

**UNIVERSIDADE POSITIVO**

**MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA CLÍNICA**

**ENXERTO DE OSSO AUTÓGENO E DE DENTE PARTICULADO  
NA CICATRIZAÇÃO DE DEFEITOS ÓSSEOS INTRA-BUCAIS:  
ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS**

**FELIPE RYCHUV SANTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Positivo para requisito parcial para obtenção o título de Mestre em Odontologia, pelo programa de Mestrado Profissional em Odontologia Clínica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Tatiana Miranda  
Deliberador

CURITIBA

2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Dados Internacionais de catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da Universidade Positivo- Curitiba – PR

S237 Santos, Felipe Rychuv.

Enxerto de osso autógeno e de dente particulado na cicatrização de defeitos ósseos intra-bucais : estudo histológico em ratos / Felipe Rychuv Santos. — Curitiba : Universidade Positivo, 2009.

51p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Positivo, 2009.

Orientadora : Tatiana Miranda Deliberador.

1. Enxerto ósseo. I. Título.

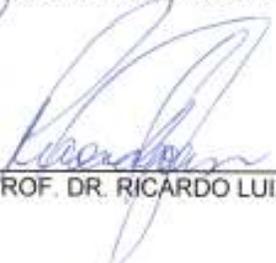
CDU 616.314-089.843



### Programa de Mestrado Profissional em Odontologia Clínica

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 18 de dezembro de 2009, considerou o candidato **FELIPE RYCHUV SANTOS** aprovado.

  
\_\_\_\_\_  
PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. TATIANA MIRANDA DELIBERADOR

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. RICARDO LUIZ GREIN

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. CELSO YAMASHITA

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Pedro Cesar e Denise, a quem devo a vida e a minha formação moral.  
Meu reconhecimento e gratidão pela paciência, compreensão e apoio constante na  
jornada da vida que levarei de referência ao longo de toda a minha existência.

## AGRADECIMENTOS

A minha principal motivadora: **Prof<sup>a</sup>. Dra. Tatiana Miranda Deliberador**, orientadora desde a especialização, pela sua paciência, oportunidade de compartilhar seus valiosos conhecimentos, suas palavras encorajadoras me fortaleceram e fizeram-me chegar até aqui.

Ao **Prof. Dr. João Cesar Zielak** pela confiança em meu trabalho, e principalmente, a atenção recebida em todos os momentos necessários.

Ao **Prof. Dr. Celso Yamashita** pelo apoio, amizade e o extenso aprendizado nos meus anos de pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Allan Fernando Giovanini** que colaborou com este trabalho através das análises histopatológicas.

Aos Professores da disciplina de Periodontia: **Prof<sup>a</sup>. Andrea, Prof<sup>a</sup>. Carmen e Prof. Tertuliano** por me permitirem o privilégio de acompanhá-los como discípulo nas clínicas da graduação e pós-graduação, enriquecendo ainda mais minha aprendizagem.

Aos funcionários **Elieser, Wanderlei e Sirlei** por toda ajuda concedida.

Aos meus avós **Erci e Almir**, que sempre se preocuparam comigo, agradeço o carinho e a segurança recebida e a ajuda de ambos em qualquer situação.

Aos meus poucos, porém sinceros amigos, que conquistei no decorrer desta caminhada.

As alunas da graduação **Mayara, Juliana e Bruna** pelas as ajudas que me foram de muita importância para a realização deste trabalho.

Santos FR. Enxerto de osso autógeno e de dente particulado na cicatrização de defeitos ósseos intra-bucais: estudo histológico em ratos. Curitiba: Universidade Positivo; 2009.

## **RESUMO**

O enxerto ósseo é um procedimento amplamente realizado na Odontologia. Vários tipos de enxerto e substitutos ósseos têm sido colocados no interior dos defeitos ósseos a fim de facilitar e/ou promover a cicatrização óssea. O objetivo do presente trabalho foi avaliar histologicamente a cicatrização de defeitos ósseos intra-bucais criados cirurgicamente na mandíbula de ratos e tratados com enxerto de osso autógeno e dente moído humano. Um defeito intra-bucal foi criado cirurgicamente na região vestibular da mandíbula direita de 30 ratos. Os animais foram aleatoriamente divididos em 3 grupos: Grupo C (controle) o defeito foi preenchido somente com coágulo sanguíneo, Grupo OA (osso autógeno) o defeito foi preenchido com osso autógeno e Grupo DM (dente moído) o defeito foi preenchido com dente moído humano. Os animais foram eutanaziados com 1 e 3 semanas pós-operatórias. Análise histológica com microscopia de luz foi realizada para avaliar o fechamento ósseo do defeito. No Grupo C, o tipo de cicatrização predominante, com 1 e 3 semanas, foi a presença de tecido de granulação com processo inflamatório crônico. Não foi observada em nenhum dos espécimes o fechamento ósseo completo do defeito. No Grupo OA, não foi observado fechamento ósseo completo do defeito com 1 semana, a presença de tecido de granulação com processo inflamatório crônico foi o tipo de cicatrização predominante. Com 3 semanas a maioria dos espécimes apresentou fechamento ósseo completo do defeito sem a presença de processo inflamatório. No Grupo DM, com 1 semana restos de partículas de dente moído estavam presentes entre o tecido de granulação com infiltrado inflamatório agudo intenso e crônico granulomatoso sem áreas de neoformação óssea. Com 3 semanas, foi observado o fechamento ósseo completo do defeito e presença de

processo inflamatório macrofágico e deposição de tecido osteo-simile em permeio ao tecido fibroso.

Palavras chave: Ratos, Materiais Biocompatíveis, Durapatita, Transplante Ósseo.

Santos FR. Autogenous bone graft and ground human tooth in the treatment of intraoral bone defects. Histologic study in rats. Curitiba: Universidade Positivo; 2009.

## **ABSTRACT**

Bone graft is a widely performed procedure in Dentistry. Several types of grafts and bone substitutes have been placed inside bone defects in order to facilitate and/or promote bone healing. The aim of this study was to perform a histological analysis of the healing process of intra-bony defects created surgically in the oral cavity of rats treated with autogenous bone or particle human tooth grafts. An intra-oral defect was surgically created in the right side of the mandible of 30 rats. The animals were randomly divided into 3 groups: Group C (control), where the defect was filled only with blood clot; Group AO (autogenous bone), where the defect was filled with autogenous bone and Group PT (tooth particle), where the defect was filled with particle human tooth. The animals were euthanized at 1 and 3 weeks postoperatively. Histological analysis under light microscopy was performed to evaluate the healing process of the bone defects. In Group C, after 1 and 3 weeks, the predominant type of healing was the presence of granulation tissue with chronic inflammatory process. Complete bone formation in the defect areas was not observed in any of the specimens. Group AB, did not show complete bone formation after 1 week. The presence of granulation tissue with chronic inflammation was the predominant healing process. After 3 weeks, most of the specimens showed complete bone formation in the defect area, without the presence of inflammation. In Group PT, after 1 week, particle debris of particle tooth were present between the granulation tissue with intense and neutroffice inflammatory infiltrate and chronic granulomatous tissue. Areas of new bone formation were not observed. After 3 weeks, complete bone formation in the defects was seen along with the presence of inflammatory macrophages and osteo-like tissue deposition dispersed into fibrous tissue.

Key words: Rats, Biocompatible Materials, Durapatite, Bone Transplantation.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	01
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	04
<b>3. PREPOSIÇÃO</b>	12
<b>4. MATERIAL E MÉTODO</b>	13
<b>5. RESULTADOS</b>	17
<b>6. DISCUSSÃO</b>	27
<b>7. CONCLUSÃO</b>	33
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA</b>	34

# 1. INTRODUÇÃO

O osso é constituído por um tecido conjuntivo altamente especializado, vascularizado e mineralizado, que possui funções fisiológicas e homeostáticas no organismo (Davies *et al.*, 2003). O tecido ósseo, quando lesado possui alta capacidade de regeneração espontânea, mas em casos de grandes perdas ósseas essa capacidade não é suficiente para repará-lo adequadamente (Zambuzzi *et al.*, 2006).

A doença periodontal é um processo patológico que afeta as estruturas periodontais de proteção (gengiva) e/ou de sustentação (osso, cemento e ligamento periodontal) (Cortelli *et al.*, 2005). Os objetivos do tratamento periodontal são a eliminação da doença periodontal e a correção dos defeitos anatômicos causados por ela. Durante a realização do tratamento periodontal básico, os fatores etiológicos locais da doença são eliminados por meios mecânicos e químicos, enquanto que os defeitos anatômicos podem ser tratados cirurgicamente (Da Silveira *et al.*, 2005).

O tratamento dos defeitos ósseos periodontais almeja a reparação ou regeneração do periodonto perdido. Para atingir estes objetivos, a Odontologia dispõe de algumas terapias e técnicas cirúrgicas, tais como: os enxertos ósseos, a regeneração tecidual guiada (RTG), a utilização de biomateriais, entre outros (Cortellini *et al.*, 1995 e Carlo *et al.*, 2006).

Os enxertos ósseos, que são classificados em autógenos, alógenos, xenógenos e, os materiais aloplásticos ou sintéticos, têm sido amplamente estudados nos últimos 20 anos, na busca por um procedimento confiável e previsível (Rosenberg, 2000).

Os tratamentos de primeira escolha para aumento de tecido ósseo incluem os enxertos ósseos autógenos e alógenos (Schmit *et al.*, 1997; Al Ruhaimi, 2001). O osso autógeno apresenta-se como uma excelente alternativa biológica pelas suas propriedades, osteogênicas, osteocondutoras e osteoindutoras. Entretanto, a necessidade

de uma área doadora, limitada quantidade de tecido ósseo, maior morbidade do paciente, um procedimento cirúrgico adicional representam fatores que podem limitar sua utilização (Schepers *et al.*, 1991; Granjeiro *et al.*, 1992; Nary Filho e Okamoto, 1996; Wheeler *et al.*, 1997; Furusawa *et al.*, 1998; Wheeler *et al.*, 1998; Kaufmann *et al.*, 2000; Al Ruhaimi, 2001; Chan *et al.*, 2002).

Os aloenxertos, apesar de terem sido há muito tempo utilizados, apresentam limitações como a necessidade de um banco de ossos, a reabsorção prematura (especialmente medular), a alta variabilidade das propriedades de osteoindução, o potencial de transmissão de príons (proteínas antigênicas) e a transmissão de doenças infectocontagiosas (Hall *et al.*, 1999).

As limitações de utilização dos enxertos ósseos têm levado pesquisadores a procurarem materiais substitutos ósseos que apresentem as mesmas propriedades e resultados que o osso autógeno, alógeno e xenógeno. Logo, vários materiais aloplásticos ou sintéticos têm sido amplamente estudados (Karatzas *et al.*, 1999; Mac Neill *et al.*, 1999; Ilan e Ladd, 2003). Entre eles, as cerâmicas bioativas, as hidroxiapatitas sintéticas, o sulfato de cálcio e os polímeros. A aplicabilidade desses materiais em organismos humanos depende de suas propriedades biológicas, especialmente a biocompatibilidade, a estabilidade enzimática e hidrolítica e as propriedades químicas, físicas e mecânicas (Strnad 1992; Liu *et al.*, 2004; Gough *et al.*, 2004).

Dentro do grupo dos materiais sintéticos usados como substitutos ósseos, tem sido alvo de considerável investigação o vidro bioativo (VB), que é composto de 45% de dióxido de silício (SiO<sub>2</sub>), 24,5% de óxido de cálcio (CaO), 24,5% de óxido de sódio (Na<sub>2</sub>O) e 6% de pentóxido de difósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Esta cerâmica bioativa age formando uma união química direta com os tecidos moles e ósseos circundantes (Schepers *et al.*, 1993). Além do material ser altamente osteocondutivo (Furusawa *et al.*, 1997 Bosetti e

Cannas, 2005) possui a propriedade de osteoestimulação (Furusawa *et al.*, 1998; Oliva *et al.*, 1998; Schepers *et al.*, 1991; Schepers *et al.*, 1997).

Um outro material amplamente pesquisado é a hidroxiapatita (HA). Quanto à sua origem, podem ser naturais ou sintéticas. Dentre as naturais estão as hidroxiapatitas  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  obtidas a partir de coral ou de tecido ósseo. As de origem sintética incluem a hidroxiapatita de beta fosfato tricálcio ( $\beta$ -TCP) -  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  e fosfato de cálcio bifásico (HA+ $\beta$ -TCP) (Strnad, 1992 Borges *et al.*, 2000).

A HA atua como um substrato para a osteogênese, sendo classificada como um material osteocondutivo (Nagahara *et al.*, 1992; De Vicente *et al.*, 2000; Vital *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2006). Tem sido empregada em tratamentos maxilofaciais e orais, para aumento do rebordo alveolar, levantamento de seio maxilar e preenchimento do alvéolo após a extração do dente. Ainda, no tratamento da doença periodontal, preenchendo defeitos ósseos periodontais com o objetivo de reduzir a profundidade de sondagem das bolsas periodontais e ganhar inserção periodontal. (Shareef *et al.*, 1993; Hench e Wilson, 1984; Eid *et al.*, 2001; Cehreli *et al.*, 2003; Carlo *et al.*, 2007).

Recentemente, a HA derivada de dentes humanos tem sido considerada uma nova opção de biomaterial (Seo *et al.*, 2008). O principal componente dos dentes humanos é a HA e por este motivo, far-se-á uma revisão da literatura sobre a utilização da HA no tratamento de defeitos ósseos, bem como a utilização do osso autógeno que são os materiais de enxertia estudados no presente trabalho.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Durante anos têm-se estudado diferentes técnicas e materiais para estimular o reparo e/ou regeneração de defeitos ósseos e periodontais. Estas variações envolvem os enxertos ósseos (autógenos, alógenos e xenógenos), os materiais cerâmicos, cerâmicas bioativas (hidroxiapatita, fosfato tricálcio, vidro bioativo), e as substâncias bioquímicas (fatores de crescimento e proteína morfogenética óssea) (Aaron, 1993).

Os enxertos autógenos são enxertos transplantados de um lugar para outro num mesmo indivíduo, e podem ser de osso cortical, osso trabeculado ou esponjoso e osso medular (Bauer e Muschler, 2000). O enxerto autógeno é o único tipo de enxerto ósseo capaz de formar novo osso por osteogênese, osteoindução e osteocondução e por isso é considerado o padrão ouro. A osteogênese é possível, pois o osso autógeno possui em sua matriz orgânica elementos celulares viáveis (osteócitos, osteoblastos e osteoclastos) (Mish e Diestsh, 1993). A presença de uma série de proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) permite que ocorra a osteoindução e a matriz óssea presente permite a osteocondução (Bauer e Muschler, 2000). É importante ressaltar que estes três estádios se sobrepõem na seqüência dos eventos da neoformação óssea e não ocorrem separadamente. O osso trabecular dispõe de uma maior quantidade de células viáveis para a osteogênese. Além disso, sua característica porosa aumenta o potencial de revascularização do enxerto, permitindo uma formação óssea mais rápida. Nos enxertos de osso cortical, são poucas as células viáveis que sobrevivem para que ocorra a osteogênese. Por outro lado, o osso cortical dispõe de uma maior quantidade de BMPs e a matriz óssea é mais resistente para suportar o crescimento ósseo quando comparado ao osso trabecular. Sendo assim, a formação do novo osso ocorre mais freqüentemente por osteoindução e osteocondução quando o osso cortical é usado como enxerto autógeno. (Mish e Diestsh, 1993).

Tradicionalmente, o osso autógeno tem sido o enxerto de primeira escolha para a regeneração óssea. O osso autógeno é reabsorvível, eventualmente repostado pelo osso do próprio indivíduo e não provoca reações de hipersensibilidade. Ainda, possui as vantagens de não transmitir doenças e não provocar reações imunológicas (Macneill *et al.*, 1999).

Trabalhos com enxertos ósseos autógenos intra-orais de osso trabecular, cortical e medular começaram a ser estudados no tratamento de defeitos ósseos periodontais em humanos (Hiatt e Schallhorn, 1973; Froum *et al.*, 1975) e em animais (Ellegaard *et al.*, 1973; Nilvéus *et al.*, 1978). No estudo clínico de Hiatt e Schallhorn (1973), o enxerto de osso autógeno trabecular e medular foi usado no tratamento de defeitos ósseos de uma, duas ou três paredes. Os sítios doadores foram a tuberosidade maxilar, áreas endêntulas da mandíbula e sítios de extração dental prévia. Os resultados não mostraram diferenças significativas entre os sítios doadores. Apenas um espécime foi submetido à análise histológica, sendo observados neoformação cementária com fibras do ligamento periodontal inseridas e novo osso.

Froum *et al.* (1975) avaliaram e compararam clinicamente a regeneração periodontal obtida após tratamento de defeitos infra-ósseos e defeitos de furca com enxerto ósseo autógeno intra-oral ou extra-oral. Os sítios doadores intra-orais incluíram a tuberosidade maxilar, áreas endêntulas e sítios de extração dental prévia, tanto osso trabecular como cortical foram usados. O sítio doador extra-oral foi a crista ilíaca, e osso trabecular e medular foram obtidos. Os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os tipos de enxertos ósseos usados no que se refere ao preenchimento ósseo do defeito. Com o enxerto intra-oral, 73% de preenchimento ósseo foi observado e com o enxerto extra-oral, 60,7%. Os autores concluíram que o nível de regeneração óssea independe do tipo de enxerto ósseo autógeno utilizado.

Nabers (1984) relatou que o sucesso clínico também é possível a longo prazo com o uso do enxerto de osso autógeno. O autor relatou os resultados favoráveis de 6 casos clínicos que se mantiveram por um período de 18 a 24 anos.

Redondo *et al.* (1995) utilizaram osso autógeno removido da mandíbula de ratos associado ou não a hidroxiapatita, para reconstrução da borda inferior do ramo da mandíbula. Foi realizada a cirurgia para obtenção do osso autógeno, em seguida realizada sua desmineralização, sendo reimplantado após duas semanas. Dois grupos foram avaliados, Grupo I osso autógeno desmineralizado, Grupo II osso autógeno desmineralizado associado com hidroxiapatita. Após duas e seis semanas os animais foram sacrificados. Os resultados mostraram diminuição da proliferação celular nos sítios contendo hidroxiapatita, concluindo que a hidroxiapatita inibiu a osteocondução gerada pela matriz óssea.

Gordh *et al.* (1997) estudaram enxertos ósseos autógenos em 22 ratos adultos, e observaram melhor resposta regenerativa local onde a cortical óssea do defeito (leito receptor) foi perfurada, e o enxerto (leito doador) foi colocado com a sua porção cortical voltada para o defeito ósseo, permitindo assim a migração celular em direção ao enxerto.

Redondo *et al.* (1997) estudaram em ratos a reparação de defeitos ósseos tratados com enxerto ósseo autógeno fresco, desmineralizado e congelado. Após cirurgia para obtenção óssea, o fragmento foi submetido a processo de desmineralização, sendo reimplantado após duas semanas. No grupo do enxerto congelado, o fragmento foi conservado a  $-193\text{ }^{\circ}\text{C}$  por duas semanas, sendo então reimplantado. No grupo do enxerto fresco, o fragmento foi reposicionado durante o mesmo ato cirúrgico, depois de dois minutos. Os animais foram sacrificados com duas e seis semanas após a reimplantação do osso. Os resultados foram medidos através da proliferação de células mesenquimais no exame histológico. O grupo de enxerto

congelado mostrou menor proliferação celular, com tendência a reabsorção. O grupo do osso fresco mostrou número intermediário de proliferação celular, no entanto sendo suficiente para reparar o defeito. No grupo do osso desmineralizado havia maior proliferação, concluindo os autores que este tipo de enxerto possui maior capacidade osteoindutora.

Jorge (1999) estudou a reparação de defeito ósseo não reparável espontaneamente em mandíbula de rato tratado com enxerto autógeno fresco removido da crista ilíaca. Foi relatado após três meses completa reparação óssea do defeito e remodelamento local, evidenciado pela modificação estrutural do enxerto para morfologia similar ao osso mandibular, assim como diminuição de seu volume. Foi concluído que o enxerto autógeno fresco foi capaz de reparar o defeito ósseo mandibular.

Entretanto, a busca de uma menor morbidez cirúrgica, eliminando a necessidade de um sítio doador, assim como a queixa da possível limitação da quantidade de material ofertado para reconstrução de grandes defeitos, quando utilizados os enxertos autógenos, impulsionam a pesquisa para o desenvolvimento de métodos alternativos para estas enxertias teciduais (Land *et al.*, 2000). Entre elas, estão as enxertias com enxertos ósseos alógenos (aloenxertos), xenógenos (xenoenxertos) e o uso de materiais aloplásticos. O aloenxerto é obtido a partir de doadores da mesma espécie, mas com genótipos diferentes. Sua obtenção a partir de cadáveres doadores necessariamente não impõe limites na quantidade de tecido a ser requerida (Masters, 1988). Contudo, apresenta como desvantagens o potencial imunogênico e o risco de transmissão de doenças.

O tecido ósseo retirado de uma para outra espécie é denominado enxerto xenógeno (Stevenson, 1999). Os xenoenxertos, especialmente de origem bovina, são

atualmente os mais utilizados em humanos. Isto se deve a sua fácil obtenção, disponibilidade e similaridade (Oliveira *et al.*, 1999).

Um biomaterial é aquele que provoca resposta biológica específica na interface do material com o tecido (El Batal *et al.*, 2003). Segundo a Academia Americana de Periodontia (2001) um material aloplástico, se caracteriza como um enxerto sintético ou corpo estranho inerte, implantados no interior dos tecidos. Atualmente, seis tipos básicos de materiais aloplásticos estão disponíveis comercialmente: cimento de hidroxiapatita, hidroxiapatita não porosa, hidroxiapatita porosa, beta fosfato tricálcio, polimetilmetacrilato e hidroxietilmetacrilato e vidro bioativos. (Position Paper, 2005). Enxertos aloplásticos biodegradáveis têm merecido atenção, com destaque para as biocerâmicas, dentre elas o biovidro e a hidroxiapatita, pois são os únicos materiais que fornecem integração biológica com o tecido onde são implantadas (Kim, 2003).

A apatite ou hidróxido de fosfato pentacálcico ou hidroxiapatita de cálcio é o componente mineral principal de todos os tecidos mineralizados do corpo humano, tais como esmalte, dentina e osso. A hidroxiapatita (HA) vem sendo estudada nos últimos anos, como uma alternativa de substituição do enxerto ósseo autógeno. Pode ser fabricada para uso clínico na forma de blocos ou grânulos e pode ser porosa ou densa com diferentes granulações (Honig *et al.*, 1998). Pesquisas revelaram que a HA do tipo densa, impossibilita o crescimento ósseo para seu interior (Cofield, 1995). No entanto, grânulos porosos apresentaram uma maior capacidade de se integrarem ao leito receptor, sendo considerados osteocondutores (Ohgushi *et al.*, 1990; Deboni, 1991). Ainda, é uma material bem tolerado pelo tecido ósseo além de facilitar a infiltração de osteoblastos (Thomson *et al.*, 1998) e proliferação de vasos sanguíneos (Cofield, 1995).

Antes do uso clínico, estudos foram realizados avaliando as reações da HA porosa em fendas artificiais na pré-maxila de ratos. Os resultados mostraram tecido ósseo maduro oito semana após a cirurgia (Reuters *et al.*, 1985).

Schepers *et al.* (1991) avaliaram histologicamente o reparo de defeitos ósseos tratados com grânulos de vidro bioativo (Biogran®) e de hidroxiapatita. Os autores observaram após 2 meses, tecido ósseo neoformado nas fissuras do biovidro sem conexão com o tecido ósseo externo. Os dois materiais apresentaram melhores resultados quando comparados ao grupo controle (coágulo sanguíneo).

Macneill *et al.* (1999) estudam a aplicação de substâncias osteopromotoras como a hidroxiapatita, o sulfato de cálcio associado ao osso autógeno e a biocerâmica com partículas de 2 tamanhos diferentes em defeitos ósseos em coelhos. Os animais foram sacrificados após 28 dias e cortes histológicos da região foram analisados por imagem computadorizada, para cálculo de porcentagem de área de superfície de osso neoformado. Os resultados obtidos revelaram que estas substâncias podem auxiliar na formação óssea, sendo que o sulfato de cálcio associado ao osso autógeno favoreceram uma melhor neoformação óssea comparada aos outros materiais testados.

A reação de células osteogênicas com hidroxiapatita *in vivo* (Edwards *et al.*, 1998; Borges, 1998) e *in vitro* (Bagambisa e Schilli, 1990) mostrou que a sua superfície é osteocondutiva. O resultado dessa atividade foi a deposição de tecido ósseo diretamente sobre a superfície da hidroxiapatita implantada, sem nenhuma evidência de encapsulação ou tecido de granulação (Bagambisa e Schilli, 1990). Entretanto, mesmo não sendo osteoindutora, a hidroxiapatita estimula a síntese de colágeno (Zambonin e Grano, 1995). Davies e Baldan (1997) mostraram que a neoformação óssea na interface osso-hidroxiapatita é morfológicamente comparável aos locais normais de remodelação óssea.

Figueiredo *et al.* (2001) compararam a hidroxiapatita porosa de coral e enxerto ósseo autógeno no tratamento de defeitos criados cirurgicamente nos cêndilos femorais de quarenta e dois coelhos da raça Nova Zelândia. Foi realizada avaliação clínica, macroscópica, exames radiológicos e histológicos em intervalos de duas, quatro e doze

semanas. Os resultados comparativos foram similares entre os dois tipos de implantes. Concluiu-se que a hidroxiapatita porosa de coral é um substituto adequado para os enxertos ósseos autógenos em coelhos.

Clinicamente a HA também apresentou bons resultados para o tratamento de diferentes tipos de defeitos ósseos. Em 1993, Ono et al implantaram hidroxiapatita em grandes defeitos na calota craniana de 3 pacientes, resultantes de tumor na hipófise, mal formação congênita e hemorragia crônica subdural. Seis meses após a operação, as imagens radiográficas revelaram boa integração do biomaterial com o osso.

Cottrell e Wolford (1998) acompanharam a evolução clínica e radiográfica de 245 pacientes tratados com HA porosa. Concluíram que este material apresentou-se como um excelente substituto do enxerto ósseo autógeno, com alta porcentagem de sucesso e eficiência.

A HA com as propriedades que apresenta, vem sendo usada como um substituto do enxerto ósseo em situações clínicas na odontologia como o aumento e manutenção do rebordo alveolar (Denissem e De Groot, 1979), tratamento de defeitos periodontais (Bou-Abboud *et al.*, 1994), cirurgias buco-maxilo faciais (Frame, 1987), cirurgias ortognáticas (Wolford *et al.*, 1987). Avaliação clínica do uso da hidroxiapatita porosa como substituto ósseo em cirurgia ortognática de 46 pacientes, indicou ser um valioso material para o preenchimento e interposição às osteotomias (Rosen, 1989).

Recentemente, Matos *et al.* (2007) avaliaram clinicamente em um estudo randomizado a comparação do uso de um biomaterial inorgânico bovino particulado derivada da matriz de hidroxiapatita associado ou não a um gel composto carboximetilcelulose no tratamento de defeitos periodontais infra-ósseos. Foram selecionados dezenove pacientes com periodontie crônica avançada. Após 6 meses do procedimento cirúrgico foi realizada a cirurgia de reentrada. Os resultados obtidos foram aumento do nível clínico de inserção e redução da profundidade de sondagem. No entanto, o estudo não conseguiu demonstrar a superioridade de um material sobre o outro.

Kasaj *et al.*, (2008) avaliaram clinicamente o uso da pasta de hidroxiapatita nanocristalina no tratamento de defeitos infra-ósseos periodontais. Vinte e oito pacientes com profundidade de sondagem maior ou igual a 6 mm foram selecionados para o estudo. Os autores concluíram que a utilização da pasta de hidroxiapatita foi significativamente melhor se comparado com o grupo controle tratado apenas com debridamento cirúrgico.

Recentemente, Seo *et al.*, (2008), utilizaram dente humano com objetivo de verificar se a hidroxiapatita se mantinha estável após a dissolução e fizeram a comparação com uma hidroxiapatita sintética. Os autores concluíram que a hidroxiapatita sintética se dissolveu se transformando em grãos separados e porosos. A hidroxiapatita derivada de dente humano foi predominantemente dissolvida e os grãos foram separados a partir da matriz também deixando os poros.

### **3. PROPOSIÇÃO**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar histologicamente a cicatrização de defeitos ósseos intra-buciais criados cirurgicamente na mandíbula de ratos e tratados com enxerto de osso autógeno e dente particulado humano.

#### 4. MATERIAL E MÉTODO

Para a realização do presente estudo foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus, albinus*, WISTAR) adultos machos, com 5 a 6 meses de idade e com peso variando entre 350 a 450 gramas provenientes do biotério da Universidade Positivo. O protocolo experimental foi aprovado pelo Cômite de Ética em Pesquisa desta Universidade (n°149/08). Os animais foram mantidos sob temperatura ambiente variando de 22 a 24 °C, com ciclos de 12 horas de luz por dia. Durante a realização do estudo experimental os animais consumiram alimentação sólida (ração) e água *ad libitum*. Os animais foram aleatoriamente divididos em 3 grupos: Grupo C (controle), Grupo OA (osso autógeno) e Grupo DP (dente particulado). Sendo que os grupos foram subdivididos em dois subgrupos, para realização de eutanásia de 1 e 3 semanas (Quadro 1).

GRUPO	1 SEMANA	3 SEMANA
<b>Controle</b>	5 animais	5 animais
<b>Osso Autógeno</b>	5 animais	5 animais
<b>Dente Particulado</b>	5 animais	5 animais

Quadro 1 – Representação esquemática dos grupos, subgrupos em relação ao número de animais.

##### Procedimento cirúrgico

O procedimento cirúrgico foi executado por um único operador. Para auxiliar o procedimento, foi utilizada uma mesa cirúrgica especialmente elaborada (Zielak, 2000), de modo a facilitar a imobilização do animal e a visualização do campo cirúrgico, com possibilidade de uso de lentes de aumento e ganchos afastadores de retalho mucoso.

Os animais foram previamente sedados com gás halotano e anestesiados via intraperitonal com quetamina (40 mg/ Kg) associado à xilazina (5mg/ Kg).

Após o posicionamento dos animais na mesa cirúrgica foi realizada uma incisão linear intra-bucal de aproximadamente 0,8 mm na região vestibular da mandíbula direita de cada animal posteriormente ao incisivo inferior (lâmina 15c, BD, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil). Os tecidos moles foram afastados e apreendidos com os dispositivos em gancho da mesa cirúrgica (Figura 1). Para criação do defeito ósseo foi utilizada uma broca esférica multilaminada de 3 mm de diâmetro (Carbide, Antilope, Suíça), adaptada em aparelho portátil de baixa rotação (Dentec, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) com irrigação abundante de solução fisiológica (MED FLEX® Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), para evitar o sobre-aquecimento e conseqüente necrose dos tecidos vivos (Bohning *et al.*, 1999). O defeito foi criado na região vestibular da mandíbula direita, o limite interno do defeito (fundo) foi a superfície radicular do incisivo inferior e os limites laterais foram definidos pelo diâmetro da broca (Figura 2 e 3).

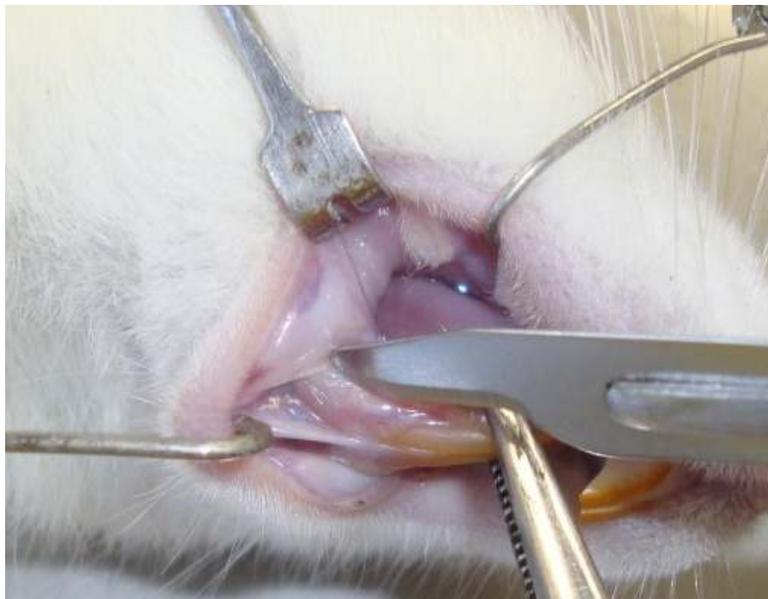


Figura 1 – Incisão, afastamento e apreensão dos tecidos moles

No Grupo C, o defeito ósseo foi preenchido somente com coágulo sanguíneo. No Grupo OA foi preenchido com osso autógeno. No Grupo DP o defeito foi

preenchido com dente humano particulado. Os tecidos moles foram cuidadosamente reposicionados e suturados através de pontos simples interrompidos com fio de nylon 5.0 (Shalon ®, São Luis de Montes Belos, Goiás, Brasil), de modo a obter o fechamento primário da ferida. Para amenizar o desconforto provocado pelo procedimento cada animal recebeu dose única de morfina (0,1 ml, Cristália, São Paulo, Brasil) e paracetamol (Teuto, Anápolis, Goiás, Brasil) diluído em água durante 7 dias (Flecknell, 1991). Os animais foram mantidos em caixas plásticas com alimentação e água *ad libitum* até a eutanásia (Fox *et al.*, 1984).



Figura 2 – Defeito criado cirurgicamente na região vestibular da mandíbula do rato.



Figura 3 – Desenho esquemático da localização do defeito.

Para aquisição do dente particulado, foram selecionados 3 dentes humanos (3<sup>os</sup> molares) recém extraídos. Os dentes foram deixados em soro fisiológico, durante 12h em peróxido de hidrogênio (10 volumes) e depois mais 12 horas em hipoclorito de sódio a 1% e lavados em água corrente por 24 horas. Os dentes foram triturados com auxílio de um pilão cirúrgico (Kopp, Curitiba, Paraná, Brasil). Antes da enxertia no defeito o dente particulado foi esterilizado em autoclave (Cristófoli, Campo Mourão, Paraná, Brasil).

O osso autógeno foi retirado da hemimandíbula do mesmo lado do procedimento cirúrgico, na região dos dentes molares, com auxílio de um microcinzel ou raspador ósseo (Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)

Cada grupo de animais foi subdividido em dois, para realização da eutanásia em 1 e 3 semanas pós-operatórias. A eutanásia foi realizada pelo uso de uma câmara de gás de CO<sub>2</sub>.

### **Procedimento histológico**

A área do defeito ósseo presente nas hemimandíbulas foi removida em bloco. Os fragmentos foram fixados em formol (Sulana, Maringá, Paraná, Brasil) neutro a 10%, lavados e descalcificados em solução de ácido fórmico a 10% (Sigma, Diadema, São Paulo, Brasil). Depois do período de descalcificação de aproximadamente 20 dias, as

peças foram processadas e incluídas em parafina, seguindo a rotina convencional de processamento. Cortes seriados com 5 µm de espessura, foram realizados no sentido mesio-distal, e a coloração utilizada foi hematoxilina e eosina (H.E.) para análise com microscopia de luz. Os cortes foram realizados até que a maior distância entre as bordas ósseas do defeito começassem a diminuir. A maior distância foi considerada a região mediana do defeito ósseo, região do enfoque deste estudo.

Para a descrição da análise histológica as imagens foram coletadas por meio de microscópio (021/3 Quimis, Brasil) e câmera acoplada (SDC-310, Samsung, Coréia). Os aumentos utilizados foram de 40, 100 e 400 x. As imagens foram analisadas de acordo com os seguintes parâmetros: fechamento do defeito ósseo, presença de infiltrado inflamatório crônico ou agudo e progressão do tipo de reparo presente no defeito cirurgicamente criado. O fechamento ósseo do defeito foi considerado completo quando toda a extensão do defeito estava preenchido com tecido ósseo neoformado.

## **5. RESULTADOS**

### **Observações Clínicas**

Os animais após os procedimentos cirúrgicos alimentaram-se normalmente apresentando aspectos clínicos considerados normais, sendo que todos os grupos apresentaram comportamento similar, caracterizado por uma resposta inflamatória cicatricial.

## **Análise Histológica (Quadro 2)**

### ***Grupo Controle de 1 semana*** (Figura 4 e 5) :

Em todos os espécimes analisados foram observados tecido de granulação com intenso processo inflamatório predominantemente linfo-plasmocitário difuso ao tecido reparador. Observou-se também áreas com neoformação de tecido osteóide em permeio ao tecido de granulação composto por deposição de matriz extracelular predominantemente colágeno disposta em padrão irregular. Foram observadas áreas de neoformação de fibras colágenas dispostas perpendicularmente ao tecido cementário mimetizando, ligamento periodontal em direção ao tecido osteóide. Em nenhum dos espécimes analisados foi observado o fechamento ósseo completo do defeito neste período.

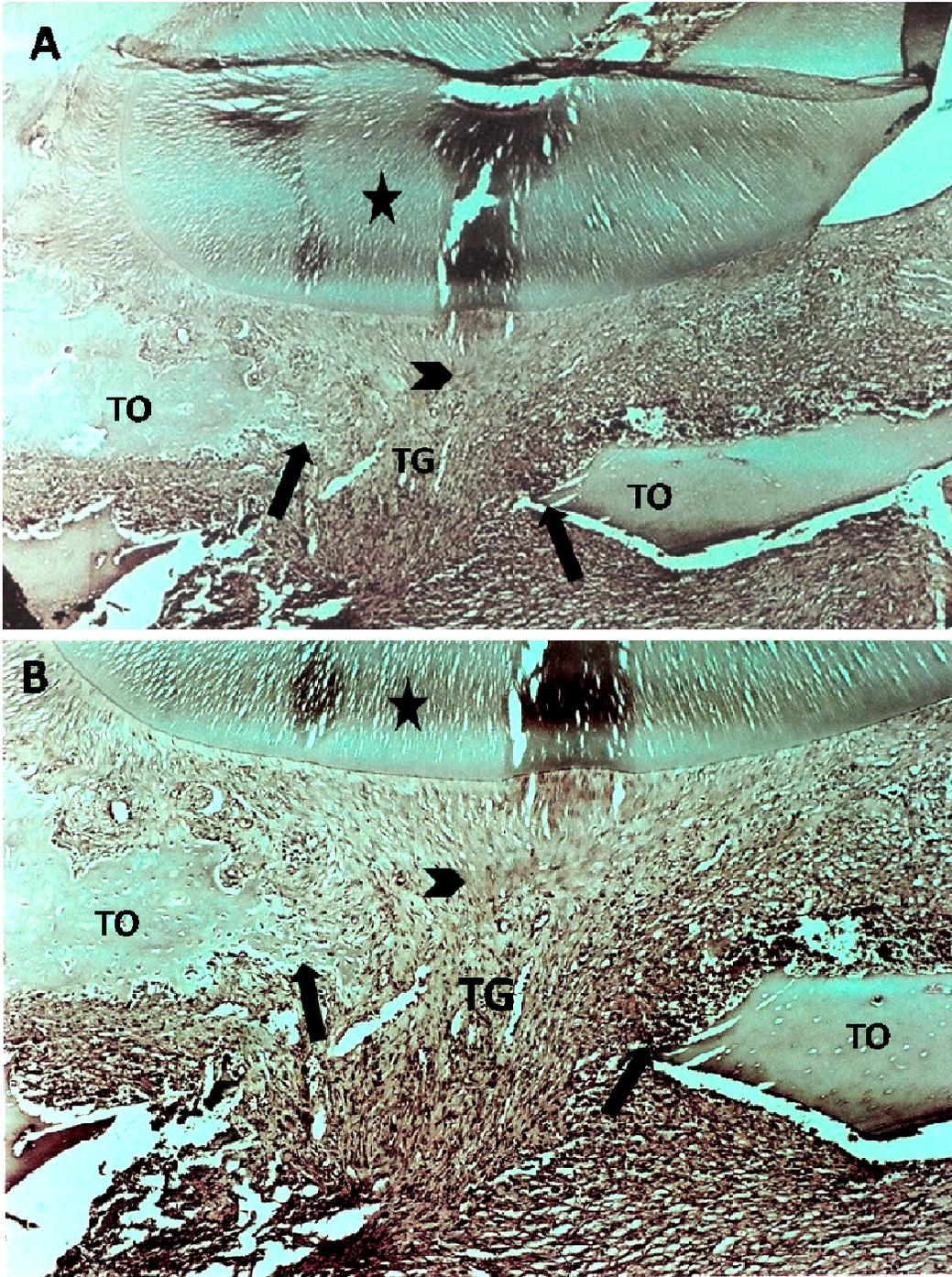


Figura 4 A e B – Grupo Controle (1 semana). Tecido conjuntivo com grande quantidade de células inflamatórias crônicas (TG) revelando áreas de neoformação óssea (TO) nas bordas do defeito (setas) e áreas de neoformação de fibras colágenas dispostas perpendicularmente ao tecido cementário mimetizando, ligamento periodontal em direção ao tecido osteóide (cabeça de seta) (hematoxilina e eosina, magnificação original 40× e 100×). TO = tecido ósseo, TG = tecido de granulação.

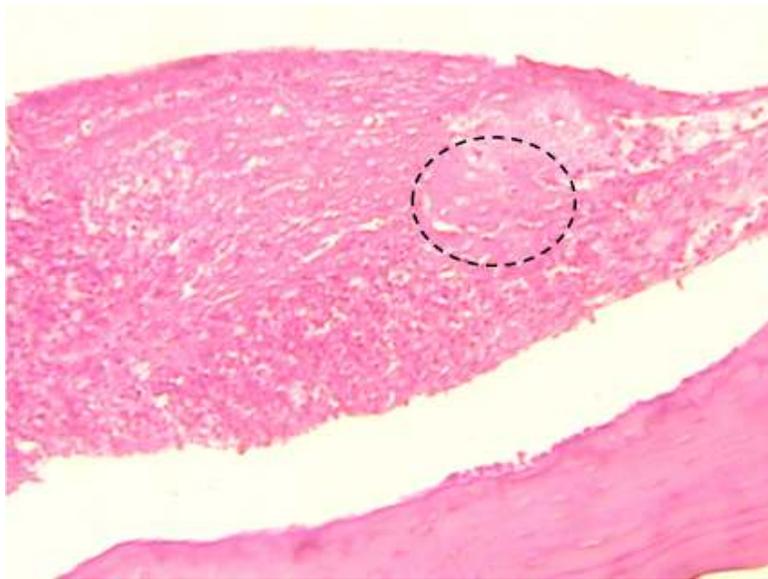


Figura 5 – Grupo Controle (1 semana). Detalhe da área de tecido de granulação, em destaque área de osteóide. (hematoxilina e eosina, magnificação original 100×).

***Grupo Controle de 3 semanas*** (Figura 6) :

Neste período, a maioria dos espécimes analisados revelou padrão histológico mostrando tecido de granulação ricamente vascularizado em permeio a uma distribuição colágeno desorganizado e robusta deposição. Contudo, ainda foi evidente, em todos os espécimes, a presença de intenso processo inflamatório crônico e áreas com deposição óssea, que se mostrava em sentido centrípeto, ou seja, das bordas para o centro do defeito, quase fechando-o totalmente.

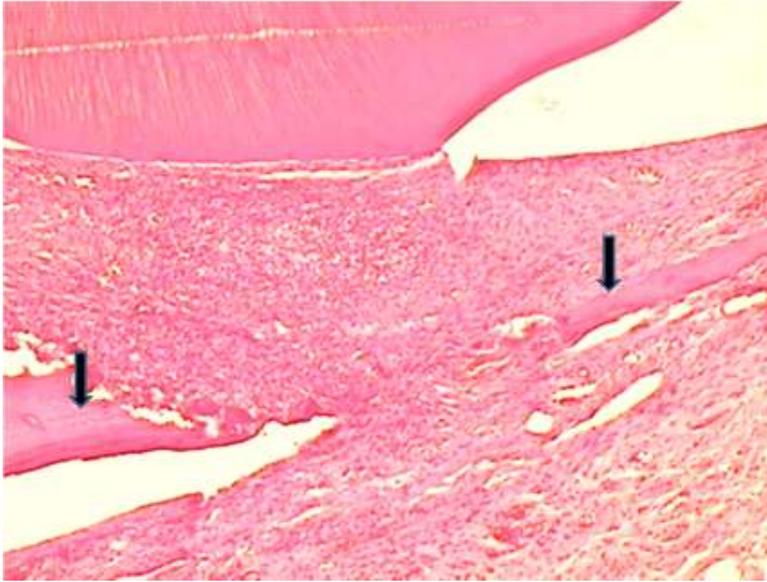


Figura 6 – Grupo Controle (3 semanas). Tecido de granulação e áreas de fino trabeculado ósseo demarcado com setas, sem haver o preenchimento ósseo completo do defeito. (hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

***Grupo Osso Autógeno de 1 semana*** ( Figura 7) :

Todos os espécimes analisados demonstraram tecido de granulação ricamente vascularizado composto por processo inflamatório crônico. Foram observadas áreas de edema próximo ao defeito e formação de deposição osteóide principalmente nas bordas juntamente a intensa proliferação osteoblásticas com tendência a fechar o defeito. Deposição de focos de matriz madura em permeio as células ósseas formando um quadro osteogênico em forma de mosaico foi visto em todos os casos, contudo a deposição não foi suficiente para o fechamento to defeito.

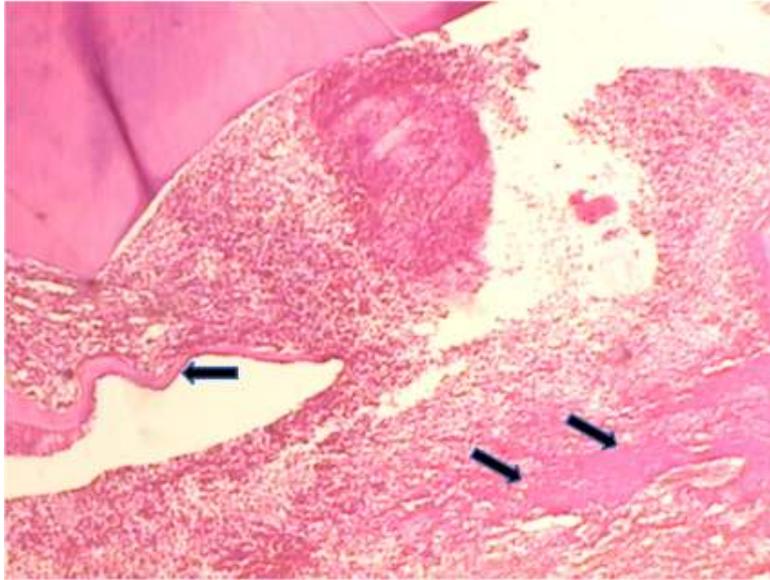


Figura 7 – Grupo Osso Autógeno (1 semana). Intenso processo inflamatório crônico em permeio ao tecido de granulação e áreas de neoformação óssea (setas). (hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

***Grupo Osso autógeno de 3 semanas*** (Figura 8) :

Na maioria dos espécimes foi observado processo inflamatório crônico com predominância macrofágica, presença de fibras colágenas dispostas perpendicularmente a área de neoposição óssea e a região cementária, mimetizando a neoformação de ligamento periodontal. Observou-se também a formação de trabéculas ósseas delgadas permeadas por tecido conjuntivo denso sugerindo a neoformação reparativa como uma ossificação intra-membranosa. Em 80% dos espécimes analisados ocorreu fechamento total do defeito.

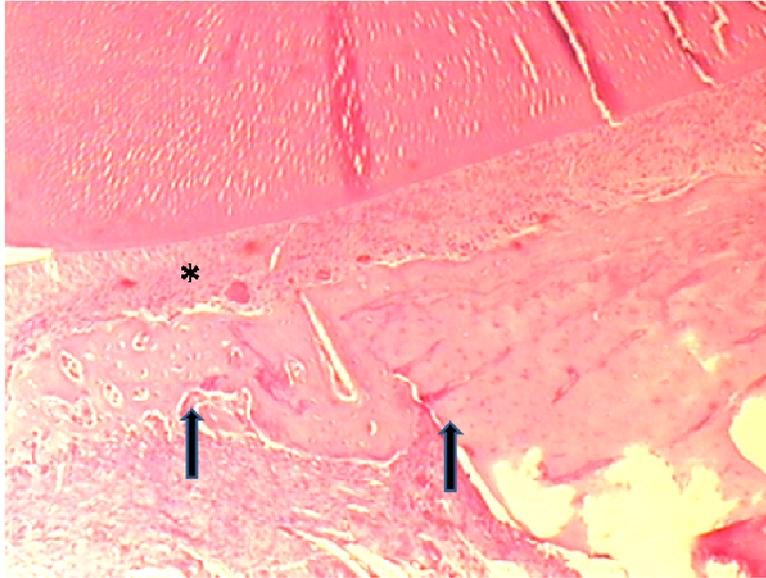


Figura 8 – Grupo Osso Autógeno (3 semanas). Fechamento ósseo da área do defeito (setas) e presença de fibras colágenas (asterisco). (hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

***Grupo Dente Particulado de 1 semana*** (Figura 9 e 10):

Na maioria dos espécimes, a presença de infiltrado inflamatório agudo e crônico granulomatoso fazia-se presente. A inflamação granulomatosa era composta principalmente por células gigantes anti-corpo estranho circundando fragmentos de tecido cementóide e de matriz de esmalte. Focos de mineralização ectópica sem, no entanto, observar áreas de matriz óssea madura completava o quadro histológico deste período. Em nenhum dos espécimes analisados foi observado o fechamento ósseo completo do defeito.

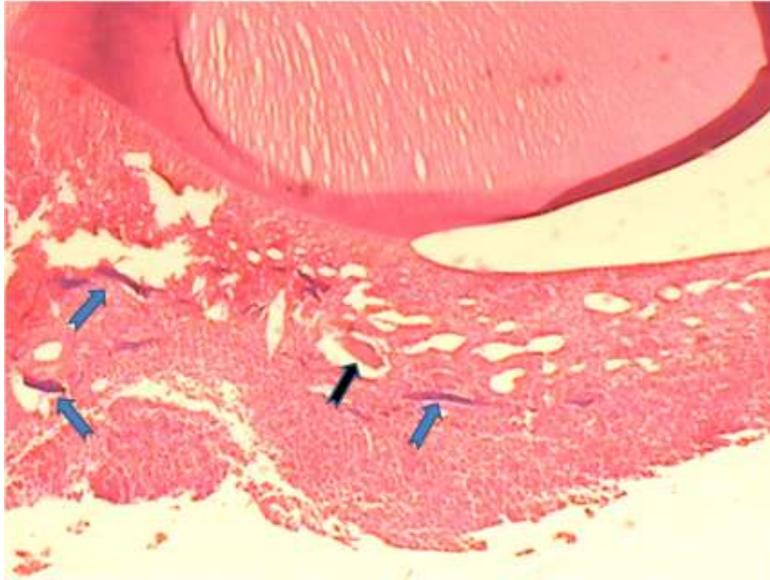


Figura 9 – Grupo Dente Particulado (1 semana). Tecido de granulação contendo processo inflamatório agudo e crônico com fragmentos de dente humano particulado com área cementoide (setas azuis) e fragmento de dentina-cemento moído (seta preta). (hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

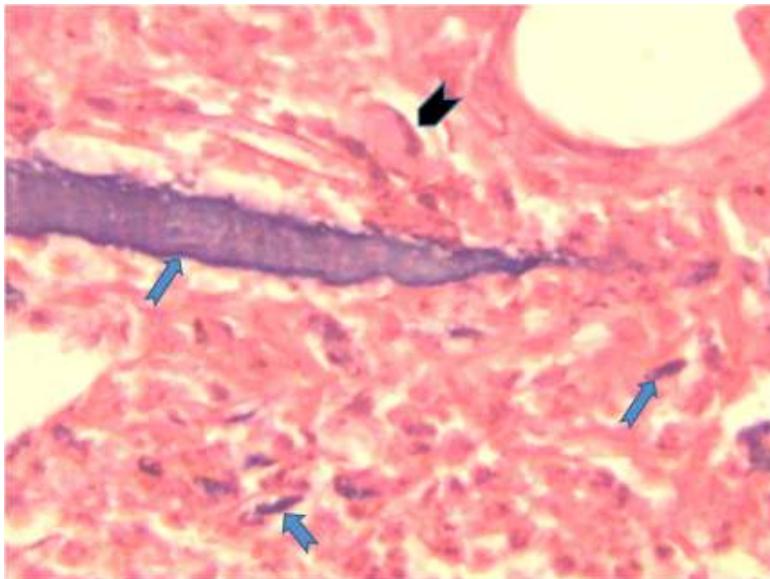


Figura 10 – Grupo Dente Particulado (1 semana). Imagem ilustrando célula gigante (seta preta) próxima a área com fragmentos de dente humano particulado (setas azuis). (hematoxilina e eosina, magnificação original 400×).

***Grupo Dente Particulado de 3 semanas*** (Figura 11) :

Foi observado a presença de processo inflamatório macrofágico e intensa deposição de tecido osteo-simile em permeio ao tecido fibroso. Observou-se a formação de tecido ósseo compacto com plastos visíveis, e 25% dos espécimes demonstraram coaptação das bordas do defeito. Notou-se também em áreas de neoformação óssea, íntimo interação entre este novo osso e o tecido cementário por meio de interação colágena, mimetizando neoformação de fibras de Sharpey.

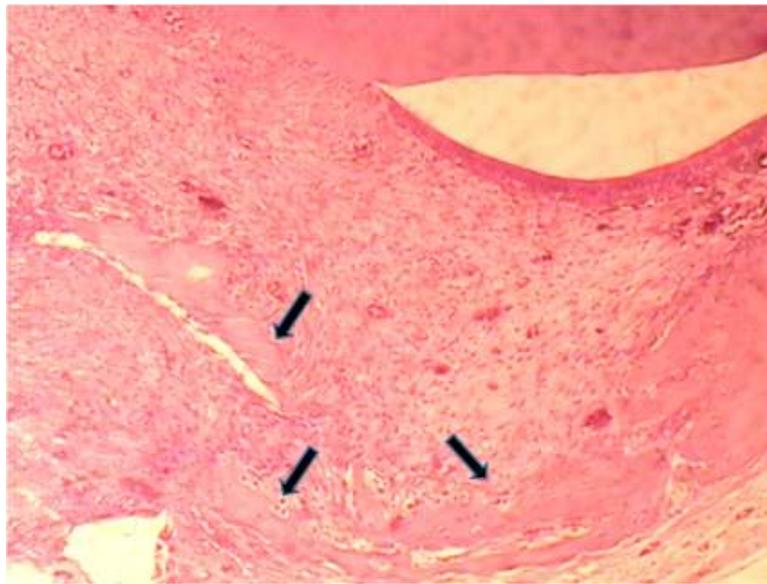


Figura 11 – Grupo Dente Particulado (3 semanas). Grande quantidade de tecido de granulação e fina camada de tecido ósseo irregular. Fechamento do defeito caracterizando uma área de osso irregular semelhante a calo ósseo (seta preta). (hematoxilina e eosina, magnificação original 100×).

<b>GRUPO</b>	<b>Fechamento do defeito</b>	<b>Tipo de Inflamação</b>	<b>Reparo Ósseo</b>
<b>Controle 1 semana</b>	Não	Tecido granulação e processo inflamatório crônico	Áreas com formação de tecido osteóide
<b>Osso Autógeno 1 semana</b>	Não	Tecido granulação e processo inflamatório crônico	Áreas com formação de tecido osteóide
<b>Dente Particulado 1 semana</b>	Não	Infiltrado inflamatório crônico granulomatoso e agudo intenso	Focos de mineralização ectópica
<b>Controle 3 semanas</b>	Não	Tecido granulação e processo inflamatório crônico	Proliferação óssea das bordas para o centro
<b>Osso Autógeno 3 semanas</b>	Sim	Ausência de inflamação	Tecido conjuntivo sem formação de ligamento. Neoformação óssea
<b>Dente Particulado 3 semanas</b>	Sim	Processo Inflamatório macrofágico	Tecido ósseo compacto com plastos visíveis

**Quadro 2 – Representação do resumo dos resultados encontrados para os Grupos Controle, Osso Autógeno e Dente Particulado para 1 e 3 semanas.**

## 5. DISCUSSÃO

Pesquisas envolvendo animais de laboratório nos dias atuais são muito realizadas. Cada modelo animal apresenta vantagens e limitações de acordo com o experimento realizado. Quando consideramos um modelo experimental apropriado, intuitivamente buscamos um animal mais semelhante à espécie humana. No entanto, o uso de primatas e cães é limitando não só pelo aspecto físico e financeiro, mas também por questões éticas. A escolha de ratos como um modelo experimental de estudos apresenta vantagens, como o baixo custo, fácil manipulação e resposta tecidual rápida. Desta forma, muito dos trabalhos sobre cicatrização de defeitos ósseos utilizaram ratos como modelo experimental (Zielak *et al.*, 2007; Gordh *et al.*, 1997; Redondo *et al.*, 1997; Zahedi *et al.*, 1998), bem como o presente trabalho.

Nos estudos em animais a quantidade e a qualidade do osso formado em um defeito ósseo são influenciadas por alguns fatores. Entre eles, a espécie e o tipo de animal usado no experimento, a idade do animal, a estabilidade do defeito, a localização anatômica do defeito, o tamanho do defeito, as implicações funcionais, os períodos de observação pós-operatória e, ainda, os métodos e critérios de avaliação (Bosch *et al.*, 1998).

No presente estudo, um defeito intra-bucal foi criado cirurgicamente pela utilização de uma broca esférica realizando um defeito circular em osso, ligamento periodontal e cemento radicular, simulando um defeito periodontal. O resultado obtido pela ação da broca possibilitou a criação de um espaço suficiente para a inserção dos materiais de enxertia (osso autógeno e dente particulado) na região. Foi eleita a cavidade oral, pois é de grande interesse para a Odontologia o estudo da neoformação óssea associada aos movimentos de mastigação e salivação, estes podem ser aspectos importantes, e que precisam ser considerados (Newman *et al.*, 2004). O uso de uma área

anterior da cavidade oral permite um acesso fácil, da mesma maneira como é feito na clínica odontológica (Zahedi *et al.*, 1998). Além disso, o envolvimento do ligamento periodontal é freqüente na cirurgia oral, e representa uma fonte abundante de células-tronco e outros fatores responsáveis ao reparo do periodonto (Brett *et al.*, 2002; Shimazu; Morishita, 2003) e por isso é importante ser considerado.

O enxerto de osso autógeno é quando o doador e o receptor são o mesmo indivíduo, ou seja, é removido do próprio paciente. Frequentemente são empregados em tratamentos periodontais regenerativos e implantes osseointegrados. Os enxertos autógenos podem ser de osso cortical, trabeculado ou esponjoso e medular. O enxerto ósseo autógeno cortical foi usado no presente estudo. Sabe-se que, neste tipo de enxerto, são poucas as células viáveis que sobrevivem para que ocorra a osteogênese, atuando, portanto, como um substrato osteocondutivo para a formação óssea pelo hospedeiro (Bauer *et al.*; 2000). Segundo Mish e Diestsh, o osso cortical poderia agir como uma barreira para a invasão dos tecidos moles. Este resultado pôde ser observado no Grupo do OA 3 semanas do presente estudo, pois na maioria dos espécimes analisados foi observado o fechamento ósseo completo do defeito com ausência de processo inflamatório.

Segundo Goldberg e Stevenson 1987, o osso autógeno é considerado o melhor tipo de enxerto ósseo que existe, devido a pouca inflamação, a capacidade de sofrer revascularização, o maior potencial de osteoindução e osteocondução e ao processo de remodelação em menor espaço de tempo. Conseqüentemente, tem sido a melhor alternativa para as cirurgias de regeneração e reparo periodontal. No entanto, a arquitetura do tecido ósseo pode influenciar diferentes comportamentos durante sua incorporação. Demonstrou-se que o osso cortical, pode apresentar uma estrutura mais compacta e assim sofrer revascularização tardia e em menor grau que o osso esponjoso (Sullivan e Swajkun, 1991). Contudo, nos resultados deste estudo parece que o osso

cortical utilizado foi revascularizado e remodelado de forma satisfatória após 3 semanas do experimento sem atrapalhar o processo de reparo.

Diferentes tipos de enxerto têm sido utilizados no estudo da reparação óssea, entre eles o enxerto alógeno (Schmit *et al.*, 1997; Hall *et al.*, 1999; Stentz *et al.*, 1997 Al Ruhaimi, 2001), enxerto xenógeno (Nasr *et al.*, 1999; Bauer; Muschler, 2000; Karring *et al.*, 1999) e materiais aloplásticos (Karatzas *et al.*, 1999; Mac Neill *et al.*; 1999; Ilan e Ladd, 2003). No entanto, os melhores resultados pareceram ser encontrados quando o osso autógeno é utilizado (Gordh *et al.*, 1997; Redondo *et al.*, 1997 e Jorge 1999), podendo este ser considerado como padrão como também observado nos resultados do presente estudo.

Na tentativa de limitar o uso do enxerto ósseo autógeno, vários materiais vêm sendo utilizados como substitutos ósseos. A biocompatibilidade, a estocagem sem a perda da viabilidade, a facilidade de obtenção do material, a relação custo benefício, e, principalmente o potencial osteoindutor, tem sido parâmetro para vários estudos sobre os substitutos ósseos.

A seleção do biomaterial utilizada no presente trabalho foi baseada em sua composição. Como o elemento dental apresenta em sua estrutura a hidroxiapatita que é componente mineral principal de todos os tecidos mineralizados do corpo humano, tais como esmalte, dentina e osso (Carlo *et al.*, 2007) este foi eleito como o material de enxerto escolhido. Ainda, a opção por utilizar dente particulado como material de enxertia surgiu devido a sua fácil aquisição, processamento, custo reduzido e ausência de estudos histológicos sobre sua utilização. Os dentes utilizados para o presente trabalho foram de origem humana, caracterizando-o assim como um enxerto xenógeno, pois foram enxertados em ratos. No entanto, a idéia de se utilizar o dente moído em humanos é que ele seja um material autógeno para reduzir o risco de transmissão de doenças.

No Grupo de DP 1 semana, pode-se observar em que nenhum dos espécimes apresentou fechamento ósseo completo do defeito e foi observado a presença de infiltrado inflamatório agudo e infiltrado inflamatório crônico granulomatoso. Além disso, partículas de dente particulado (matriz de esmalte) apresentavam-se circundadas por células gigantes, fragmentos de dentina foram encapsulados e o tecido cementóide não apresentou reação de corpo estranho. Já no Grupo DP 3 semanas, foi observado o fechamento ósseo completo do defeito em alguns dos espécimes com a presença de uma fina camada de tecido ósseo irregular e um processo inflamatório macrofágico. Resultado semelhante ao de Negase *et al.* (1989) que após implantarem hidroxiapatita em mandíbulas de cães, notaram formação de osso nas 12 primeiras semanas pós-cirúrgicas.

Pode-se observar no Grupo DP 1 e 3 semanas a presença de células gigantes. Segundo Rajan 2005, as células gigantes podem surgir no tecido em casos de infecções e/ou presença de agentes exógenos, como os biomateriais, por exemplo, caracterizando a reação tecidual como granuloma de corpo estranho.

Sabe-se que nenhum material implantado em tecido vivo é inerte. Todos provocam alguma resposta do tecido. Quatro tipos de respostas são possíveis: se o material é tóxico, o tecido circundante morre; se não é tóxico se dissolve, o tecido circundante irá substituí-lo; se não é tóxico e biologicamente inativo, uma cápsula fibrosa se forma; e se não é tóxico e biologicamente ativo, forma-se uma ligação entre eles (Hench e Wilson, 1984). No presente estudo, podemos dizer que o dente particulado usado como material de enxerto pode ser considerado como um material não tóxico e biologicamente inativo no Grupo DP 1 semana e não tóxico e biologicamente ativo no Grupo DP 3 semanas.

De acordo com Hulshoff *et al.* (1998), a proliferação de osteoblastos *in vitro* pode ser influenciada pela presença de elementos como cálcio e fosfato, e isto pode ser

dependente da quantidade. Segundo estes mesmos autores, tais elementos químicos são capazes de ativar a diferenciação e expressão de células osteogênicas que poderiam conduzir a uma neoformação óssea mais rápida. Knabe *et al.* (2000) também demonstram *in vitro* que o  $\beta$ -trifosfato de cálcio da biocerâmica facilita o crescimento de osteoblastos e a secreção de matriz de extracelular. Isto pode explicar o resultado histológico observado no grupo DP, 3 semanas. O dente particulado enxertado provavelmente apresentava em sua composição quantidade suficiente de cálcio e fosfato capaz de atrair células osteogênicas para o interior do defeito favorecendo assim o tipo de reparo observado e confirmando a propriedade osteocondutiva do material. No estudo *in vitro* realizado por Bagambisa e Schilli (1990) e *in vivo* realizado por Edwards *et al.* (1998) e Borges (1998) também mostrou a capacidade osteocondutiva da HA.

Um aspecto a ser considerado relevante é sobre o tamanho das partículas. Hulbert *et al.* (1970) demonstraram em seu estudo que poros menores de 10 micrômetros impedem a proliferação de células ósseas para seu interior, poros com 15 a 50 micrômetros permitem a proliferação de células ósseas para o seu interior, poros de 50 a 150 micrômetros resulta na formação de osteóide e poros maiores que 150 micrômetros facilitam o crescimento de osso mineralizado. Segundo Hench 1991, os poros têm que variar entre 100 a 150 micrômetros de tamanho para permitir o suprimento sanguíneo necessário para o crescimento do tecido. O dente humano particulado usado em nosso trabalho apresentava partículas de tamanhos variados, pois após particular com um triturador manual não foi possível medir e fazer a seleção das partículas a serem enxertadas.

Em relação ao Grupo Controle 3 semanas em nenhum dos espécimes analisados foi observado o fechamento ósseo completo do defeito e o tipo de cicatrização predominante foi o tecido de granulação com processo inflamatório crônico. No entanto, ocorreu a proliferação óssea das bordas para o centro do defeito, quase sendo

observado o fechando total do defeito. Apesar da utilização de um defeito de tamanho não crítico, o modelo de defeito ósseo intra-bucal utilizado no presente estudo mostra ser um defeito favorável para testar o material enxertado, pois consegue revelar seu potencial para promoção de reparo ósseo.

Achados da microscopia de luz revelaram que o infiltrado existente na maioria das amostras foi do tipo crônico granulomatoso, informação similar ao descrito por Oliveira *et al.* (1999), com presença de células macrofágicas e gigantes multinucleadas. Na presença do dente particulado todas as amostras apresentaram alguma célula de inflamação aguda ainda presente (neutrófilos e/ou eosinófilos). Além disto, em todas as amostras a vascularização foi maior do que no grupo controle.

Em algumas situações clínicas, o problema de deixar somente o coágulo sanguíneo no interior do defeito ósseo é a sua incapacidade para manter o espaço de remodelamento, o que causa uma perda de volume de tecido. Logo, a inserção de algum biomaterial ou material de enxerto pode ser considerada crucial quando a manutenção do volume local e neoformação dos tecidos desejados.

Como não existem estudos na literatura que utilizaram o dente humano particulado como uma opção de material de enxertia a comparação dos resultados do presente estudo foi dificultada.

## **6. CONCLUSÃO**

Dentro dos limites do presente estudo, pode-se concluir que a utilização do dente humano particulado no tratamento de defeitos ósseos intra-buciais foi efetivo como biomaterial osteocondutor por estimular a neoformação óssea após 3 semanas pós-operatórias. Contudo, outros estudos histológicos e clínicos devem ser realizados para avaliar esta possibilidade de tratamento.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

Al ruhaimi K. Bone graft substitutes: a comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2001;16(1):105-114.

Aaron RK, Ciombor DM. Therapeutic Effects of Eletromagnetic Fields in the Stimulation of Connective Tissue Repair. *J Cell Biochem* 1993;52(1):42-46.

American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms. American Academy of Periodontology, 2005.

Bagambisa FB, Schilli W. The interaction of osteogenic cells with hydroxylapatite implant materials in vitro and in vivo. *Int J Oral Maxillofac. Impl* 1990;(5):217-226.

Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials: an overview of the basic science. *Clin. Orthop*, Philadelphia, 2000;(371):10-27.

Bohning B, Davenport W, Jeansonne B. The effect of guided tissue regeneration on the healing of osseous defects in the rat calvaria. *J Endod* 1999;(25):81-84.

Borges APB. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de cães (*Canis familiares*): Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1998.

Borges APB, Rezende CMF, Ribeiro MFB, Melo EG, Nóbrega Neto PI. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no proximal da tíbia de cão: aspectos à microscopia de transmissão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2000;(52):616-620.

Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regeneration materials. *J Craniofac Surg* 1998;9(4):310-316.

Bosetti M, Cannas M. The effect of bioactive glasses on bone marrow stromal cells differentiation. *Biomaterials* 2005;26(18):3873-3879.

Bou-Abboud NN, Patat JL, Guillemin G, Issahakian S, Forest N, Ouhayoun JP. Evaluation of the osteogenic potencial of biomaterials implanted in the palatal connective tissue of miniature pigs using undecalcified sections. *Biomaterials*. 1994;15(3):201-207.

BRETT, P. M.; PARKAR, M.; OLSEN, I.; TONETTI, M. Expression profiling of periodontal ligament cells stimulated with enamel matrix proteins in vitro: a model for tissue regeneration. *J Dent Res*, vol. 81, p.776-783, 2002.

---

<sup>1</sup> De acordo com a norma da Universidade Positivo, baseada no estilo Vancouver.

Abreviatura dos periódicos em conformidade com a base de dados MEDLINE.

Carlo EC, Borges APB, Fófano G, Fontes EB, Carvalho TB, Sena MPT. Técnica da regeneração tecidual guiada (RTG) na reparação da mandíbula de cão. *Revista Ceres* 2006;53(307):350-356.

Carlo EC, Borges APB, Rezende CMF, Moreira JCL; Fonseca CC; Pontes CKS, Duarte TS. Avaliação do efeito osteoindutor da hidroxiapatita e do biovidro implantados em tecido subcutâneo de cão. *Revista Ceres* 54(316): 492-500, 2007

Cehreli MC, Sahin S, Kesenci K, Tuzlakoglu K, Pinsky E, Ozturk S, Ruacan S, Caner B, Bozkurt MF. Biological reactions to a poly(L-lactide)-hidroxiapatite composite: A study in canine mandible. *J Biomaterials Applications* 2003;(17):265-276.

Chan C, Thompson I, Robinson P, Wilson J, Hench L. Evaluation of Bioglass/dextran composite as a bone graft substitute. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2002; 31 (1):73-77.

Cofield RH, Apudguirro RRJ. Ouso da hidroxiapatita associado a estimulação ultra sônica pulsada de baixa intensidade na correção de falha óssea. Estudo experimental em coelhos.[Dissertação de Mestrado]. Universidade de São Paulo, 1995.

Cortelli J, Lotufo R, Oppermann R, Sallum A. Glossário da sociedade brasileira de periodontologia. *Revista Periodontia* 2005;(15):4.

Cortellini P, Bowers G. Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995;15(2):128-145.

Cottrell DA, Wolford LM. Long-term evaluation of the use of coralline hydroxyapatite in orthognathic surgery. *J. Oral. Maxillofac. Surg* 1998;(56):935-942.

Da Silveira R, Sallum A, Sallum E. Tratamento das lesões de bifurcação periodontia: a atuação clínica baseada em evidências científicas. São Paulo: Artes Médicas, 2005, p. 227-244. v.1.

Davies, JE., Baldan, N. Scan. electron microscopy of the bone-bioactive implant interface. *J Biomed Mater Res* 1997;(36):429-440.

Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67(8):932-49.

De Vicente JC, López-Arrans E, Lópezarrans JS. Tissue regeneration in bone defects adjacent to endosseous implants: an experimental pilot study. *Int J Period Rest Dent* 2000;(20):41-49.

Deboni MCZ. Hidroxiapatita em Odontologia. Principais aspectos do seu uso na recomposição do rebordo alveolar mandibular. [Dissertação Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1991.

- Denissem HW, De Groot K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxyapatite. *J Prosthet Dent* 1979;(42)5:551-556, 1979.
- Duarte TS, Borges APB, Lavor MSL, Filgueiras R, Tsiomis AC, Oliveira FL, Pontes KCS. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos histológicos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2006;58(5):849-853.
- Edwards JT, Diegmann MH, Scarborough NL. Osteoinduction of human demineralized bone: characterization in a rat model. *Clin Orthop* 1998;(357):219-228.
- Ellegaard B *et al.* New attachment after treatment of interradicular lesions. [J Periodontol](#) 1973;44(4):209-17.
- ElBatal HA, Azooz MA, Khali EMA, Monem AS, Hamdy YM. Characterization of some bioglass-ceramics. *Materials Chemistry and Physics*, 2003;(80):599-609.
- Eid K, Zelicof S, Perona BP, Sledge CB, Glowacki J. Tissue reactions to particles of bone-substitute materials in intraosseous and heterotopic sites in rats: discrimination of osteoinduction, osteocompatibility, and inflammation. *J Orthopaedic Research* 2001;(19):962-969.
- Figueiredo AS, Fagundes DJ, Novo NF, Juliano Y, Inouye CM. Comparison between porous hydroxyapatite of chorale and autogenous bony graft in rabbits. *Acta Cir Bras* 2001;16(3).
- Flecknell P. Post-operative analgesia in rabbits and rodents. *Lab Anim* 1991;20(9):34-37.
- Fox J, Cohen B, Loew F. *Laboratory Animal Medicine*. New York: Academic Press, 1984;(564);569-570.
- Frame JW. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. *Int J Oral Maxillo Fac Surg* 1987;(16):642-655.
- Froum SJ *et al.* Osseus autografts: I. Clinical responses to bone blen or hip marron grafts. *J Periodontol* 1975;46(9):515-521.
- Furusawa T, Mizunuma K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone grafting material. *Implant Dent* 1997;6(2):93-101.
- Furusawa T, Mizunuma K, Yamashita S, Takahashi T. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13(5):672-676.
- Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allograts. *Clin Orthop* 1987; 225-227.
- Gordh M, Alberius P, Lindberg L, Johnell O. Bone graft incorporation after cortical perforations of the host bed. *Otaryngol Head Neck Surg* 1997;1.117(6):664-70, 1997.

Gough JE, Jones Jr, Hench L. Nodule formation and mineralisation of human primary osteoblasts cultured on a porous bioactive glass scaffold. *Biomaterials* 2004;25(11): 2039-4.

Granjeiro J, Taga E, Fonseca M, Maeda L, Taga M, Trebacchetti C, Negrato M. Hidroxiapatita para uso clínico: caracterização físico-química. *RGO* 1992;40(2):130-134.

Hall E, Meffert R, Herman J, Melloning J, Cochran D. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *J Periodontol* 1999;70(5):526-535.

Honig JF, Merten HA, Wiltfang J. Significance of the periosteum in onlay craniofacial augmentation. *The Journal of Craniofacial Surgery* 1998;9(3):260-266.

Hulbert SF, Young FA, Mathews RS, Klawitter JJ, Talbert CD, Stelling FH. Potencial ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res* 1970;(4):433-456.

Hulshoff JEG; Van-Dijk K; De-Ruijter JE; Rietveld FJR; Ginsel LA.; Jansen JA. Interfacial phenomena: an in vitro study of the effect of calcium phosphate (Ca-P) ceramic on bone formation. *J Biomater Res*, 1998;(40):464-470.

Ilan DI & Ladd AL. Bone graft substitutes. *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery* 2003;(9):151-160.

Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. *J. Am. Ceram. Soc.* 1991;74(7): 1487-1510.

Hench LL, Wilson J. Surface-active biomaterials. *Science* 1984;(226):630-640.

Hiatt WH, Schallhorn RG. Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J Periodontol*, 1973;44(4):194-208.

Jorge RS. Enxerto autógeno de osso ilíaco em defeito de tamanho crítico na mandíbula de rato. [Tese de mestrado] Piracicaba: FOP-UNICAMP, 1999.

Knabe C, Driessens FCM, Planell JA, Gildehaar R, Berger G, Reif D, Fitzner R, Radlanski RJ, Gross U. Evaluation of calcium phosphates and experimental calcium phosphate bone cements using osteogenic cultures. *J Biomater Res*, 2000;(52):498-508.

Kasaj A, Röhrig B, Zafiroopoulos G-G, Willershausen B. Clinical evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite paste in the treatment of human periodontal bone defects trial: 6-month results. *J Periodontol* 2009;79(3):394-400.

Karatzas S, Zavras A, Greenspan D, Amar S. Histologic observations of periodontal wound healing after treatment with PerioGlas in nonhuman primates. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19(5):489-499.

Karring T, Lindhe J, Cortellin P. Tratamento periodontal regenerativo. In: Lindhe, J.; Karring, T.; Lang, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantodontia oral. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 428-462.

Kaufmann E, Ducheyne P, Shapiro I. Effect of varying physical properties of porous, surface modified bioactive glass 45S5 on osteoblast proliferation and maturation. *J Biomed Mat Res* 2000;15(4):784-796.

Kim HM. Ceramic bioactivity and related biomimetic strategy. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 2003;(7):289-299.

Land L. *et al.* Maxillary Sinus Floor Elevation Using a Combination of DFDBA and Bovine-Derived Porous Hydroxyapatite: A Preliminary Histologic and Histomorphometric Report. *Int J Periodontics Rest Dent* 2000;20(6):574-583.

Liu X, Ding C, Chu P. Mechanism of apatite formation on wollastonite coating in simulated body fluids. *Biomaterials* 2004;25(10):1755-1761.

Macneill SR, Cobb CM, Rapley JW. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. *J Clin Periodontology* 1999;(26):239-245.

Masters DH. Implants bone and bone substitutes. *CDA J* 1988;16(1):56-65.

Matos MS, Guerra FA, Krause J, Marques F, Ermida JM, Sanz M. Clinical evaluation of the combination of anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix/cell-binding peptide (P-15) in particulate and hydrogel form as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects: 6-month reentry controlled clinical study. *J Periodontol* 2007;78(10):1855-1863.

Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 1993;2(3):158-167.

Nabers CL. Long-term results of autogenous bone grafts. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1984;4(3):50-67.

Nagahara K, Isogai M, Shibata K. *et al.* Osteogenesis of hydroxyapatite and tricalcium phosphate used as a bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:72-79.

Nagase M, Chen R, Asada Y, Nakajima T. Radiographic and microscopic evaluation of subperiosteally implanted blocks of hydroxyapatite. *J Oral Maxillofacial Surgery* 1989; 47(1):40-45.

Nary Filho H, Okamoto T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de Hapset® (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. *Rev Fac Odontol Bauru* 1996;4:55-64.

Nasr HF, Aichelmann-Reidy E, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol.* 2000, Copenhagen 1999 ;19: 74-86.

Newman MG.; Takei HH.; Carranza FA. *Carranza: Periodontia Clínica*, 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 717-736.

Nilvéus R, Johansson O, Egelberg J. The effect of autogenous cancellous bone grafts on healing of experimental furcation defects in dogs. *J Periodontal Res* 1978;13(6):532-537.

Ohgushi *et al.* Marrow cell induced osteogenesis in porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate: A comparative histomorphometric study of ectopic bone formation. *J Biomed Matter Res* 1990;24(12):1563-1570.

Oliva A, Salerno A, Locardi B, Riccio V, Raginone FD, Lardino P, Zappia V. Behavior of human osteoblasts cultured on bioactive glass coatings. *Biomaterials* 1998;19:1019-1025.

Oliveira RC, Sicca CM, Silva TL, Cestari TM, Oliveira DT. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. *Rev FOB* 1999;7(3/4):85-93.

Ono I, Suda K, Takesita T, Gunji H. Analysis of strength and bone conduction of hydroxyapatite ceramics. *J JPN Plast Reconstr Surg* 1993;13:561-571.

Rajan TV. Foreign Body Giant Cell Reaction?Granuloma. Disponível em:>  
<http://pathweb.uchc.edu/eAtlas/Bone/1177.htm>>

Redondo LM, Cantera JMG, Hernández AV, Puerta CV. Effect of particulate porous hydroxyapatite on osteoinduction of demineralized bone autografts in experimental reconstruction of the rat mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1995;24(6):445-448.

Redondo LM, Hernández AV, Cantera JMG, Nieto MAT, Puerta CV. Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralized, frozen and fresh bone. *Brit J Oral Maxillofac Surg* 1997;35(3):166-169.

Reuters U, Osborn JF, Donath K. Untersuchungen nach implantation von hydroxyapatikeramik in artefizialle kiefersplatten de ratte. *Fortsch Kiefer Gesichtschir* 1985:1990-1992.

Rosen HM. Porous, block hydroxyapatite as interpositional bone graft substitute in orthognathic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1989;83(6):985-990.

Rosenberg E, Fox G. Cohen C. Bioactive glass granules for regeneration of human periodontal defects. *J Esthet Dent* 2000;12(5):248-257.

Schepers E, De Clercq M, Ducheyne P, Kempeneers R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J Oral Rehabil* 1991;18(5)439-452.

Schepers E, Ducheyne P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and sizes ranges. *J Oral Rehabil* 1997;24(3)171-181.

- Schepers E, Pinruethai P. A comparative study of bioactive glass and porous hydroxylapatite particles in periodontal bone lesions. *Bioceramics* 1993;6:113-116.
- Schmitt J, Buck D, Joh S, Lynch S, Holinger J. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. *J Periodontol* 1997;69(11):1312-1314.
- Seo DS, Lee JK. Dissolution of Human Teeth-Derived Hydroxyapatite. *Annals of Biomedical Engineering* 2008;36(1):132-140.
- Shareef M, Messer P, Noort R. Fabrication, characterization and fracture study of machinable hydroxyapatite ceramic. *Biomaterials* 1993;14(69-75).
- SHIMAZU, A.; MORISHITA, M. Basic fibroblast growth factor induces the expression of matrix metalloproteinase-3 in human periodontal ligament cells through the MEK2 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Periodontal Res*, vol. 38, p.122-129, 2003.
- Stentz WC, Mealey BL, Nummikoski PV, Gunsolley JC, Waldrop TC. Effects of guide bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental implants. I. Radiographic analysis. *J. Periodontal* 1997;68(3):199-208.
- Stevenson S. Biology of Bone Grafts. *Orthop Clin North Am* 1999;30(4):543-552.
- Strnad Z. Role of glass phase in bioactive glass-ceramics. *Biomaterials* 1992;13(5):317-321, 1992.
- Sullivan WG, Swajkun PR. Revascularization of cranial versus iliac bone grafts in the rat. *Plast Reconstructive Surg* 1991; 87(6):1105-1109.
- Takeshita F, Iyama S, Ayukawa Y, Akedo H, Suetsugu T, Study of bone formation around dense Hydroxyapatite implants using light microscopy, imaging processing and confocal laser scanning microscopy. *Biomaterials* 1997;18:317-322.
- Thomson RC, Yaszemski MJ, Powers, J.M., Mikos, A.G. Hydroxyapatite fibers reinforced poly foams for bone regeneration. *Biomaterials* 1998;19:1935-1943.
- Vital CC, Borges APB, Fonseca CC *et al.* Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2006;58:175-183.
- ZAHEDI, S.; LEGRAND, R.; BRUNEL, G.; ALBERT, A.; DEWÉ, W.; COUMANS, B.; BERNAR JP. Evaluation of a diphenylphosphorylazide-crosslinked collagen membrane for guided tissue regeneration in mandibular defect of rats. *J Periodontology*, vol. 69, p. 1238-1246, 1998.
- Zambonin G, Grano M. Biomaterials in orthopaedic surgery: effects of different hydroxyapatites and demineralized bone matrix on proliferation rate and bone matrix synthesis by human osteoblasts. *Biomaterials* 1995;16:397-402.

Zambuzzi WF, Oliveira RC, Piozzi R, Cestari TM, Taga R, Buzalaf MAR Avaliação histológica do implante do osso fetal bovino acelular e desmineralizado em subcutâneo de ratos Granjeiro. J M Rev Bras Ortop 2006;41(6):227-32.

Zielak JC; Peracetta LF; Nicastrri AL. Mesa Cirúrgica para Animais de Laboratório em Experimentação. XV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu. São Paulo:FeSBE, 2000, p.172-172.

Zielak JC; Mathias SA; Giovanini AF; Mathias, AL. Oral Bone Grafting in a Rat Model and the use of Scanning Electron Microscopy for Tissue Morphology Evaluation. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science, 2007; 34: 201-210.

Wheeler D, Stokes K, Hoelbrich R, Chamberland D, Mcloughlin S. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. J Biomed Mater Res 1998;41(4):527-533.

Wheeler D, Stokes K, Park H, Hollinger J. Evaluation of particulate Bioglass in a rabbit radius ostectomy model. J Biomed Mater Res 1997;35(2):249-254.

Wolford LM, Wardrop RW, Haetog JM. Coraline porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in orthognathic surgery. Oral maxillofac. Surg 1987;45:1034-1042.

# 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](#)