nível da tábua externa do osso craniano. Aproveitando o coágulo sangüíneo da própria ferida (Figura 6) e com instrumento rombo, para não ferir a meninge, era

revolvido até completo contato entre partículas de hidroxiapatita e essa substância, de modo que toda a superfície dos grânulos estivesse embebida com coágulo sanguíneo (Figura 7). Procedeu-se o fechamento do perióstio sobre a lesão com pontos simples de fio de nylon 3.0 e, em seguida, suturadas pele e subcutâneo em plano único, também, com o mesmo fio (Figura 8). O grupo controle (sem hidroxiapatita) foi submetido às mesmas regras do pré, intra e pós-operatório com a exceção de que seus defeitos não eram preenchidos com hidroxiapatita, apenas com coágulo sanguíneo.



Figura 6 – Defeito ósseo de forma elíptica.



Figura 7 – Defeito ósseo preenchido com massa hidroxiapatita/sangue.



Figura 8 – Sutura final de couro cabeludo em pontos contínuos.

4.5 ANÁLISES DAS AMOSTRAS

Preparo das peças

Decorridos 15, 30, 60 e 120 dias, 11 animais (8 do grupo controle e 3 do grupo experimental) foram sacrificados com overdose de anestésicos (Figuras 9 e 10). As peças contendo os defeitos ósseos foram removidas em bloco, fixadas em formol a 10% e submetidas, inicialmente, à análise radiográfica digitalizada.

Após a obtenção das imagens radiográficas digitalizadas, os espécimes foram submetidos ao processo de descalcificação. Em seguida, foram inseridos em blocos, cortados e as secções coradas pelos métodos da hemoxilina eosina e tricrômico de Masson.

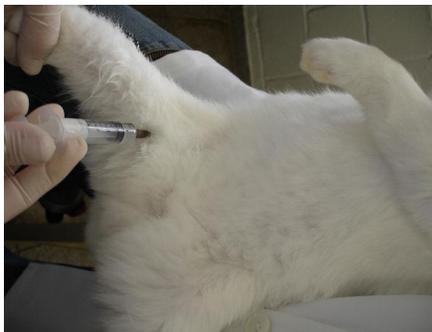


Figura 9 – Overdose da anestésicos para a eutanásia.



Figura 10 – Anestésicos usados para anestesia e eutanásia.

Análise macroscópica

Os espécimes foram analisados, macroscopicamente, nas suas dimensões, coloração e fotografados com lente de aproximação. Em seguida, os espécimes foram preparados para análise com imagens digitalizadas.

Análise com imagens radiográficas digitalizadas

1 – Obtenção da imagem digitalizada

As placas de imagens específicas do sistema Digora, envoltas por embalagens plásticas, fornecidas pelo fabricante, foram lacradas na sua extremidade aberta pelo soldador térmico do aparelho. Foi utilizado um aparelho de raios-X próprio para odontologia, regulado para 70kVp e 8mA, 2mm de filtro de alumínio, com o feixe central incidindo

perpendicularmente ao plano do filme, com distância foco/filme de 40cm e a exposição de (2mAs).

Para as tomadas radiográficas digitais, utilizamos parâmetros e condições técnicas usadas no filme radiográfico, porém, num menor tempo de exposição 2mAs, previamente selecionado.

A placa de imagem sensibilizada desta maneira, após sua remoção da embalagem plástica, foi introduzida no leitor óptico do Sistema Digora que, por varredura a laser, fez a captura da imagem latente, contida na porção ativa da placa, transferindo-a, depois de convertidos os sinais analógicos em digitais, para um computador compatível e armazenada em arquivos binários na memória do computador, para posterior manipulação e análise interpretativa.

2 – Análises das imagens digitalizadas pelo Sistema Digora

Com os recursos do *software Digora for Windows*, as imagens digitalizadas foram resgatadas do arquivo e apresentadas uma a uma para o examinador, no monitor do computador, em uma sala obscurecida com ampliações 0,5X, 1,0X, 2,0X e tratadas nos padrões visuais de inversão de contraste (negativo-padrão), realce de relevo (3D – padrão) e de intensidade do nível de cinza, medidas pelos valores dos *pixels* das áreas do defeito controle a experimental. As imagens da área de exame foram avaliadas por parâmetros quantitativos do próprio sistema Digora. Foi avaliado o histograma, no qual o intervalo de cores do preto até o branco que variou, respectivamente, de zero a 256. A concentração de cores na imagem foi distribuída segundo sua correspondência numérica no gráfico (porção inferior esquerda da Figura 11b). Outra avaliação desse sistema se realizou usando linhas formando um quadrilátero e que mediram as características dos pixels verticalmente por sob as linhas demonstrando vales nas regiões mais radiotransparentes e picos em regiões com

maior radiopacidade (porção inferior direita da Figura 11b). Os valores obtidos foram as médias dos valores das três radiografias de cada período de tempo analisado, com exceção do grupo controle (zero), que contou com apenas uma radiografia.

Morfometria

Cada peça inclusa foi submetida a cortes seriados, fornecendo seis lâminas de cada peça de defeito ósseo. Dentre estas lâminas, três foram submetidas à análise morfométrica aleatória. Cada índice observado representa, portanto, a média dos valores obtidos nas três lâminas.

A análise morfométrica foi desenvolvida de modo a abranger toda a extensão do defeito e realizada através do Programa de Análise Computadorizada *Software Image-pro Plus, Version 5.1 for Windows*, da *Media Cybernetics*, instalado em um microcomputador, acoplado a um fotomicroscópio marca Nikon, modelo Eclipse 80i. O programa de dados mede vários objetos dentro de uma mesma imagem. Após determinar o perímetro dos objetos a serem medidos e selecionar a cor que será utilizada para sua identificação, o processo de mensuração foi selecionado no comando de medidas. Os dados referentes à área do objeto são captados automaticamente em termos de concentração de *pixels* em toda a área do objeto. Após medir um determinado objeto, escolhe-se um segundo objeto na mesma imagem e se repete o procedimento. Com este processo, é possível medir a fração de volume em percentagem dos vários componentes teciduais como osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular, e a fração de volume ocupado pelo substituto ósseo utilizado, dentro de cada período fixado no experimento. Para avaliar o grau de regeneração óssea nos defeitos ósseos cirúrgicos experimentais determina-se, inicialmente, a extensão ocupada pelos vários objetos encontrados na imagem, como: estroma fibrovascular, osso reticular imaturo e osso maduro. A proporção de osso regenerado em um determinado período é equivalente à soma dos *pixels*

obtidos para osso reticular imaturo e osso maduro. O estroma fibrovascular incluiu também a medula óssea.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para diferenças das médias nas frações de volume (osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular, trabéculas ósseas, hidroxapatita) no grupo experimental e grupo controle, em cada tempo experimental, foram calculadas as estatística F e p, e a diferença foi considerada significativa quando $p < 0,05$ (p é a probabilidade de se concluir erroneamente pela significância) Para contraste entre os pares de médias, foi calculada a diferença mínima significativa pelo método de Tukey para $\alpha = 0,05$. Os resultados da análise estatística pelo teste de análise de variância (ANOVA).

No experimento, foram estudados o processo de remodelação óssea com HA granulada sobre um grupo de coelhos da mesma idade, escolhidos aleatoriamente de um grupo de 44 animais. O cálculo da tamanho da amostra do grupo experimental foi realizado por meio da expressão: $n = z_{\alpha}^2 \cdot s_d^2 / d^2$, em que :

n = tamanho da amostra

α % = nível de significância da pesquisa

z_{α} = valor tabelado de confiança (100 - alfa)%

s_d = desvio padrão da média considerada

d = precisão da estimativa como função da média considerada.

Neste estudo, a média considerada foi o peso dos animais no primeiro momento de avaliação:

$$\alpha\% = 5\%$$

$$z_{\alpha} = 1,96 \text{ para } (100 - \alpha) = 95\%$$

$$s_d = 238 \text{ (desvio padrão do peso)}$$

$$d = 0,05 \text{ (media do peso = 3265)}$$

Substituindo-se os valores na formulação, calcularam-se aproximadamente oito coelhos para o grupo experimental e para o grupo controle, então maximizou-se a amostra do grupo experimental para 12 coelhos, em virtude da equivalência dos tempos experimentais do estudo (CURI, 1978).

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

5.1.1 GRUPO CONTROLE

As peças obtidas em todos os períodos estudados apresentaram ligeira retração na superfície e um tecido cicatricial recobrando o defeito. Nos períodos iniciais, o tecido que cobria o defeito era frágil. Já nos períodos de 60 e 120 dias, o tecido era mais espesso, porém sem a rigidez do tecido ósseo.

5.1.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Nos períodos estudados, observou-se que os defeitos enxertados mantiveram o volume ósseo original. No período de 15 e 30 dias, não se observava muito claramente osso formado. Nos períodos de 60 e 120 dias, observou-se a presença de tecido duro entre as membranas.

5.2 IMAGENS RADIOGRÁFICAS DIGITALIZADAS

Enxerto com hidroxiapatita granular – período zero dia

- Resultados das medidas dos *pixels* da área selecionada da imagem radiográfica do defeito cirúrgico (Figura 11):
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais escuros: 36
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais claros: 122
 - Média obtida da leitura dos *pixels* da área: 82,23
 - Desvio padrão obtido da leitura dos *pixels*: 9,72
 - Dimensão, em *pixels*, dos segmentos da reta: 156,66

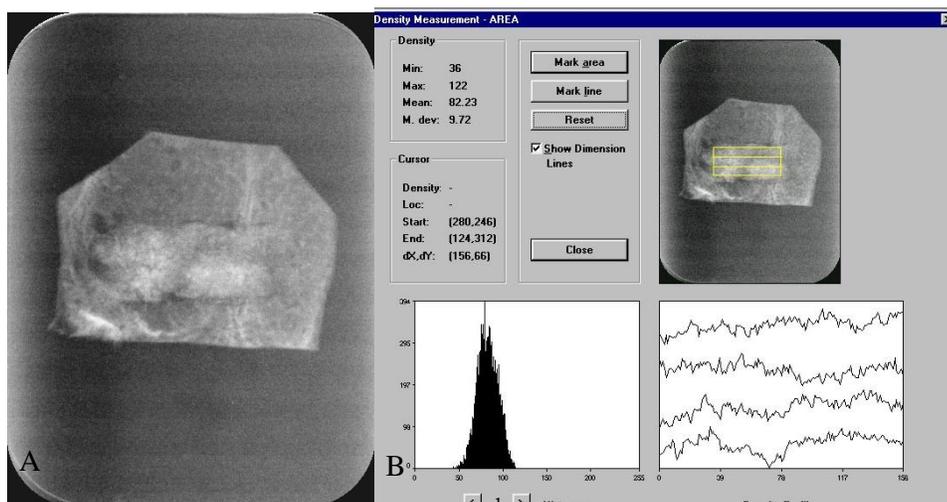


Figura 11 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do *Sistema Digora for Windows 1.51*, ampliada quatro vezes no monitor. **B.** Avaliações da imagem radiográfica do período zero dia, usando a ferramenta *Density Measurements área*, do programa *Digora for Windows 1.51*.

Descrição: Radiopacidade envolvendo toda área do defeito cirúrgico.

Histograma: intensidade de *pixel* mínima de 36 (escuro radiotransparente) e máxima de 122 (clara, radiopaca), com média em torno de 82,23. A intensidade de *pixels* máxima de 122 indica a radiopacidade da hidroxiapatita e a pressão da sua condensação com o coágulo sanguíneo.

Perfil da densidade: linhas com intensidade variada de *pixels* ao longo das retas. Os picos indicam radiopacidade e os vales radiotransparência.

As duas linhas superiores apresentam baixa variação mais homogênea identificando homogeneidade nos níveis de *pixels*. Isto ocorre provavelmente devido à condensação mais regular do material. As duas linhas inferiores são mais discrepantes devido à irregularidade no processo de condensação do material.

Enxerto com hidroxiapatita granular – período de 15 dias

- Resultados das medidas dos *pixels* da área selecionada da imagem radiográfica do defeito cirúrgico (Figura 12):
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais escuros: 16
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais claros: 95
 - Média obtida da leitura dos *pixels* da área: 49,16
 - Desvio padrão obtido da leitura dos *pixels*: 9,35
 - Dimensão, em *pixels*, dos segmentos da reta: 166,60

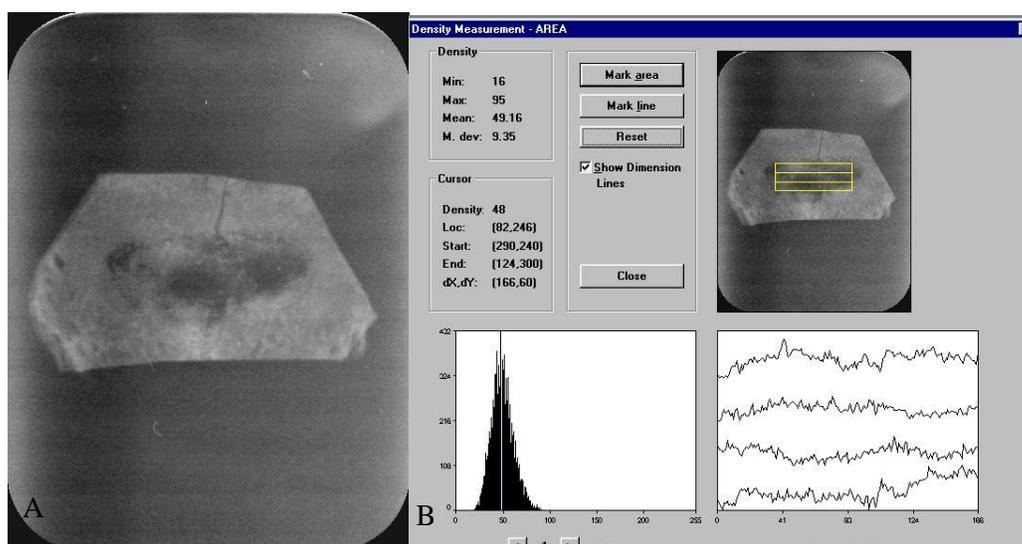


Figura 12 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do *Sistema Digora for Windows 1.51*, ampliada quatro vezes no monitor. **B.** Avaliações da imagem radiográfica do período de quinze dias, usando a ferramenta *Density Measurements área*, do programa *Digora for Windows 1.51*.

Descrição: Radiopacidade envolvendo a maior parte do defeito com pequenas áreas de radiotransparência.

Histograma: Intensidade mínima de *pixels* de 16 e máxima de 95 com média de 49,16. As áreas de menor intensidade de *pixels* são pequenas e esparsas e próximas às paredes do defeito indicando formação de tecido conjuntivo osteogênico nestas áreas.

Perfil da densidade: Linhas com intensidade variada de *pixels* ao longo das retas. As duas linhas superiores iniciam-se com áreas de menor intensidade de *pixels*, elevando-se ligeiramente nas porções médias da reta, devido à maior intensidade de *pixels*.

As duas linhas superiores são homogêneas.

As duas linhas inferiores são diferentes.

A terceira linha inicia-se em áreas de maior intensidade de *pixels*, mais radiopacas, caindo em seguida nos seguimentos subseqüentes com áreas de intensidade de *pixels* mais baixa. A quarta linha inicia-se em áreas de baixa intensidade de *pixels*, mais radiotransparente, e sobe na extremidade à direita, denotando maior radiopacidade. Estas duas linhas inferiores mostram perfil discrepante.

A terceira linha inicia-se em áreas de maior intensidade de *pixels*, mais radiopacas, caindo em seguida nos seguimentos subseqüentes com áreas de intensidade de *pixels* mais baixa. A quarta linha inicia-se em áreas de baixa intensidade de *pixels*, mais radiotransparente, e sobe na extremidade à direita denotando maior radiopacidade. Estas duas linhas inferiores mostram perfil discrepante.

Enxerto com hidroxiapatita granular – período de 30 dias

- Resultados das medidas dos *pixels* da área selecionada da imagem radiográfica do defeito cirúrgico (Figura 13):
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais escuros: 27
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais claros: 111
 - Média obtida da leitura dos *pixels* da área: 73,83
 - Desvio padrão obtido da leitura dos *pixels*: 9,23
 - Dimensão, em *pixels*, dos segmentos da reta: 160,600

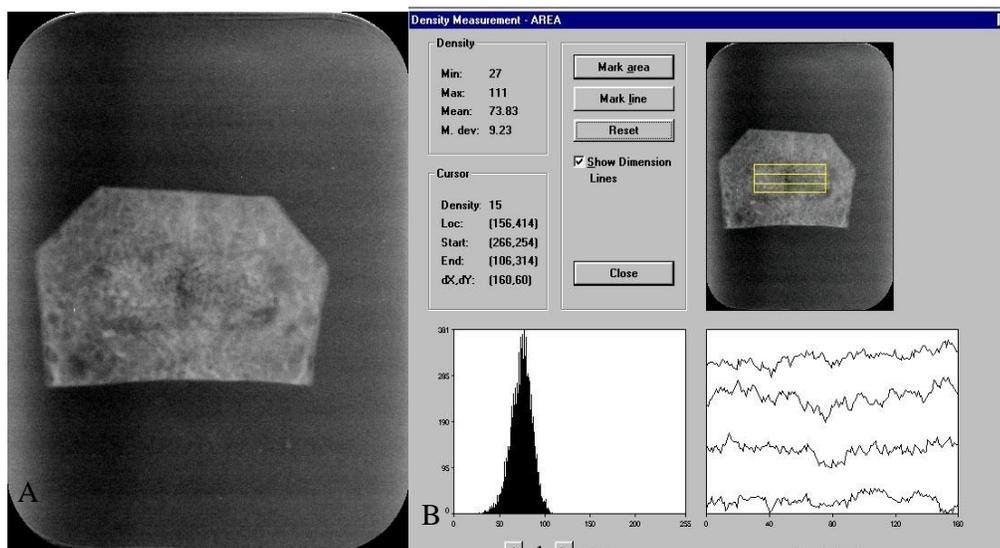


Figura 13 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do *Sistema Digora for Windows 1.51*, ampliada quatro vezes no monitor. **B.** Avaliações da imagem radiográfica do período de trinta dias, usando a ferramenta *Density Measurements área*, do programa *Digora for Windows 1.51*.

Descrição: Radiopacidade não homogênea em toda área do defeito. O aspecto é de radiopacidade granular com pequenas áreas de radiotransparência.

Histograma: Ampla faixa de variação dos tons de cinza dos *pixels*. A dispersão das intensidades de *pixels* indica variações de tons de cinza, devido à presença de áreas densas, intercaladas com áreas menos densas.

Intensidade mínima de *pixels* de 27, máxima de 111 com média de 73,83. As áreas de menor intensidade de *pixels* estão próximas às paredes da cavidade cirúrgica. Nota-se, contudo, uma pequena área no centro do defeito de menor intensidade de *pixels* ocupado pelo material enxertado.

Perfil da densidade: as linhas mostram variação de *pixels* ao longo das retas. Notar intensificação dos vales (depressão) na parte média do trajeto das linhas indicando radiotransparência. As duas linhas superiores são homogêneas. As duas linhas inferiores são bem heterogêneas, indicando variação acentuada na intensidade de *pixels*. Isto ocorre, provavelmente, devido à formação de tecido ósseo entre as partículas.

Enxerto com hidroxiapatita granular – período de 60 dias

- Resultados das medidas dos *pixels* da área selecionada da imagem radiográfica do defeito cirúrgico (Figura 14):
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais escuros: 4
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais claros: 104
 - Média obtida da leitura dos *pixels* da área: 28,59
 - Desvio padrão obtido da leitura dos *pixels*: 14,43
 - Dimensão, em *pixels*, dos segmentos da reta: 166,62

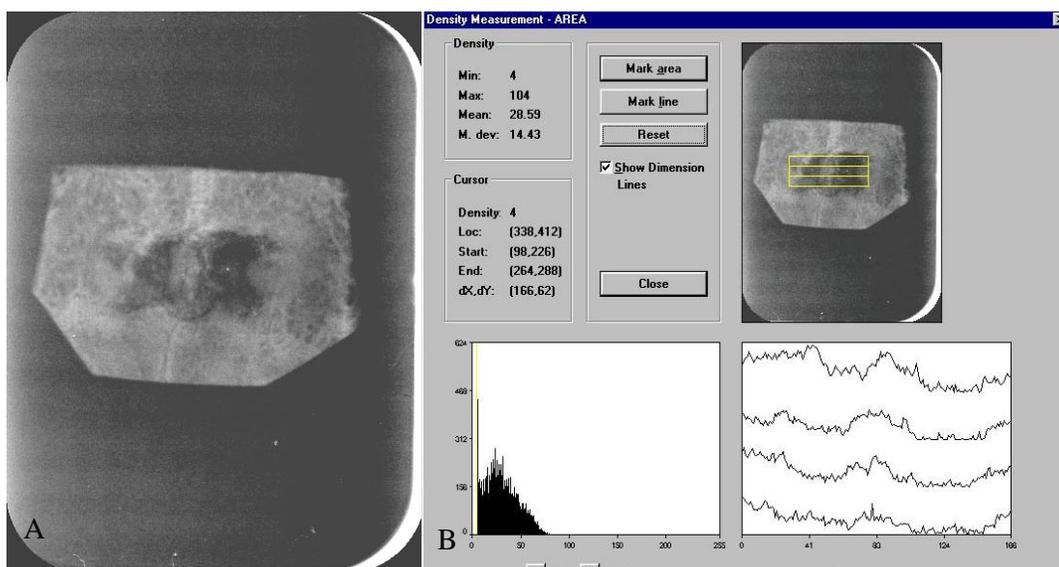


Figura 14 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do *Sistema Digora for Windows 1.51*, ampliada quatro vezes no monitor. **B.** Avaliações da imagem radiográfica do período de sessenta dias, usando a ferramenta *Density Measurements área*, do programa *Digora for Windows 1.51*.

Descrição: Áreas radiopacas nas margens e no centro do defeito. A área radiopaca no centro do defeito está delimitada por duas áreas radiolúcidas de cada lado.

Histograma: Ampla faixa de variação de intensidade de *pixels*, o que denota ampla variação nos tons de cinza. Desvio-padrão alto coerente com a grande dispersão das intensidades de *pixels* e ampla variação dos tons de cinza. Intensidade mínima de *pixels* de 4 e máxima de 104, com média de 28,59. Duas áreas de menor intensidade de *pixels* são observadas nas extremidades direita e esquerda do defeito.

Perfil da densidade: as linhas mostram grande variação na intensidade de *pixels* ao longo das retas. As linhas iniciam-se em áreas de grande intensidade de *pixels*, indicando radiopacidade. Em seguida, mostram vales (queda) acentuados indicando radiotransparência. Subitamente, as linhas sobem mostrando picos definidos de maior intensidade de *pixels* (radiopacidade) para caírem em vales com baixa intensidade de *pixels*, relacionados às áreas de radiotransparência. As linhas sobem na extremidade direita, mostrando elevação na intensidade de *pixels*, indicando nova radiopacidade.

Enxerto com hidroxiapatita granular – período de 120 dias

- Resultados das medidas dos *pixels* da área selecionada da imagem radiográfica do defeito cirúrgico(Figura 15):
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais escuros: 12
 - Intensidade de cinza dos *pixels* mais claros: 110
 - Média obtida da leitura dos *pixels* da área: 62,52
 - Desvio padrão obtido da leitura dos *pixels*: 15,90
 - Dimensão, em *pixels*, dos segmentos da reta: 172,58

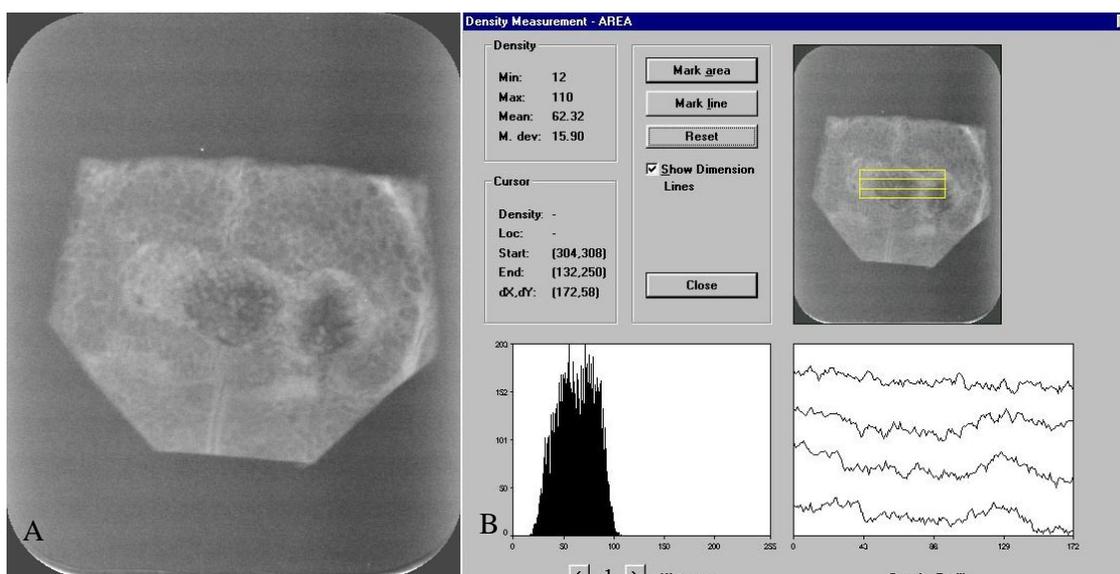


Figura 15 – A. Imagem radiográfica obtida digitalmente pelo sensor do *Sistema Digora for Windows 1.51*, ampliada quatro vezes no monitor. **B.** Avaliações da imagem radiográfica do período de cento e vinte dias, usando a ferramenta *Density Measurements área*, do programa *Digora for Windows 1.51*.

Descrição: Radiopacidade envolvendo toda a área do defeito ósseo. Na região central, observa-se ligeira radiotransparência.

Histograma: Intensidade mínima de *pixels* de 12 e máxima de 110, com média de 62,32. As áreas de menor intensidade de *pixels* estão localizadas na região central do defeito e correspondem às áreas de maior radiotransparência. A intensidade maior de *pixels*, principalmente nas extremidades marginais do defeito, provavelmente, estão relacionadas à remodelação óssea com partículas de hidroxapatita osteointegradas.

Perfil da densidade: As linhas iniciam-se em áreas com maior intensidade de *pixels* devido à radiopacidade da região.

As linhas apresentam depressão na parte média do trajeto, indicando mais radiotransparência, e sobem no segmento seguinte, indicando radiopacidade. Na extremidade direita, a intensidade de *pixels* se eleva nas três primeiras linhas, indicando maior radiopacidade.

Todos os resultados das análises por radiografia digital encontram-se ilustrados nas tabelas 2 e 3 e figura 16:

Tabela 2 – Valor médio dos *pixels* e o desvio padrão e a dimensão dos defeitos ósseos em relação aos períodos de avaliação, pelo programa *Digora for Windows 1.51*.

Análise radiográfica digitalizada	grupo experimental n=12				
	períodos de avaliação (dias)				
	0	15	30	60	120
pixels	82,23±9,72	49,16±9,35	73,83±9,23	28,59±14,43	62,52±15,90
dimensão	156,66	166,60	160,60	166,62	172,58

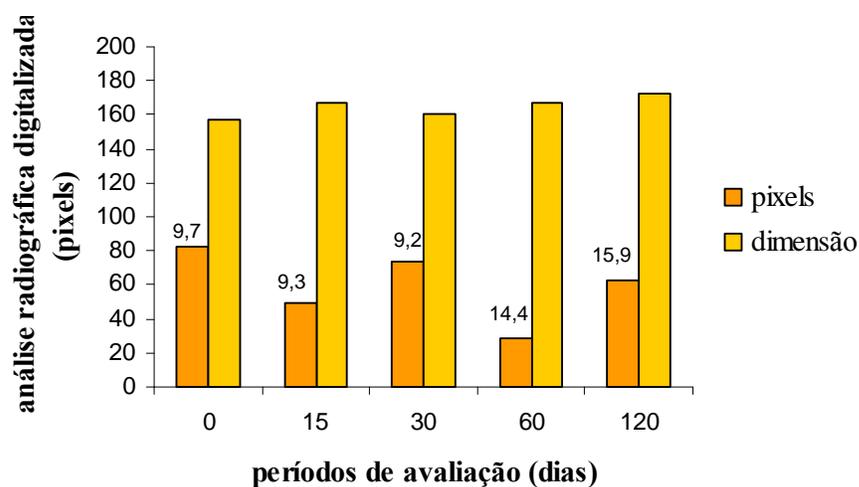


Figura 16 – Resultados das medidas da densidade e dimensão dos *pixels* das áreas selecionadas da imagem radiográfica do defeito cirúrgico do grupo experimental nos períodos de avaliação: zero, 15, 30, 60 e 120 dias.

Tabela 3 – Valor mínimo, máximo e médio da densidade dos *pixels* nos defeitos ósseos em relação aos períodos de avaliação, pelo programa *Digora for Windows 1.51*.

Período	Densidade		
	mínima	média	máxima
0	39,00	82,23	122,00
15	16,00	49,16	95,00
30	27,00	73,83	111,00
60	4,00	28,59	104,00
120	12,00	62,52	110,00

5.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Os achados morfológicos mais frequentes foram analisados em conjunto, dentro de cada período considerado no experimento para o grupo controle e para grupo experimental

5.3.1 PERÍODO DE 15 DIAS

5.3.1.1 GRUPO CONTROLE

No processo de reparo por ossificação osteonal direta, nota-se ausência de cartilagem e o tecido conjuntivo preenche grande parte da extensão do defeito ósseo; trabéculas ósseas imaturas são observadas junto às bordas da cavidade cirúrgica. Observa-se ligeira depressão central. Tecido osteóide é observado próximo às margens da cavidade cirúrgica. Em algumas áreas, nota-se tecido osteóide evoluindo para tecido ósseo trabecular imaturo (Figura 17).

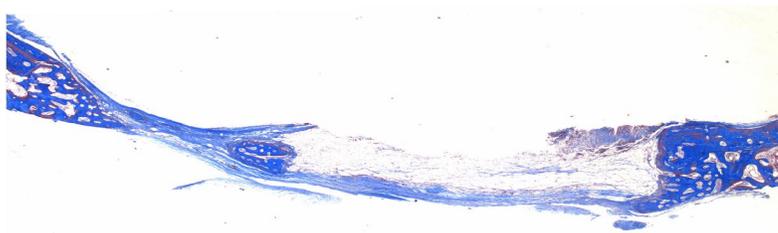


Figura 17 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 15 dias no grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.

5.3.1.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Observa-se ossificação direta com ausência de cartilagem e o tecido conjuntivo osteogênico envolvendo os grânulos de hidroxiapatita, separando os grânulos entre si e o conjunto granular da parede da cavidade cirúrgica. Na região inferior, nota-se a formação de material osteóide. O tecido osteóide forma-se na superfície dos grânulos de hidroxiapatita e preenche o espaço entre eles, anteriormente ocupado pelo tecido conjuntivo osteogênico. Nota-se, também, ausência de reação inflamatória tipo corpo estranho (Figura 18).

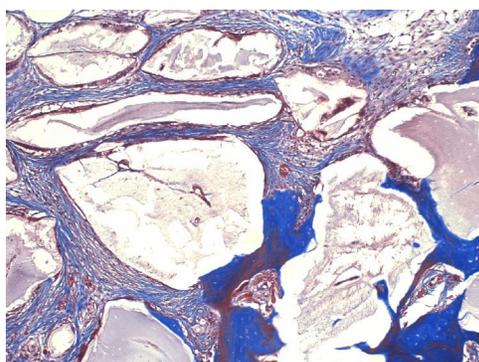


Figura 18 – Corte histológico do defeito com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 15 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original 10x.

5.3.2 PERÍODO DE 30 DIAS

5.3.2.1 GRUPO CONTROLE

Nota-se processo de reparo por ossificação osteonal direta, com ausência de cartilagem e o tecido conjuntivo osteogênico intertrabecular é observado na região de tecido ósseo imaturo reticular. Há predomínio de trabéculas ósseas imaturas nas regiões mais centrais do processo de reparo. Ocorre regeneração óssea mais volumosa na área correspondente à sutura interparietal. Áreas em processo de remodelação são observadas próximo às margens da cavidade óssea (Figura 19).

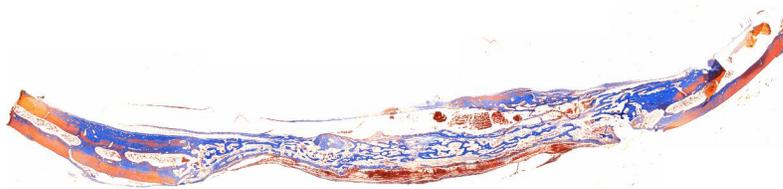


Figura 19 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 30 dias no grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.

5.3.2.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Observa-se ossificação osteonal direta com ausência de cartilagem. Partículas de hidroxiapatita totalmente encapsuladas por tecido conjuntivo osteogênico e trabéculas ósseas imaturas. O tecido conjuntivo osteogênico separa as partículas entre si e o conjunto de partículas da parede óssea cirúrgica. O tecido ósseo imaturo forma-se diretamente em contato com a superfície das partículas de hidroxiapatita, desencadeando verdadeira osteointegração. A proporção de tecido ósseo imaturo na superfície de contato das partículas é maior do que no período de 15 dias. Similarmente, a proporção de tecido ósseo imaturo com relação ao tecido

conjuntivo osteogênico é mais predominante, nota-se ausência de reação inflamatória crônica tipo corpo estranho (Figura 20).

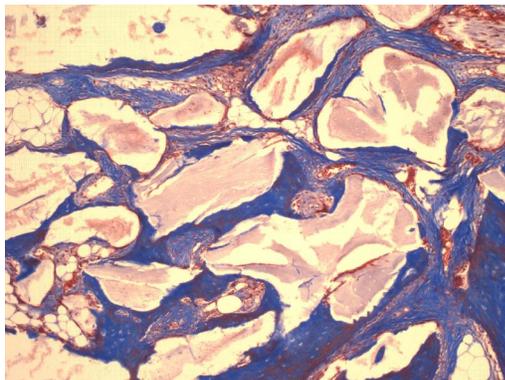


Figura 20 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 30 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.

5.3.3 PERÍODO DE 60 DIAS

5.3.3.1 GRUPO CONTROLE

Nota-se processo de reparo por ossificação osteonal direta e ausência de cartilagem. Áreas de osso imaturo podem ser observadas nas tábuas interna e externa do osso e no tecido intertrabecular em formação e também a predominância de osso lamelar e espaços medulares definidos (Figura 21).

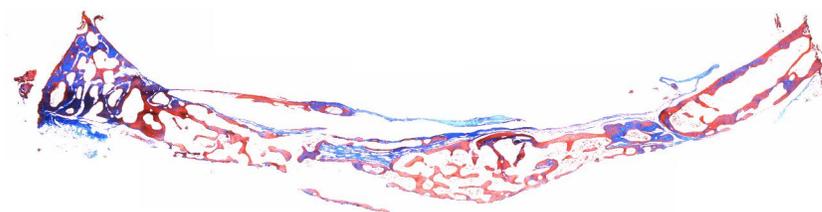


Figura 21 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 60 dias do grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.

5.3.3.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Observam-se partículas de hidroxiapatita revestidas na superfície de contato por tecido ósseo reticular imaturo. O tecido conjuntivo osteogênico escasso é visto apenas em algumas áreas, sobrepondo-se ao tecido ósseo imaturo, formado na superfície das partículas de hidroxiapatita. A proporção de tecido ósseo com relação ao tecido conjuntivo osteogênico é maior. Neste período, a osteointegração das partículas de hidroxiapatita com o osso regenerado está avançada. Não há sinais de reabsorção na superfície das partículas. Nota-se apenas um aumento no percentual de adaptação do osso neoformado com a superfície de contato das partículas enxertadas. Neste período, puderam ser observadas áreas de remodelação óssea com formação de osso lamelar na superfície de contato das partículas de hidroxiapatita (Figura 22).

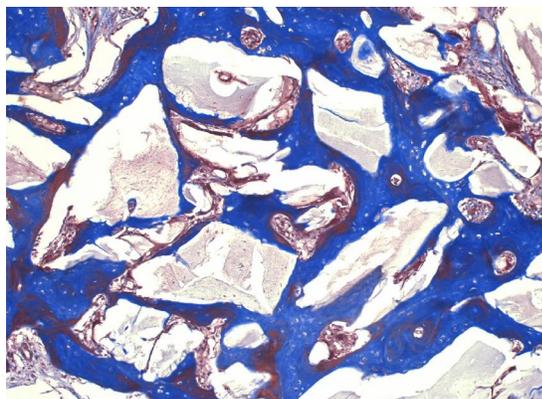


Figura 22 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 60 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.

5.3.4 PERÍODO DE 120 DIAS

5.3.4.1 GRUPO CONTROLE

Nota-se processo de reparo por ossificação osteonal direta e ausência de cartilagem. Excesso de osso neoformado na região da sutura interparietal. Há pouca definição das tábuas ósseas externas e internas. Notar osso reticular imaturo entremeado com trabéculas de osso lamelar e tecido conjuntivo osteogênico ainda visível em algumas áreas (Figura 23).

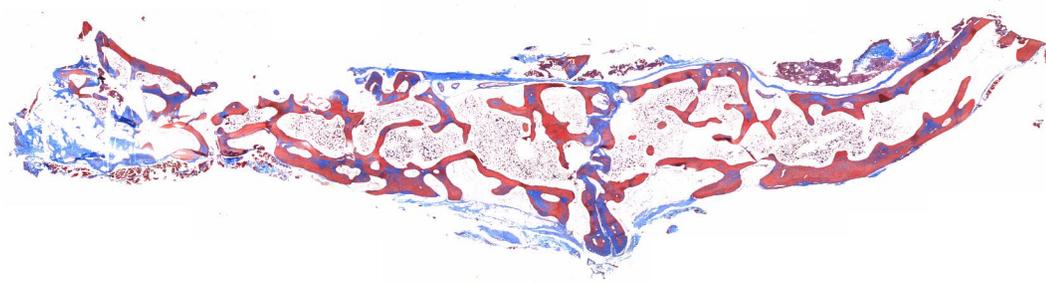


Figura 23 – Corte histológico do defeito ósseo no período de 120 dias. Grupo controle. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 2,5x.

5.3.4.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Observa-se processo de reparo por ossificação osteonal direta e ausência da cartilagem. Osso neoformado encapsulando partículas de hidroxiapatita. Ocorre aderência completa do osso neoformado com a superfície de contato das partículas. As trabéculas ósseas separam as partículas entre si e unem o conjunto osso/partículas osteointegrados com as paredes da cavidade cirúrgica. Há áreas mostrando partículas osteointegradas em processo de remodelação. Essas partículas de hidroxiapatita mostram discretos sinais de rarefação na superfície de contato. Notar ausência de reação inflamatória tipo corpo estranho (Aumento original 10x) (Figura 24).

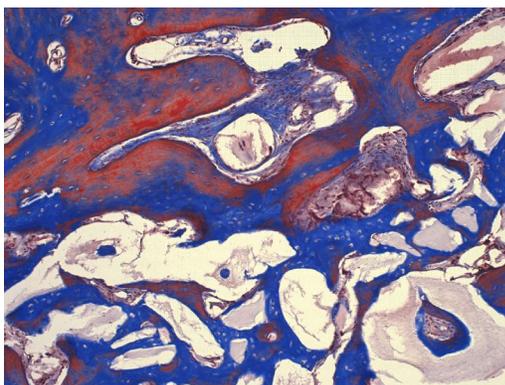


Figura 24 – Corte histológico do defeito ósseo com enxerto de hidroxiapatita granulada no grupo experimental. Período de 120 dias. Coloração: tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.

5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

As frações de volume dos componentes teciduais de osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular foram obtidas ao longo de toda extensão do corte histológico.

Analisando os valores das médias das frações de volume para cada componente tecidual, do grupo de controle, observa-se que o estroma fibrovascular apresenta valores

elevados nos períodos de 15 e 30 dias e decresce nos períodos de 60 e 120 dias (Tabela 4; Figura 27). Os defeitos controles, destes componentes representam não só estroma fibrovascular osteogênico como também o tecido conjuntivo invasor. Nos defeitos ósseos preenchidos com HA granulada, este componente representa apenas o estroma fibrovascular osteogênico. A fração de osso imaturo no grupo controle apresenta valores altos nos períodos de 15 e 30 dias e decresce nos períodos de 60 e 120 dias (Tabela 4; Figura 25). A fração de volume referente ao osso maduro no grupo controle mostra comportamento diferente: é baixa nos períodos de 15 e 30 dias e alta nos períodos de 60 e 120 dias (Tabela 4; Figura 26). Podemos notar a velocidade da remodelação óssea, na qual o osso imaturo, depositado inicialmente, é substituído gradativamente pelo osso maduro com valores altos nos períodos tardios.

No grupo controle, quando somamos a fração de tecido ósseo maduro e tecido ósseo imaturo, temos a quantidade de trabéculas ósseas. Notamos que, nos períodos iniciais, a fração e o volume de estroma fibrovascular ultrapassa o de fração de trabéculas ósseas no período de 15 dias, igualando os volumes nos períodos de 30 e 60 dias. No período de 120 dias, ocorre uma completa inversão com significativo aumento da fração de trabéculas ósseas (Tabela 4; Figura 27, 28 e 30).

Modelos animais são freqüentemente utilizados para determinar a utilidade clínica e a segurança de novos materiais utilizados como membrana oclusiva, ou como materiais de enxerto endósseo. Nos defeitos submetidos a enxertos de hidroxiapatita granulada, os procedimentos para as análises histomorfométrica levaram em consideração o osso maduro, osso imaturo, estroma fibrovascular, trabéculas ósseas e a própria hidroxiapatita, a propósito da cicatrização óssea guiada com HA granulada.

Os valores histomorfométricos individuais referentes à fração de volume do osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular e hidroxiapatita granulada encontram-se na

Tabela 4. Os valores médios e o desvio-padrão da fração de volume da hidroxiapatita granulada e do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular em função dos períodos de observação podem ser observados na Tabela 4. Esses valores estão representados graficamente na Figura 31.

Análise comparativa entre as médias da fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular entre os defeitos tratados com hidroxiapatita granulada e os defeitos controles em função dos períodos de observação, encontram-se na Tabela 4. Esses valores comparativos estão representados graficamente na Figura 25, 26, e 27.

A fração de volume da hidroxiapatita granulada sofre redução de acordo com os períodos de observação (Tabela 4 e Figura 29). Na análise microscópica (qualitativa), verificamos que os grânulos de hidroxiapatita mostravam sinais de rarefação na superfície de contato com o osso neoformado. Algumas áreas com partículas osteointegradas mostravam sinais de remodelação em função do tempo de observação. Contudo, os grânulos de hidroxiapatita, cuja fração de volume sofre redução com os períodos de tempo, ainda são visíveis no período de 120 dias (Tabela 4). A comparação entre as médias da fração de volume do osso imaturo no grupo controle e no grupo experimental foi significativa nos períodos de 15, 30 e 120 dias, e não significativa no período de 60 dias (Tabela 4). A comparação entre as médias da fração de volume do osso maduro, entre os grupos controles e experimentais, foi significativa nos períodos de 30 e 60 dias e não significativa nos períodos de 15 e 120 dias (Tabela 4). A fração de volume do estroma fibrovascular teve a comparação entre as médias significantes em todos os períodos estudados (Tabela 4). A presença, mesmo que discreta, do estroma fibrovascular no período de 120 dias se deve à presença de medula óssea que foi considerada no sistema histomorfométrico como estroma fibrovascular. A fração de volume das trabéculas ósseas aumenta com os períodos de observação vendo-se o contrário com o componente estroma fibrovascular (Tabela 4). A comparação entre as médias

da fração de volume das trabéculas ósseas entre os grupos controles e tratado com enxerto de hidroxiapatita granulada foi significativa nos períodos de 15, 30 e 60 dias e não significativa no período de 120 dias (Tabela 4). Na Figura 27, observa-se que os componentes, estroma fibrovascular e hidroxiapatita mostram um padrão de curvatura semelhante com diferença apenas nos índices de valores médios. A diferença aumenta nos períodos mais avançados de observação (Tabela 4). A fração de volume das trabéculas ósseas mostra um padrão diferente de curvatura e índice de valores médios mais elevados em comparação com componentes anteriores.

A análise comparativa das médias da fração de volume das trabéculas ósseas entre o grupo controle e o grupo tratado com hidroxiapatita granular evidenciou valor não significativo ($p < 0,05$) no período de 120 dias (Figura 28 e Tabela 4). Contudo, nos outros períodos, os valores médios foram significantes (Figura 28 e Tabela 4). Esses dados histomorfométricos, analisados em conjunto com os resultados histológicos, permitem concluir que a hidroxiapatita granular não sofreu degradação significativa nos períodos de tempo observado. As partículas de hidroxiapatita foram envolvidas pelas trabéculas ósseas em regeneração, cujo aumento foi estatisticamente significativo nos períodos de 15, 30 e 60 dias (Tabela 4). Finalmente, cabe destacar que as partículas de hidroxiapatita mostram franca evolução a degradação e a serem substituídas por tecido ósseo autógeno em regeneração.

Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular e trabéculas ósseas no grupo controle e experimental e hidroxiapatita (apenas grupo experimental) em defeitos ósseos obtidos por craniotomia em função dos períodos de observação.

microscopia (% do volume)	grupo controle n=32				grupo experimental n=12			
	períodos de avaliação (dias)							
	15	30	60	120	15	30	60	120
osso imaturo	15,9±5,7	16,2±2,5	15,3±3,3	10,4±1,7	*44,8±3,2	*44,0±3,1	16,7±2,5	*4,4±1,4
osso maduro	5,8±2,3	29,9±3,3	34,8±3,2	70,9±2,6	8,2±0,8	*23,8±1,5	*59,7±4,1	73,3±4,3
e. fibrovascular	78,3±6,7	54,0±3,6	49,9±3,8	18,7±2,3	*13,8±2,6	*7,0±3,2	*5,8±1,6	*5,0±3,3
t. ósseas	25,1±8,1	47,8±4,1	49,4±2,7	81,6±2,8	*53,0±3,9	*67,8±4,3	*76,4±1,9	77,7±5,4
hidroxiapatita	-----	-----	-----	-----	33,2±5,1	25,2±3,3	17,8±0,4	17,3±3,9

*médias significativamente diferentes em relação ao grupo controle (p<0,05)

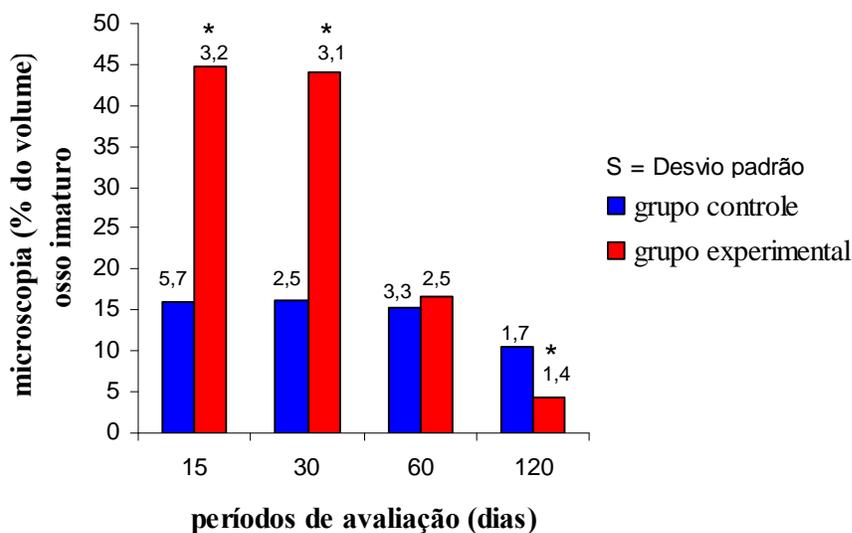


Figura 25 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de osso imaturo, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * p< 0,05.

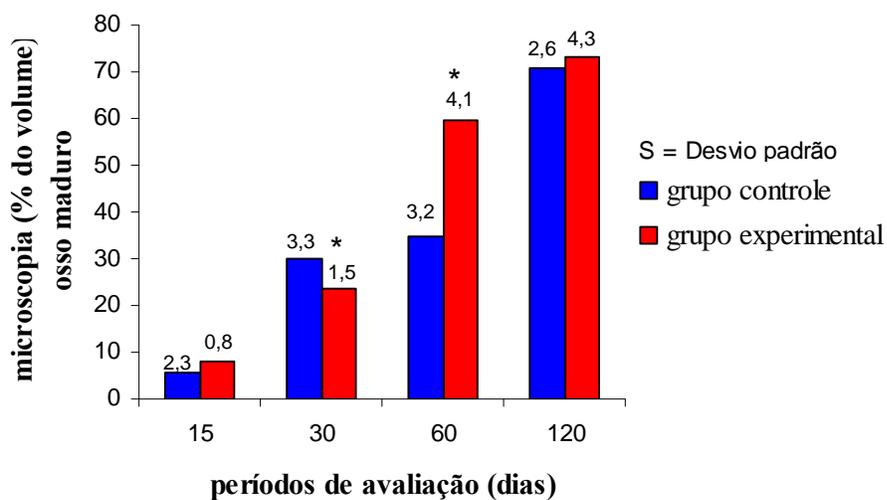


Figura 26 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de osso maduro, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * $p < 0,05$.

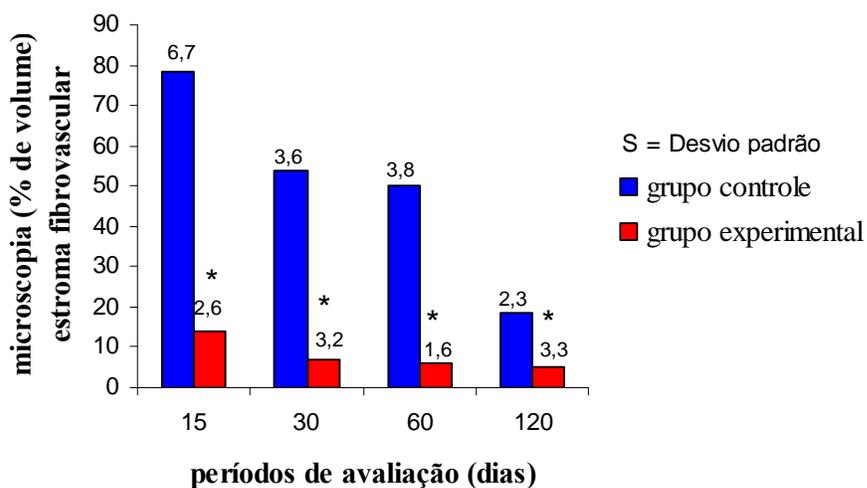


Figura 27 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de estroma fibrovascular, obtidos por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * $p < 0,05$.

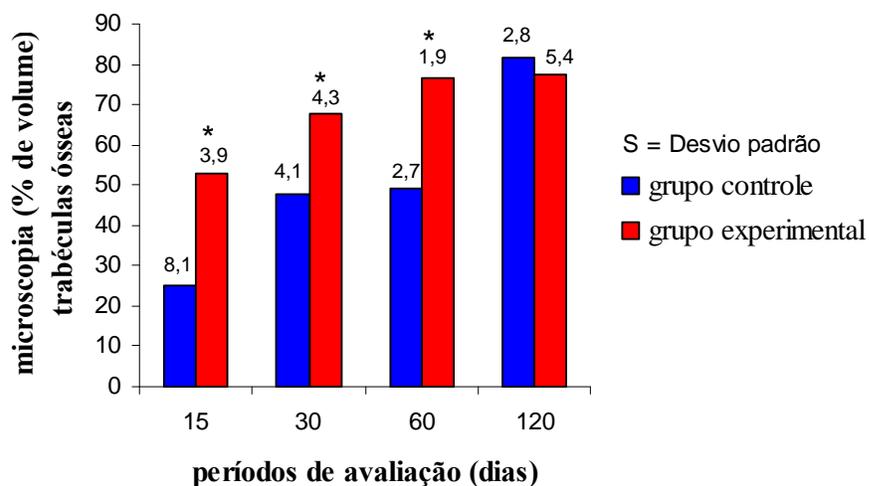


Figura 28 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume de trabéculas ósseas obtidos, por craniotomia no grupo controle e experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral. * $p < 0,05$.

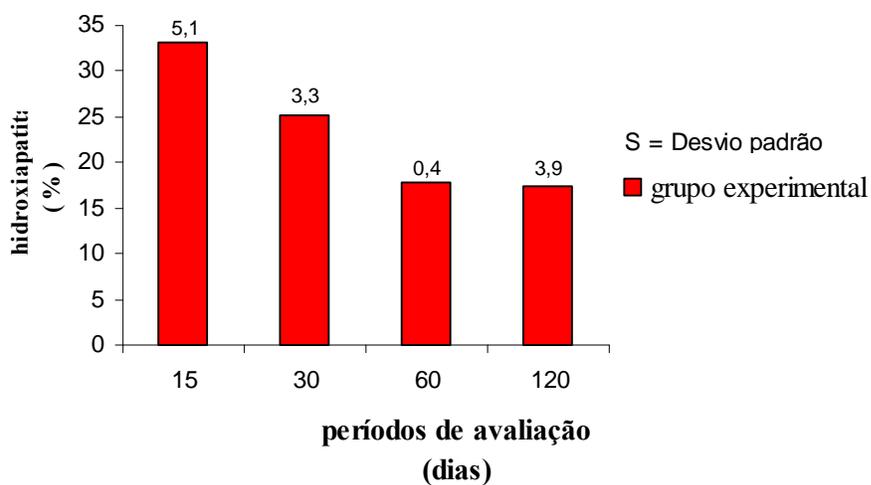


Figura 29 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de HA no grupo experimental, em função dos períodos de observação. S = desvio padrão amostral.

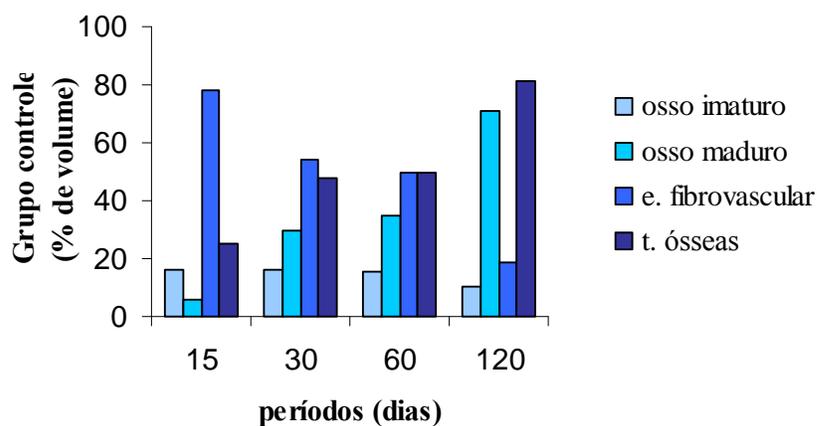


Figura 30 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular e trabéculas ósseas no grupo controle, em função dos períodos de observação.

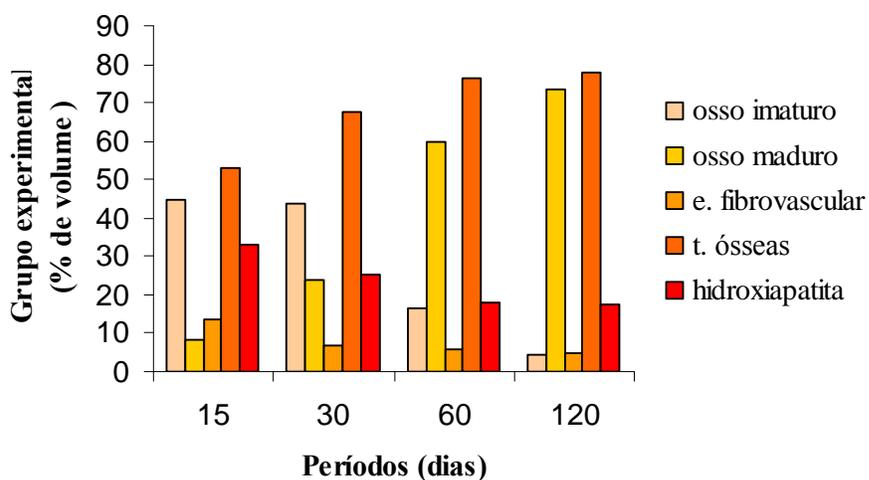


Figura 31 – Representação gráfica dos valores percentuais médios de osso imaturo, osso maduro, estroma fibrovascular, trabéculas ósseas e hidroxiapatita no grupo experimental, em função dos períodos de observação.

DISCUSSÃO

Grandes perdas ósseas ainda têm se mostrado de difícil manejo na medicina, enxertos autógenos são limitados e contém pouco arcabouço para substituição. Os enxertos aloplásticos tem se mostrado como boa alternativa e tornou-se, então, a força motriz para esse estudo, pois, têm vantagens sobre enxertos heterólogos, como menor custo, perigos com reações alérgicas e riscos de transmissão de doenças.

Orr (2000) revela a dificuldade de manipulação dos aloenxertos tais como: incerteza imunológica, reabsorção prematura e propagação de doenças. Defino (1997), preocupado como o osso ilíaco, que é área doadora de enxerto autógeno em humanos, cita a importância e define técnicas para manutenção desse estoque ósseo com reconstrução desses sítios doadores com ossos de costelas e vértebras do próprio paciente. Dumas (2006), estudou métodos de purificação de enxertos alógenos e concluiu que determinados processos de purificação podem diminuir a capacidade osteointegradora desses enxertos. Garg (2004), cita ainda que enxertos aloplásticos se dividem em matriz bovina inorgânica, carbonato de cálcio e cerâmicas sintéticas de fosfato de cálcio, este último se subdividindo em HA, tricálcio fosfato e carbonato de cálcio.

Dentre os materiais de enxerto, a HA tem se mostrado promissora. Vários autores declinam suas vantagens que vão desde preço e facilidade de aquisição até suas várias formas de apresentação e semelhança estrutural com o componente inorgânico do osso. Em nosso estudo, foi utilizada a HA granulada, devido ao fácil manejo e bom preenchimento no local do defeito ósseo.

Segundo Vital (2006), sua composição química e estrutural é similar ao osso humano, sendo amplamente difundida como osteocondutora. Sassioto (2004), independentemente da classificação, afirma que todo enxerto sofre influência do organismo receptor, como tensão de oxigênio, desnutrição protéica, doenças metabólicas, hormônios e vitaminas.

Houve preferência nesse trabalho pelo uso da hidroxiapatita na forma granulada tendo em vista suas vantagens como substituto ósseo, tais como, a fácil modelação da HA granulada no sítio do defeito ósseo, aumentando assim a superfície de contato. Esse contato foi ainda incrementado com a adição de tecido sanguíneo da própria ferida operatória do receptor misturado a essas partículas. Tal procedimento, além de promover maior fixação entre as partículas, também as envolveu em coágulo sanguíneo, o que facilitou a colonização de células osteogênicas.

Pinhold 1992, defende também que só ocorre formação osteóide na interface HA/osso quando se usa forma não porosa dessa substância. Letic-Gavrilovic (2002), em seu trabalho, também utilizou o coágulo sanguíneo para aumentar a coesão entre as partículas de HA e concluiu que houve importante incremento na osteocondução. Marx e Garg (2005) citaram a importância do envolvimento de materiais bioativos em plasma rico em plaquetas com melhora da osteocondução e ainda observaram características de osteoindução nessa associação.

Optamos pelo estudo experimental em animais, uma vez que nosso interesse é a utilização futura da HA em organismo humano como alternativa de enxerto ósseo. Efeitos observados *in vivo* são, na maioria das vezes, mais ilustrativos e fidedignos que resultados vistos em trabalhos *in vitro*, outro importante aspecto é o comportamento do organismo vivo como compatibilidade e degradação ou reações adversas, sendo esses os principais motivos do estudo ser experimental

Jensen (1996) cita a HA como ótimo material de substituição óssea, pois possui características de biocompatibilidade e osteocondução, quando usado em seres vivos. Kim 2005, por outro lado, obteve bons resultados em estudos com a HA gel misturado a derivados do colágeno *in vitro*.

Foi observado em nosso estudo que a HA porosa permitiu uma melhor regeneração do defeito ósseo, quando comparado com as formas não granulosas ou membranas. Permitem a deposição de células osteogênicas através da margem óssea cruenta da lesão, penetram nos poros e depositam matriz óssea. A formação de novo osso inicia-se na borda do defeito e é conduzido através do implante, formando uma ponte entre o osso e a HA, o que constitui, o princípio da osteocondução. Essa observação também foi realizada por Ripamonti (1992) e Kurashina (2002). Thaller (1989) obteve os mesmos resultados, citando o progressivo crescimento e aposição óssea no interior da HA porosa. Porém, ao contrário de nossos resultados, o autor também observou ação osteoindutora em seu estudo.

A HA pode se apresentar sob a forma densa ou porosa e possui a fase sólida e a fase líquida que, quando misturadas, reagem para formar a hidroxiapatita. A reação final determina se o produto obtido será reabsorvível, minimamente reabsorvível ou não reabsorvível (MAVROPOULOS, 1999; LEVENTOURI, 2001; BOANINI, 2006). Segundo Hutchens (2006), mesmo usando a HA descalcificada ocorre indução a colonização em falhas ósseas

O uso de coelhos em nosso trabalho se deu devido a facilidade de manuseio, assim como suas dimensões permitirem o uso de materiais cirúrgicos muito semelhantes aos usados rotineiramente pelos profissionais da saúde como médicos, veterinários, dentistas e outros. São, ainda, animais calmos que oferecem poucos riscos a quem os manuseia, não têm hábitos autofágicos, não requerem cuidados especiais além dos triviais e filogeneticamente são muito próximos aos seres humanos. Destarte, são usados como modelos experimentais nas linhas de pesquisas com regeneração óssea no Biotério da USC, proporcionando maior similaridade entre as pesquisas.

Peltola (2001) estudou processo regenerativo com HA na calvária de coelhos. Já Betti (2004) optou pelo estudo em fêmures de coelhos. Alt (2001) utilizou próteses com HA e gentamicina também em coelhos. Ambos descreveram vantagens no uso desses animais. Por

outro lado, Sugar (1994), utilizou HA porosa em maxila de ratos, obtendo bons resultados e Cancian (2002) optou em seu trabalho pela utilização de mandíbulas de macacos.

Utilizamos métodos de avaliação que podem ser reproduzidos sem muito custo e de domínio na comunidade acadêmica que fossem reprodutíveis mesmo interobservadores. As observações macroscópicas são realizadas diretamente sem necessidade de aparelhos ou técnicas apuradas. Os resultados microscópicos foram processados com técnicas e corantes padronizados e as características observadas, como estroma fibrovascular, trabéculas ósseas e enxerto de HA, são relativamente de fácil reprodução entre diferentes examinadores.

O sistema radiográfico digital (Digora), embora requeira material e técnica especializada, o que dificulta sua reprodutibilidade em outros locais, tem a vantagem de ser pouco dependente do fator humano, pois um conjunto de aparelhos de radiógrafos, escaneadoras e computadores processam a imagem até o resultado final. Este procedimento tem a vantagem de ser pouco examinador-dependente.

Pinholt (1992) procedeu análise histológica de quatro tipos de HA afirmou que a granulada (Interpore 200) foi reabsorvida durante o período do estudo. Figueiredo (2001) descreveu resultados semelhantes aos nossos com grânulos de HA avaliados por métodos radiológicos, histológicos. Caporali (2004) realizou avaliação radiográfica, tomográfica e histológica em seu trabalho em rádios de coelhos.

Nossos resultados microscópicos demonstraram que, desde o início, a presença da HA inibiu a formação do estroma fibrovascular pelo próprio efeito de massa, ocupando o espaço vazio. Também, ao final da avaliação com 120 dias, a porcentagem de volume de estroma era significativamente menor no grupo experimental. Essa diferença de volume foi preenchida pela HA. Esta, por sua vez, também apresentou reabsorção parcial, demonstrando seu potencial de degradação no período estudado.

Nunes (1998) em seu trabalho com HA porosa, não observou degradação das partículas no período estudado de 30 meses. Hong (2006) concluiu em seu experimento com HA granulada uma rápida degradação e chamou até de “destruição dos compostos”, devido a essa rapidez. Hutchens (2006) ao utilizar gel de HA, notou rápida incorporação pelo tecido ósseo. Nunes (1998) descreveu que a estrutura da HA produz um guia tridimensional para invasão vascular e posterior deposição de tecido ósseo. Não observou reabsorção e degradação em seu estudo.

A HA porosa granulada, utilizada nesse trabalho, evidenciou excelente tolerância tecidual, havendo ausência total de citotoxicidade, haja vista que não houve nenhuma reação imunológica indesejável.

Braz (2003), em seu trabalho com HA, associada a matriz orgânica bovina, não encontrou sinais de reação por corpo estranho nem sinais de reação inflamatória. Seguiu ainda concluindo que essa combinação não causou nenhum tipo de reação adversa. Figueiredo 2001, obteve excelente integração HA/osso, usando HA porosa em blocos e foi muito semelhante à encontrada no osso autógeno no transcorrer de 12 semanas.

Notamos que, no grupo com HA, a formação de osso imaturo foi mais volumosa com 15 dias de evolução que no controle. Ge (2003) descreveu a similaridade entre a HA e o osso dos vertebrados e relata maior rapidez na formação óssea na presença desse biomaterial. Notamos também um significativo aumento na formação de osso maduro no período de 60 dias no grupo experimental, sugerindo o potencial osteocondutor da HA. Hong (2005) notou maior velocidade da regeneração óssea com uso da HA, porém diferentemente de nosso estudo notou aposição inicial de condrócitos que foram substituídos por tecido ósseo posteriormente. Ao somarmos o volume de osso maduro e imaturo obtemos o volume de trabéculas ósseas e notamos que, até sessenta dias, a formação dessas trabéculas é maior no grupo experimental, tendo esse resultado influência da HA.

Esses resultados permitem afirmar o papel de condução da HA e sua biofuncionabilidade. Biocompatibilidade é a aceitação desse material pelo corpo e biofuncionabilidade é a capacidade desse material desempenhar a função desejada (MAVROPOULOS 1999; ITO 2001).

O papel da HA tem sido discutido no prisma das suas propriedades. Alguns autores afirmam ser osteocondutor, outros alegam promover a osteoindução. Parece-nos que as definições por vezes se entrelaçam gerando um conjunto de dúvidas.

Lindholm e Lindholm (1996) colocaram a HA como osteocondutora, e que, para tal *in vivo*, é necessário íntimo contato com o osso. Já Belmonte (2005) define a osteoindução como a capacidade de certos materiais biológicos promoverem o crescimento ósseo, mesmo em sítios de tecidos não ósseos.

São exemplos de osteoindutores o osso autógeno, matriz orgânica de osso humano e bovino, fatores de crescimento e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP). Sabemos da importância da estabilidade que deve haver na interface entre o enxerto da HA e o sítio receptor, pois se houver movimentos ou instabilidade pode seguir-se falha na reação tecidual óssea e promover formação de tecido fibroso nesta interface e por conseguinte, não haverá o processo adequado de neossificação. Notamos nesse estudo que a calvária de coelhos detém importante estabilidade e foi fator determinante para formação de pontes osteóides e ósseas na interface. Pinholt (1992) demonstrou que micromovimentos na interface osso-enxerto HA causa diminuição da tensão de oxigênio e favorece a criação de tecido não ósseo e até cartilaginoso.

Com o passar do tempo, a fixação das partículas de HA passa a depender da deposição de material osteóide em sua superfície e poros. Essa deposição, inicialmente osteóide, promove a estabilidade das partículas e, com o processo de remodelação, passam a ser aprisionadas por osso inicialmente imaturo e subsequente maduro.

Sugar (1994) também descreveu a estabilidade da HA porosa em seu trabalho, chamando atenção para a (INTERPORE, 200) que apresentou melhor estabilidade. Wang (1994) fez referência sobre a incorporação da HA pela matriz óssea.

Algumas características da HA, como a porosidade, entre outras, influenciam na eficácia da condução do crescimento tecidual para o seu interior. Notamos que, em nosso experimento, a presença de poros permitiu maior estabilidade e regeneração.

Eggl, Miller e Schenk (1988) demonstram que o osso se forma melhor em poros entre 50 a 100 micrômetros. Joschek (2000), relacionou a osteocondução da HA porosa com o tamanho dos poros.

Devido a essas extensas conexões ósseas, as partículas de HA adquirem firme fixação podendo, inclusive, suportar forças mecânicas de sobrecarga sobre a região óssea do processo de reparo. A fixação e, portanto, a estabilidade mecânica do sistema depende de íntimo contato do osso regenerado com a superfície das partículas. Esse contato pode ser observado em nosso estudo pela ausência de espaço preenchido por tecido fibroso na interface osso-superfície das partículas.

Takeshita (1997), não encontra tecido fibroso na superfície de contato HA/osso, e essa fixação óssea se faz devido a similaridade desta com componentes do tecido ósseo. Garg (2004) afirma que blocos de HA não absorvíveis e não porosas tiveram papel importante na força de coesão, e suportando o stress durante o processo de reossificação. Takeshita (1997) visualizou uma fina camada osteóide sobre a face da HA já com cinco dias. Com sete dias, era clara a penetração de tecido osteóide sobre a superfície porosa.

Na análise histológica deste trabalho, notamos que o transcurso de regeneração óssea no grupo experimental seguiu um processo de osteogênese intramembranosa, também chamado de osteonal direto o qual, a partir da lesão, o tecido fibrovascular invade o enxerto,

em seguida a matriz osteóide e, na seqüência, o osso imaturo e maduro penetram definitivamente nesse enxerto, não passando pela formação de tecido cartilaginoso.

Miranda (2005) relata uso de HA misturada em partículas de sangue do próprio sítio de fratura e observa o início ainda mais precoce de formação de pontes ósseas nesse biomaterial que no próprio enxerto autógeno. Por outro lado, Arx (2000) notou formação de tecido conectivo na interface com a membrana e atribuiu tal fato à presença de micromovimentos na fase inicial, reforçando a idéia da importância de uma boa estabilização inicial na interface.

Esse estudo observou que a biocompatibilidade da hidroxiapatita, obtida de forma bovina, tem sugerido seu uso não somente por sua composição, mas pelos resultados obtidos em implantes *in vivo*. Demonstra ausência de toxicidade local ou sistêmica, não provoca reação inflamatória tipo corpo estranho. Em contato com a hidroxiapatita, ocorre aposição direta de material osteóide sem a interposição de tecido fibroso. Braz (2001) observou osteointegração da HA porosa cilíndrica com osso receptor, sem causar nenhum tipo de reação adversa.

Os resultados obtidos através do método de radiografia digital (Digora) mostraram-se pouco conclusivos, principalmente as médias obtidas no período de 60 dias, onde esperaríamos progressivo aumento da radiopacidade e foi observado queda. Esses valores não permitem afirmação de progressiva radiopacidade com neoformação óssea no decorrer do período. Tal quebra da curva no período de 60 dias pode representar falha de técnica de manipulação das amostras ou outros problemas técnicos durante o processo de preparo do material. Pode também representar uma diminuição de concentração de material osteogênico nesse período específico. Contudo, devido a essa alteração não se pode fazer conclusões precipitadas e aguardaremos uma outra oportunidade para trabalho específico de elucidação científica.

Almeida (2001) comparou três métodos de radiografias convencionais e digitais e concluiu que na região periapical o sistema Digora mostrou-se estatisticamente superior aos outros. Silva (2006) estudou o processo de reparo alveolar comparando o sistema digora com outras radiografias convencionais digitalizadas e concluiu que o sistema Digora é superior e preciso para acompanhar o processo de reparo ósseo.

CONCLUSÃO

1. A fração de volume da hidroxiapatita granulada sofre redução ao longo dos períodos de observação. O processo de remodelação osso/partículas, em que se observa formação de osso maduro lamelar firmemente aderido à superfície das partículas que, com o tempo, sofre gradual destruição é observado nos períodos mais tardios do enxerto de hidroxiapatita.
2. As partículas de hidroxiapatita unem-se ao tecido ósseo imaturo e, subseqüentemente, ao tecido ósseo maduro, denotando perfeita osteointegração.
3. A ausência de reação inflamatória e de encapsulamento fibroso comprova a biocompatibilidade de hidroxiapatita que atuou como *space filler*, isto é, como material de enchimento, mantendo a estabilidade mecânica e volumétrica do defeito nos períodos iniciais, impedindo a penetração de tecido conjuntivo não osteogênico na área do defeito.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. **Análise da formação óssea utilizando hidroxiapatita associada ou não a plasma rico em plaquetas**. 2004. 43 fls. Dissertação (Mestrado em Morfologia) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ALPISTE-ILLUECA, F. M. et al. Periodontal regeneration in clinical practice. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 11, p. E382-392, 2006.
- ALMEIDA, S. M. de et al. Avaliação de três métodos radiográficos (periapical, convencional, periapical digital e panorâmico) no diagnóstico de lesões apicais produzidas artificialmente. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 15, n.1, p. 56-63, jan./mar. 2001.
- ALT, V. et al. The effects of combined gentamicin-hydroxyapatite coating for cementless joint prostheses on the reduction of infection rates in a rabbit infection prophylaxis model. **Biomaterials**, v. 27, p. 4.627-4.634, 2006.
- ANDEREEG, C. R.; ALEXANDER, D. C.; FRIEDMAN, M. A. Bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. **J. Periodontol.**, v. 70, p. 384-386, 1999.
- ANDRADE, J. C. T. **Osteointegração de corpos cerâmicos densos e porosos de hidroxiapatita em cavidades produzidas em fêmur do rato**. 1997. 70 fls. Dissertação (Mestrado em Morfologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- BARROS FILHO, T. E. P. et al. Estudo do uso da membrana de politetrafluoroetileno inerte expandido para a prevenção de fibrose pós laminectomia em ratos wistar. **Acta ortop. bras.**, v. 11, n. 2, p. 110-117, 2003.
- BARSAM, M. F. et al. Reação tecidual induzida pelos implantes de silicone e de polímero da mamona usados como espaçadores de tendão: estudo experimental comparativo. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 38, n. 5, p. 291-300, mai. 2003.
- BELMONTE, G. C. et al. Regeneração óssea guiada em modelo de craniotomia utilizando membrana de resina de poliuretano como barreira. **Braz. Oral. Res.**, v. 19, supplement, 2005.
- BETTI, L. V. **Análises microscópica e radiográfica do reparo de defeitos confeccionados em fêmures de coelhos preenchidos com matriz óssea bovina medular em bloco ou cortical em microgrânulos**. 2004. 185 fls. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.
- BIFANO, C. A. et al. Preliminary evaluation of hydroxyapatite cement as na augmentation device in the edentulous atrophic canine mandible. **Oral Surg. Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 85, p. 512-516, 1998.
- BOANINI, E. et al. Nanocomposites of hydroxyapatite with aspartic acid and glutamic acid and their interaction with osteoblast-like cells. **Biomaterials**, v. 27, p. 4428-4433, 2006.

BORGES, A. P. B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia, em cães.** 1998. 113 fls. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BORGES, A. P. B. et al. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos à microscopia eletrônica de transmissão. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 52, n. 6, p. 175-183, 2000.

BRAZ, F. et al. Emprego de matriz óssea orgânica bovina e hidroxiapatita no reparo de defeito induzido em crânio de ratos. **Acta Cir. Bras.**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2003.

CALONGNE, K. B. et al. Clinical comparison of microporus biocompatible composite of PMMA, PHEMA and calcium hydroxide grafts and expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes in human mandibular molar Class II furcations. A case series. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 10, p. 1451-1459, 2001.

CAMARGO, O. P. A. et al. Resultado a médio prazo da reconstrução da lesão crônica do ligamento cruzado em prótese de poliéster. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 36, n. 4, p. 111-116, abr. 2001.

CANCIAN, D. C. J. **Utilização de enxerto ósseo autógeno, biovidros e cimento de fosfato de cálcio em defeitos ósseos criados cirurgicamente em mandíbulas de macacos *cebus apella*. Estudo histológico.** 2002. 85 fls. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

CAPORALI, E. H. G. **Biomateriais de origem bovina associados a BMPs absorvidas à hidroxiapatita sintética absorvível no tratamento de defeitos ósseos segmentares, induzidos em rádio de coelhos. Análise radiográfica, tomográfica e histológica.** 2004. 110 fls. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

CHEN, Y. L. et al. Conformational Changes of Fibrinogen Adsorption onto Hydroxyapatite and Titanium Oxide Nanoparticles. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 214, n. 1, p. 38-45, 1999.

CHRIS-ARTS, J. J. et al. The use of a bioresorbable nano-crystalline hydroxyapatite paste in acetabular bone impaction grafting. **Biomaterials**, v. 27, p. 1.110-1.118, 2006.

CIANI, R. B. et al. Mistura de proteínas morfogenéticas ósseas, hidroxiapatita, osso inorgânico e colágeno envolta por membrana de pericárdio no preenchimento de defeito ósseo segmentar em coelhos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 1, p. 59-67, 2006.

COATHUP, M. J. et al. Role of hydroxyapatite coating in resisting wear particle migration and osteolysis around acetabular components. **Biomaterials**, v. 26, p. 4.161-4.169, 2005.

COHEN, M. et al. Reconstrução intra-articular do ligamento cruzado anterior com enxerto autólogo de tendão patelar envolvido pelo ligamento sintético de poliéster. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 29, n. 8, p. 551-556, ago. 1994.

CONNOR, J. Evaluation of bone regeneration at critical size calvarial defect DM/AM composite. **J. Biomedical Materials Research**, v. 81b, p. 516-523, Oct. 2006.

CONSTANTINO, P. D. et al. Experimental hydroxiapatite cement cranioplasty. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 90, n. 2, p. 174-188, 1992.

CONZ, M. B.; GRANJEIRO, J. M.; SOARES, G. A. Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications as bone graft. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 13, n. 2, p. 136-140, 2005.

CORDIOLI, M. A. G.; PUSTIGLIONI, F. E.; GEORGETTI, M. A. P. Reparação óssea alveolar pós-exodontia em cães, com e sem o uso de membrana de PTFE-e: análise histológica. **Rev. Pós-Grad. USP**, v. 7, n. 4, p. 320-327, 2000.

CURI, P. R. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. 2. ed. Botucatu: Tipomic; 1978.

DEFINO, H. L. A.; FUENTES, A. E. R.; OLIVEIRA JÚNIOR, W. M. Reconstrução da área doadora de enxerto ósseo do ilíaco. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 32, n. 10, p. 822-826, out. 1997.

DE GROOT, K. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. **Biomaterials**, v. 1, n. 1, p. 47-50, 1980.

DÓREA NETO, F. A et al. Artrodese do carpo em gatos associada à hidroxiapatita. **Ciênc. Rural**, v. 34, n. 3, p. 931-934, 2004.

DUARTE, T. S. **Osseointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães**. 2003. 60 fls. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DUMAS, A. et al. The influence of processes for the purification of human bone allografts on the matrix surface and cytocompatibility. **Biomaterials**, v. 27, p. 4204-4211, 2006.

EGGLI, P. S.; MILLER, W.; SCHENK, R. K. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted. **Clin. Orthop.**, v. 232, p. 127-137, 1988.

ELIAS, N.; EAL, D. T. N. L.; SANTOS, L. A. M. S. Fixação interna das fraturas do tornozelo com parafusos biodegradáveis. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 32, n. 4, p. 319-322, abr. 1997.

ENNEKING, W. F et al. Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. **J. Bone and Joint Surgery**, v. 57-A, n. 2, p. 237-252, 1975.

FERREIRA, G. R. et al. Lack of repair of rat skull critical size defect treated with bovine morphometric protein bound to microgranular bioabsorbable hydroxyapatite. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n. 3, p. 175-180, 2004.

FIGUEIREDO, A. S. de et al. Comparação entre hidroxiapatita porosa de coral e enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Acta Cir. Bras.**, v. 16, n. 3, p. 169-175, 2001.

_____. Osteointegração de osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita de coral, poliuretana de mamona e enxerto autógeno em coelhos. **Acta Cir. Bras.**, v. 19, n. 4, p. 370-382, 2004.

FRANCO, K. L. et al. Hidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita sintética associada ao colágeno e hidroxiapatita sintética associada ao lipossoma como substitutos ósseos em defeitos provocados na tíbia de cães: aspectos da osteointegração à microscopia de luz transmitida. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 4, p. 1-7, 2001.

GALIA, C. R. et al. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 40, n. 3, p. 141-146, mar. 2005.

GAO, T. J. et al. Morphological and biomechanical difference in healing in segmental tibial defects implanted with Biocoral[®] or tricalcium phosphate cylinders. **Biomaterials**, v. 18, n. 3, p. 219-223, 1997.

GARG, A. R. **Bone biology, harvesting and grafting for dental implants**: rationale and clinical applications. China: Quintessence, 2004.

GE, Z. et al. Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. **Biomaterials**, v. 25, p. 1049-1058, 2004.

GOMES, M. F. et al. Histologic evaluation of the osteoinductive property of autogenous demineralized dentin matrix on surgical bone defects in rabbit skulls using human amniotic membrane for guides bone regeneration. **Intern. J. Oral Maxillofacial Implants**, v. 16, n. 4, p. 563-571, 2001.

GONÇALVES, E. A. L. **Dinâmica da regeneração óssea sob ação da matriz dentinária desmineralizada autógena em ossos com mecanismos distintos de ossificação embrionária**. 2001. 162 fls. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.

HASEGAWA, S. et al. A 5-7 year in vivo study of high-strength hydroxyapatite/poly (L-lactide) composite rods for the internal fixation of bone fractures. **Biomaterials**, v. 27, p. 1327-1332, 2006.

HENCH, L. L. Bioceramics: from concept to clinic. **J. Am. Ceram. Soc.**, v. 74, n. 7, p. 147-150, 1991.

HENCH, L. L. Bioceramics. **J. Am. Ceram. Soc.**, v. 81, n. 7, p. 1.705-1.728, July 1998.

HING, K. A et al. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds. **Biomaterials**, v. 27, p. 5014-5026, 2006.

HONG, Z. et al. Nano-composite of poly (L-lactide) and surface grafted hydroxyapatite: Mechanical properties and biocompatibility. **Biomaterials**, v. 27, p. 6296-6304, 2006.

HULBERT S. F., MORRISON, S. J. KLAVITTER J. J. Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 6, n. 5, p. 347-374, 1972.

HUTCHENS, S. A. et al. Biomimetic synthesis of calcium-deficient hydroxyapatite in a natural hydrogel. **Biomaterials**, v. 27, p. 4661-4670, 2006.

IGNÁCIO, H. et al. Utilização da poliuretana derivada do óleo da mamona para preencher defeitos ósseos diafásicos segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 3, p. 815-821, 1997.

IGNÁCIO, H. et al. Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 37, n. 5, p. 187-194, mai. 2002.

IMBRONITO, A. V. **Reparação de defeitos alveolares recobertos por membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis. Estudo histológico em cães.** 1999. 150 fls. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

ISHIKAWA, H. et al. Effects of collagen gel mixed with hydroxyapatite powder on interface between newly formed bone and grafted Achilles tendon in rabbits femoral bone tunnel. **Biomaterials**, v. 22, p. 1689-1694, 2001.

ITO, K. et al. Effects of guided bone regeneration with non-resorbable and bioabsorbable barrier membranes on osseointegration around hydroxyapatite-coated and uncoated threaded titanium dental implants placed into a surgically-created dehiscence type defect in rabbit tibial: a pilot study. **J. Oral Sci.**, v. 43, n. 1, p. 61-67, 2001.

JAIME, A. P. G. et al. Influência da administração local de alendronato sódico no reparo ósseo em calvária de ratas ovariectomizadas. **Cienc. Odontol. Bras.**, v. 8, n. 2, p. 70-79, 2005.

JENSEN, S. S. et al. Tissue reaction and material characteristics of tour bone substitutes. **Intern. J. Oral Maxillofacial Implants**, v. 11, n. 1, p. 55-65, 1996.

JOSCHEK, S. et al. Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone. **Biomaterials**, v. 21, p. 1645-1658, 2000.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; KUBOTA, L. T. Interface potential of calcium phosphate in simulated body fluid. **Biomaterials**, v. 19, n. 24, p. 2329-2333, 1998.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Quím. Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422000000400015&lng=es&nrm=iso&tlng=pt#tabela3#tabela3>. Acesso em: 25 jan. 2007.

KAZAKIA, G. J. et al. Effects of in vitro bone formation on the mechanical properties of a trabeculated hydroxyapatite bone substitute. **InterScience**, v. 77a, n. 4, p. 688-699, 2006.

KIM, H. W. et al. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**, v. 26, p. 5221-5230, 2005.

KOBERLE, G.; CASTRO, J. H. Biocompatibilidade de alguns materiais cerâmicos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 16, n. 3, p. 72-76, 1981.

KURASHINA, K. et al. Experimental cranioplasty and skeletal augmentation using an alpha-tricalcium phosphate / dicalcium phosphat dibasic / tetracalcium phosphate monoxide cement: preliminary short-term experiment in rabbits. **Biomaterials**, v. 7-9, p. 701-706, 1998.

_____. Ectopic osteogenesis with biphasic ceramics of hydroxyapatite and tricalcium phosphate in rabbits. **Biomaterials**, v. 23, p. 407-412, 2002.

KRUYT, M. C. et al. The effect of cell-based bone tissue engineering in a goat transverse process model. **Biomaterials**, v. 27, p. 5099-5106, 2006.

LAYMAN, D. L.; ARDOIN, R. C. An *in vitro* system for studying osteointegration of dental implants utilizing cells grown on dense hydroxyapatite disks. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 40, n. 2, p. 282-290, 1998.

LETIC-GAVRILOVIC, A. **Hybridized polymers as bioactive bone substitutes and GTR scaffolds**. Disponível em: <<http://www.keika.it/hybridizedpolymers.html>>. Acesso em: 2 dez. 2002.

LEVENTOURI, T. Synthetica and biological hydroxyapatites: crystal structure questions. **Biomaterials**, v. 27, p. 3339-3342, 2006.

LINDHOLM, T. J.; LINDHOLM, T. S. Time-related deviations of fibronectin and type I, II and III collagen on the interface between a hydroxyapatite disc and the rim of a calvarial trephine defect in rabbits. **Biomaterials**, v. 17, n. 15, p. 1515-1520, 1996.

MACEDO, N. L. de et al. Guided bone regeneration with subperiosteal implants of PTFE and hydroxyapatite physical barriers in rats. **Braz. Dent. J.**, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2003.

MARX, R. E.; GARG, A. K. Clinical effects of PRP on osseointegration. In: _____. **Dental and Craniofacial Applications of Platelet-Rich Plasma**. China: Quintessence Publishing, 2005. 168p.

_____. **Dental and Craniofacial Applications of Platelet-Rich Plasma**. China: Quintessence Books, 2005.

MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como absorvedor de metais**. 1999, 105 fls. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro.

MIRANDA, E. S. et al. Estudo experimental comparativo no uso de enxerto ósseo orgânico e inorgânico no reparo de fraturas cirúrgicas em rádio de coelhos. **Acta Ortop. Bras.**, v. 13, n. 5, p. 245-248, 2005.

NI, G. X. et al. Interfacial behaviour of strontium-containing hydroxyapatite cement with cancellous and cortical bone. **Biomaterials**, v. 27, p. 5127-5133, 2006.

_____. Strontium-containing hydroxyapatite bioactive bone cement in revision hip arthroplasty. **Biomaterials**, v. 27, p. 4348-4355, 2006.

NILSSON, O. S et al. Bone repair induced by bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. **J. Bone and Joint Surgery**, v. 68, n. 4, p. 635-642, 1986.

NUNES, C. R. et al. Long-term ingrowth and apposition of porous hydroxylapatite implants. **J. Biomed. Mat. Res.** v. 36, n. 4, p. 560-563, 1998.

ORR, T. E. et al. Compressive properties of cancellous bone defects in a rabbit model treated with particles of natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite. **Biomaterials**, v. 22, p. 1953-1959, 2001.

PARK, S. A. et al. In vitro study of osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells on heat-treated porcine trabecular bone blocks. **Biomaterials**, v. 25, p. 527-535, 2004.

PELTOLA, M. J. et al. In vivo model for frontal sinus and calvarial bone defect obliteration with bioactive glass S53P4 and hydroxyapatite. **J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater.**, v. 58, p. 261-269, 2001.

PINHOLT, E. M. et al. Chemical, physical, and histologic studies on four commercial apatites used for alveolar ridge augmentation. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 50, p. 859-867, 1992.

RAISER, D. L. et al. Redução de fenda palatina com resina acrílica autopolimerizável em um gato. **Hora Vet.**, v. 21, p. 50-52, 2001.

RESENDE, A. C. de et al. Análise biológica da hidroxiapatita após implantação em tíbias de ratos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 41, n. 4, p. 132-136, 2006.

RIPAMONTI, U. Induction of bone in composites of osteogenin and porous hydroxyapatite in baboons. **Plastic Reconstr. Surg.**, v. 89, n. 4, p. 731-740, 1992.

RIPAMONTI, U. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. **Biomaterials**, v. 17, n. 1, p. 31-35, 1996.

ROGERO, S. O.; BRAGA, F. J. C.; HIGA, O. Z. Cytotoxicity test for bioceramics of calcium phosphate. **Mater. Sci. Forum**, v. 299-300, p. 44-47, 1999.

ROSA, A. L.; SHAREEF, M. Y.; VAN NOORT, R. Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 14, n. 3, p. 273-277, 2000.

SANTOS, F. A. et al. Utilização do vidro bioativo na regeneração óssea guiada: revisão de literatura. **Rev. Bras. Implantodont. Prótese implant.**, v. 10, n. 40, p. 320-326, 2003.

SANTOS, M. L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclet. Quím.**, v. 30, p. 3, p. 29-35, 2005.

SASSIOTO, M. C. P. et al. Efeito da calcitonina na integração da matriz óssea bovina desvitalizada, em ratos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 39, n. 8, p. 448-460, ago. 2004.

SEPÚLVEDA, P. et al. Hidroxiapatita porosa produzida através do gelcasting de espumas visando aplicações biomédicas. **Cerâmica**, v. 45, n. 296, p. 198-202, 1999.

SCHENK, R. K. Bone Regeneration Biologic Basis. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. **Guided bone regeneration in implant dentistry**. Chicago: Quintessence, 1994. p. 49-100. Chap. 3.

SCHIMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibular nonunions. **Clin. Orthop. R. Res.**, v. 205, p. 299-308, 1986.

SCHIMITZ, J. et al. Characterization of rat calvarial nonunion defects. **Acta Anat. (Basel.)**, v. 138, n. 3, p. 185-192, 1990.

SETH, R. T.; KIM, J. C.; KAWAMOTO, H. K. Calvarial bone graft donor site: a histological study in a rabbit model. **Annals of Plastic Surgery**, v. 23, n. 5, p. 390-395, 1989.

SHUROFF, A. A. **Avaliação da regeneração óssea com implante de hidroxiapatita de cálcio de defeitos ósseos criados no fêmur de ratos**. 2004. 80 fls. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

SILVA, J. L. da. **Análise comparativa entre o sistema digital Digora e a digitalização da radiografia convencional na avaliação da densidade radiográfica do processo de reparo alveolar**. 2005. 58f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2005.

SO, K. et al. Accelerated degradation and improved bone-bonding ability of hydroxyapatite ceramics by the addition of glass. **Biomaterials**, v. 27, p. 4738-4744, 2006.

STUBBS, D. et al. In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model. **Biomaterials**, v. 25, p. 5037-5044, 2004.

SUGAR, A. W. et al. Augmentation of the atrophic maxillary alveolar ridge with hydroxyapatite granules in a Vicryl (Polyglactin 910) knitted tube and simultaneous open vestibuloplasty. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.32, n. 2 1, p. 93-97, 1995

TAKESHITA, F. et al. Study of bone formation around dense hydroxyapatite implants using light microscopy, image processing and confocal laser scanning microscopy. **Biomaterials**, v. 18, n. 4, p. 317-327, 1997.

THALLER, S. R.; KIM, J. C.; KAWAMOTO, H. K. Calvarial bone graft donor site: a histological study in a rabbit model. **Annals Plast. Surg.**, v. 23, n. 5, p. 390-395, Nov. 1989.

TURK, A. E. et al. Enhanced healing of large cranial defects by an osteoinductive protein in rabbits. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 92, n. 4, p. 593-600, 1993.

VALLET-REGÍ, M. Introduction to the world of biomaterials. **Anales de Química**, v. 93, supplement 1, p. S6-S14, 1997.

VAN BLITTERSWIJK, C. A.; GROTE, J. J. Bioreactions at the tissue/hydroxyapatite interface. **Biomaterials**, v. 6, n. 4, p. 243-251, 1985.

VIALOGO, J. G. G. "Plug" ósseo autógeno para orifícios de trepanação: nota técnica. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, v. 57, n. 4, p. 1041-1045, 1999.

VITAL, C. C. et al. Biocompatibility and behavior of hydroxyapatite on bone defect on rabbit's ulna. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 2, p. 175-183, Apr. 2006.

VON ARX, T., et al. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 12, p. 260-269, 2001.

WAHL, D. A.; CZERNUSZKA, J. T. Collagen hydroxyapatite composites for hard tissue repair. **European Cells and Materials**, v. 11, p. 43-56, 2006.

WANG, J.S.; GOODMAN, S.; ASPENBERG, P. Bone formation in the presence of phagocytosable hydroxyapatite particles. **Clin. Orthopaed. Relat. Res.**, v. 304, p. 272-279, July 1994.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 66-71.

WOOLEY, P. H. et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch. **Biomaterials**, v. 23, p. 517-26, 2002.

XIE, Y et al. Clinical radiological and histological study of the failure of cervical interbody fusions with bone substitutes. **Eur. Spine J.**, v. 15, n. 8, p. 1196-1203, 2006.

ZHANG, C. et al. Replacement of segmental bone defects using porous bioceramic cylinders: a biomechanical and X-ray diffraction study. **Biomed. Mater. Res. J.**, v. 54, p. 407-411, 2001.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade do Sagrado Coração

PRPPGPró-reitoria
de Pesquisa e
Pós-graduação**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA***Protocolo nº 074/2005***Título do Projeto:** *“Avaliação da regeneração óssea guiada em defeitos ósseos cirúrgicos em ilíacos de coelhos”***Pesquisador Responsável:** Prof. Dr. Sérgio Augusto Catanzaro Guimarães**Aluno:** Fábio Pinto Nogueira**Parecer do Comitê de Ética:**

O CEP analisou, baseado em parecer competente, o presente projeto e o considerou aprovado.

Data: 22/9/2005**Assinatura do Presidente:****Prof. Dr. Marcos da Cunha Lopes Virmond**

ANEXO B – GRÁFICOS, FIGURAS E TABELAS

Tabela 6 – Fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia no grupo controle em função dos períodos de observação.

Período de 15 dias

Animal	Osso Imaturo	Osso Maduro	Estroma Fibrovascular
1	14,6	4,4	81,0
2	13,0	10,7	76,3
3	9,8	3,2	87,0
4	14,3	5,9	79,8
5	10,0	5,0	85,0
6	15,1	3,4	81,5
7	26,3	6,1	67,6
8	23,9	7,8	68,3
Média	15,9	5,8	78,3
SD	5,7	2,3	6,7

Período de 30 dias

Animal	Osso Imaturo	Osso Maduro	Estroma Fibrovascular
1	11,3	28,4	60,3
2	19,4	30,9	49,7
3	17,3	24,9	57,8
4	14,9	31,7	53,4
5	14,3	36,2	49,5
6	15,7	29,6	54,7
7	19,1	26,0	54,9
8	17,3	31,3	51,4
Média	16,2	29,9	54,0
SD	2,5	3,3	3,6

Período de 60 dias

Animal	Osso Imaturo	Osso Maduro	Estroma Fibrovascular
1	15,3	33,9	50,8
2	14,1	36,2	49,7
3	12,5	39,4	48,1
4	10,8	37,9	51,3
5	15,3	28,6	56,1
6	13,4	34,5	52,1
7	21,9	36,4	41,7
8	18,8	31,7	49,5
Média	15,3	34,8	49,9
SD	3,3	3,2	3,8

Período de 120 dias

Animal	Oso Imaturo	Oso Maduro	Estroma Fibrovascular
1	9,4	68,8	21,8
2	10,2	67,3	22,5
3	9,8	73,4	16,8
4	8,0	73,8	18,2
5	13,4	69,2	17,4
6	12,8	68,9	18,3
7	9,7	70,9	19,4
8	10,0	74,7	15,3
Média	10,4	70,9	18,7
SD	1,7	2,6	2,3

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume do oso imaturo, oso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia no grupo controle em função dos períodos de observação.

Período (dias)	Oso Imaturo (%)	Oso Maduro (%)	Estroma Fibrovascular (%)
15	15,9 ± 5,7	5,8 ± 2,3	78,3 ± 6,7
30	16,2 ± 2,5	29,9 ± 3,3	54,0 ± 3,6
60	15,3 ± 3,3	34,8 ± 3,2	49,9 ± 3,8
120	10,4 ± 1,7	70,9 ± 2,6	18,7 ± 2,3

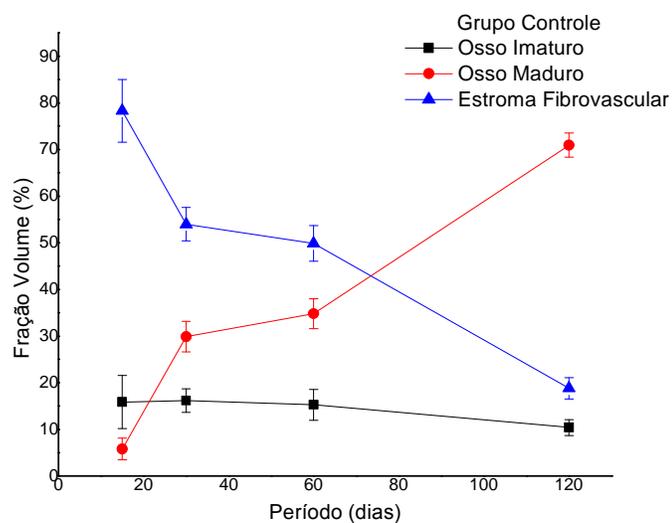


Figura 32 – Representação gráfica dos valores médios da fração do volume do oso imaturo, oso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos, obtidos por craniotomia no grupo controle, em função dos períodos de observação.

Tabela 8 – Fração de volume das trabéculas ósseas e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia no grupo controle em função dos períodos de observação.

Período de 15 dias

Animal	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	62,8	37,2
2	76,3	23,7
3	87,0	13,0
4	79,8	20,2
5	76,1	23,9
6	81,5	18,5
7	67,6	32,4
8	68,3	31,7
Média	74,9	25,1
SD	8,1	8,1

Período de 30 dias

Animal	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	58,8	41,2
2	49,7	50,3
3	53,4	46,6
4	45,6	54,4
5	49,5	50,5
6	54,7	45,3
7	54,9	45,1
8	51,4	48,6
Média	52,3	47,8
SD	4,1	4,1

Período de 60 dias

Animal	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	47,7	52,3
2	49,7	50,3
3	48,1	51,9
4	51,3	48,7
5	56,1	43,9
6	52,1	47,9
7	50,3	49,7
8	49,5	50,5
Média	50,6	49,4
SD	2,7	2,7

Período de 120 dias

Animal	Estroma Fibrovascular	Trabéculas Ósseas
1	21,8	78,2
2	22,5	77,5
3	16,8	83,2
4	18,2	81,8
5	15,4	84,6
6	14,6	85,4
7	18,3	81,7
8	19,4	80,6
Média	18,4	81,6
SD	2,8	2,8

Tabela 9 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume das trabéculas ósseas e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia no grupo controle em função dos períodos de observação.

Período (dias)	Estroma Fibrovascular (%)	Trabéculas Ósseas (%)
15	74,9 ± 8,1	25,1 ± 8,1
30	52,3 ± 4,1	47,8 ± 4,1
60	50,6 ± 2,7	49,4 ± 2,7
120	18,4 ± 2,8	81,6 ± 2,8

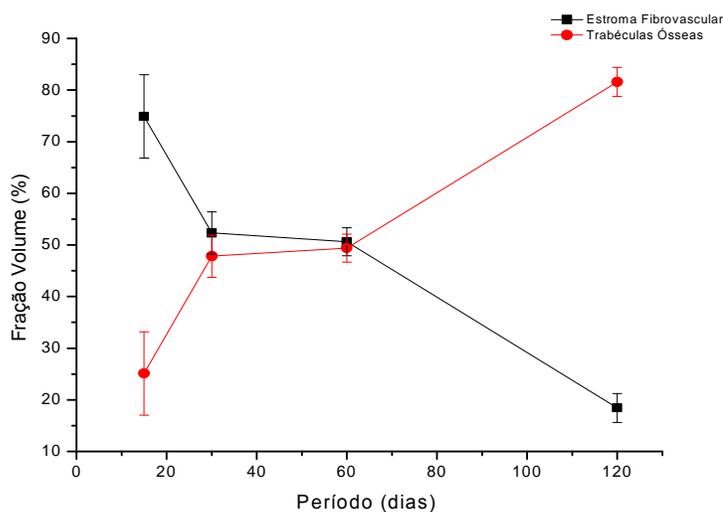


Figura 33 – Representação gráfica dos valores médios da fração de volume das trabéculas ósseas e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia no grupo controle em função dos períodos de observação.

Tabela 10 – Fração de volume da hidroxiapatita granulada e do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia e tratados com enxerto de Hidroxiapatita granulada em função dos períodos de observação.

Período de 15 dias

Animal	Hidroxiapatita	Osso imaturo	Osso maduro	Estroma fibrovascular
1	29,3	48,2	9,1	13,4
2	38,9	41,9	7,7	11,5
3	31,3	44,3	7,8	16,6
Média	33,2	44,8	8,2	13,8
SD	5,1	3,2	0,8	2,6

Período de 30 dias

Animal	Hidroxiapatita	Osso imaturo	Osso maduro	Estroma fibrovascular
1	25,4	45,8	25,5	3,3
2	21,8	45,9	23,2	9,1
3	28,3	40,4	22,6	8,7
Média	25,2	44,0	23,8	7,0
SD	3,3	3,1	1,5	3,2

Período de 60 dias

Animal	Hidroxiapatita	Osso imaturo	Osso maduro	Estroma fibrovascular
1	18,2	16,7	58,2	6,9
2	17,4	14,2	64,4	4,0
3	17,9	19,1	56,6	6,4
Média	17,8	16,7	59,7	5,8
SD	0,4	2,5	4,1	1,6

Período de 120 dias

Animal	Hidroxiapatita	Osso imaturo	Osso maduro	Estroma fibrovascular
1	21,6	3	71,2	4,2
2	13,9	5,7	78,2	2,2
3	16,3	4,6	70,4	8,7
Média	17,3	4,4	73,3	5,0
SD	3,9	1,4	4,3	3,3

Tabela 11 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume da hidroxiapatita granulada e do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia e tratados com enxerto de hidroxiapatita em função dos períodos de observação.

Período (dias)	Hidroxiapatita (%)	Osso imaturo (%)	Osso maduro (%)	Estroma fibrovascular (%)
15	33,2 ± 5,1	44,8 ± 3,2	8,2 ± 0,8	13,8 ± 2,6
30	25,2 ± 3,3	44,0 ± 3,1	23,8 ± 1,5	7,0 ± 3,2
60	17,8 ± 0,4	16,7 ± 2,5	59,7 ± 4,1	5,8 ± 1,6
120	17,3 ± 3,9	4,4 ± 1,4	73,3 ± 4,3	5,0 ± 3,3

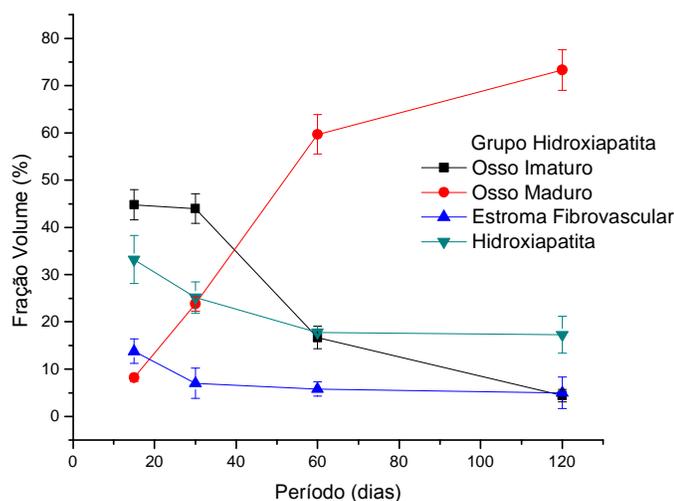


Figura 34 – Representação gráfica dos valores médios da fração de volume da hidroxiapatita granulada e do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular em defeitos ósseos obtidos por craniotomia e tratados com enxerto de hidroxiapatita granulada em função dos períodos de observação.

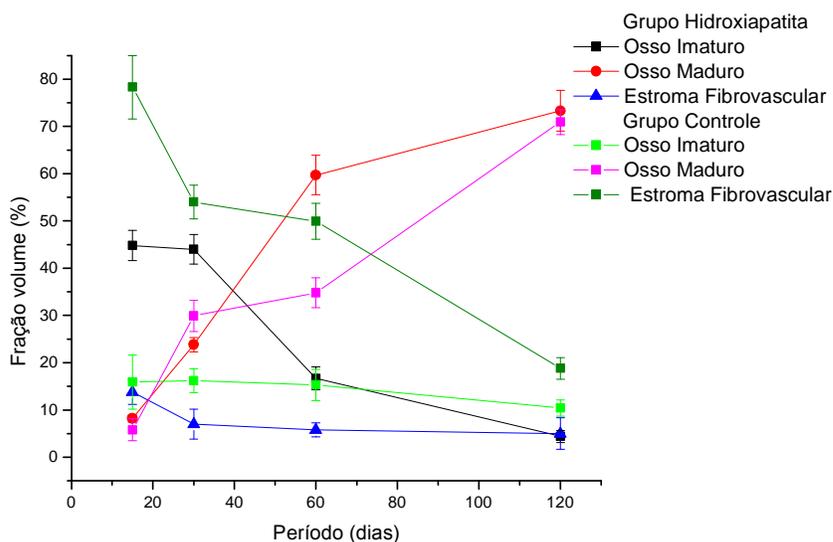


Figura 35 – Representação gráfica da análise comparativa entre as médias da fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular entre o grupo tratado com enxerto de hidroxiapatita e o grupo controle.

Tabela 12 – Comparação entre as médias da fração de volume do osso imaturo, osso maduro e estroma fibrovascular entre os defeitos tratados com Hidroxiapatita granulada e os defeitos controles, usando o teste ANOVA – fator único.

Período	Osso imaturo	Osso maduro	Estroma fibrovascular
15	S	NS	S
30	S	S	S
60	NS	S	S
120	S	NS	S

Obs.: S significa que as médias dos dados são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

NS significa que as médias não são significativamente diferentes.

Tabela 13 – Fração de volume da hidroxiapatita granulada do estroma fibrovascular e das trabéculas ósseas em defeitos ósseos obtidos por craniotomia e tratados com enxerto de hidroxiapatita granulada, em função dos períodos de observação.

Período de 15 dias

Animal	Hidroxiapatita	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	29,3	13,4	57,3
2	38,9	11,5	49,6
3	31,3	16,6	52,1
Média	33,2	13,8	53,0
SD	5,1	2,6	3,9

Período de 30 dias

Animal	Hidroxiapatita	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	25,4	3,3	71,3
2	21,8	9,1	69,1
3	28,3	8,7	63,0
Média	25,2	7,0	67,8
SD	3,3	3,2	4,3

Período de 60 dias

Animal	Hidroxiapatita	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	18,2	6,9	74,9
2	17,4	4,0	78,6
3	17,9	6,4	75,7
Média	17,8	5,8	76,4
SD	0,4	1,6	1,9

Período de 120 dias

Animal	Hidroxiapatita	Estroma fibrovascular	Trabéculas ósseas
1	21,6	4,2	74,2
2	13,9	2,2	83,9
3	16,3	8,7	75,0
Média	17,3	5,0	77,7
SD	3,9	3,3	5,4

Tabela 14 – Valores médios e desvio padrão da fração de volume da hidroxiapatita granulada do estroma fibrovascular e das trabéculas ósseas em defeitos obtidos por craniotomia e tratados com enxerto de hidroxiapatita granulada, em função dos períodos de observação.

Período (dias)	Hidroxiapatita (%)	Estroma fibrovascular (%)	Trabéculas ósseas (%)
15	33,2 ± 5,1	13,8 ± 2,6	53,0 ± 3,9
30	25,2 ± 3,3	7,0 ± 3,2	67,8 ± 4,3
60	17,8 ± 0,4	5,8 ± 1,6	76,4 ± 1,9
120	17,3 ± 3,9	5,0 ± 3,3	77,7 ± 5,4

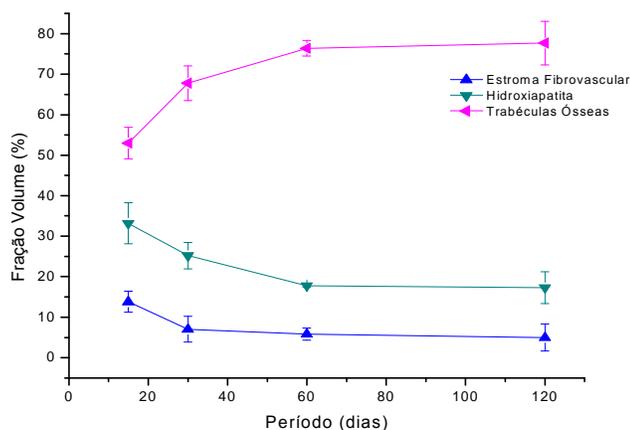


Figura 36 – Representação gráfica dos valores médios da fração de volume da hidroxiapatita granulada e do estroma fibrovascular e trabéculas ósseas em defeitos ósseos obtidos por craniotomia e tratados com hidroxiapatita granulada, em função dos períodos de observação.

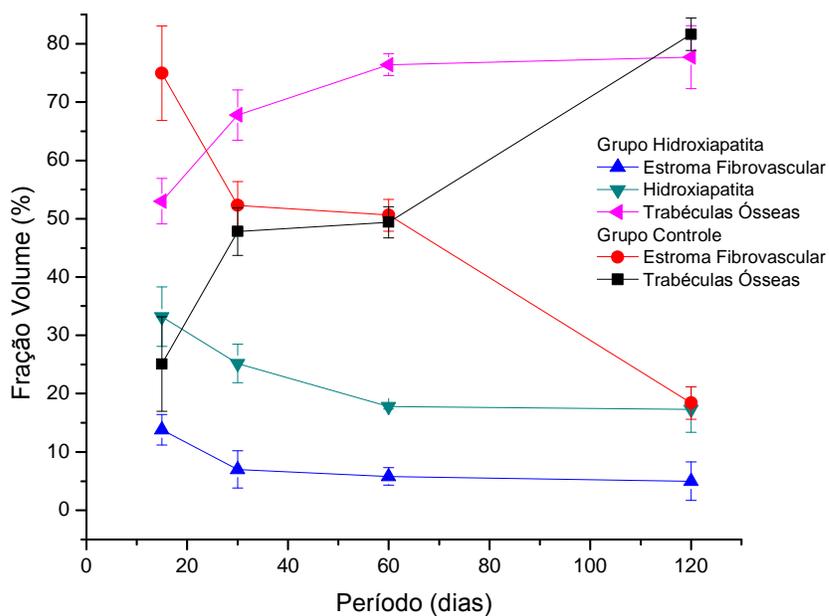


Figura 37 – Representação gráfica da análise comparativa entre as médias das frações de volume da hidroxiapatita granulada, estroma fibrovascular e trabéculas ósseas, entre o grupo tratado com enxerto de hidroxiapatita granulada e o grupo controle.

Tabela 15 – Comparação entre médias da fração de volume das trabéculas ósseas e do estroma fibrovascular entre os defeitos tratados com hidroxiapatita granulada e os defeitos controles, usando o teste ANOVA – fator único.

Período	Trabéculas ósseas	Estroma fibrovascular
15	S	S
30	S	S
60	S	S
120	NS	S

Obs.: S significa que as médias dos dados são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

NS significa que as médias não são significativamente diferentes.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)