

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**Reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica
BoneCeramic® utilizada como material de preenchimento
de defeitos alveolares em ratos**

Juliana Maia da Silveira

**Belo Horizonte
2008**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Juliana Maia da Silveira

**Reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica
BoneCeramic® utilizada como material de preenchimento
de defeitos alveolares em ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof. Paulo Eduardo Alencar de Souza

Co-orientador: Prof. Elton Gonçalves Zenóbio

**Belo Horizonte
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

S587r	<p>Silveira, Juliana Maia da Reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica BoneCeramic® utilizada como material de preenchimento de defeitos alveolares em ratos / Juliana Maia da Silveira. Belo Horizonte, 2008. 64f. : Il.</p>
Minas	<p>Orientador: Paulo Eduardo Alencar de Souza Co-orientador: Elton Gonçalves Zenóbio Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia</p> <p>1. Materiais dentários. 2. Fosfatos de cálcio. 3. Substitutos ósseos. 4. Implantes dentários osseointegrados. 5. Perda óssea alveolar. 6. Alvéolo Dental. I. Souza, Paulo Eduardo Alencar de. II. Zenóbio, Elton Gonçalves. III. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.</p>
	CDU: 616.314:615.46

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, minhas irmãs e minha adorada sobrinha, Maria Fernanda,
Pelo carinho, incentivo e compreensão em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Paulo Eduardo Alencar de Souza pela competência, trabalho e dedicação exaustivos a mim dispensados, bem como ao meu co-orientador Prof. Élton Gonçalves Zenóbio, sempre disposto a ajudar e solucionar os questionamentos.

Aos meus professores, que contribuíram imensamente com seus conhecimentos e me mostraram a necessidade do constante aprender, da abdicação e do aperfeiçoamento profissional.

Aos meus colegas de curso, que foram grandes companheiros e alguns, meus segundos mestres nestes dois anos. Em especial, gostaria de agradecer à Mariana, amiga e companheira, no desenvolvimento da parte experimental desta dissertação.

À professora Gerluza Aparecida Borges Silva, ao aluno de doutorado Renato de Melo Mendes e ao funcionário Francisco (Chico), que possibilitaram o desenvolvimento deste projeto no Laboratório de Biologia do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Ao professor Martinho Campolina Rebello Horta, pela colaboração na análise dos resultados.

À funcionária Reni, do Laboratório de Patologia Bucal da PUC Minas.

Ao colega Aécio Abner Campos Pinto Júnior, personagem imprescindível na execução da fase experimental.

À minha irmã Daniela, sem cuja ajuda este trabalho não seria possível.

Ao colega Breno (*in memoriam*), que apesar do pouco tempo de convívio, soube conquistar o respeito e a admiração de todos da classe.

SUMÁRIO

1. LISTA DE ARTIGOS -----	7
2. RESUMO -----	8
3. INTRODUÇÃO GERAL -----	9
4. OBJETIVOS DO ESTUDO -----	12
5. ABSTRACT -----	13
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	14
7. ARTIGO I -----	16
8. ARTIGO II -----	36

LISTA DE ARTIGOS

Esta dissertação gerou as seguintes propostas de artigos:

- 1- Análise crítica dos estudos sobre biomateriais utilizados como enxertos ósseos em animais 16

- 2- Reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica BoneCeramic® utilizada como material de preenchimento de defeitos alveolares em ratos 36

RESUMO

A reabsorção do osso alveolar pode ser causada por diversos fatores como exodontias, traumatismos e doença periodontal, dificultando a reabilitação oral através de próteses e implantes osseointegrados. Para viabilizar a reabilitação do paciente, diferentes técnicas têm sido empregadas com o intuito de preservar ou melhorar a dimensão e o contorno do rebordo pós-exodontia, incluindo-se o uso de materiais de enxerto. As cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico (BCP) consistem de uma mistura de hidroxiapatita (HA) e beta-tricálcio fosfato (β -TCP) e têm sido amplamente utilizadas como materiais aloplásticos para enxerto ósseo. Straumann[®] BoneCeramic é uma cerâmica BCP disponível em grânulos e composta por 60% de HA e 40% de β -TCP. São escassos os trabalhos avaliando as características teciduais em sítios de implantação do Straumann Bone[®] Ceramic. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar histologicamente os efeitos do Straumann Bone[®] Ceramic no processo de cicatrização de defeitos alveolares em ratos. Para isso, os primeiros molares superiores de ratos Wistar machos foram extraídos e os alvéolos foram unidos. Os alvéolos direitos foram preenchidos com coágulo sanguíneo (grupo controle) enquanto os esquerdos com grânulos do Straumann[®] BoneCeramic (grupo teste). Os animais foram sacrificados após 7, 15 e 60 dias e as maxilas foram processadas e coradas para análise das características histológicas. Nossos resultados revelaram formação de tecido ósseo mineralizado e bem organizado em contato íntimo com as partículas do biomaterial, 15 e 60 dias após as exodontias. Nas porções mais superficiais dos alvéolos, observamos envolvimento das partículas do biomaterial por tecido conjuntivo fibroso contendo células gigantes. No grupo controle, foi observada formação de trabéculas ósseas bem organizadas. Os achados histológicos em modelo experimental animal indicam que os grânulos do Straumann[®] BoneCeramic são capazes de se integrar completamente ao osso neoformado, embora permaneçam por longo período de tempo no alvéolo.

Palavras-chave: cerâmica fosfato de cálcio bifásico, Straumann[®] BoneCeramic, reparo ósseo, alvéolo dentário.

INTRODUÇÃO GERAL

Exodontias, periodontite avançada, infecção endodôntica, traumas causados por acidentes, defeitos congênitos, reabsorção fisiológica normal, bem como a combinação de todos esses fatores podem causar o comprometimento do rebordo alveolar (Alvin et al., 2004).

Após exodontia, ocorre formação de coágulo sanguíneo no alvéolo dentário, inflamação e estímulo para posterior formação óssea. Entretanto, o processo de reparo não permite a restituição integral do volume inicial do osso alveolar. Além disso, uma reabsorção fisiológica inevitavelmente conduz a uma maior diminuição da altura e espessura ósseas. Essa perda óssea é mais pronunciada na região vestibular do que nas regiões palatina e lingual. Por este motivo, diferentes técnicas têm sido empregadas com o intuito de preservar ou melhorar a dimensão e o contorno do rebordo pós-exodontia, incluindo-se o uso de implantes, de materiais de enxerto ou membranas (Douglass et al., 2005; Irinakis et al., 2007; Araújo et al., 2008).

Os enxertos ósseos se dividem em quatro categorias principais: autógenos, alógenos, xenógenos e aloplásticos, sendo que o osso autógeno é considerado o “padrão ouro” na regeneração óssea, devido ao seu potencial osteogênico, de osteoindução e osteocondução. No entanto, o procedimento de coleta requer um segundo sítio cirúrgico, onde complicações são relatadas e a quantidade de osso colhida é limitada. Além disso, os enxertos de osso autógeno são altamente reabsorvidos e frequentemente degradados antes do reparo ósseo estar completo. (Burchardt et al., 1987; Helm et al., 2001; Rajan et al., 2006; Zarate-Kalfopulos et al., 2006, Fellah et al., 2007). Uma importante vantagem da utilização do osso autógeno é a ausência de rejeição pelo sistema imunológico, o que poderia ocorrer com a utilização de aloenxertos. Com estes últimos, há ainda o risco de transmissão de microorganismos (Mankin et al., 2005; Manjubala et al., 2006). Já os xenoenxertos, em especial o osso bovino, também conhecido como osso mineral natural, são amplamente utilizados, consistindo de um

arcabouço ósseo inerte de estrutura tridimensional semelhante à matriz óssea mineralizada (Schwarz et al., 2007).

Na tentativa de se encontrar um substituto ósseo ideal, diversos materiais aloplásticos têm sido pesquisados. Estes devem apresentar as seguintes propriedades físico-químicas: biocompatibilidade, reabsorbilidade, degradação controlada e substituição simultânea por novo osso formado, osteocondução e integridade mecânica a fim de suportar a cicatrização após os procedimentos de regeneração óssea guiada (Schwarz et al., 2007).

As cerâmicas de fosfato de cálcio são reconhecidamente biocompatíveis e possuem propriedades bioativas. Apresentam constituição química inorgânica semelhante à do osso natural, o que as torna substitutos ósseos promissores nos campos ortopédico e maxilofacial (Fellah et al., 2007). Existem várias marcas comerciais e as diferenças entre elas são devidas a algumas propriedades, tais como a proporção cálcio/fosfato, cristalinidade, temperatura de sinterização e outras características físicas. Diferenças sutis nestes parâmetros podem ter um forte impacto nos resultados biológicos (Legeros et al., 2003). A hidroxiapatita (HA) $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ e o beta-tricálcio fosfato (β -TCP) $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ são cerâmicas fosfato de cálcio largamente utilizadas. Estes biomateriais são atóxicos, reabsorvíveis, apresentam ótima atividade osteocondutiva e não desencadeiam respostas imuno-inflamatórias prejudiciais. Eles se diferem não apenas na composição, mas também na taxa de degradação (Manjubala et al., 2002; Daculsi et al., 2003). Os materiais à base de hidroxiapatita porosa e não porosa são pouco ou não reabsorvíveis, ao contrário do β -TCP que é mais solúvel, sendo biodegradado ou bioreabsorvido mais prontamente, embora de maneira imprevisível, podendo assim não oferecer um arcabouço adequado para o crescimento ósseo (Wang et al., 2005). Com o objetivo de se obter um melhor arcabouço para o ganho de volume ósseo e conseqüentemente, um melhor desempenho do que a HA e o β -TCP isolados, foram desenvolvidas cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico (BCP), que consistem de uma mistura de HA e β -TCP (Legeros et

al. 2003; Daculsi et al. 2003; Manjubala et al., 2006). O conceito da BCP é baseado no ótimo equilíbrio entre a fase mais estável (HA) e a mais solúvel (β -TCP). As cerâmicas BCP são gradualmente dissolvidas *in vivo*, contribuindo para a nova formação óssea, à medida que liberam íons cálcio e fosfato no microambiente (Legeros et al., 2003; Daculsi et al., 2003; Yuan et al., 2006).

Straumann[®] BoneCeramic é uma cerâmica BCP disponível em grânulos e composta por 60% de hidroxiapatita (100% cristalina) e 40% de β -tricálcio fosfato sinterizado a temperaturas entre 1100 e 1500°C. Ele é 90% poroso, com poros interconectados de 100-500 microns de diâmetro. Sua composição é similar ao osso mineral e apresenta potencial osteocondutivo (Dietze et al., 2006). Segundo informações do fabricante, Straumann[®] BoneCeramic funciona como uma estrutura de suporte para a adesão de osso durante o processo de osteogênese. A manutenção do volume do enxerto é mantida graças à lenta reabsorção da hidroxiapatita, que impede o excesso de reabsorção (Straumann, 2008). Ainda segundo o fabricante, ao contrário do que sucede com outros fosfatos de cálcio bifásicos, Straumann[®] Bone Ceramic não é uma mera mistura de HA e TCP, sendo um composto sintetizado quimicamente, a fim de assegurar uma distribuição homogênea das duas fases (Straumann, 2008).

São escassos os estudos na literatura avaliando as reações teciduais frente à utilização do BoneCeramic[®] como material de preenchimento alveolar e de defeitos ósseos maxilares (Jensen et al., 2006; Schwarz et al., 2007; Cordaro et al., 2008). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar histologicamente as alterações teciduais decorrentes da utilização da cerâmica fosfato de cálcio bifásica BoneCeramic[®] como material de preenchimento de defeitos alveolares em ratos.

OBJETIVO

Avaliar as reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica Straumann® BoneCeramic utilizada como material de preenchimento de defeitos alveolares em ratos.

ABSTRACT

Alveolar ridge resorption may be caused by several factors, among them, tooth extraction, trauma and periodontal diseases, impairing the oral rehabilitation when prosthetic replacement or dental implants are required. To overcome this situation, different techniques have been used, as the use of grafting materials for preservation and maintenance of the alveolar ridge dimensions postextraction. The biphasic calcium phosphate ceramics (BCP) consist of a mixture of hydroxyapatite (HA) and β -tricalcium phosphate (TCP) and have been widely used nowadays. Straumann[®] BoneCeramic is a BCP available as granulate, consisting of 60% HA and 40% β -TCP. Studies evaluating the tissue response to this material are sparse. The aim of this study was evaluate the effects of this product on the healing process in rat alveolar defects through histological analysis. The upper first molars of male Wistar rats were extracted and defects were surgically created. The left sockets were filled with Straumann[®] BoneCeramic and the right ones were filled with blood clot. The animals were sacrificed at 7, 15 and 60 days and the upper maxillae were embedded in paraffin and stained for histological analysis. The results revealed new mineralized bone formation in close contact with the material particles, 15 and 60 days postextraction. In the cervical portion of the dental socket, the grains were involved by fibrous connective tissue and some giant cells. In the control group, well organized trabeculae bone was formed. The histological findings in this animal model revealed that Straumann[®] BoneCeramic granules are able to be completely integrated to the new formed bone, although remain for a long time in the dental sockets.

Keywords: Calcium biphasic ceramics, Straumann[®] BoneCeramic, bone healing, tooth sockets.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVIN, B. K. Yeo ; ONG, Marianne M.A.. Principles and Implications of site preservation for alveolar ridge Development. **Singapore Dental Journal**, v. 26, n.1, p.15-20, Dec. 2004.
2. ARAÚJO et al. The influence of Bio-Oss collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in dogs. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 28, n.2, p.123-135, Dec. 2004.
3. BURCHARDT Hans. Biology of bone transplantation. **The Orthopedic clinics of North America**, v.18, n.2, p.187-196, Feb. 1987.
4. CORDARO L. et al. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss® or Straumann® Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. **Clinical Oral Implants Research**, v.19, n.8, p.796-803, Aug.2008.
5. DACULSI G. et al. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**; v.14, n.3 p.195-200, Mar.2003.
6. DIETZE S. et al. The ultrastructure and processing properties of Straumann Bone Ceramic® and NanoBone®. **Folia Morphologic (Warsz)**, v.65, n.1, p.63-65, Feb. 2006.
7. DOUGLASS, Gordon L. Alveolar ridge preservation at tooth extraction. **CDA Journal**, v.33, n.3, p.223-231, Mar. 2005.
8. FELLAH B.H.; JOSSELIN, N. Inflammatory reaction in rats muscle after implantation of biphasic calcium phosphate micro particles. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 18, n.2, p.287-294, Feb. 2007.
9. FELLAH B.H. et al. Osteogenicity of biphasic calcium phosphate ceramics and bone autograft in a goat model. **Biomaterials**, v.29, n.9, p.1177-88, Mar. 2008.
10. HELM G.A., DAYOUB H., JANE J.A. JR. Bone graft substitutes for the promotion of spinal arthrodesis. **Neurosurgical focus**, v.10, n.4, p.1-5, Apr. 2001.
11. IRINAKIS Tassos, TABESH, Moe. Preserving the socket dimensions with bone grafting in single sites: an esthetic surgical approach when planning delayed implant placement. **Journal of Oral Implantology**, v. 33, n.3, p.156-163, Oct. 2007.
12. JENSEN L. et al. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects. A histology and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. **Clinical Oral Implants Research**, v.18, n.6, p.752-60, Dec.2007.
13. LEGEROS R.Z. et al. Biophasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.14, n.3, p.201-09, Mar. 2003.

14. MANJUBALA I. et al. Bioactivity and osseointegration study of calcium phosphate ceramic of different chemical composition. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 63, n.2, p.200-08, Feb. 2002.
15. MANKIN HJ, HORNICEK FJ, RASKIN KA. Infection in massive bone allografts. . **Clinical orthopaedics and related research**, v.432, p. 210-216, Mar. 2005.
16. RAJAN G.P. et al. Cancellous allograft versus autologous bone grafting for repair of comminuted distal radius fractures: a prospective, randomized trial. **The Journal of Trauma**, v.60, n.6, p.1322-1329, June 2006.
17. SCHWARZ F. et al. Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxiapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic®) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen®): an immunohistochemical study in dogs. **International Journal of Oral &Maxillofacial Surgery**, v. 36, n.12, p.1198-1206, Dec. 2007.
18. Straumann. Sistema de regeneração. Straumann® BoneCeramic. Disponível em <http://www.straumann.com.br/>. Acesso em 07/12/2008.
19. WANG et al. Periodontal Regeneration. **Journal of Periodontology**, v.76, n.9, p.1601-1622, Sep. 2005.
20. YUAN H. et al. Cross-species comparison of ectopic bone formation in biphasic calcium phosphate (BCP) and hidroxyapatite (HA) scaffolds. **Tissue Engineering**, v.12, n.6, p.1607-1615, Jun. 2006.
21. ZARATE-KALFOPULOS B., REYES-SANCHES A. Bone grafts in orthopedic surgery. **Cirurgia y Cirujanos**, v.74, n.3, p. 217-222, May-June 2006.

ARTIGO 1

Análise crítica dos estudos sobre biomateriais utilizados como enxertos ósseos em animais

Juliana Maia da Silveira, Élton Gonçalves Zenóbio, Paulo Eduardo Alencar de Souza

Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

RESUMO

Diversos fatores como exodontias, periodontite avançada e traumas podem causar comprometimento do rebordo alveolar. Para preservar ou melhorar a dimensão e contorno do rebordo alveolar, diversas técnicas têm sido empregadas, incluindo-se o uso de implantes e de materiais de enxerto. Os materiais de enxerto devem ser biocompatíveis, funcionar como uma matriz osteoindutiva ou osteocondutiva para a regeneração tecidual e fornecer suporte mecânico para as barreiras. O objetivo desta revisão é abordar o comportamento de diferentes biomateriais utilizados como enxerto para reparo ósseo, bem como as respostas teciduais obtidas em modelos experimentais animais.

Palavras-chave: biomateriais, reparo ósseo, alvéolo dentário.

ABSTRACT

Several factors, such as tooth extraction, periodontal disease and trauma may lead to an alveolar ridge commitment. In order to preserve or improve alveolar ridge dimensions, different techniques have been advocated, as the use of dental implants and graft materials. The latter must be biocompatible, work as an osteoconductive and osteoinductive matrix for the bone repair, besides providing a mechanical support for barriers. The aim of this review is to analyze the behavior in terms of bone repair, of some biomaterials, as well as the tissue response in different animal models.

Key-words: biomaterials, bone repair, dental sockets.

Introdução

A perda óssea alveolar pode ser decorrente de um trauma iatrogênico durante a extração dental ou o resultado da cicatrização natural pós-exodontia¹. Nesse último caso, a reabsorção do osso alveolar é um processo fisiológico, ocasionando perdas de cerca de 40 a 60% das dimensões verticais e horizontais durante os primeiros seis meses após a extração dental²⁻³.

Para se obter resultados estéticos e funcionais bem sucedidos em qualquer reconstrução protética, é requerido um contorno de rebordo alveolar adequado, a fim de se obter a correta instalação do implante⁴. Assim, diferentes técnicas têm sido empregadas para a adequação do rebordo alveolar, como a utilização de substitutos ósseos naturais e sintéticos⁵. Os materiais de enxerto devem ser biocompatíveis, funcionar como uma matriz osteoindutiva ou osteocondutiva para a regeneração tecidual e fornecer suporte mecânico para as barreiras⁵.

Os três principais grupos de enxertos não autógenos utilizados são os aloenxertos, os xenoenxertos e os materiais aloplásticos. Os xenoenxertos, em especial o osso bovino, são amplamente utilizados, consistindo de um arcabouço ósseo inerte, de estrutura tridimensional semelhante à matriz óssea mineralizada⁶. Entre os materiais aloplásticos destacam-se as cerâmicas fosfato de cálcio, que apresentam a mesma constituição química inorgânica do osso natural, o que as torna substitutos ósseos promissores nos campos ortopédico e maxilofacial⁷. Existem várias marcas comerciais e as diferenças entre elas são devidas a algumas propriedades, tais como proporção cálcio/fosfato, cristalinidade, temperatura de sinterização e outras características físicas. Diferenças sutis nestes parâmetros podem ter um forte impacto nos resultados biológicos⁸.

Com o intuito de avaliar a resposta tecidual, principalmente no que diz respeito à formação óssea, bem como o comportamento de diferentes tipos de enxertos, vários estudos conduzidos em diferentes sítios anatômicos e espécies animais foram realizados⁹⁻¹⁹. A análise

dos resultados obtidos através de modelos experimentais animais constitui ferramenta importante para prever o comportamento dos diferentes tipos de materiais de enxerto em tecidos humanos.

Revisão de Literatura

As cerâmicas fosfato de cálcio bifásicas (BCP) têm sido estudadas em modelos animais quanto à colonização e crescimento ósseos^{11-15,17}. A colonização óssea em uma cerâmica BCP pode depender do sítio de implantação, no qual tem sido observado crescimento ósseo variável em espécies diferentes. Le Guehennec et al.¹³ compararam o comportamento de uma cerâmica BCP de macropartículas (MBCP, Biomatlante SARL, Vigneux de Bretagne, França) em defeitos críticos criados em diferentes sítios (fêmur, tíbia e calvária) de duas espécies animais (ratos e coelhos), por um período de 21 dias. A MBCP é composta de 60% de hidroxiapatita (HA) e 40% de beta-tricálcio fosfato (β -TCP), com macroporosidade de 50% (poros de 300 a 600 μm) e microporosidade variando de 30 a 33% (poros de 1 a 10 μm). O material se mostrou biocompatível e osteocondutivo, apresentando íntimo contato com o osso do hospedeiro sem interface de tecido conjuntivo fibroso. Para todos os locais implantados, a colonização óssea centrípeta foi observada, tanto em ratos quanto em coelhos, através da marcação óssea com tetraciclina. A taxa de crescimento ósseo foi significativamente maior nos ratos que nos coelhos, provavelmente devido ao metabolismo mais acelerado dos primeiros. Nos ratos, a formação óssea foi mais rápida no fêmur e na tíbia do que na calvária. Essa variação pode ter sido devida a diferenças na arquitetura óssea dos sítios de implantação. A colonização óssea observada foi significativamente maior em fêmures de coelhos do que de ratos. Segundo os autores, a epífise de fêmures de coelhos pareceu ser um modelo interessante como o primeiro passo da avaliação de novos substitutos ósseos.

Develioglu et al.¹⁴ também avaliaram o efeito de uma cerâmica BCP sobre a resposta óssea, em defeitos produzidos na calvária de ratos, por períodos de três e seis meses. O material usado foi o Ceraform[®] (Teknimed AS, Vic-en Bigorre, França), uma cerâmica composta por 65% de HA e 35% de TCP, cuja granulação varia de 900 a 1200 μm e o

diâmetro dos poros de 100 a 300 μm . A análise histológica revelou presença de tecido conjuntivo fibroso e células gigantes semelhantes a osteoclastos envolvendo as partículas do biomaterial. Em relação à regeneração óssea, não houve diferença significativa entre defeitos preenchidos por coágulo sanguíneo e pelo biomaterial em nenhum período de observação. Apesar da biocompatibilidade, os resultados não mostraram atividade osteocondutiva para o material testado. Além disso, a velocidade de reabsorção das partículas foi muito lenta. Resultados semelhantes foram obtidos pelos mesmos autores, utilizando o mesmo biomaterial em ossos parietais de ratos por um período maior, 18 meses¹⁵.

Com o objetivo de analisar a cicatrização natural de alvéolos dentais de ratos, Lamano Carvalho et al.²⁰ realizaram exodontias de incisivos centrais e análises histológicas no período subsequente de 1 a 6 semanas. Ao final da primeira semana, trabéculas ósseas delicadas revestidas por osteoblastos foram observadas principalmente nos terços apical e médio da superfície interna das paredes alveolares, além de abundante tecido conjuntivo contendo capilares neoformados e remanescentes do coágulo sanguíneo na região central dos alvéolos. Ao final da segunda semana, o alvéolo estava igualmente ocupado por tecido conjuntivo fibroso maduro e osso trabecular. A partir da terceira semana, todo o alvéolo parecia estar preenchido com osso trabecular espesso, semelhante ao observado na sexta semana.

Alguns pesquisadores utilizaram-se de análises histológicas dos processos reparativos para observar o efeito de biomateriais implantados em alvéolos de ratos^{9-10,16}. Calixto et al.¹⁶ avaliaram histometricamente a reparação óssea na primeira, segunda e nona semanas após exodontias dos incisivos e o preenchimento dos terços cervicais dos alvéolos com osso bovino inorgânico (Genox[®], Genius[®]; Baumer, São Paulo, Brasil), contendo partículas de 0,25 a 1mm de diâmetro, ou com vidro bioativo (PerioGlas[®] USBiomaterials Corp, Jacksonville Beach, FL, EUA), contendo partículas de 90 a 710 μm de diâmetro. Após a segunda semana, partículas de ambos os materiais se encontravam circundadas por tecido ósseo trabecular

neoformado. Em algumas partículas, as lacunas de absorção estavam preenchidas por tecido conjuntivo com áreas discretas de matriz osteóide. Reação de corpo estranho ou resposta inflamatória persistente não foram observadas. As análises histométricas revelaram aumento da neoformação óssea da segunda para a nona semana em ambos os grupos. Na segunda semana, o atraso no reparo ósseo foi mais pronunciado nos animais enxertados com osso inorgânico do que com vidro bioativo e um resultado inverso ocorreu na nona semana. As propriedades de biocompatibilidade, osteointegração e osteocondução para os dois materiais, bem como o atraso causado na cicatrização óssea foram confirmados.

Resultados semelhantes referentes ao atraso na cicatrização em alvéolos de ratos também foram relatados por Rosa et al.⁹ e Boeck et al.¹⁰. No primeiro estudo foram comparados os efeitos do preenchimento dos alvéolos dentais com TCP contendo grânulos de 800 a 1200µm (S. R. Graft-Center Implant, EUA), HA particulada (H.A. 40-Homus, São Paulo) e HA de micropartículas de 10 a 50 µm (Bioapatita-Odontec, São Paulo), por um período de 1, 2, 3 e 6 semanas. Os três materiais retardaram o reparo alveolar, quando comparados aos controles, uma vez que houve menor formação óssea durante todos os períodos analisados. TCP e HA de micropartículas demonstraram maior volume de osso neoformado do que a HA particulada na terceira e sexta semanas⁹. Já no segundo estudo, os animais foram sacrificados aos 4, 7, 15, 24 e 60 dias após a exodontia e preenchimento dos alvéolos com HA. As análises histológicas mostraram que o atraso na cicatrização ocorreu quando os alvéolos foram preenchidos com hidroxiapatita. O material se mostrou compatível, foi parcialmente reabsorvido, embora aos 60 dias ainda houvesse presença de pequenas partículas de HA isoladas do tecido ósseo¹⁰.

Como alternativa ao uso de animais roedores, alguns estudos utilizaram mini-porcos, uma vez que estes apresentam similaridades biológicas aos seres humanos em termos de cicatrização e estrutura ósseas¹⁷. Wiltfgang et al.²¹ analisaram as características dos fosfatos

de cálcio trifásicos (TCP) Cerasorb™ (Kleinostheim, Alemanha) e Biobase α pore™ (Sulzer- Calcitek, Freiburg, Alemanha) em defeitos críticos criados em tíbias, simultaneamente à instalação de implantes Straumann (Straumann, Freiburg, Alemanha). O Cerasorb™ é uma cerâmica β -TCP, com microporos interconectados de tamanho de 5 a 20 μm e porosidade de 40 a 50%, enquanto o Biobase é uma cerâmica α -TCP, com macroporos de 200 μm , grânulos poligonais, cujos poros não se intercomunicam, apresentando uma porosidade de cerca de 40%. Os dois materiais mostraram uma cinética de degradação variável, com uma aceleração inicial deste processo nos grânulos menores de β -TCP, cuja forma esférica e de menor porosidade seria responsável por uma acomodação mais densa nos defeitos ósseos, em comparação com os grânulos poligonais do α -TCP. Após 46 semanas, a análise histológica mostrou uma osteointegração incompleta dos implantes dentais instalados simultaneamente. Não apenas osso, mas também tecido conjuntivo fibroso foi encontrado em contato com a superfície do implante e a degradação do material cerâmico próximo a este local pôde ser demonstrada. Os autores sugerem que os implantes deveriam ser instalados num estágio tardio, aproximadamente 5 a 6 meses após a inserção do α - ou β -TCP, uma vez que o acúmulo de células e a reação ao redor dessas partículas podem levar a uma integração fibrosa e não óssea.

Jensen et al.¹⁷ em um estudo também realizado em mandíbulas de mini-porcos, avaliaram histológica e histomorfometricamente, num período de 2, 4, 8 e 24 semanas, os efeitos de uma cerâmica BCP com 60% de HA e 40% de β -TCP, (Straumann® Bone Ceramic, Institute Straumann AG, Basiléia, Suíça), comparando-a ao osso autógeno, à HA e ao TCP puros. Todos os materiais à base de fosfato de cálcio apresentavam as mesmas características: tamanho de partículas de 0,5 a 1 mm, tamanho de macroporos de 100 a 500 μm , porosidade total de 90% e cristalinidade de 100%. Os defeitos criados foram cobertos por membranas de politetrafluoretileno expandido, ePTFE (GT9, W. L. Gore & Associates Inc., Newark, DE,

EUA). Todos os defeitos cicatrizaram com quantidades iguais de osso lamelar, mas a taxa de formação óssea foi desacelerada nas fases iniciais da cicatrização nos defeitos enxertados com as cerâmicas de fosfato de cálcio, quando comparados ao osso autógeno. A taxa de nova formação óssea foi diretamente proporcional ao conteúdo de TCP nos três materiais. HA e HA/TCP exibiram padrões de reabsorção similares, enquanto o TCP demonstrou degradação e substituição mais rápidas por osso neoformado.

Alguns estudos recentes avaliando o preenchimento ósseo em alvéolos de extração têm sido realizados em cães, já que a morfologia dos alvéolos destes animais é similar ao de humanos, tornando-os adequados ao estudo do comportamento biológico dos biomateriais na boca^{11-12,18-19,22}.

Araújo et al.¹⁸ avaliaram o efeito do enxerto de um material xenógeno (Bio-Oss Collagen[®], Osteohealth Company, Shirley, NY, EUA) em alvéolos frescos de cães por um período de três meses. A presença do biomaterial falhou em inibir a reabsorção em altura da crista alveolar vestibular que ocorre nos alvéolos após exodontias. Entretanto, o terço marginal dos alvéolos preenchidos com material exibiu menor redução das dimensões vestibulo-lingual quando comparado aos alvéolos controle (coágulo sanguíneo), indicando que o material é capaz de promover maior preservação do perfil do rebordo pela formação de novo tecido ósseo que ocorre principalmente na região cortical marginal. Apesar de o biomaterial promover a formação óssea, o enxerto pode atrasar a cicatrização, necessitando-se assim, de um período maior de observação para se determinar o destino do biomaterial e se a remodelação alveolar continuada poderia alterar o perfil e a dimensão do rebordo edêntulo.

Este atraso também foi demonstrado por Santos et al.¹⁹ que compararam a hidroxiapatita sintética (OsteoGen[™], Implants Ltd., Holliswood, NY, EUA), o osso bovino mineral (Bio-Oss[™], Osteohealth Company, Shirley, NY, EUA) e o vidro bioativo (Biogran[™], Orthovita, Palm Beach Gardens, FL, EUA), quando implantados em alvéolos

dentais de cães. O período de observação foi de 4, 8 e 28 semanas. Os biomateriais analisados mostraram características histológicas similares e o vidro bioativo apresentou maior taxa de reabsorção. O osso bovino natural teve maior quantidade de partículas envolvidas pelo tecido ósseo, seguida pela HA sintética e vidro bioativo. Todos os biomateriais atrasaram o processo de cicatrização óssea alveolar.¹⁹

Suba et al.²³ também avaliaram o processo de regeneração óssea em alvéolos dentais de cães Beagle, onde foram usados dois materiais de enxerto: β -TCP (CerasorbTM, Curasan, Kleinostheim, Alemanha) e uma combinação do mesmo com plasma rico em plaquetas (PRP). O período de observação foi de 6, 12 e 24 semanas. Os resultados histomorfométricos mostraram regeneração óssea mais intensa na fase inicial de cicatrização no grupo com aplicação tópica de PRP, o qual ainda apresentava alguma vantagem em termos de regeneração óssea sobre o controle, em 12 semanas. Após 24 semanas, não houve diferenças significantes entre os grupos.

O uso dos fosfatos de cálcio sob a forma particulada pode dificultar a instalação desses materiais em locais de pequeno diâmetro, tais como os alvéolos dentais. Para superar estas dificuldades, os grânulos de BCP têm sido associados a uma solução de polímeros de alta viscosidade, formando um substituto ósseo injetável (IBS), pronto para ser usado, cujas propriedades osteocondutivas e a biocompatibilidade têm sido demonstradas em estudos animais^{11-12,22,24}.

Boix et al.²² avaliaram a eficácia de um IBS contendo grânulos de fosfato de cálcio bifásico (BCP) na prevenção da reabsorção do rebordo alveolar, após a extração dental em cães Beagle, por um período de três meses. Os grânulos de BCP apresentavam uma proporção de 60% de HA e 40% de β -TCP, com grânulos de 200 a 500 μ m. O estudo mostrou que o biomaterial impediu a reabsorção da crista óssea alveolar após a extração dental e que houve reabsorção óssea em todos os alvéolos não preenchidos. Concluiu-se que um substituto ósseo

injetável composto de um polímero carreador e fosfato de cálcio pode significativamente aumentar a preservação do rebordo alveolar após a exodontia. Gauthier et al.¹¹ encontraram resultados semelhantes ao analisar o comportamento de material de composição idêntica.

Em outro estudo realizado em cães, com implantes instalados imediatamente após as exodontias, também se avaliou a eficácia de um substituto ósseo injetável (IBS), com a mesma composição (60% de HA e 40% de β -TCP, com grânulos de 40 a 80 μ m), em um período de três meses¹². IBS promoveu a regeneração óssea ao redor dos implantes, promovendo um aumento significativo em termos de número de roscas em contato com o osso, contato osso/implante e densidade óssea ao redor do implante.

Daculsi et al.²⁴ desenvolveram um IBS de fosfato de cálcio bifásico (60% de HA e 40% de β -TCP, com grânulos de 80 a 200 μ m) e o implantaram em sítios ósseos e não ósseos, por um período de 1 a 78 semanas, em várias espécies animais (coelhos, ratos, porcos, cães e ovelhas). Nos sítios ósseos, após 1 e 20 semanas de implantação, uma diminuição na área de superfície do biomaterial foi observada, em conjunto com a organização de uma matriz de osso imaturo ao redor das partículas maiores. Em coelhos, após 12 semanas de implantação, a área de superfície total ocupada por novo osso formado e pelos grânulos de BCP residuais foi de 79%. A mesma cinética de reabsorção e formação óssea foi observada nos outros experimentos animais. Nos sítios de implantação não ósseos (subcutâneos e intramusculares), os resultados mostraram ausência de reação de corpo estranho e de formação óssea ectópica. Segundo os autores, a eficiência do BCP estaria relacionada à sua capacidade de dissolução parcial, à longa estabilidade da HA e à bioatividade aumentada pelo TCP, que é solúvel.

A reabsorção das cerâmicas BCP depende da proporção HA/ β -TCP e esta determina a reatividade do material: quanto menor a proporção de HA, maior a reatividade, correlacionada *in vitro* com uma maior dissolução do material em meio ácido²⁶. A fim de se avaliar o efeito da alteração desta proporção sobre a bioatividade destes materiais, Farina et al.²⁶ implantaram

duas cerâmicas BCP, com proporções de HA/ β -TCP variadas (BCP1: 85% HA e 15% β -TCP e BCP2: 15% HA e 85% β -TCP), em leitos criados em mandíbulas de cães Beagle, 3 meses após exodontia dos pré-molares. Os animais foram sacrificados após 4, 12 e 26 semanas e as análises histomorfométricas mostraram que mais osso foi formado em um período menor no BCP-2, sugerindo-se que este material possuiu maior potencial osteocondutivo. Os autores concluíram que a variação dos componentes da cerâmica BCP pode melhorar o potencial osteocondutivo do material.

Schwarz et al.⁶ também utilizaram uma cerâmica BCP (BoneCeramic[®], Institute Straumann AG, Suíça), porém comparando-a ao Bio-Oss Collagen[®] (Geistlich, Wolhusen, Suíça), em um estudo em cães Beagle. Foi avaliada a regeneração óssea guiada em defeitos padronizados, do tipo deiscências, criados cirurgicamente nas superfícies vestibulares, seguindo a preparação de um leito para o recebimento de implantes. Os defeitos foram cobertos com uma membrana de colágeno suíno (BG, BioGide[®], Geistlich) e analisados após 1, 4 e 9 semanas. Os grânulos remanescentes de ambos os materiais foram completamente integrados a uma rede de osso esponjoso neoformado e não foram observados osteoclastos na superfície desses grânulos. Análise morfométrica revelou redução do comprimento do defeito ósseo formado e aumento do contato osso neoformado/implante. BoneCeramic[®] e Bio-Oss Collagen[®] parecem prover um arcabouço osteocondutivo para suportar os procedimentos de regeneração óssea guiada, em defeitos tipo deiscência. O autor sugere que a desvantagem deste estudo foi não ter havido um grupo controle, sem uso dos biomateriais, para que se pudesse excluir o efeito da cicatrização espontânea.

Manjubala et al.²⁷ investigaram a eficiência do fosfato de cálcio bifásico carbonado (CBCP) em defeitos criados experimentalmente em fêmures de cães. Os animais foram sacrificados com 4, 8 e 12 semanas. O fosfato de cálcio bifásico nesse estudo apresentava 80% de HA e 20% de TCP. Sistemas haversianos, com atividade osteoblástica e osteoclastica,

e processo de remodelação óssea foram observados após 12 semanas. As avaliações radiográficas e histológicas confirmaram o crescimento progressivo de novo osso dentro dos defeitos. Segundo os autores, a presença de TCP aumentou drasticamente o crescimento ósseo, devido à liberação de cálcio nos defeitos.

Apesar das cerâmicas BCP serem osteocondutivas, propriedades osteoindutivas têm sido atribuídas a esses materiais, quando implantados em sítios subcutâneos. Isto poderia ser devido não a uma propriedade osteoindutiva inerente ao BCP, mas a uma consequência da geometria crítica do material, similar à reportada para a hidroxiapatita porosa, a qual permitiria a concentração de BMP endógenas em quantidades suficientes para promover a osteoindução²⁸.

Segundo Yuan et al.²⁹ alguns materiais teriam a capacidade de estimular a formação de tecido mineralizado em sítios ectópicos. Diferentemente da formação óssea induzida por proteínas morfogenéticas, a formação óssea induzida não ocorreria frequentemente em pequenos animais, como coelhos, ratos e camundongos. Esses autores compararam a formação óssea induzida pela HA e pela BCP, sinterizados a diferentes temperaturas, após a implantação por 90 dias em tecidos moles de cães, coelhos, ratos e camundongos. BCP sinterizado a temperaturas mais baixas (1100°C) teve um maior potencial osteoindutivo do que HA sinterizada a temperaturas mais elevadas (1150°C). Uma menor temperatura resulta em mais microporos e uma maior superfície de contato, o que facilitaria a concentração maior de proteínas (incluindo as BMP) vindas do fluido intersticial. A formação óssea ectópica induzida pode variar entre diferentes espécies animais e ser dependente das características do biomaterial. BCP induziu uma maior formação óssea ectópica em cães, seguida por coelhos e camundongos, enquanto HA induziu formação óssea ectópica apenas em cães.

Yuan et al.³⁰ implantaram em músculos e em osso cortical de fêmures de cães Mongrel, os mesmos biomateriais descritos no estudo anterior, por diferentes períodos (7, 14,

21, 30, 45, 60, 90, 180 e 360 dias). Tanto HA quanto BCP induziram a formação óssea em músculos de cães, mais precocemente e em maior quantidade nos sítios com BCP, sugerindo maior potencial osteoindutivo deste material. Resultados semelhantes foram observados em fêmures, sugerindo que quanto maior o potencial osteoindutivo do material, maior a reparação óssea, tanto em sítios ósseos quanto em não ósseos.

Uma característica dos materiais que afeta a dissolução dos grânulos de BCP nos fluidos fisiológicos é a microporosidade, podendo levar à liberação das micropartículas nas proximidades da cerâmica. As micropartículas ativam os macrófagos, células gigantes e linfócitos, que vão liberar citocinas, as quais poderiam interagir com as células indiferenciadas ou outros tipos, levando à diferenciação em osteoblastos produtores do tecido ósseo, mostrando papel importante na osteogênese³¹.

Fellah et al.³¹ verificaram a resposta inflamatória frente às cerâmicas BCP de micropartículas (tamanhos menores que 20 μ m, de 40 a 80 μ m e de 80 a 200 μ m), implantadas em músculos de ratos por 7, 14 e 21 dias. A encapsulação fibrosa do material foi similar para os três grupos, enquanto a análise da resposta celular mostrou que o número total de células foi maior para o grupo de micropartículas de tamanho menor que 20 μ m. Menores números de células gigantes foram observados na presença de partículas pequenas do que nas grandes e intermediárias. O número de linfócitos foi similar para os três grupos, nos três períodos de observação.

Lee et al.³² também avaliaram a resposta inflamatória causada pelo BCP em defeitos em crânios de coelhos. Após um período de 1, 2 e 3 meses, a combinação de MBCP (BCP de macroporosidade, com 60% HA e 40% β -TCP) e rMSC (células mesenquimais indiferenciadas de ratos) causou reação de corpo estranho, com acúmulo de plasmócitos e histiócitos. Grânulos de MBCP se mantiveram nos sítios de implantação por três meses.

O tamanho das partículas de BCP, a macro e a microporosidade, são fatores que afetam a reatividade do mesmo. A microporosidade permite a circulação do fluido intersticial, enquanto que a macroporosidade fornece um arcabouço para a colonização das células ósseas^{25,28}.

Felalh et al.⁷ avaliaram a osteogenicidade do osso autógeno e de três cerâmicas BCP, sinterizadas a diferentes temperaturas, implantados em sítios ectópicos (músculos) e em defeitos criados em epífises femorais de bodes, por 6 e 12 semanas. Grânulos de BCP, compostos de 60% de HA e 40% de β -TCP foram sinterizados a 1050, 1125 e 1200°C, produzindo diferentes microporosidades. A osteoindução não foi observada, tanto em BCP quanto em osso autógeno, nos sítios ectópicos. Os três tipos de BCP, diferindo apenas em termos de microestrutura, demonstraram comportamentos diferentes ao interagir com os fluidos biológicos, células e tecidos. O aumento da temperatura de sinterização diminui as áreas de superfície específicas e alterou as propriedades de dissolução, o que explica os piores resultados para a BCP sinterizada a temperatura maior.

A engenharia tecidual tem sido empregada no reparo de defeitos ósseos, aliando-se a capacidade de diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas (MSC) a materiais que funcionem como um arcabouço adequado, a fim de se estimular a formação óssea. Jafarian et al.³³ compararam o efeito das células mesenquimais indiferenciadas (mesenquimal stem cells - MSC) na regeneração óssea, quando acrescentadas a dois tipos de biomateriais: BCP (Kasios[®]) e osso mineral natural (Bio-Oss[®]), em mandíbulas de cães Mongrel, durante 6 semanas. O fosfato de cálcio bifásico (Kasios[®]) consistiu de 60% de HA e 40% de β -TCP, com poros em média de 300 a 500 μ m. Bio-Oss[®] (Geistlich, Osteohealth Biomaterials, Berna, Suíça) mostrou as mesmas características de tamanhos dos cristais observados no osso humano normal. O grupo Kasios[®]/MSC mostrou a maior quantidade óssea formada, tanto em músculos quanto em tecido ósseo, dentre todos os grupos pesquisados (Kasios[®], Bio-Oss[®],

Kasios[®]/MSC, Bio-Oss[®]/MSC). Comparando-se os dois grupos livres de células, o grupo BCP revelou maior preenchimento em defeitos ósseos e em músculos do que Bio-Oss[®].

Kruyt et al.³⁴ investigaram o potencial da engenharia tecidual óssea em promover a cicatrização de defeitos críticos em cabras. A um arcabouço de BCP, com 50 a 60% de macroporosidade (BCP, OsSaturaTM, IsoTis, Holanda), sinterizado a 1200°, com 15% de microporosidade (poros menores que 10µm), foram acrescentadas células mesenquimais indiferenciadas derivadas de medula óssea. A implantação foi realizada tanto na crista ilíaca quanto em músculos. Ectopicamente, todas as amostras de engenharia tecidual apresentaram ampla formação óssea, em ambos os períodos de observação (9 e 12 semanas). Nos sítios ósseos, o efeito das células mesenquimais foi menos pronunciado. Apenas na nona semana houve significativamente maior aposição óssea, o que não pôde ser detectado em 12 semanas.

Considerações finais

A comparação direta entre estudos realizados em condições experimentais diversas é de difícil análise. Existem muitas variáveis envolvidas, tais como métodos cirúrgicos, modelos experimentais, sítios de implantação e espécies animais. Dependendo do sítio de implantação, a arquitetura óssea difere em relação aos ossos cortical e medular, o que pode levar a diferentes tipos de estresse biomecânico e diferentes taxas de formação e remodelação ósseas¹³.

As características físico-químicas dos diferentes biomateriais influenciam consideravelmente na capacidade de estimulação da neoformação óssea. Os estudos comprovam a atividade osteocondutiva das cerâmicas fosfato de cálcio em vários sítios e modelos animais. Em relação às cerâmicas fosfato de cálcio bifásico (BCP), suas características físico-químicas influenciam diretamente o grau de formação óssea e de sua estabilidade, estando relacionados à dissolução das fases de tricálcio fosfato e hidroxiapatita. Diversos estudos apontam para a utilização promissora do BCP como substituto ósseo e como uma alternativa viável aos enxertos de osso autógeno. Nos últimos anos, estudos utilizando técnicas de engenharia tecidual, com implantação de células indiferenciadas em um arcabouço de biomateriais, têm mostrado resultados promissores no reparo de defeitos ósseos.

Diante do crescente conhecimento sobre os processos celulares e moleculares envolvidos no reparo tecidual, estudos em modelos animais são de grande importância para o desenvolvimento de estratégias que possibilitem a manutenção e o reparo do rebordo alveolar para adequada reabilitação protética dos pacientes.

Referências Bibliográficas

1. Irinakis T, Tabesh M. Preserving the socket dimensions with bone grafting in single sites: an esthetic surgical approach when planning delayed implant placement. *J Oral Implantol* 2007;33(3):156-63.
2. Lekovic V, Kenney EB, Weinlaender M, et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol* 1997;68(6):563-70.
3. Lekovic V, Camargo PN, Klokkevold PR, et al. Preservation of alveolar bone in extractions sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol* 1998;69(9):1044-49.
4. Alvin BKY, Ong MMA. Principles and Implications of site preservation for alveolar ridge Development. *Singapore Dent J* 2004;26(1):15-20.
5. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS et al. Biomaterial resorption rate and healing site morphology inorganic bovine bone and β -tricalcim phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(3):357-68.
6. Schwarz F, Herten M, Ferrari D, Wieland M, Engelhardt J, Becker J. Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxiapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic®) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen®): an immunohistochemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007;36(12):1198-06.
7. Fellah BH, Gauthier O, Weiss P, Chappard D, Layrolle P. Osteogenicity of biphasic calcium phosphate ceramics and bone autograft in a goat model. *Biomaterials* 2008; 29(9):1177-88.
8. Bodde EWH, Wolke JGC, Kowalski RSZ, Jansen JA. Bone regeneration of porous β -tricalcium phosphate (Conduit™ TCP) and of biphasic calcium phosphate ceramic (Biosel®) in trabecular defects in sheep. *J Biomed Mater Res* 2007; 82(3):711-22.
9. Rosa AL, Brentegani LG, Grandini SA. Hydroxylapatite and tricalcium phosphate implants in the dental alveolar of rats. A histometric study. *Braz dent J* 1995;6(2):103-09.
10. Boeck EM, Pansani CA, Okamoto T, Goissis G, Boeck Neto RJ, Marcantonio Júnior E. Implante de hidroxiapatita em alvéolos dentais. Estudo histopatológico em ratos. *Rev Odontol UNESP* 1999;28(1):83-96.
11. Gauthier O, Boix D, Grimandi G, Aguado E, Bouler JM, Weiss P, Daculsi G. A new injectable calcium phosphate biomaterial for immediate bone filling of extraction sockets: a preliminary study in dogs. *J Periodontol* 1999;70(4):375-83.
12. Boix D, Gauthier O, Guicheux J, Pilet P, Weiss P, Grimandi G, Daculsi G. Alveolar bone regeneration for immediate implant placement using an injectable bone substitute: an experimental study in dogs. *J Periodontol* 2004;75(5):663-71.

13. Le Guehennec L, Goyenvalle E, Aguado E, Houchmand-Cuny M, Enkel B, Pilet P, et al. Small-animal models for testing macroporous ceramic bone substitutes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;72(1):69-78.
14. Develioglu H, Saraydin SU, Bolayir G, Dupoirieux L. Assessment of the effect of a biphasic ceramic on bone response in a rat calvarial defect model. *J Biomed Mater Res A* 2006;77(3):627-31.
15. Develioglu H, Saraydin SU, Dupoirieux L, Sahin ZD. Histological findings of long-term healing of the experimental defects by application of a synthetic biphasic ceramic in rats. *J Biomed Mater Res A* 2007;80(2):505-08.
16. Calixto RFE, Mazzonetto JT, Brentegani LG, Lamano-Carvalho TL. Grafting of tooth extraction socket with inorganic bovine bone or bioactive glass particles: comparative histometric study in rats. *Implant Dent* 2007;16(3):260-269.
17. Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects. A histology and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2007;18(6):752-60.
18. Araújo M, Linder E, Wennström L, Lindhe J. The influence of Bio-Oss collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28(2):123-35.
19. Santos FA, Pochapski MT, Martins AC, Zenóbio EB, Spolidoro LC, Marcantonio Jr E. Comparison of biomaterial implants in the dental socket: histological analysis in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(9):1-8.
20. Lamano Carvalho TL, Bombonato KF, Brentegani LG. Histometric analysis of rat alveolar wound healing. *Braz Dent J* 1997;8:9-12.
21. Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Kloss FR, Rupprecht S, et al. Degradation characteristics of α and β Tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 2002;63(2):115-21.
22. Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Bouler JM, Pilet P, Daculsi G, Grimandi G. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction: a study in dog. *J Mater Sci Mater Med.* 2006;17(11):1145-52.
23. Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of β -tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(6):832-38.
24. Daculsi G, Weiss P, Bouler JM, Gauthier O, Millot F, Aguado E. Biphasic calcium phosphate/hydrosoluble polymer composites: a new concept for bone and dental substitution biomaterials. *Bone* 1999;25(2 Suppl):59S-61S.
25. Daculsi G, Laboux O, Malard O, Weiss P. Current state of the art of biphasic calcium

phosphate bioceramics. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14(3):195-200.

26. Fariña NM, Guzón FM, Peña ML, Cantalapiedra AG. In vivo behaviour of two different biphasic ceramic implanted in mandibular bone of dogs. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19(4):1565-73.
27. Manjubala I, Sivakumar M, Sureshkumar RV, Sastry TP. Bioactivity and osseointegration study of calcium phosphate ceramic of different chemical composition. *J Biomed Mater Res* 2002; 63:200-08.
28. Legeros RZ, Lin S, Rohanizadeh R, Mijares D, Legeros JP. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14(3):201-09.
29. Yuan H, Van Blitterswijk CA, De Groot K, De Bruijn J. Cross-species comparison of ectopic bone formation in biphasic calcium phosphate (BCP) and hydroxyapatite (HA) scaffolds. *Tissue Eng* 2006;12(6):1607-15.
30. Yuan H, van Blitterswijk CA, de Groot K, de Bruijn JD. A comparison of bone formation in biphasic calcium phosphate (BCP) and hydroxyapatite (HA) implanted in muscle and bone of dogs at different time periods. *J Biomed Mater Res A* 2006; 78(1):139-147.
31. Fella BH, Josselin N, Chappard D, Weiss P, Layrolle P. Inflammatory reaction in rats muscle after implantation of biphasic calcium phosphate micro particles. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18(2):287-94.
32. Lee LT, Kwan PC, Chen YF, Wong YK. Comparison of the effectiveness of autologous fibrin glue and macroporous biphasic calcium phosphate as carriers in the osteogenesis process with or without mesenchymal stem cells. *J Chin Med Assoc* 2008;71(2):66-73.
33. Jafarian M, Eslaminejad MB, Khojasteh A, Abbas FM, Dehghan MM, Hassanizadeh R, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells-directed bone regeneration in the dog mandible: a comparison between biphasic calcium phosphate and natural bone mineral. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105(5):e14-e24.
34. Kruyt MC, Dhert WJA, Yuan H, Wilson CE, van Blitterswijk CA, Verbout AJ, de Bruijn JD. Bone tissue engineering in a critical size defect compared to ectopic implantations in the goat. 2004;22(3):544-51.

ARTIGO 2

Reações teciduais ao BoneCeramic® utilizado como material de preenchimento de defeito alveolar em ratos

Juliana Maia da Silveira¹, Mariana Faria de Pinho¹, Aécio Abner Campos Pinto Júnior², Gerluza Aparecida Borges Silva³, Renato de Melo Mendes³, Elton Gonçalves Zenóbio⁴, Paulo Eduardo Alencar de Souza⁴

¹ Programa de Pós-graduação em Odontologia, ênfase em Implantodontia, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

² Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais

³ Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais

⁴ Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

RESUMO

A reabsorção do osso alveolar pode ser causada por diversos fatores como exodontias, traumatismos e doença periodontal, dificultando a reabilitação oral através de próteses e implantes osseointegrados. Para viabilizar a reabilitação do paciente, diferentes técnicas têm sido empregadas com o intuito de preservar ou melhorar a dimensão e o contorno do rebordo pós-exodontia, incluindo-se o uso de materiais de enxerto. As cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico (BCP) consistem de uma mistura de hidroxiapatita (HA) e beta-tricálcio fosfato (β -TCP) e têm sido amplamente utilizadas como materiais aloplásticos para enxerto ósseo. Straumann® BoneCeramic é uma cerâmica BCP disponível em grânulos e composta por 60% de HA e 40% de β -TCP. São escassos os trabalhos avaliando as características teciduais em sítios de implantação do Straumann® BoneCeramic. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar histologicamente os efeitos do Straumann® BoneCeramic no processo de cicatrização de defeitos alveolares em ratos. Para isso, os primeiros molares superiores de ratos Wistar machos foram extraídos e os alvéolos foram unidos. Os alvéolos direitos foram preenchidos com coágulo sanguíneo (grupo controle) enquanto os esquerdos com grânulos do Straumann® BoneCeramic (grupo teste). Os animais foram sacrificados após 7, 15 e 60 dias e as maxilas foram processadas e coradas para análise das características histológicas. Nossos resultados revelaram formação de tecido ósseo mineralizado e bem organizado em contato

íntimo com as partículas do biomaterial, 15 e 60 dias após as exodontias. Nas porções mais superficiais dos alvéolos, observamos envolvimento das partículas do biomaterial por tecido conjuntivo fibroso contendo células gigantes. No grupo controle, foi observada formação de trabéculas ósseas bem organizadas. Os achados histológicos em modelo experimental animal indicam que os grânulos do Straumann® BoneCeramic são capazes de se integrar completamente ao osso neoformado, embora permaneçam por longo período de tempo no alvéolo.

Palavras-chave: cerâmica fosfato de cálcio bifásico, Straumann Bone® Ceramic, reparo ósseo, alvéolo dentário.

ABSTRACT

Alveolar ridge resorption may be caused by several factors, among them, tooth extraction, trauma and periodontal diseases, impairing the oral rehabilitation when prosthetic replacement or dental implants are required. To overcome this situation, different techniques have been used, as the use of grafting materials for preservation and maintenance of the alveolar ridge dimensions postextraction. The biphasic calcium phosphate ceramics (BCP) consist of a mixture of hydroxyapatite (HA) and β -tricalcium phosphate (TCP) and have been widely used nowadays. Straumann[®] BoneCeramic is a BCP available as granulate, consisting of 60% HA and 40% β -TCP. Studies evaluating the tissue response to this material are sparse. The aim of this study was evaluate the effects of this product on the healing process in rat alveolar defects through histological analysis. The upper first molars of male Wistar rats were extracted and defects were surgically created. The left sockets were filled with Straumann[®] BoneCeramic and the right ones were filled with blood clot. The animals were sacrificed at 7, 15 and 60 days and the upper maxillae were embedded in paraffin and stained for histological analysis. The results revealed new mineralized bone formation in close contact with the material particles, 15 and 60 days postextraction. In the cervical portion of the dental socket, the grains were involved by fibrous connective tissue and some giant cells. In the control group, well organized trabeculae bone was formed. The histological findings in this animal model revealed that Straumann[®] BoneCeramic granules are able to be completely integrated to the new formed bone, although remain for a long time in the dental sockets.

Keywords: Calcium biphasic ceramics, Straumann[®] BoneCeramic, bone healing, tooth sockets.

Introdução

A redução do rebordo residual após a exodontia é um processo fisiológico, o qual inevitavelmente conduz a uma maior diminuição da altura e espessura ósseas, principalmente na região vestibular. Segundo Atwood¹, este evento é crônico, progressivo, irreversível e acumulativo. Como o processo de reparo não permite a restituição integral do volume inicial do osso alveolar, diferentes técnicas têm sido empregadas com o intuito de preservar ou melhorar a dimensão e o contorno do rebordo pós-exodontia, incluindo-se o uso de implantes e de materiais de enxerto²⁻⁴. Para este fim, substitutos ósseos têm sido amplamente pesquisados, como alternativas ao uso do osso autógeno, a fim de se obter o reparo, a substituição ou o aumento do tecido ósseo.

As cerâmicas de fosfato de cálcio (hidroxiapatita, HA; tricálcio fosfato, TCP; e fosfato de cálcio bifásica, BCP) são reconhecidamente biocompatíveis e têm propriedades bioativas. Elas apresentam constituição química mineral semelhante à do osso natural, o que as torna substitutos ósseos promissores⁵⁻⁶. Estes biomateriais são atóxicos, apresentam ótima atividade osteocondutiva e não desencadeiam respostas imunológicas. Eles se diferem não apenas na composição, mas também na taxa de degradação⁷⁻⁸. Os materiais à base de hidroxiapatita porosa e não porosa são pouco ou não reabsorvíveis, ao contrário do beta tricálcio fosfato (β -TCP) que é mais solúvel, sendo biodegradado mais prontamente, embora de maneira imprevisível, podendo assim não oferecer um arcabouço adequado para o crescimento ósseo⁹. Com o objetivo de se obter um melhor arcabouço para o ganho de volume ósseo e conseqüentemente, um melhor desempenho do que a hidroxiapatita (HA) e o beta tricálcio fosfato isolados (β -TCP), foram desenvolvidas cerâmicas de fosfato de cálcio bifásica (BCP), que consistem de uma mistura de HA e β -TCP⁶⁻⁸. O conceito da BCP é baseado no ótimo equilíbrio entre a fase mais estável (HA) e a mais solúvel (β -TCP). As cerâmicas BCP são gradualmente dissolvidas *in vivo*, contribuindo para a nova formação óssea, à medida que

liberam íons cálcio e fosfato no microambiente^{6-7,10}. A reatividade das cerâmicas BCP pode ser controlada pela manipulação das proporções de HA/ β -TCP. A extensão da degradação de uma cerâmica BCP está relacionada à quantidade de β -TCP no material⁵⁻⁷.

In vivo, a formação óssea é o resultado de um processo complexo que pode ser influenciado por parâmetros do hospedeiro e pelo próprio biomaterial, tais como tipo e forma, tamanho dos poros (macro ou micro) e distribuição dos mesmos, interconectividade e a reabsorção do biomaterial¹². O tamanho ideal dos poros das biocerâmicas deveria se aproximar ao tamanho dos do osso. A microporosidade (<10 μ m) permite a circulação de fluidos corporais, enquanto que a macroporosidade (diâmetro>100 μ m), permite um arcabouço para a colonização de células ósseas⁶.

Cerâmicas BCP apresentando diferentes composições e características físico-químicas, devem ser capazes de preencher alguns pré-requisitos como biocompatibilidade, osteocondução, degradação controlada e substituição simultânea por novo osso formado, além da integridade mecânica necessária à instalação do implante e sua manutenção em função¹². Existem várias marcas comerciais e as diferenças entre elas são devidas a algumas propriedades, tais como a proporção cálcio/fosfato, cristalinidade, temperatura de sinterização e outras características físicas, como apresentação do produto sob forma de grânulos, blocos ou materiais injetáveis. Diferenças sutis nas características físico-químicas das cerâmicas BCP podem ter um forte impacto nos resultados biológicos⁶⁻⁷.

Straumann[®] BoneCeramic é uma cerâmica BCP disponível em grânulos e composta por 60% de HA (100% cristalina) e 40% de β -TCP, sinterizada a temperaturas de 1100 a 1500°C. Ele é 90% poroso, com poros interconectados de 100-500 μ m de diâmetro. Estudos têm mostrado suas propriedades osteocondutivas¹². Segundo o fabricante, a dissolução do TCP fornece uma fonte de íons cálcio e fosfato que favorece a mineralização da futura matriz óssea a ser formada no local. A fase de HA mantém o arcabouço para a deposição de osso e

protege a área enxertada contra a reabsorção excessiva, pois apresenta lenta dissolução, o que permite a manutenção do volume ósseo¹³⁻¹⁴.

Embora o Straumann® BoneCeramic seja utilizado na clínica odontológica como um substituto ósseo em diferentes situações, são escassos os trabalhos avaliando as características teciduais em sítios de implantação deste biomaterial, principalmente no osso alveolar. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente os efeitos do Straumann® BoneCeramic no processo de cicatrização de defeitos alveolares em ratos, em diferentes tempos.

Materiais e Métodos

Animais

Neste estudo foram utilizados 12 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, de quatro meses de idade, pesando de 300 a 400g, os quais foram mantidos em ambiente climatizado com controle de ciclo de luz, água filtrada e ração para roedores (Labina – Purina) à vontade, no Biotério do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, aprovado sob número 233/08 e conduzido de acordo com as diretrizes deste comitê.

Procedimentos cirúrgicos

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia geral (Fig.1A), com injeção intramuscular de cetamina e xilazina. Primeiramente, foi aplicado cloridrato de xilazina 2% (Xilazin - Syntec), na proporção de 0,1ml/100g de peso corporal, cujos efeitos são analgésico, anestésico, miorelaxante e sedativo. Imediatamente após, foi injetado cloridrato de cetamina 10% (Cetamin - Syntec), na proporção de 0,1ml/100g de peso corporal, cujo efeito é anestésico.

A técnica cirúrgica consistiu do levantamento de um retalho mucoperióstico nos lados vestibular e palatino do rebordo alveolar, adjacentes aos primeiros molares superiores, com o objetivo de melhorar a visibilidade do campo operatório e garantir o fechamento total da ferida cirúrgica, proporcionando assim uma cicatrização por primeira intenção.

As exodontias dos primeiros molares superiores foram realizadas por via alveolar, com técnica atraumática, evitando-se a fratura da tábua óssea vestibular (Fig. 1B e C). Os alvéolos

correspondentes às raízes (Fig. 1D) foram unidos (usando-se uma broca esférica número 1, sob irrigação com soro fisiológico) (Fig. 1E), a fim de criar uma loja cirúrgica que pudesse acomodar o biomaterial (Fig. 1F). Os alvéolos dos primeiros molares superiores direitos foram os grupos controles, e os esquerdos, os testes.

Os alvéolos do grupo teste foram preenchidos com Straumann® BoneCeramic (Straumann Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) até a margem da crista óssea (Fig. 1G) e a ferida cuidadosamente suturada com fio de nylon 5-0 BioSut (Belo Horizonte, Brasil) por meio de sutura com pontos isolados (Fig. 1H). Os alvéolos do grupo controle foram preenchidos naturalmente por coágulo sanguíneo e suturados de forma semelhante ao lado teste.

Antes de serem operados, os animais receberam dieta sólida para roedores e após a cirurgia, dieta pastosa constituída de Mucilon (Nestlé) e ração moída, diluídos em água, até o dia em que foram sacrificados.

Figura 1- Fotografias dos procedimentos cirúrgicos. (A) Mesa cirúrgica com animal anestesiado. (B) Exodontia do primeiro molar superior. (C) Primeiro molar extraído. (D) Alvéolos pós-exodontia. (E) Criação do defeito alveolar. (F) Defeito alveolar. (G) Defeito alveolar preenchido com partículas de Straumann® BoneCeramic. (H) Sutura.



Análise histológica

A amostra foi dividida em 3 grupos contendo 4 animais cada, os quais foram sacrificados através de decapitação, sob anestesia, como descrito anteriormente, nos dias 7, 15 e 60 após as extrações, para as análises histológicas.

As maxilas dos animais foram dissecadas e fixadas em formaldeído a 10% tamponado por 48 horas à temperatura ambiente. Após fixação, as peças foram desmineralizadas em solução aquosa de EDTA a 10%, pH 7,3. As peças foram avaliadas semanalmente até apresentarem consistência macia, indicando correta desmineralização óssea. Em seguida, as maxilas foram desidratadas gradativamente em soluções de concentração crescente de etanol, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina (Histosec® pastilhas, Merck). Foram obtidos cortes seriados de 4 µm de espessura, em micrótomo, e estes estendidos sobre lâminas de vidro pré-tratadas com silano 2% (3-aminopropyltriethoxy-silane, Sigma) em acetona. Os cortes foram realizados com orientação no plano sagital, na direção méso-distal do alvéolo, e corados com hematoxilina-eosina para análise histológica. Foi realizada análise descritiva de toda a área correspondente ao alvéolo dos primeiros molares e às áreas adjacentes. Os parâmetros analisados foram: presença do biomaterial, formação óssea, presença e tipo de infiltrado inflamatório. Foram realizadas análises dos alvéolos teste e controle em diferentes tempos nos dois grupos.

Resultados

Os animais não apresentaram complicações no período pós-operatório até o sacrifício. Os resultados das análises histológicas são descritos abaixo.

7 dias

Grupo controle: Os defeitos alveolares preenchidos por coágulo sanguíneo apresentaram espesso tampão de fibrina recobrimdo área de denso infiltrado inflamatório rico em leucócitos polimorfonucleares (Fig. 2A, B, C e D). Foi observada intensa atividade de remodelação óssea nas paredes anterior, posterior e inferior do defeito alveolar (Fig. 2E), com numerosos osteoclastos ativos reabsorvendo a cortical à distância. Foi observada em todos os animais reação periosteal na face de osso cortical voltada para os tecidos nasais, em região adjacente ao defeito ósseo alveolar criado, com intensa neoformação de trabéculas de osso imaturo subperiosteal.

Grupo teste: De forma semelhante ao grupo controle, os alvéolos do grupo teste foram preenchidos por tampão de fibrina mais superficialmente e por denso infiltrado inflamatório polimorfonuclear (Fig. 3A e B). Imagem negativa de numerosas partículas do material BoneCeramic®, de formatos e tamanhos variados, foram observadas, estando completamente circundadas por fibrina e pelo infiltrado inflamatório agudo. Nas áreas correspondentes ao biomaterial, podem ser observadas coleções de pequenas estruturas granulares de coloração acinzentada (Fig. 3C e D). Numerosos osteoclastos puderam ser observados em atividade de reabsorção do osso cortical das paredes do defeito alveolar (Fig. 3E e F). Reação periosteal de forma semelhante à descrita para o grupo controle foi observada em todos os animais do grupo teste (Fig. 3G).

Figura 2 – Fotomicrografias do grupo controle aos 7 dias. (A e B) Defeito alveolar preenchido por tampão de fibrina e denso infiltrado inflamatório agudo. Aumento de 40X. (C e D) Detalhes da região inflamada. Aumentos de 200X e 400X, respectivamente. (E) Osteoclastos em atividade de reabsorção na parede do fundo do defeito alveolar. Aumento de 200X. Cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina.

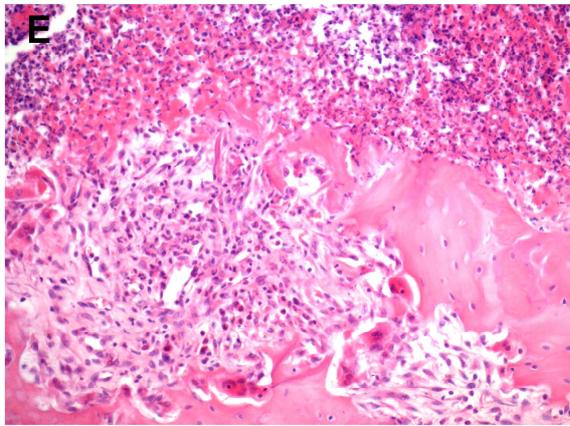
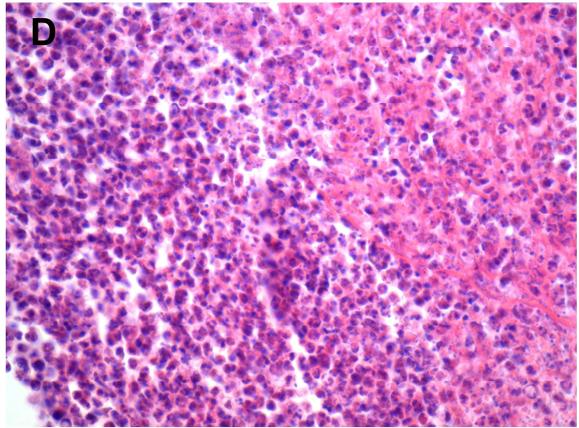
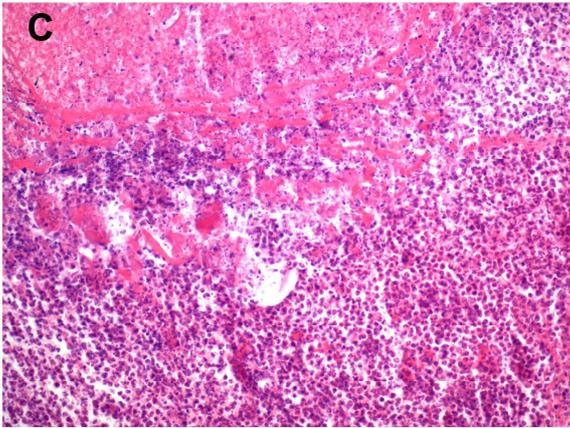
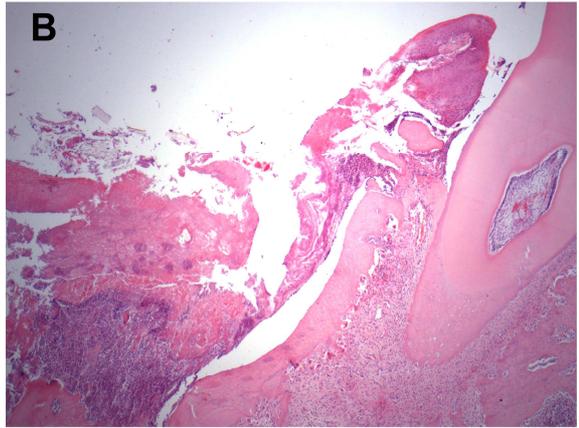
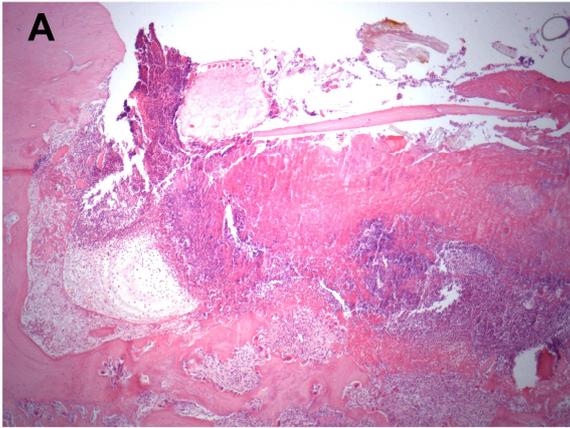
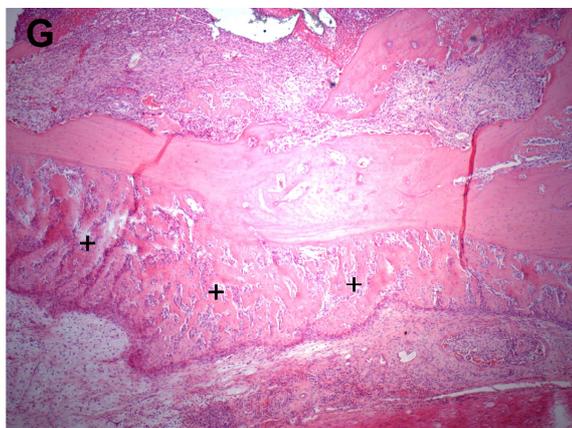
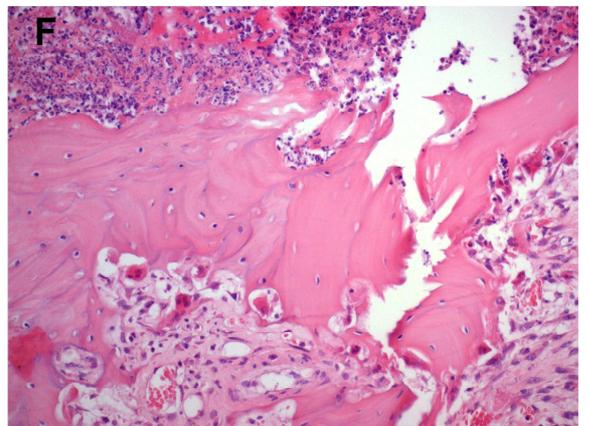
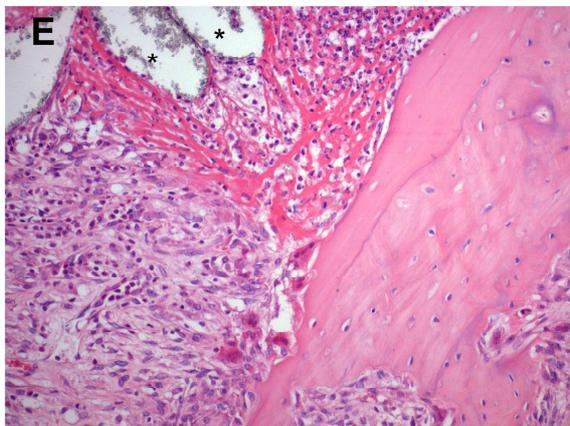
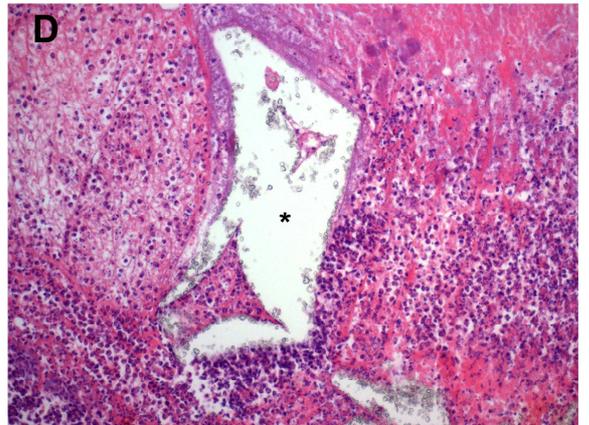
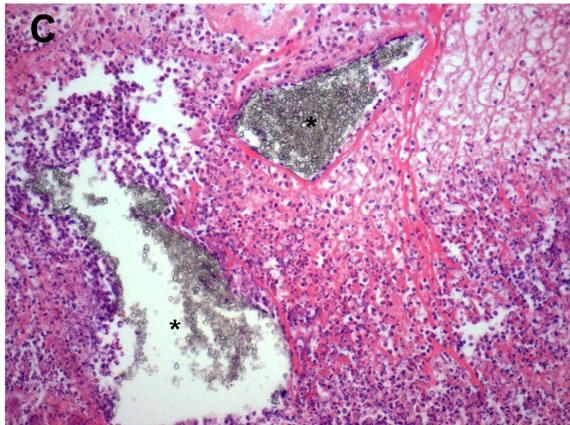
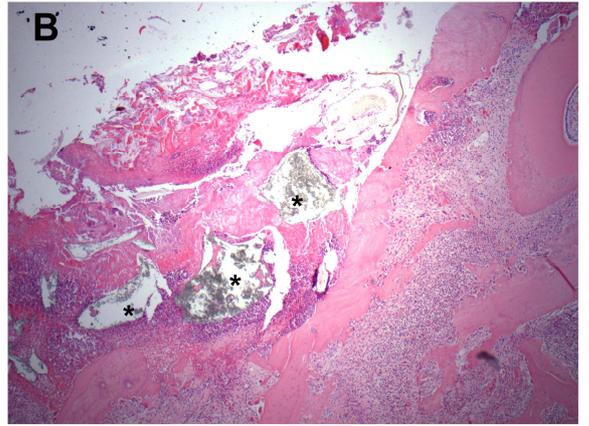
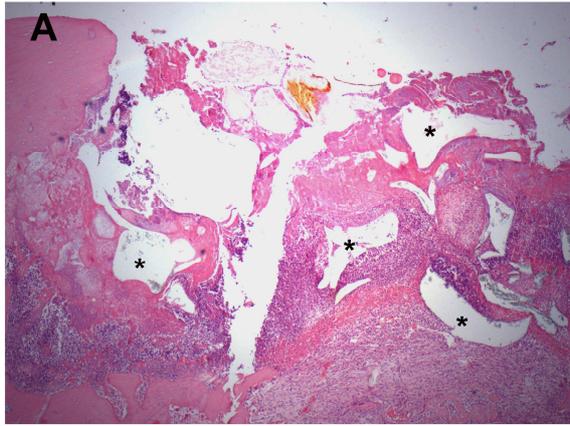


Figura 3 – Fotomicrografias do grupo teste aos 7 dias. (A e B) Defeito alveolar preenchido por tampão de fibrina, infiltrado inflamatório agudo e partículas de BoneCeramic[®]. Aumento de 40X. (C e D) Partículas de BoneCeramic[®] completamente envolvidas por fibrina e leucócitos polimorfonucleares. Aumento de 200X. (E e F) Osteoclastos em atividade de reabsorção nas paredes distal e do fundo do defeito alveolar e linhas reversas de formação óssea na cortical voltada para o defeito alveolar. Aumento de 200X. (G) Reação periosteal na parede do fundo do defeito alveolar com neoformação óssea subperiosteal. Aumento de 40X. Cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina. Partículas de BoneCeramic[®] (*). Área de reação periosteal com neoformação de trabéculas ósseas imaturas (+).

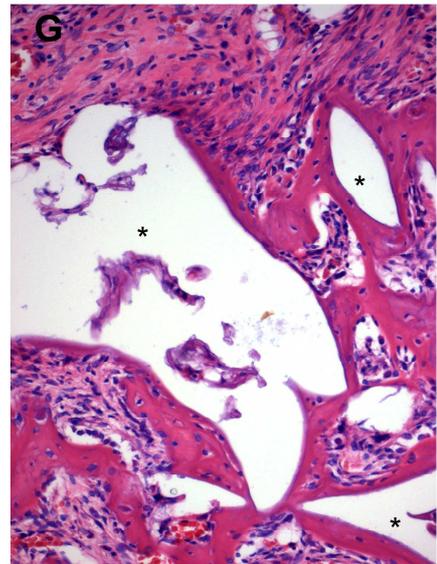
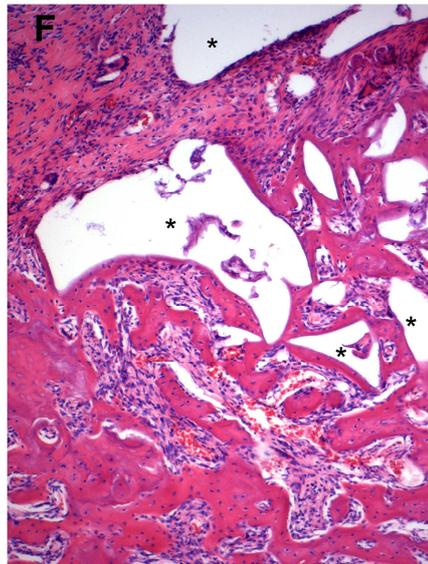
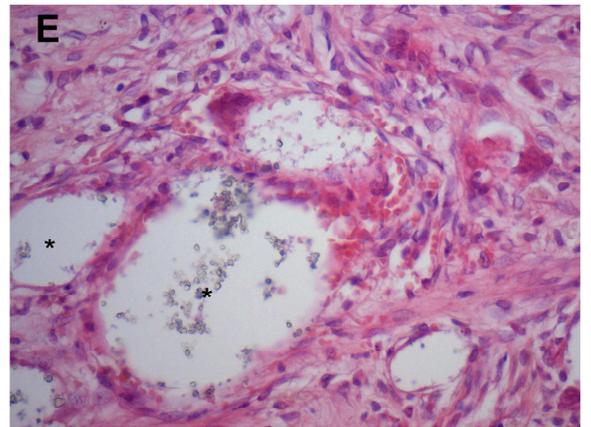
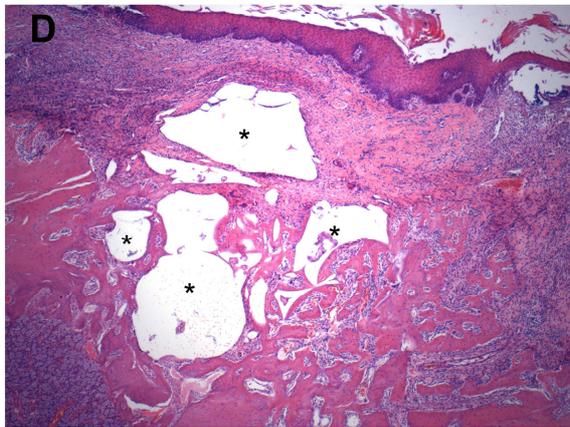
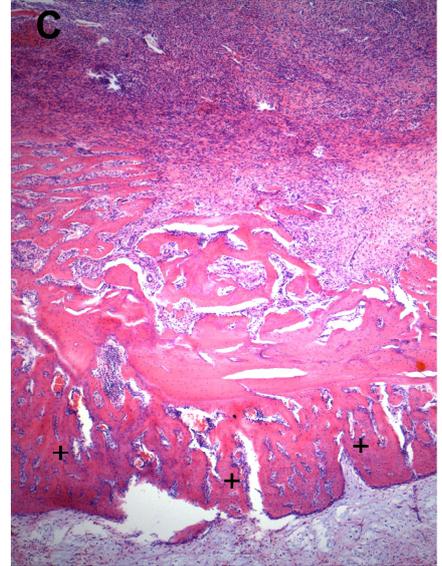
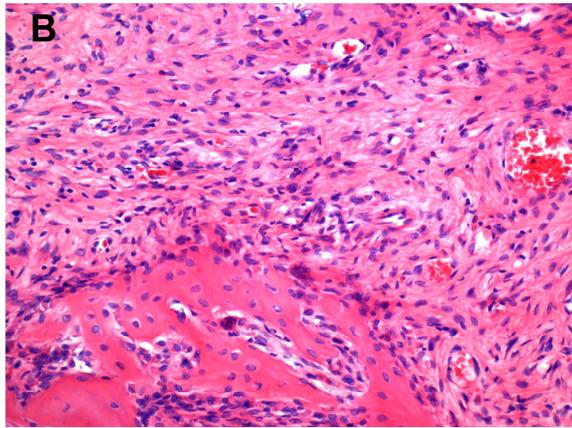
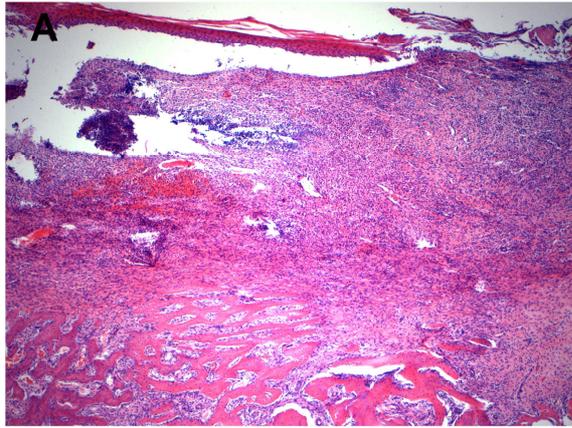


15 dias

Grupo controle: Os defeitos alveolares estavam preenchidos por tecido conjuntivo fibroso celularizado, exibindo vasos sanguíneos neoformados e áreas de moderado a denso infiltrado inflamatório mononuclear. Superficialmente, foi possível observar mucosa alveolar quase completamente revestida por epitélio estratificado pavimentoso ceratinizado. (Fig. 4A). Nas porções profundas do defeito alveolar foram observadas trabéculas de osso neoformado, exibindo intensa celularidade, adjacentes ao tecido conjuntivo (Fig. 4B). De forma semelhante aos grupos com 7 dias, foi observada reação periosteal na face de osso cortical oposta ao defeito alveolar criado, com trabéculas ósseas sugerindo estágio pouco mais avançado de maturação (organização) (Fig. 4C).

Grupo teste: Nos defeitos alveolares foram observadas imagens negativas correspondentes às partículas de BoneCeramic[®], de tamanhos e formatos variados, envolvidas por tecido conjuntivo fibroso celularizado na porção mais superficial e por tecido ósseo na porção mais profunda do alvéolo. Foi possível observar mucosa alveolar exibindo áreas de moderado a denso infiltrado inflamatório mononuclear, quase completamente revestida por epitélio estratificado pavimentoso ceratinizado. (Fig. 4D). Algumas células gigantes multinucleadas estavam em contato com partículas do biomaterial, na porção superficial do defeito alveolar preenchida por tecido conjuntivo fibroso, o qual não apresentava sinais de inflamação evidentes próximo ao BoneCeramic[®] (Fig. 4E). Na porção mais profunda do defeito alveolar, partículas do biomaterial estavam completamente envoltas e em íntimo contato com matriz osteóide e tecido ósseo (Fig. 4F e G). A área de reação periosteal também apresentava características de osso mais maduro e com menor atividade de remodelação, semelhante ao observado no grupo controle.

Figura 4 – Fotomicrografias aos 15 dias. Grupo controle: (A) Defeito alveolar preenchido por tecido conjuntivo fibroso celularizado com áreas de moderado a denso infiltrado inflamatório mononuclear e recoberto quase totalmente por epitélio de mucosa. Aumento de 40X. (B) Porção profunda do defeito alveolar mostrando trabéculas de osso neoformado com intensa celularidade, adjacentes ao tecido conjuntivo fibroso com vasos sanguíneos neoformados. Aumento de 200X. (C) Reação periosteal na parede do fundo do defeito alveolar com neoformação óssea subperiosteal. Aumento de 40X. Cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina. Área de reação periosteal com neoformação de trabéculas ósseas imaturas (+). Grupo teste: (D) Defeito alveolar preenchido por partículas de BoneCeramic[®] e mucosa alveolar revestida quase totalmente por epitélio estratificado pavimentoso ceratinizado. Aumento de 40X. (E) Porção mais superficial do defeito alveolar contendo partículas do biomaterial completamente envolvidas por tecido conjuntivo fibroso celularizado com vasos neoformados e presença de algumas células gigantes multinucleadas em íntimo contato com a superfície do biomaterial. Aumento de 40X. (F e G) Detalhe da área correspondente às imagens negativas das partículas do biomaterial em íntimo contato com tecido conjuntivo fibroso na porção mais superficial do defeito alveolar e completamente envoltas por tecido ósseo em íntimo contato, nas porções mais profundas do alvéolo. Aumentos de 100 e 200X, respectivamente. Partículas de BoneCeramic[®] (*).

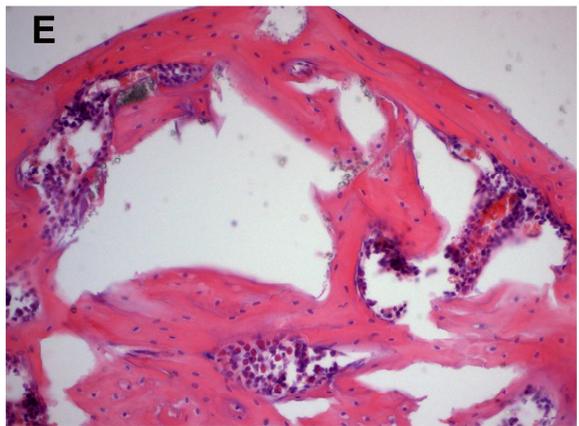
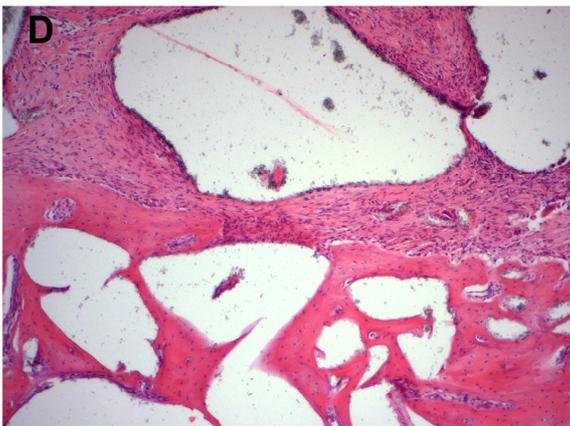
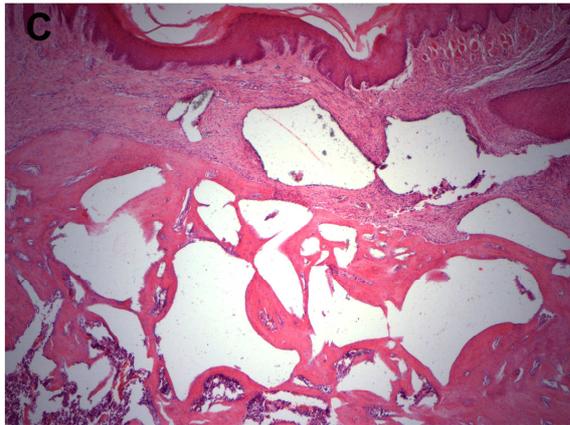
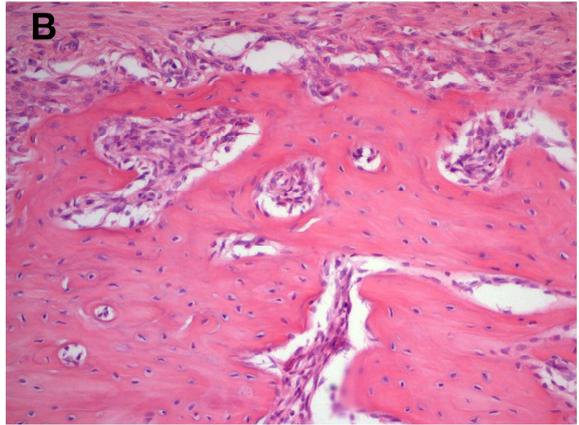
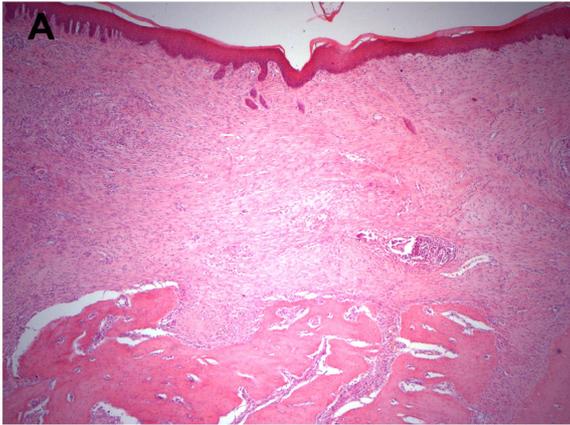


60 dias

Grupo controle: O defeito alveolar estava recoberto por mucosa totalmente epitelizada, preenchido por tecido conjuntivo fibroso celularizado bem organizado na porção superficial, com escasso ou ausente infiltrado inflamatório mononuclear. A porção mais profunda estava preenchida por trabéculas de osso maduro (Fig. 5A e B). A área de reação periosteal observada aos 7 dias e 15 dias, se encontrava preenchida por osso maduro, sem sinais de atividade intensa de remodelação.

Grupo teste: Nos defeitos alveolares foram observadas imagens negativas correspondentes às partículas de BoneCeramic[®], de tamanhos e formatos variados, envolvidas por tecido conjuntivo fibroso celularizado, sem inflamação, na porção mais superficial e por tecido ósseo na porção mais profunda do alvéolo. Foi possível observar mucosa alveolar completamente cicatrizada (Fig. 5C). Na porção mais profunda do defeito alveolar, partículas do biomaterial estavam em íntimo contato com tecido ósseo maduro (Fig. 5D e E). De forma semelhante ao grupo controle, a área de reação periosteal observada aos 7 dias e 15 dias, se encontrava preenchida por osso maduro, sem sinais de atividade intensa de remodelação.

Figura 5 – Fotomicrografias aos 60 dias. Grupo controle: (A) Defeito alveolar recoberto por mucosa totalmente cicatrizada, preenchido por tecido conjuntivo fibroso celularizado bem organizado na porção superficial e trabéculas de osso maduro. Aumento de 40X. (B) Detalhe do tecido ósseo maduro da porção inferior do alvéolo e de parte do tecido conjuntivo bem organizado. Aumento de 200X. Grupo teste: (C) Defeito alveolar preenchido por partículas de BoneCeramic[®] e mucosa alveolar completamente cicatrizada. Aumento de 40X. (D) Porção mais superficial do defeito alveolar contendo partículas do biomaterial completamente envolvidas por tecido conjuntivo fibroso celularizado e porção mais profunda contendo partículas de BoneCeramic[®] completamente envolvidas por tecido ósseo em íntimo contato. Aumento de 100X. (E) Detalhe das partículas do biomaterial em íntimo contato com tecido ósseo. Aumento de 200X.



Discussão

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas teciduais em ratos, quanto à presença de inflamação e formação óssea, bem como a degradação da cerâmica BCP, BoneCeramic[®], implantada em defeitos alveolares, área de interesse para a odontologia, uma vez que as respostas teciduais aos enxertos dependem não somente das características do biomaterial, mas também do sítio ósseo de implantação.

Estudos têm sido conduzidos em animais, tendo como objetivo avaliar a compatibilidade e o preenchimento ósseo promovido por diversos biomateriais inseridos no interior de alvéolos, após exodontias^{4,15-22}. Entretanto, estudos histológicos utilizando um novo tipo de BCP, Straumann[®] BoneCeramic, ainda são escassos na literatura²²⁻²³.

Nossos resultados mostraram presença de tampão de fibrina recobrimdo toda a superfície dos defeitos alveolares, além de denso infiltrado inflamatório agudo, em ambos os grupos, aos 7 dias. Esta inflamação intensa foi provavelmente decorrente do preparo do defeito ósseo alveolar e principalmente de fatores irritativos locais externos, como bactérias e impactação de alimentos, mas não em resposta ao biomaterial, uma vez que características histológicas semelhantes foram observadas nos alvéolos controle. Na literatura, alguns estudos histológicos avaliando alvéolos de ratos preenchidos com HA ou TCP também mostraram presença de infiltrado inflamatório contendo macrófagos e neutrófilos nos primeiros 7 dias¹⁵⁻¹⁶, enquanto outros estudos não relataram tal achado^{20,24}.

Aos 7 dias, observamos intensa reação periosteal na face do osso cortical do fundo do defeito alveolar voltada para as estruturas nasais dos animais. Essa reação se caracterizou pela formação de trabéculas ósseas imaturas subperiostealmente e presença de numerosos osteoclastos em franca atividade de reabsorção. Essas alterações teciduais foram observadas com intensidade apenas nas áreas da cortical adjacentes aos defeitos alveolares criados, em ambos os grupos, sugerindo se tratar de resposta à agressão causada pela criação do defeito

ósseo. Análises das corticais após 15 e 60 dias, mostraram evolução do processo de maturação do tecido ósseo neoformado subperiostealmente e ausência de atividade osteoclástica significativa. Este achado foi interessante, embora não tendo sido uma situação relatada em outros artigos em que foram avaliados os preenchimentos de alvéolos^{4,15-22}.

Quanto à cicatrização da mucosa alveolar que recobria os defeitos ósseos, nossos resultados mostraram que o completo recobrimento ocorreu somente após os 15 dias. Resultados semelhantes quanto à cronologia de cicatrização da mucosa alveolar em ratos foram obtidos por Boeck et al.¹⁶, ao preencherem alvéolos de ratos com hidroxiapatita. Entretanto, esses autores observaram retardo no processo de cicatrização da mucosa nos alvéolos teste.

Nossos resultados mostraram uma alteração do padrão inflamatório de agudo e intenso, aos 7 dias, para crônico e moderado, aos 15 dias. Apenas algumas áreas mais próximas à superfície da mucosa apresentavam denso infiltrado inflamatório, provavelmente em resposta a estímulos irritativos externos ao alvéolo, pois ainda não havia epitelização completa da ferida cirúrgica. O estudo de Rosa et al.¹⁵, em alvéolos de ratos, também mostrou diminuição do processo inflamatório na segunda semana e ausência deste na terceira semana, nos grupos contendo coágulo, TCP e HA de micropartículas, embora os grupos contendo HA de macropartículas tenham apresentado persistência da inflamação após este período.

Segundo Daculsi et al.⁷, o maior atrativo de materiais como BCP seria a sua habilidade de formar uma forte união direta com o osso do hospedeiro, resultando em uma interface não fibrosa. Em nosso estudo pôde ser observado um íntimo contato das partículas do biomaterial com o osso adjacente neoformado, o que também pôde ser observado em estudos em que o BoneCeramic[®] foi utilizado, tanto em humanos, quanto em mini-porcos e cães²¹⁻²³. Além de estarem envolvidas por osso, nossos resultados revelaram que algumas

partículas mais superficiais foram envolvidas por tecido conjuntivo fibroso celularizado, no período de 15 dias, situação que se manteve nos achados de 60 dias.

Em um estudo em humanos, comparando-se o levantamento de seio maxilar com Bio-Oss[®] ou Straumann[®] BoneCeramic, os resultados histológicos mostraram um íntimo contato entre as partículas remanescentes dos enxertos e o novo osso formado, demonstrando a osteocondutividade de ambos os materiais²³.

Estudos anteriores utilizando defeitos ósseos tipo deiscência em cães, mostraram que grânulos de BoneCeramic[®] e de outro biomaterial como Bio-Oss[®] foram completamente integrados a um osso trabecular neoformado, enquanto que algumas partículas periféricas superficiais foram encapsuladas por tecido conjuntivo fibroso. Os autores sugerem que o tamanho dos poros de BoneCeramic[®] parecem estar dentro da média que seria a necessária para permitir a formação de osteóide e a mineralização óssea²². Avaliações histológicas de defeitos preenchidos com BoneCeramic[®] em mini-porcos, comprovaram o envolvimento das partículas do material tanto por osso imaturo, quanto por tecido conjuntivo fibroso denso na quarta semana após as cirurgias. Na oitava semana, as partículas estavam predominantemente integradas a um osso trabecular²². O íntimo contato dos grânulos de uma cerâmica BCP de proporção HA/ β -TCP igual à do BoneCeramic[®], sem a formação de uma interface fibrosa, pôde ser mostrada por Gauthier et al.¹⁷, ao avaliarem o uso de um substituto ósseo injetável em alvéolos de cães Beagle.

A degradação dos fosfatos de cálcio pode ocorrer tanto pela dissolução físico-química quanto pela degradação do material em micropartículas, as quais são fagocitadas por macrófagos ou osteoclastos⁶. Jensen et al.²² observaram muitas células gigantes osteoclásticas ao redor das partículas de BoneCeramic[®], após 4 e 8 semanas de implantação em mandíbulas de mini-porcos. Em um período de observação maior do que o utilizado em nosso estudo, Develioglu et al.²⁵, ao implantarem um BCP contendo 65% de HA e 35% de β -TCP em

defeitos críticos em ossos parietais de ratos Wistar, observaram a presença de poucas células gigantes multinucleadas ao redor das partículas do material, que se encontravam envoltas por tecido conjuntivo fibroso, no período de 3 meses. Após 6 meses, as células gigantes eram mais numerosas e o tecido conjuntivo fibroso se apresentava mais denso e organizado. Segundo os autores, estas células gigantes seriam formadas a partir da fusão de monócitos recrutados do sangue, como uma reação tecidual à presença de partículas do biomaterial²⁵. Em nosso estudo, foram observadas algumas células gigantes multinucleadas com poucos núcleos em contato íntimo com as partículas do BoneCeramic[®], após 15 dias, apenas nas áreas superficiais dos defeitos alveolares, onde o biomaterial se encontrava envolto por tecido conjuntivo fibroso. Estudos adicionais são necessários para caracterizar fenotipicamente essas células gigantes e determinar se estas fazem parte de discreta reação tipo corpo estranho contra o biomaterial, ou se são células osteoclásticas envolvidas no processo de degradação da cerâmica. Um dado importante em nosso trabalho foi a ausência de células gigantes multinucleadas ao redor das partículas de BoneCeramic[®] nas porções mais profundas dos defeitos alveolares, onde o biomaterial se encontrava completamente envolto por tecido ósseo neoformado, tanto aos 15 quanto aos 60 dias. A manutenção de grande quantidade de partículas de BoneCeramic[®] nos defeitos alveolares após 60 dias, aliada à ausência de detecção de células gigantes osteoclásticas associadas ao biomaterial, sugere que a degradação do mesmo deve ocorrer de forma lenta e provavelmente por dissolução das partículas ou ação de células macrofágicas.

Finalmente, este estudo demonstrou que o Straumann[®] BoneCeramic apresenta características de biocompatibilidade, determinada pela ausência de resposta inflamatória persistente em torno das partículas do biomaterial. Além disto, Straumann[®] BoneCeramic foi capaz de suportar a formação de osso maduro em contato íntimo com suas partículas. Futuras pesquisas são necessárias para se avaliar o comportamento deste biomaterial a longo prazo e

determinar sua capacidade de promover a estabilidade e a preservação das dimensões do rebordo alveolar.

Referências Bibliográficas

1. Atwood DA. Reduction of residual ridge: a major oral disease entity. *J Prosthet Dent* 1971;26(3):266-77.
2. Douglass GL. Alveolar ridge preservation at tooth extraction. *CDA Journal* 2005;33(3):223-31.
3. Irinakis T, Tabesh M. Preserving the socket dimensions with bone grafting in single sites: an esthetic surgical approach when planning delayed implant placement. *J Oral Implantol* 2007;33(3):156-63.
4. Araújo M, Linder E, Wennström L, Lindhe J. The influence of Bio-Oss collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28(2):123-35.
5. Legeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop* 2002;395:51-58
6. Legeros RZ, Lin S, Rohanizadeh R, Mijares D, Legeros JP. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14(3):201-09.
7. Daculsi G, Laboux O, Malard O, Weiss P. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14(3):195-00.
8. Manjubala I, Sivakumar M, Sureshkumar RV, Sastry TP. Bioactivity and osseointegration study of calcium phosphate ceramic of different chemical composition. *J Biomed Mater Res* 2002; 63:200-08.
9. Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, Giannobile W, Offenbacher S, Salkin L et al. Periodontal Regeneration. *J of Periodontol* 2005;76(9):1601-22.
10. Yuan H, Blitterswijk CAV, Groot K, Bruijn JD. Cross-species comparison of ectopic bone formation in biphasic calcium phosphate (BCP) and hidroxiapatita HA scaffolds. *Tissue Eng* 2006; 12(6):1607-1615.
11. Jafarian M, Eslaminejad MB, Khojasteh A, Abbas FM, Dehghan MM, Hassanizadeh R, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells-directed bone regeneration in the dog mandible: a comparison between biphasic calcium phosphate and natural bone mineral. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105(5):e14-e24.
12. Schwarz F, Herten M, Ferrari D, Wieland M, Engelhardt J, Becker J. Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxiapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic®) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen®): an immunohistochemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007;36(12):1198-06
13. Dietze S, Bayerlein T, Proff P, Hoffmann A, Gedrange T. The ultrastructure and processing properties of Straumann Bone Ceramic® and NanoBone®. *Folia Morphol (Warsz)* 2006; 65(1):63-65.

14. Straumann. Sistema de regeneração. Straumann® BoneCeramic. Disponível em <http://www.straumann.com.br/>. Acesso em 07/12/2008.
15. Rosa AL, Brentegani LG, Grandini SA. Hydroxylapatite and tricalcium phosphate implants in the dental alveolar of rats. A histometric study. *Braz Dent J* 1995;6(2):103-09.
16. Boeck EM, Pansani CA, Okamoto T, Goissis G, Boeck Neto RJ, Marcantonio Júnior E. Implante de hidroxiapatita em alvéolos dentais. Estudo histopatológico em ratos. *Rev Odontol UNESP* 1999;28(1):83-96.
17. Gauthier O, Boix D, Grimandi G, Aguado E, Bouler JM, Weiss P, Daculsi G. A new injectable calcium phosphate biomaterial for immediate bone filling of extraction sockets: a preliminary study in dogs. *J Periodontol* 1999;70(4):375-83.
18. Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of β -tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(6):832-38.
19. Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Bouler JM, Pilet P, Daculsi G, Grimandi G. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction: a study in dog. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):1145-52.
20. Calixto RFE, Mazzone JT, Brentegani LG, Lamano-Carvalho TL. Grafting of tooth extraction socket with inorganic bovine bone or bioactive glass particles: comparative histometric study in rats. *Implant Dent* 2007;16(3):260-269.
21. Santos FA, Pochapski MT, Martins AC, Zenóbio EB, Spolidoro LC, Marcantonio Jr E. Comparison of biomaterial implants in the dental socket: histological analysis in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(9):1-8.
22. Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects. A histology and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2007;18(6):752-60.
23. Cordaro, L, Bosshardt, DD, Palattella, P, Rao, W, Serino, G, Chiapasco, M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss® or Straumann Bone Ceramic®: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin. Oral Impl. Res* 2008; 19(8):796-803.
24. Mendes RM, Silva GAB, Lima MF, Calliari MV, Almeida AP, Alves JB et al. Sodium hyaluronate accelerates the healing process in tooth sockets of rats. *Archives of Oral Biology* 2008:1-8, doi: 10.1016/j.archoralbio.2008.07.001
25. Develioglu H, Saraydin SU, Bolayir G, Dupoirieux L. Assessment of the effect of a biphasic ceramic on bone response in a rat calvarial defect model. *J Biomed Mater Res* 2006;77(3):627-31.

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](#)