



Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Concentração em Periodontia e Prótese Dentária

**Avaliação microscópica dos fragmentos ósseos obtidos por
diferentes métodos de osteotomia e de irrigação em aloenxertos
irradiados e congelados de coelho**

Natal - RN

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Pedro Henrique de Alencar e Silva Leite

Avaliação microscópica dos fragmentos ósseos obtidos por diferentes métodos de osteotomia e de irrigação em aloenxertos irradiados e congelados de coelho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFRN como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração em Periodontia e Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Galvão Barboza

Natal - RN

2009

Catálogo na Fonte. UFRN/ Departamento de Odontologia
Biblioteca Setorial de Odontologia “Profº Alberto Moreira Campos”.

Leite, Pedro Henrique de Alencar e Silva.

Avaliação microscópica dos fragmentos ósseos obtidos por diferentes métodos de osteotomia e de irrigação em aloenxertos irradiados e congelados de coelho / Pedro Henrique de Alencar e Silva Leite. – Natal, RN, 2009.

68 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Galvão Barboza.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Periodontia e Prótese Dentária.

1. Osteotomia – Dissertação. 2. Transplante ósseo – Dissertação. 3. Criopreservação – Dissertação. 4. Transplante homólogo – Dissertação. I. Barboza, Carlos Augusto. II. Título.

RN/UF/BSO

Black D74

DEDICATÓRIA

A *Deus*, por me conceder o dom da vida e por zelar pela minha saúde, proporcionando força para vencer todos os obstáculos. Obrigado, Deus!

Aos meus pais, Antonio Wellington e Carmen Lúcia, e as minhas irmãs, Ana Cecília e Maria Luísa, por seu amor e por me concederem apoio e condições para chegar até aqui.

À minha namorada, Aline de Souza Souto, pelo seu amor, por sua companhia, por seu entusiasmo e pelo incentivo que tanto me fazem sentir feliz e me devolvem o equilíbrio nos momentos em que as dificuldades surgem.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado em Periodontia e Prótese Dentária.

A CAPES, pela bolsa de pós-graduação concedida.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Galvão Barboza, por confiar em meu trabalho e por sua valiosa orientação nesta dissertação. Por seu entusiasmo com a pesquisa, meu respeito e gratidão.

Aos Professores do Mestrado, por todos os ensinamentos e orientações durante todo curso.

Ao Prof. Dr. Eduardo Gomes Seabra, por seu apoio e por suas orientações. Por seu amor a pesquisa e ensino, minha grande admiração, respeito e orgulho de tê-lo com meu primeiro orientador.

Ao Tio e Prof. Dr. Yanko Marcius de Alencar Xavier, pelo seu incentivo e apoio durante os meus cursos de Pós-Graduação.

Aos amigos Miguel Leandro, Tarcísio e Rodrigo Juliasse, pela amizade construída e pelos ensinamentos compartilhados.

Às alunas de iniciação científica Trícia e Fernanda, por suas contribuições durante a fase experimental deste trabalho.

À Funcionária Lourdinha, do Laboratório de Morfologia da UFRN, pela amizade, por sua fundamental ajuda no processamento das lâminas histológicas e por sua generosa contribuição.

Aos meus queridos colegas de curso, pelo alegre convívio e pela amizade construída.

À funcionária da secretária de Pós-Graduação, Sandra, pela presteza e simpatia.

RESUMO

Os defeitos ósseos bucais e faciais comprometem a aparência, o bem estar psicossocial e a função estomatognática dos seus portadores. Diante da necessidade de tratamento dessas patologias, surgiram, com o decorrer do tempo, diversas estratégias para a regeneração de defeitos ósseos, dentre elas o uso de aloenxerto ósseo congelado e irradiado. A manipulação dos enxertos ósseos ainda não está determinada, podendo-se observar várias alternativas de osteotomia. Este trabalho avaliou microscopicamente os fragmentos ósseos obtidos por diferentes métodos de osteotomia e de irrigação sobre anéis e blocos de aloenxertos irradiados e congelados a 80°C negativos de coelho. O estudo é do tipo Experimental *in vitro* e teve como amostra 01 coelho, adulto, da raça New Zealand. O animal foi sacrificado para obtenção de ossos longos, os quais foram congelados a 80° negativos e irradiados com Cobalto-60. Em seguida, os ossos foram seccionados em 24 peças ósseas, divididos em quatro grupos: G1 (n=06) foi realizado a osteotomia com broca esférica nº 6 formando anéis com 5 mm de espessura com caneta de alta rotação com irrigação manual; G2 (n=06) foi realizado a osteotomia com broca esférica nº 6 formando anéis com 5 mm de espessura com motor cirúrgico com irrigação manual a uma rotação de 1500 rpm; GA (n=06), osteotomia com trefina usando irrigação manual com soro fisiológico; e GB (n=06), osteotomia com trefina usando soro fisiológico proveniente de bombas peristálticas do motor cirúrgico. De cada grupo, cinco peças ósseas foram destinadas à análise em Microscopia de Luz (ML) e uma analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise por ML levou em consideração a presença de tecido carbonizado. Na análise por MEV levou em consideração: superfície das bordas; presença de microfissuras e *Smear Layer*. Ao analisar a técnica de osteotomia utilizando MEV observa-se: maior presença de microfissuras ao corte com alta rotação; maior presença de áreas cobertas por uma camada de *smear layer* em cortes com motor de implante. Na análise da irrigação com MEV observou-se que: a presença de microfissuras não depende do tipo de irrigação; na irrigação manual, verificou-se uma discrepância maior entre as linhas de corte. Ao avaliar descritivamente o processo de osteotomia e irrigação na ML, verificou-se que: na análise histológica as margens ósseas apresentavam uma evidente camada alterada de tecido, composta por um tecido enegrecido de aspecto carbonizado, próximo ao osso cortical; nas margens da peça óssea foram observados fragmentos ósseos deslocados durante o corte ósseo e irregularidades ósseas. Após análise dos resultados, pode-se concluir que: houve maior regularidade do corte ósseo utilizando caneta de alta rotação do que motor de implante; o corte com trefina usando irrigação com bombas peristálticas do motor de implante se mostrou mais homogênea quando comparada à técnica com irrigação manual; tecido carbonizado foi encontrado em todos os espécimes ósseos obtidos, sem diferença estatisticamente significativa na proporção de carbonização nas duas técnicas de irrigação estudadas.

Unitermos: Transplante ósseo; Criopreservação; Transplante Homólogo.

ABSTRACT

Title: Microscopic evaluation of bone fragments obtained from different methods of osteotomy and irrigation of irradiated and frozen rabbit allografts.

Oral and facial bone defects can undertake appearance, psychosocial well-being and stomathognatic function of its patients. Over the yerars several strategies for bone defect regeneration have arised to treat these pathologies, among them the use of frozen and irradiated bone allograft. Manipulation of bone grafts it's not determined yet, and several osteotomy alternatives can be observed. The present work evaluated with a microscope the bone fragments obtained from different osteotomy methods and irrigation on rings and blocks allografts irradiated and frozen at 80° negative in a rabbit model. The study is experimental *in vitro* and it sample was an adult male New Zealand rabbit. The animal was sacrificed to obtain long bones, that were submitted to freezing at 80° negative and irradiated with Cobalt-60. Then the long bones were sectioned into 24 bone pieces, divided into 4 groups: G1 (n=06) osteotomy was performed with bur No. 6 forming rings with 5 mm thickness with high-speed handpiece with manual irrigation; G2 (n=06) osteotomy was performed with bur No. 6 forming rings with 5 mm thick with surgical motor with a manual irrigation rotation 1500 rpm; GA (n=06), osteotomy with trephine using manual irrigation with saline; and GB (n=06), osteotomy with trephine using saline from peristaltic pumps of surgical motor. Five bone pieces of each group were prepared for analysis on light microscopy (LM) and one on electronic scan electronic microscopy (SEM). On the SEM analysis edges surface, presence of microcracks and Smear Layer were evaluated. Analyzing osteotomy technics on SEM was observed: increased presence of microcracks cutting with high speed; increased presence of areas covered by Smear Layer when cutting with motor implant. The irrigation analysis with SEM was observed: that the presence of microcracks does not depend on the type of irrigation; on manual irrigation, there was greater discrepancy between the cutting lines. The descriptive analysis of the osteotomy and irrigation process on LM showed: histological analysis showing the bony margins with clear tissue changed layer, composed of blackened tissue of charred appearance near to the cortical bone; on the edges of the bony part, bone fragments that were displaced during the bone cut and bone irregularities were observed. After analysis of results we can conclude: that there was greater regularity of the bone cut using high-speed handpiece than using motor implant; the cut with trephine using saline irrigated from peristaltic pumps of surgical motor showed greater homogeneity when compared with manual irrigation; charred tissue was found in all obtained bone samples, whit no significant statistically difference on the proportion of carbonization of the two analysed technics.

Key-words: Bone transplant; Cryopreservation; Allogeneic transplant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ossos obtidos (tíbia, fêmur, úmero) que foram submetidos à esqueletização.	34
Figura 2: Ossos embalados em Falcon após processamento e esqueletização.	35
Figura 3: Tubos foram armazenados em freezer a -80°C.	35
Figura 4: Irradiador Multipropósito emissor de radiação gama (Cobalto-60), utilizado na dose de 30 kGy.	36
Figura 5: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 24 vezes da superfície do anel ósseo.	41
Figura 6: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 600 vezes da superfície do anel ósseo.	42
Figura 7: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 3000 vezes da superfície do anel ósseo.	42
Figura 8: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 24 vezes da lateral do anel ósseo.	42
Figura 9: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 100 vezes da lateral do anel ósseo.	43
Figura 10: Osteotomia com Alta Rotação (Lado Direito) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado Esquerdo), com aumento em 600 vezes da lateral do anel ósseo.	43

- Figura 11: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado Direito) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado Esquerdo), com aumento em 20 vezes da superfície do disco ósseo. 44
- Figura 12: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado Direito) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado Esquerdo), com aumento em 180 vezes da superfície do disco ósseo. 44
- Figura 13: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado Direito) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado Esquerdo), com aumento em 100 vezes da lateral do disco ósseo. 45
- Figura 14: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado Direito) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado Esquerdo), com aumento em 270 vezes da lateral do disco ósseo. 45
- Figura 15: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual em aumento de 600 vezes da lateral do disco ósseo. 45
- Figura 16: Osteotomia com Trefina usando Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico em aumento de 600 vezes da lateral do disco ósseo. 46
- Figura 17: Corte histológico de anéis ósseos que sofreram osteotomia com motor de implante a 1500 rpm – Amostra 3, aumentos de 40x e 100x. 48
- Figura 18: Corte histológico de anéis ósseos que sofreram osteotomia com caneta de alta rotação - Amostra 2, aumentos de 40x e 100x. 48
- Figura 19: Corte histológico de anéis ósseos que sofreram osteotomia com trefina com irrigação manual – Amostra 3, aumentos de 40x e 100x. 48
- Figura 20: Corte histológico de anéis ósseos que sofreram osteotomia com trefina com irrigação por bombas peristálticas de motor de implante – Amostra 4, aumentos de 40x e 100x. 48

Figura 21: Perímetro da amostra do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.	49
Figura 22: Medida de tecido carbonizado da amostra do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.	50
Figura 23: Perímetro da amostra 05 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.	50
Figura 24: Medida de tecido carbonizado da amostra 05 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.	51
Figura 25: Perímetro da amostra 02 do grupo de osteotomia com trefina com irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante.	52
Figura 26: Análise Histomorfométrica do tecido carbonizado da amostra 02 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante.	52
Figura 27: Perímetro da amostra 02 do grupo de osteotomia com trefina com irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante.	53
Figura 28: Análise Histomorfométrica do tecido carbonizado da amostra 01 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Locais da pesquisa e atividades realizadas.	33
Tabela 2: Valores referentes às distâncias após corte ósseo usando Irrigação Manual (valores em micrometro).	45
Tabela 3: Valores referentes às distâncias após corte ósseo usando Irrigação com Bombas Peristática (valores em micrometro).	46
Tabela 4: Medidas de tecido carbonizado e perímetro das amostras do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual. Valores em Micrometro (μm).	51
Tabela 5: Medidas de tecido carbonizado e perímetro das amostras do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante. Valores em Micrometro (μm).	53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Perímetro da área carbonizada provocada pela osteotomia com motor de implante usando irrigação manual e por bombas peristálticas. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student não-pareado.*p<0,05. 54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C	Grau centígrado
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
EPI	Equipamento de proteção individual
F	Frequência
HE	Hematoxilina e Eosina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mm	Milímetro
mg	Miligrama
nm	Nanometro
n°	Número
rpm	Rotações por minuto
%	Porcento
®	Marca registrada
±	Desvio padrão
µm	Micrometro
Å	Angstroms
kGy	KiloGray
mA	Miliampere
Pa	Pascoal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Perda Óssea em Doenças periodontais	19
2.2 Características do Osso	20
2.3 Enxertia óssea	22
2.3.1 Enxerto Homógeno (aloenxerto ou homólogo)	23
2.4 Aplicação da osteotomia em Odontologia	26
3 PROPOSIÇÃO	31
4 METODOLOGIA	32
4.1 Considerações Éticas	32
4.2 Tipo do Estudo	32
4.3 Variáveis	32
4.3.1 Dependente	32
4.3.2 Independentes	32
4.4 Amostra	32
4.5 Local da pesquisa	33
4.6 Protocolo de formação do banco de osso	33
4.6.1 Osso Utilizado	33
4.6.2 Processamento ósseo e Armazenagem	34
4.6.3 Irradiação	36

4.7 Osteotomia óssea	36
4.8 Análise das peças anatômicas	37
4.8.1 Preparação para a Microscopia de Luz	37
4.8.2 Preparação para a Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	38
4.9 Análise histomorfométrica	39
4.10 Análise estatística	39
5 RESULTADOS	40
5.1 Resultados da Microscopia Eletrônica de Varredura e dos Procedimentos Laboratoriais	40
5.2 Resultados da Microscopia de Luz	46
5.3 Resultados da Histomorfometria	49
5.3.1 Histomorfometria de amostras do grupo de osteotomia com trefina com Irrigação Manual.	49
5.3.2 Histomorfometria de amostras do grupo de osteotomia com trefina com Irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante.	51
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

As anomalias do esqueleto craniofacial comprometem severamente a aparência e o bem estar psicossocial dos seus portadores. Em razão disto, diversas estratégias buscando a correção dessas anomalias surgiram com o decorrer do tempo²⁴.

A regeneração desses defeitos ósseos com perda de substância, resultantes de traumas ou doenças, permanece como um desafio terapêutico tanto na Medicina como na Odontologia, porque o rápido crescimento de tecido conjuntivo impede ou dificulta a formação de tecido ósseo novo entre os limites da lesão, onde esta alteração morfofuncional, resultante do processo regenerativo, pode levar à necessidade de vários procedimentos operatórios para sua adequada correção^{22,23}.

O objetivo primordial do tratamento cirúrgico dos defeitos ósseos é o preenchimento deste defeito com material que possa promover osteoindução, osteocondução e a conseqüente osteogênese reparativa⁷⁷.

No estágio atual do conhecimento, é consenso que o osso autógeno é o material mais adequado para atingir esse objetivo⁷⁷. O osso autógeno apesar de ter suas vantagens, possui limitações de uso, como quantidade insuficiente, quando a fonte doadora é escassa, como nas crianças e em pacientes já submetidos a cirurgias anteriores que exauriram áreas potencialmente doadoras de osso^{1,23,43,71}.

Assim, a procura de um material substituto do osso autógeno continua sendo um desafio³³. O substituto ósseo ideal não deve causar modificação física no tecido, deve ser quimicamente inerte, não deve causar reação alérgica ou tipo corpo estranho, além de poder ser obtido na quantidade e forma necessárias para preencher o defeito ósseo^{68,79}.

Torna-se evidente que um enxerto ideal deve prover todos os elementos necessários para sua incorporação ao tecido hospedeiro, além de ser produzido com um material biocompatível, não causando reação imunológica severa, e que seja capaz de suportar as forças mecânicas as quais estará sujeito desde o seu implante até a sua total reabsorção. Assim, este material deve possuir uma matriz com propriedade osteocondutora, que sirva como molde e permita a invasão de vasos sanguíneos e células progenitoras, além de osteoindutora, que induza a transformação das células progenitoras em osteoblastos, e ainda

células com propriedades osteogênicas, que se transformem em osteoblastos funcionantes quando implantadas²⁴.

Há uma grande variedade de materiais de enxerto utilizados para corrigir falhas ósseas, dentre eles os biomateriais e materiais orgânicos vem substituir o enxerto autógeno. Dentre os materiais orgânicos, pode-se indicar o uso de enxertos homogêneos congelados e irradiados. Porém, a manipulação deste tecido ósseo é um questionamento ainda presente. Na Odontologia são realizados diversos procedimentos cirúrgicos em tecidos moles e duros. Quando os tecidos duros estão envolvidos, praticamente todas as técnicas visam a osteotomia ou pelo menos são precedidas por ela, alguns exemplos são: cirurgia para remoção de dentes inclusos, osteotomias da maxila e da mandíbula para correção de deformidades dento-faciais, cirurgia para enucleação de cistos e tumores, cirurgia para instalação de implantes osseointegrados. Existe uma preocupação dos cirurgiões em eleger o melhor instrumento para realizar o corte ósseo que permita um reparo ósseo de qualidade superior no menor tempo possível⁸.

A osteotomia ou o corte do tecido ósseo pode ser realizado por diversos métodos, alguns utilizados corriqueiramente, como as brocas ou fresas cirúrgicas em alta e a baixa rotação, e outros, utilizados mais seletivamente, como o cinzel e as serras para osso, e mais recentemente, o laser de alta potência foi introduzido como método alternativo para osteotomias^{46,53}.

A busca por definições de uma técnica segura que estabeleça um melhor prognóstico para este enxerto foi o que se buscou na realização desta pesquisa, tendo este trabalho o objetivo de avaliar qual era o melhor método de osteotomia óssea (caneta de alta rotação ou motor de implante a 1500 rpm) e qual é o melhor método de irrigação (manual ou realizada por bombas peristálticas de motor cirúrgico) sobre anéis e blocos de aloenxertos de coelhos, irradiados e congelados a 80°C negativos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Regeneração Tecidual em Doenças Periodontais

As doenças periodontais são caracterizadas inicialmente por alterações que acometem somente os tecidos de proteção do elemento dental, por agressão do biofilme dentário. No entanto, a progressão da doença acomete os tecidos de sustentação periodontal, provocando alterações no cemento radicular que se torna contaminado, no ligamento periodontal que degenera e no osso alveolar que sofre um processo de reabsorção, podendo ocasionar a perda do dente⁴⁰. Entretanto, após o tratamento das doenças periodontais, geralmente ocorre alteração no padrão estrutural dos tecidos periodontais, ou seja, a perda tecidual que ocorre com a doença periodontal não se recupera com a eliminação do processo inflamatório¹³. Isso significa que o osso alveolar que foi reabsorvido não é recomposto ao mesmo nível e conseqüentemente as fibras do ligamento periodontal ficam inseridas em um nível mais apical. Portanto, o que se tem como resultado da terapia periodontal é uma situação normalizada com a possível presença de dentes com inserção mais apical que anteriormente à doença, presença de recessões gengivais devido à retração da margem gengival e a reparação por formação de epitélio juncional longo⁴⁰.

O principal objetivo da terapia periodontal é a restauração completa da estrutura e função dos tecidos perdidos com o processo de doença, levando a cura pela formação de novo “aparelho de inserção” (novo osso, cemento e ligamento periodontal). A regeneração periodontal depende da proliferação, migração, diferenciação e síntese de matriz protéica. Os métodos terapêuticos propostos para que esta efetivamente aconteça apresentam ainda resultados limitados, sendo estes a regeneração tecidual guiada (RTG), condicionamento ácido da superfície radicular, enxertos ósseos ou de biomateriais, que funcionam como arcabouço temporário para facilitar a osteogênese⁵⁰.

Embora os estudos nos últimos anos demonstrem que os avanços na área da regeneração é biologicamente possível e clinicamente reprodutível, as limitações relacionadas ao fato de que esses materiais sintéticos não reproduzem exatamente a composição química e

estrutural do osso natural ainda é notório, o que leva os enxertos ósseos apresentarem limitações⁶⁷.

Apesar de evidentes melhorias na área da enxertia óssea, não houve ainda o desenvolvimento de um substituto do enxerto autógeno. É neste contexto que o aprimoramento das técnicas de manipulação do enxerto homogêneo, mais especificamente na osteotomia, é fundamental para o sucesso do mesmo.

Torna-se evidente que o conhecimento pleno das doenças que levam a perda óssea, dos diversos tratamentos, do osso que está sendo manipulado, bem como dos enxertos ósseos utilizados para tratamento das falhas ósseas provenientes dessas patologias favorece um prognóstico melhor para restabelecer uma saúde dos dentes e ossos envolvidos.

2.2 Características do Osso

O tecido ósseo, em sua formação, envolve a proliferação e a diferenciação de células do estroma ao longo de uma via osteogênica de múltiplas etapas. Observa-se que o processo de diferenciação celular é controlado por uma cascata de eventos que envolve uma programação genética associada a regulação gênica por diversos hormônios, citocinas e fatores de crescimento⁷². Este tecido ósseo é formado por dois métodos de diferenciação do mesênquima¹⁶. De acordo com Ross, Reith e Romrell⁶⁴, o desenvolvimento ósseo é tradicionalmente classificado como endocondral, quando uma cartilagem servir como precursora para formação do tecido ósseo, ou intramembranoso, se o osso originar-se diretamente de tecido conjuntivo, sem um precursor cartilaginoso. Esses modelos clássicos referem-se somente ao mecanismo pelo qual o osso começa a se formar enquanto órgão.

A estrutura do tecido ósseo no adulto formado pelos dois mecanismos é indistinguível⁷⁴, onde é observado que em ambos os tipos de ossificação, a deposição de uma matriz extracelular é semelhante.

Gartner e Hiatt²⁶ definiram o tecido ósseo como um tecido conjuntivo especializado cuja matriz extracelular é calcificada. A matriz óssea apresenta constituintes orgânicos e inorgânicos. A parte inorgânica constitui cerca de 65% do seu peso seco, é composta principalmente por cálcio e fósforo, que estão sob a forma de cristais de hidroxiapatita e outros componentes inorgânicos, em menor quantidade, tais como, bicarbonato, citrato,

magnésio, sódio e potássio. A parte orgânica representa 35% do seu peso seco, e é composta por fibras colágenas, basicamente do tipo I, por substância fundamental e por proteínas não-colágenas. A dureza do osso é resultado da associação dos cristais de hidroxiapatita com o colágeno. As células do osso incluem células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos.

As células osteoprogenitoras podem ser estimuladas a se diferenciarem em osteoblastos. Os osteoblastos, células jovens e volumosas, são responsáveis pela secreção do colágeno e da substância fundamental, constituintes da matriz orgânica óssea; proliferam depositando matriz óssea imatura e iniciam a formação das trabéculas ósseas. Os osteócitos são células maduras, derivadas dos osteoblastos, que ficaram aprisionados dentro de suas lacunas (osteoplastos) na matriz óssea calcificada, previamente depositada por eles enquanto osteoblastos. Osteócito representa um osteoblasto transformado. Os osteoclastos são células multinucleadas e grandes, cuja função é reabsorver o tecido ósseo, formando lacunas de Howship. Além das células citadas, o tecido ósseo pode conter adipócitos na sua parte medular⁶⁴.

O tecido ósseo é classificado como primário (imaturo) e secundário (maduro ou lamelar). O osso primário é o primeiro a se formar durante o desenvolvimento fetal e também durante a reparação tecidual de qualquer lesão óssea. O tecido ósseo primário tem aspecto desorganizado com fibras colágenas e células dispostas ao acaso. O osso secundário substituirá o osso primário; é calcificado, composto por lamelas paralelas ou concêntricas, fibras colágenas dispostas paralelamente às lamelas, e osteócitos aprisionados na matriz óssea calcificada. O osso cortical é bastante denso, situado na superfície externa, constituído por ósteons e por um sistema de lamelas circunferenciais e intersticiais. O osso esponjoso, localizado mais ao centro, é menos denso e constituído por trabéculas ósseas ramificadas, espículas ósseas e medula óssea. A medula óssea é composta por medula óssea vermelha, onde se formam as células do sangue, e por medula óssea amarela constituída principalmente de adipócitos. A superfície externa do osso é recoberta pelo perióstio, responsável por parte da nutrição do tecido ósseo, rico em células osteoprogenitoras; a cavidade central é revestida pelo endóstio²⁶.

No dia a dia, o cirurgião-dentista utiliza ossos de diversas origens para restabelecer defeitos ósseos provenientes de doenças periodontais e várias outras patologias orais e faciais.

A enxertia óssea tem importante papel no tratamento das pseudoartroses, na cicatrização óssea, no preenchimento de cavidades ósseas e nos casos em que ocorre

destruição óssea em decorrência de traumatismos ou ressecções tumorais; cada situação clínica requer um tipo de procedimento, com utilização do tipo de enxerto adequado⁹. A utilização de enxertos ósseos previamente à instalação de implantes é, muitas vezes, necessária para uma reabilitação estética e funcional com prótese sobre-implante⁴¹.

2.3 Enxertia óssea

A enxertia óssea é um procedimento muito antigo. O primeiro registro do uso de enxerto ósseo data de 1668, quando os enxertos eram usados no tratamento de patologias diversas como a consolidação óssea tardia, a não consolidação de fraturas, as pseudoartroses congênitas, os defeitos ósseos pós-traumatismo, as infecções e os tumores¹².

O ideal é que o enxerto tenha resistência mecânica, seja de preparo simples, de suficiente disponibilidade, de baixo custo, de fácil estocagem e transporte, além de apresentar boa capacidade osteogênica e de incorporação, sem reações de rejeição^{11,42}.

Outras características que devem estar presentes no enxerto ideal são a osteogênese, osteocondução e osteoindução. A osteogênese é a capacidade de produção direta de tecido ósseo pelas células vivas presentes no osso transplantado. O osso esponjoso, que possui maior superfície coberta por células, tem um maior potencial de osteogênese que o osso cortical²⁸.

Osteocondução é o processo pelo qual o leito receptor infiltra o enxerto com capilares, levando precursores osteogênicos, dentre eles células osteoprogenitoras que se diferenciarão em osteoblastos, para o novo tecido²⁴. O termo osteocondução aplica-se ao processo tridimensional observado quando estruturas porosas são implantadas no osso ou adjacências. O processo é caracterizado por um crescimento inicial de tecido fibrovascular que invade a estrutura e é seguido por deposição de osso novo diretamente sobre ela. O substrato osteocondutor não é viável, mas age como um arcabouço passivo cuja presença direciona o crescimento interno de osso e de tecido fibrovascular¹⁴.

Já a osteoindução é o processo através do qual um tecido atua no outro para induzir a diferenciação celular⁷⁸.

Os enxertos podem ser divididos de acordo com sua natureza e denominados conforme a terminologia moderna em: autoenxertos (enxerto autógeno), quando a origem é o próprio indivíduo; aloenxertos (enxerto homogêneo), quando originado de indivíduo da mesma

espécie, porém com características genéticas diferentes; isoenxertos ou enxerto singênicos, quando oriundos de indivíduos geneticamente indênticos; e xenoenxertos, quando advindos de indivíduos de espécies diferentes⁵⁴. Podem ser classificados ainda em ortotópico, quando transplantado no receptor para o mesmo lugar que ocupava no doador; heterotópico, quando transplantado no receptor para um local diferente do que ocupava no doador, porém ocupando o mesmo tipo de tecido; e ectópico, quando transplantado para um local ocupado por um tipo de tecido diferente de seu tecido de origem¹². Considerando os enxertos ósseos, estes podem ser enxerto de osso cortical, de osso esponjoso ou de osso total⁵⁴.

Baseado nas características que devem estar presentes em um enxerto ideal, o melhor enxerto é o osso autógeno por causa da presença de células imunocompatíveis e osteogênicas. Porém, este enxerto apresenta limitações em relação ao uso, por necessitar de um procedimento cirúrgico a mais, para obtenção do osso autógeno, e por apresentar osso limitado, necessário em reconstrução de grandes segmentos³⁵. A obtenção de auto-enxerto é, por vezes, revestida de alguma morbidade e nas crianças a quantidade de enxerto é freqüentemente insuficiente²⁰.

A necessidade de encontrar material de enxerto para corrigir as falhas ósseas criadas no esqueleto vem crescendo dia a dia. Devido a esta necessidade de se obter osso suficiente para a correção de grandes deformidades craniofaciais, inúmeros métodos inovadores são utilizados e testados. Dentre os materiais orgânicos, observa-se a utilização, em substituição ao enxerto autógeno, dos enxertos homogênicos, provenientes de vários tipos de tratamento.

2.3.1 Enxerto Homólogo (aloenxerto ou homólogo)

Ao longo dos anos, diversos órgãos e tecidos do corpo humano perdem progressivamente sua capacidade de funcionamento, seja pelo processo normal de envelhecimento ou por causa de alguma doença. Há então uma grande demanda de reposição desses órgãos, que hoje em dia é atendida por programas de transplante⁵⁸.

O uso de tecidos homólogos para transplante vem aumentando consideravelmente nesta última década. Técnicas cirúrgicas aprimoradas, desenvolvimento de drogas imunossupressoras e os avanços gerais da Medicina, vêm facilitando o uso de vários órgãos para transplante em pacientes, como por exemplo, rins, coração, pulmão, fígado, córneas e ossos⁶³.

O espectro de uso desses homoenxertos é bastante amplo, podendo ser utilizados em cirurgias de ressecção de tumores de coluna, traumas e em todos os procedimentos cirúrgicos que necessitem grande quantidade de enxerto ósseo⁴⁷.

A história do uso dos aloenxertos começa na antiguidade, mais precisamente em uma lenda. Os patronos do uso de aloenxertos são Cosme e Damião, gêmeos que nasceram no século III em uma ilha próxima a Cecília. Cosme era médico e Damião era cirurgião. A dupla realizou diversos procedimentos não usuais àquela época, o que irritou o imperador de Roma Deocleciano que os condenou à morte por decapitação, no ano de 287. No século V, um fervoroso membro do comando da igreja, portador de um tumor na perna e exausto de sofrimento, adormeceu durante suas preces. Os gêmeos apareceram em seu sonho e realizaram uma cirurgia. Ressecaram o membro doente e o substituíram pelo membro inferior de um mouro que havia morrido naquele dia, curando assim o religioso⁴².

Cientificamente, a primeira utilização bem-sucedida de aloenxerto ósseo foi descrita por Maceween em 1880, quando realizou um enxerto ósseo alógeno em uma criança de quatro anos⁵¹.

Nos tempos modernos, a primeira grande série de uso de aloenxertos foi descrita por Lexer (1908), apud Moreau, Gallois, Baslé, Chappard³⁶. O autor relata o transplante de vinte e três articulações totais e onze hemiarticulações em joelhos. Estes pacientes foram, posteriormente, avaliados e houve 50% de sucesso.

Uma série de outros relatos sucedeu-se, mas foi em 1960 que descrições de diversas casuísticas apareceram. O motivo do novo interesse no procedimento foi a descoberta por Herndon, Chase³¹, Bonfiglio, Jeter, Smith⁵ e Curtiss Junior, Powell, Herndon¹⁵ de que a imunogenicidade do aloenxerto poderia ser reduzida por meio da congelação dos mesmos. Num curto período de tempo, uma série de casos relatados por Ottolengui⁵⁵ e Parrish⁵⁶ demonstrou que não só o procedimento era possível, como poderiam se esperar bons resultados em mais da metade dos casos, em curto período de seguimento.

Em 1971, os membros da Unidade de Ortopedia Oncológica do Hospital Geral de Massachusetts, baseados no conhecimento do mecanismo imune e em estudos de animais, tentaram definir o comportamento ideal para um aloenxerto ósseo. Os autores descreveram que o osso a ser implantado deveria: ser desvitalizado através da crioconservação, estocando-se o osso fresco criopreservado por longos períodos; conservar resistência suficiente *in vivo* para prover estabilidade ao esqueleto; unir-se ao receptor de maneira vagarosa, porém

contínua; e desencadear limitada ou nenhuma reação imune, devido a sua prévia crioconservação²⁴.

Com o advento dos bancos de tecidos e, principalmente, dos bancos de ossos, o uso de enxertos ósseos alógenos nas reconstruções ortopédicas e craniofaciais tornou-se uma prática comum⁸⁰.

Têm-se relatado como maiores vantagens no uso de homoenxertos preservados a redução do tempo de cirurgia e anestesia, da perda sanguínea, das potenciais complicações relativas ao local da doação de auto-enxertos como infecções, hematomas, lesões vasculares e nervosas, instabilidade da articulação sacroilíaca, deformidade cosmética e a dor crônica atribuída aos locais de doação²⁰.

Um caminho natural é a busca de métodos de preservação de enxerto homólogo e a constituição de bancos de ossos. Nesses casos, a variação é grande com relação aos tipos de enxerto, ao osso utilizado – se cortical, esponjoso ou misto – ao formato, ao método de fixação, ao tipo de preparo, bem como à estocagem^{2,4}.

Várias técnicas de preservação de homoenxertos ósseos já foram descritas, entre elas, a utilização de ossos congelados a baixas temperaturas (aproximadamente 20°C negativos), ultrabaixas temperaturas (em torno de 70°C negativos), uso de ossos liofilizados, ossos preservados em substâncias químicas como álcool, glicerina, solução de betapropiolactona e mertiolato, enxertos submetidos à esterilização com gás de óxido de etileno, autoclavação e irradiação^{25,34,37,45,62}.

Acredita-se que homoenxertos congelados obtidos em condições assépticas funcionam como uma plataforma para a formação de osso novo, agindo mais como osteocondutor que como osteoindutor^{48,73}. Além disso, os enxertos ósseos congelados podem ser reabsorvidos e transformados com mais facilidade do que os tratados com substâncias químicas, que são muito difíceis de ser removidas⁷.

O congelamento a temperaturas em torno de 70°C negativos diminui marcadamente a antigenicidade dos enxertos, além de promover a preservação dos ossos por longos períodos³⁰.

Estudos mostram que o HIV e outros retrovírus não são sensíveis às baixas temperaturas e, portanto, não são inativados pelo processo de criopreservação. Porém, numerosas publicações evidenciaram a eficácia do uso de agentes químicos e térmicos e de irradiação gama e delta, como métodos alternativos para a desinfecção viral⁷⁶. Embora estes métodos apresentem como desvantagens a alteração das propriedades físicas e do potencial

osteogênico dos aloenxertos, eles são comumente utilizados, pois são eficazes na desativação viral³.

Esterilizar aloenxertos com doses baixas ou moderadas de irradiação gama, é uma prática freqüente nos bancos de tecidos. A dose total de irradiação usada pela maioria dos bancos de tecidos dos Estados Unidos da América varia entre 10 e 25 kGy. Uma dose de 25 kGy provê um nível de esterilização de 10^{-9} para a maioria das bactérias, porém é insuficiente para a inativação do vírus HIV, de outros vírus radio-resistentes e de alguns esporos de bactéria²⁴. Buck, Resnick, Shah e Malinin¹⁰ confirmam que o HIV pode ser isolado em culturas de ossos e tendões de indivíduos com AIDS. Fideler, Vangness Junior, Moore, Li, Rasheed²¹, estudando o efeito de diferentes doses de irradiação gama, variando entre 20 a 40 kGy, em osso de patela, observaram que o DNA do vírus não foi destruído com irradiação em doses de 25 kGy, entretanto o DNA do HIV não foi detectado em enxertos irradiados com doses de 30 a 40 kGy. Concluíram os autores, que a dose de irradiação necessária para a esterilização de osso patelar criopreservado deve ser de 30 kGy ou mais.

2.4 Aplicação da osteotomia em Odontologia

A osteotomia é o procedimento que apresenta maior dificuldade durante a operação e também o que exige mais tempo e maiores cuidados. Esta manobra é utilizada muito freqüentemente em especialidades como Periodontia, Implantodontia e Cirurgia Buco-maxilo-facial. Podendo-se observar, para realização dessa técnica, o uso de brocas montadas em motor elétrico, na baixa rotação ou na alta rotação, assim como a utilização de cinzéis e martelo. O uso de brocas para a realização de osteotomias apresenta certas vantagens, como a ausência de trauma mecânico causado pelo cinzel e martelo e, rapidez no procedimento.

Uns dos primeiros estudos, analisando osteotomias, observaram por comparações histológicas entre brocas de alta e baixa rotação⁶, instrumentação ultrassônica e cinzéis³² que necrose óssea ocorre na superfície da estrutura óssea que tenha sido submetida a trauma por qualquer um dos meios empregados.

Gertzbein, deDemeter, Cruickshank e Kapasouri²⁷ realizaram um estudo comparativo entre osteotomias feitas por serra para osso e por laser de CO₂ (50 W) em fêmures de ratos. Os resultados foram analisados microscopicamente e radiograficamente após 6, 8, 10, 14 e 18

semanas. Tanto na microscopia de luz, quanto na análise radiográfica, o grupo do laser de CO₂ mostrou uma cicatrização mais demorada. Mesmo ao final do experimento, nenhum dos animais do grupo do laser mostrou um reparo completo. Nesse mesmo grupo, foi observada microscopicamente a presença de fragmentos ósseos carbonizados e uma maior destruição tecidual. Os autores concluíram que embora o laser de CO₂ seja um instrumento importante em cirurgias ortopédicas, devido ao fato de provocar pouco sangramento durante o corte ósseo, característica especialmente importante em cirurgias de ressecções de tumores ósseos e também naqueles pacientes com distúrbios de coagulação, deve-se esperar por uma cicatrização mais demorada e por uma maior destruição tecidual.

Okamoto, Carvalho, Saad Neto e Carvalho⁵³ tiveram por objetivo estudar, em nível histológico, os efeitos da osteotomia sobre a reparação óssea, empregando-se 18 cães. Após incisão e deslocamento do retalho, foram preparadas duas cavidades, em ambos os lados da mandíbula: cavidade 1 - com alta rotação, sem resfriamento; cavidade 2 - com alta rotação, com resfriamento; cavidade 3 com baixa rotação, com resfriamento; cavidade 4 - com cinzel, com pressão a martelo. Os animais foram sacrificados a 2 horas, 2, 10, 20 e 60 dias após o ato cirúrgico. Com exceção do primeiro período (2 horas) que teve apenas 2 cães, os demais foram constituídos de 4 para cada período. As peças obtidas sofreram o tratamento laboratorial de rotina para se obter lâminas coradas com hematoxilina e eosina, para o estudo histológico. Concluiu-se que na cavidade óssea preparada com baixa rotação com resfriamento, ocorreu atraso mais acentuado na reparação óssea; comparativamente este reparo foi menos retardado na cavidade óssea preparada com broca sob alta rotação com resfriamento. Diante destes resultados, pode-se verificar que a reparação das cavidades realizadas com broca sob alta rotação com resfriamento e com cinzel e martelo foram semelhantes.

Wise⁸¹ demonstra que em cirurgias a retalho associada a osteotomia / osteoplastia houve pouca variação (0,1 a 0,3mm) na posição da margem gengival definida após a sutura e comparada após 2 a 3 meses da cirurgia.

Outro estudo posterior, mas que indagava a técnica da osteotomia foi realizado por Lopes³⁹. Este estudo teve como objetivo, analisar histologicamente, em mandíbulas de cães, o processo de reparação óssea de defeitos produzidos cirurgicamente com broca tronco-cônica, serra oscilatória e serra recíprocante. Foram utilizados onze cães e em cada um deles confeccionou-se, bilateralmente, defeitos ósseos de 5 mm de profundidade. Os animais foram divididos em três grupos e sacrificados nos períodos pós-operatórios de 10, 20 e 40 dias. A

análise dos espécimes sob microscopia de luz revelou neoformação óssea em todas as amostras dos três grupos, embora exibindo índices diferentes. O grupo broca tronco-cônica apresentou menor índice de reparação óssea quando comparado aos grupos serra oscilatória e serra reciprocante. Esta diferença foi mais expressiva nos períodos pós operatórios de 10 e 20 dias.

Fedeli Junior, Phillipi, Girardi e Brandl¹⁹ avaliaram o processo de reparação óssea após osteotomias realizadas com instrumentos rotatórios cortantes em alta e baixa rotação convencionais (utilizados em consultórios odontológicos), e com um micromotor utilizado em Implantodontia. As osteotomias foram realizadas nas tíbias diretas de 45 ratos machos (*Rattus Noveregicus Albinus*), todas sob constante irrigação com solução salina. O estudo histológico realizado permite afirmar que nos períodos analisados (9, 16 e 24 dias), o grupo em que foi utilizado o micromotor para implante na realização das perfurações óssea verificou mais avançado o processo de reparação do que os outros dois grupos. A osteotomia é uma manobra utilizada muito frequentemente em cirurgia buco-maxilo-facial. O uso de brocas para a realização de osteotomias apresenta certas vantagens, como a ausência de trauma mecânico causado pelo cinzel e martelo, rapidez no procedimento, proporcionando uma osteotomia sem irregularidades de contorno.

Lopes e Lopes³⁸ compararam biometricamente em humanos a reparação periodontal (osso alveolar, margem gengival e espaço biológico) após cirurgia de aumento de coroa clínica associada à osteotomia / osteoplastia realizada com instrumentos manuais e rotatórios. Para tanto, 15 pacientes fornecendo um total de 64 dentes sendo 34 na técnica rotatória e 30 na manual fizeram parte do estudo. Os resultados demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significantes na posição da crista óssea, margem gengival e extensão do espaço biológico neoformado entre as duas técnicas propostas nas faces proximais e vestibulares.

Toledo⁷⁵ analisou em nove suínos da raça Large White o processo de reparo ósseo após osteotomia com instrumento rotatório de baixa e alta velocidade, com e sem refrigeração líquida. Os autores observaram, através de análise histopatológica duplo cega, que em todos os tempos operatórios analisados, o reparo ósseo se processou mais adequadamente quando as osteotomias foram realizadas com refrigeração líquida. Nos tempos pós-operatórios finais, de quatorze e vinte e oito dias, os melhores resultados de reparo ósseo foram observados nas osteotomias realizadas com brocas de baixa rotação e com refrigeração líquida, ao passo que no tempo pós-operatório de sete dias, os resultados do reparo ósseo de osteotomias realizadas

com brocas de alta rotação e com refrigeração líquida foram discretamente melhores. Os autores consideram, ainda, que o processo de reparo ósseo em suínos mostra maior proximidade nos quadros histológicos entre as variáveis estudadas, quando comparado com outros modelos biológicos. Como a maioria dos trabalhos relatados na literatura se refere a utilização de cães, os autores consideram que o presente trabalho garante sua importância no sentido de se buscar um modelo mais próximo do homem.

Monti⁴⁹, avaliou por meio de exames radiográficos digitais e densitométricos, a influência do tipo de instrumento rotatório para corte, no processo de reparação óssea após osteotomias em mandíbula de suíno em tempos controlados. Foram utilizados para o estudo oito suínos da raça Large White, com peso corpóreo inicial variando de 25 a 30 Kg. Dois cortes transversais do meio à base de mandíbula direita foram realizados, um por meio de instrumento rotatório de alta rotação e o outro pela ação da baixa rotação, ambos com irrigação líquida. Após períodos pré-estabelecidos (7, 28, 60 e 90 dias) os animais foram sacrificados e suas mandíbulas retiradas para estudos radiográficos digitais diretos e indiretos, pelo sistema DIGORA e ODR e de densitometria óptica por imagens radiográficas pelo sistema CROMOX. Nos períodos iniciais (7 e 28 dias) as densitometrias foram maiores na região das osteotomias realizadas com alta rotação e nos períodos finais (60 e 90 dias) as densitometrias foram maiores nas osteotomias feitas com baixa rotação, indicando uma melhor reparação óssea final quando do uso de baixa rotação. A análise qualitativa do processo de reparação foi feita pelo sistema ODR, que possibilitou a obtenção de imagens digitais tridimensionais e coloridas, permitindo comparação das espessuras ósseas com as de uma cunha de alumínio, evidenciando que aos sessenta dias a reparação óssea estava aparentemente completa. Os histogramas do DIGORA apontaram valores de médias de nível de cinza nas áreas de osteotomia, evidenciando uma maior quantidade de tons de cinza nas osteotomias de alta rotação nos primeiros tempos, e nas osteotomias com baixa-rotação nos tempos finais.

Pereira⁵⁹ comparou clinicamente o emprego de caneta de alta e baixa rotação observando qual destes recursos de diérese traz menor morbidade para os pacientes, em cirurgias de remoção terceiros molares inferiores inclusos. Foram selecionados dezesseis pacientes, que apresentavam os dentes 38 e 48 inclusos com a mesma classificação de Pell e Gregory e Miller-Winter. Estes dentes foram removidos na mesma sessão, utilizando-se a alta rotação em um lado e a baixa rotação no outro. Foram avaliados dor, edema, trismo, tempo de cirurgia, presença de infecção, parestesia e preferência do paciente no trans-operatório quanto

ao lado operado. Em relação à dor no pós-operatório, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as regiões operadas.

Silva Junior, Silva e Ponzi⁷⁰ compararam, em sua pesquisa, a cirurgia a cinzel e martelo a cirurgia com brocas cirúrgicas montadas em motor elétrico. Esta pesquisa teve como objetivo investigar a influência da técnica cirúrgica na intensidade do edema no pós-cirúrgico imediato, em 3 dias e em 7 dias. O presente estudo envolveu 30 pacientes totalizando 83 intervenções cirúrgicas para exérese de 3º molar impactado. Não foi encontrada diferença significativa entre o grupo submetido à cirurgia a cinzel e martelo e o grupo operado com brocas cirúrgicas montadas em motor elétrico, sendo $p > 0,05$, rejeitando-se a hipótese de influência da técnica utilizada sobre a evolução do edema neste estudo.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve como objetivo avaliar microscopicamente os fragmentos ósseos irradiados e congelados a 80°C negativos de coelho obtidos por diferentes métodos de osteotomia e de irrigação.

4 METODOLOGIA

4.1 Considerações Éticas

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, o qual obteve parecer favorável para a execução do mesmo (Parecer nº 287/2008).

4.2 Tipo do Estudo

O estudo é do tipo Experimental *in vitro*.

4.3 Variáveis

4.3.1 Dependente

- Estrutura óssea.

4.3.2 Independentes

- Osteotomia realizada pela broca esférica nº 6 em alta rotação com irrigação manual;
- Osteotomia realizada pela broca esférica nº 6 com motor cirúrgico à 1500 rpm com irrigação manual;
- Osteotomia realizada por trefina com irrigação manual;
- Osteotomia realizada por trefina com irrigação com bombas peristálticas de motor cirúrgico.

4.4 Amostra

Foi utilizado 01 (um) coelho, adulto, macho, da raça New Zealand, com peso corpóreo entre 3,0 e 3,5 kg, com idade entre 05 e 06 meses, adquirido no Biotério da Universidade

Federal de Pernambuco e transportado por via aérea seguindo as normas de transporte de animais do Ministério da Agricultura. O animal foi mantido no Biotério do Centro de Biociências, administrado pelo Departamento de Biofísica e Farmacologia da UFRN, sendo mantido em gaiola, alimentado com ração balanceada e água *ad libitum*.

O animal foi sacrificado para obtenção dos ossos longos, que foram preparados para compor o banco de ossos.

4.5 Local da pesquisa

Local da Pesquisa	Atividade
Biotério do Centro de Biociências/ UFRN	Manutenção do animal.
Laboratório de Técnicas Histológicas/DMOR/UFRN	Sacrifício do animal, preparação dos espécimes ósseos, preparação e análise de lâminas histológicas.
Laboratório de Neuroanatomia/CB/UFRN	Congelamento dos ossos.
Departamento de Energia Nuclear/ UFPE	Irradiação dos ossos.
Clínica do Mestrado/DOD/UFRN	Osteotomias.
Laboratório de Ensaio de Materiais do CT-Gás/Natal-RN	Avaliação com Microscopia Eletrônica de Varredura.

Tabela 1: Locais da pesquisa e atividades realizadas.

4.6 Protocolo de formação do banco de osso

4.6.1 Osso Utilizado

Os ossos foram retirados em sala apropriada no Departamento de Morfologia, logo após a parada dos batimentos cardíacos do coelho, provocado por dose letal de anestésico Ketamina (anestésico Ketamina Agener®), administrado por via intramuscular, utilizando seringas descartáveis de 05cc, obedecendo a rigorosas técnicas assépticas. Utilizando técnicas cirúrgicas convencionais, realizamos tricotomia, degermação da pele com solução degermante

de PVPI, colocação de campos cirúrgicos e, através de incisão longitudinal no membro, os ossos foram retirado com auxílio de instrumentos cirúrgicos convencionais (Figura 1).



Figura 1: Ossos obtidos (tíbia, fêmur, úmero) que foram submetidos à esqueletização.

Os ossos obtidos (tíbia, fêmur, úmero) foram submetidos à esqueletização, que consistia na remoção de todas as partes moles.

Os procedimentos cirúrgicos do estudo foram supervisionados pelo médico-veterinário Tarcísio Alves Barreto Filho (CRMV 0382/RN), aluno curso de especialização em Ciências Morfológicas da UFRN.

4.6.2 Processamento ósseo e Armazenagem

Após coleta e limpeza, os ossos foram medidos com paquímetro estéril e armazenados individualmente em tubos tipo Falcon de 50 ml (Figura 2), aos quais foram adicionados 40 ml de peróxido de hidrogênio 3%. Em seguida, os tubos foram levados a um agitador de tubos ajustado em velocidade média, por cinco minutos. Transcorrido o tempo, o peróxido de hidrogênio foi substituído por uma mistura de clorofórmio-metanol PA 2:1 (v/v). Os tubos eram, novamente, levados ao agitador de tubos, por mais cinco minutos. Após, os tubos eram colocados em aparelho ultrassom por trinta minutos. Na seqüência, a mistura de clorofórmio-

metanol era substituída por soro fisiológico, e os tubos foram novamente agitados por cinco minutos.



Figura 2: Ossos embalados em Falcon após processamento e esqueletização.

Após o processamento, os ossos obtidos foram individualmente acondicionados em tubos Falcon de 15 ou 50 ml e embalados em envelopes para autoclave, identificados com tipo do osso e data. Os tubos foram armazenados em freezer a -80°C (Figura 3) por no mínimo sete dias.



Figura 3: Tubos foram armazenados em freezer a -80°C .

4.6.3 Irradiação

Os fragmentos ósseos, acondicionados em tubos tipo Falcon 15, embalados em envelopes para autoclave, foram colocados em um recipiente contendo gelo seco e transportados pelo mestrando Pedro Henrique de Alencar e Silva Leite até o Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, onde foi realizada a esterilização. As amostras receberam radiação gama (Cobalto-60), em irradiador Multipropósito, na dose de 30 kGy (Figura 4). Após a irradiação, os ossos foram mantidos a -80°C em freezer por um período mínimo de uma semana.



Figura 4: Irradiador Multipropósito emissor de radiação gama (Cobalto-60), utilizado na dose de 30 kGy.

4.7 Osteotomia óssea

Os ossos do banco foram seccionados em 24 peças ósseas divididos em grupos de acordo com a técnica utilizada: no grupo G1 (n=06) foi realizado a osteotomia com broca esférica nº 6 formando anéis com 5 mm de espessura com caneta de alta rotação com irrigação manual; no grupo G2 (n=06) foi realizado a osteotomia com broca esférica nº 6 formando anéis com 5 mm de espessura com motor cirúrgico com irrigação manual a uma rotação de 1500 rpm. Para a avaliação da irrigação foi usada uma broca trefina de 5 mm, em outros dois

grupos: GA (n=06), osteotomia usando irrigação manual com soro fisiológico; e GB (n=06), osteotomia usando soro fisiológico proveniente de bombas peristálticas do motor cirúrgico.

4.8 Análise das peças anatômicas

Imediatamente após a osteotomia se iniciou o processamento das peças para análise sob Microscopia Eletrônica de Varredura e Histologia sob Microscopia de Luz.

Das 06 (seis) peças cortadas, cinco foram destinadas à análise em microscopia de luz. As lâminas foram confeccionadas a partir de cortes seriados dessas peças, totalizando 03 lâminas para cada fragmento ósseo obtido. Imagens de áreas de interesse foram obtidas por meio de fotografia digital direta a partir do microscópio óptico.

A análise histológica realizada através do estudo descritivo dos cortes histológicos levou em consideração a presença ou ausência de tecido carbonizado.

A peça 01 de cada grupo foi analisada em microscopia eletrônica de varredura (MEV) em aumentos e posições diferentes. Nesta análise, levou-se em consideração apresentação dos critérios: Aspecto da Superfície das bordas; Presença de microfissuras e *Smear Layer* no bloco ósseo.

4.8.1 Preparação para a Microscopia de Luz

Imediatamente após a obtenção das peças, as mesmas foram colocadas em recipientes identificados contendo solução de formalina 10% tamponada. Após a fixação por um período de 24 horas, as peças foram descalcificadas em solução de ácido nítrico a 5%; e submetidas ao processamento de rotina para inclusão em parafina, e coloração por Hematoxilina de Harris e Eosina Alcoólica (HE). Cortes histológicos de 06 μm de espessura foram realizados e cada peça foram obtidas 03 lâminas histológicas.

As lâminas foram observadas no Microscópio Óptico, com lentes objetivas de 10x, 25x e 40x. Procedeu-se a aquisição das imagens para análise histológica morfológica, através de uma lente ocular de 17,5x adaptada ao microscópio óptico, e por uma câmera digital. As imagens obtidas foram calibradas para uma escala micrométrica.

4.8.2 Preparação para a Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

Após perfeitamente secas com bomba a vácuo, as peças ósseas foram embaladas em recipiente estéril e encaminhado para a Avaliação com Microscopia Eletrônica de Varredura no Laboratório de Ensaio de Materiais do CT gás em Natal-RN.

Inicialmente, as peças ósseas foram fixadas com fita de carbono sobre o porta amostras de alumínio, sendo inseridas, logo após, no Metalizador. O Metalizador de Ouro tem por finalidade tornar o material condutor de Elétrons, sendo seu funcionamento da seguinte forma:

- Amostras são inseridas na Câmara de vácuo;
- Dentro da Câmara ocorre redução da pressão a 20 Pa, formando vácuo;
- Abre uma diferença de potencial, tendo como corrente estabelecida para esta diferença 3 mA por 5 min;
- Uma camada molecular de 150 Å de ouro é depositado sobre a superfície da amostra.

Após o Metalizador, as amostras são inseridas dentro do MEV para serem analisadas nos seguintes aumentos:

- Amostra da trefina com irrigação manual ou da trefina com irrigação com bombas peristálticas:

- 20 e 180 vezes na superfície do disco;
- 100, 270 e 600 na lateral do disco.

- Amostras da Alta rotação e Motor cirúrgico à 1500 rpm

- 24 , 600 e 3000 vezes na superfície do anel;
- 24, 100 e 600 vezes na lateral do anel.

As fotos foram identificadas segundo a osteotomia e irrigação efetuada e posição avaliada. Todas as fotos foram gravadas em mídia digital e impressas para a avaliação.

4.9 Análise histomorfométrica

As imagens obtidas pela microscopia de luz dos ossos processados histologicamente foram estudadas com auxílio do software para histometria Image ProPlus 4, com o objetivo de quantificar o perímetro de tecido ósseo carbonizado e de tecido ósseo existente. Nas imagens captadas pela digitalização das lâminas histológicas foram calculado o perímetro do tecido carbonizado e o perímetro do bloco ósseo. Optou-se pela realização do estudo histomorfométrico apenas nas peças obtidas por trefina, pois nestas foi possível obter cortes histológicos representativos de toda a superfície óssea submetida à osteotomia. Nos fragmentos ósseos obtidos por caneta de alta rotação e motor cirúrgico, a superfície mostrava-se bastante irregular e o estudo histomorfométrico comparativo poderia não ser fidedigno.

4.10 Análise estatística

Todos os dados quantitativos obtidos foram confrontados estatisticamente a fim de se comparar as técnicas utilizadas. Cada dado das contagens correspondentes à média \pm sem (desvio padrão da média) de 05 amostras de cada grupo foram submetidos à análise não paramétrica (teste t de Student), considerando-se um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados dos Procedimentos Laboratoriais e da Microscopia Eletrônica de Varredura

Ao avaliar descritivamente o processo de osteotomia, comparando o uso de brocas esférica em caneta de alta rotação (G1) e motor cirúrgico a 1500 rpm (G2), pode-se notar algumas diferenças significativas.

Nos procedimentos laboratoriais pode-se observar que:

- No processo de osteotomia, 100% dos ossos que foram cortados com motor cirúrgico, sofreram fraturas e trincas, enquanto que no grupo alta rotação não houve presença de trincas ou fraturas;
- Em relação ao tempo de osteotomia, o motor cirúrgico (1500 rpm) foi mais lento do que o de alta-rotação numa proporção de 1:4, ou seja, a cada anel cortado com motor eram cortados 4 anéis com alta rotação;
- No caso de corte ósseo com motor cirúrgico, verificou-se maior dificuldade em manter esse trajeto retilíneo, visto que a broca desenvolveu certa tendência a trajetórias específicas, em função do atrito com o tecido ósseo.

Ao analisar a técnica de osteotomia (alta rotação ou motor cirúrgico) utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura observa-se que:

- Em ambos grupos, as superfícies dos anéis e blocos ósseos apresentavam-se com bordas bem definidas ao exame macroscópico, porém, quando em alta magnificação, a borda mostrava-se irregular, áspera e escamosa;
- Maior presença de microfissuras ao corte com alta rotação (Figura 5), porém com ausência de fraturas e trincas no osso;
- Grupo da broca de alta rotação apresentou uma superfície óssea com textura mais homogênea (Figura 8 e 9);

- Podemos verificar falha óssea oriunda de desvio de trajetórias devido ao atrito em osteotomias com motor cirúrgico (Figura 9);
- As áreas com osteotomia são cobertas por uma camada de *smear layer* (resíduos) e numerosas trincas, podendo atuarem como barreira impedindo a agregação celular, o que gera um retardo cicatricial, onde verificou uma maior presença de *Smear Layer* em cortes com motor cirúrgico (Figura 6, 7 e 10).

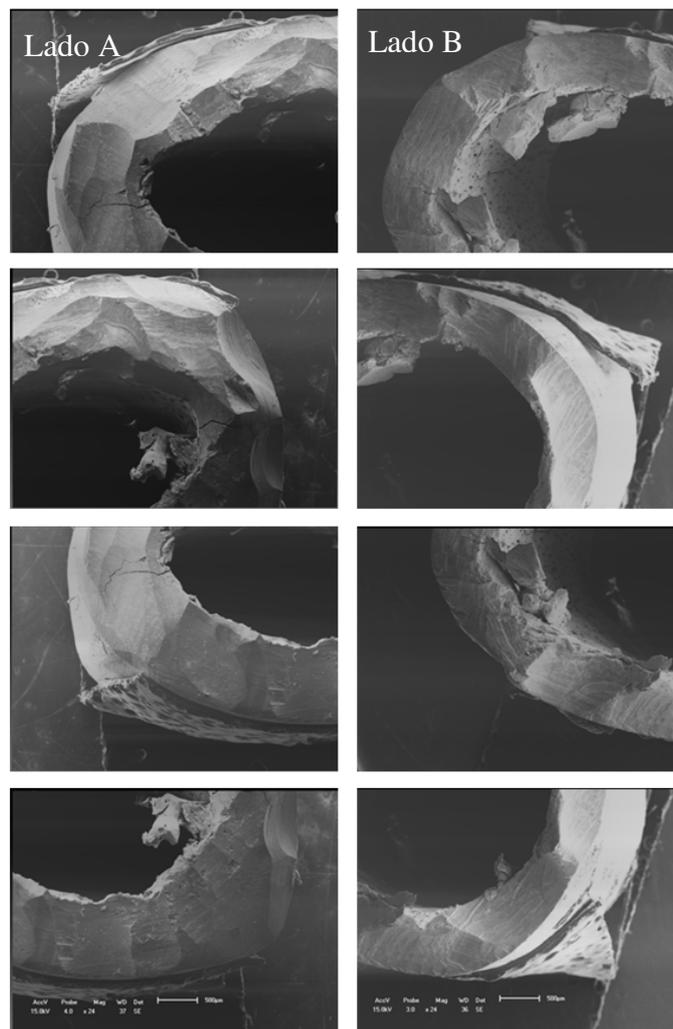


Figura 5: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (LadoB), com aumento em 24 vezes da superfície do anel ósseo.

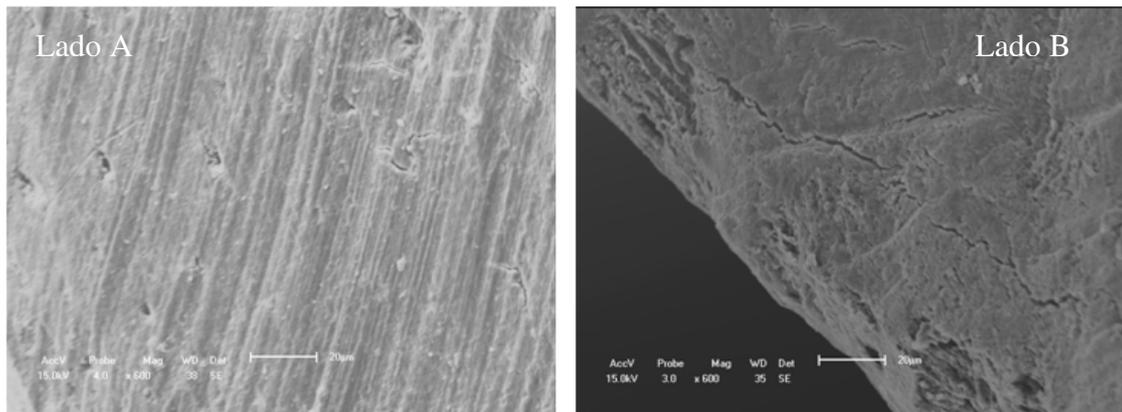


Figura 6: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado B), com aumento em 600 vezes da superfície do anel ósseo.

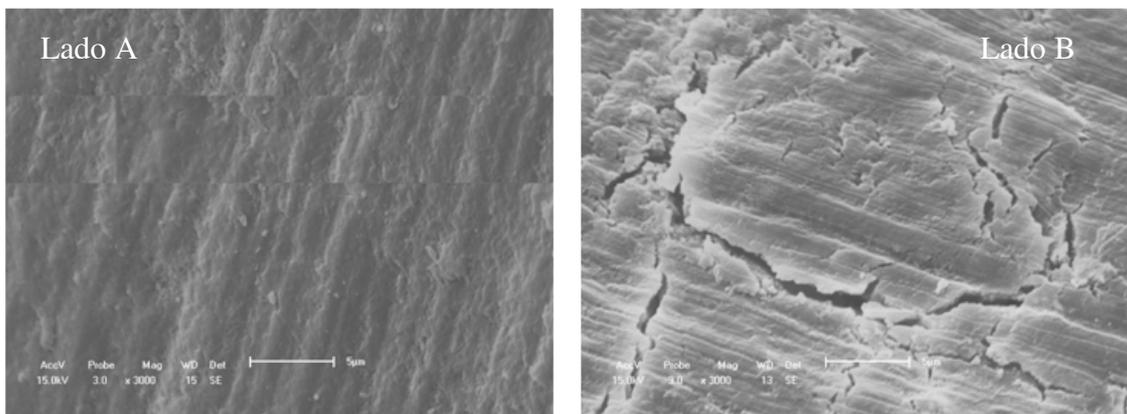


Figura 7: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado B), com aumento em 3000 vezes da superfície do anel ósseo.

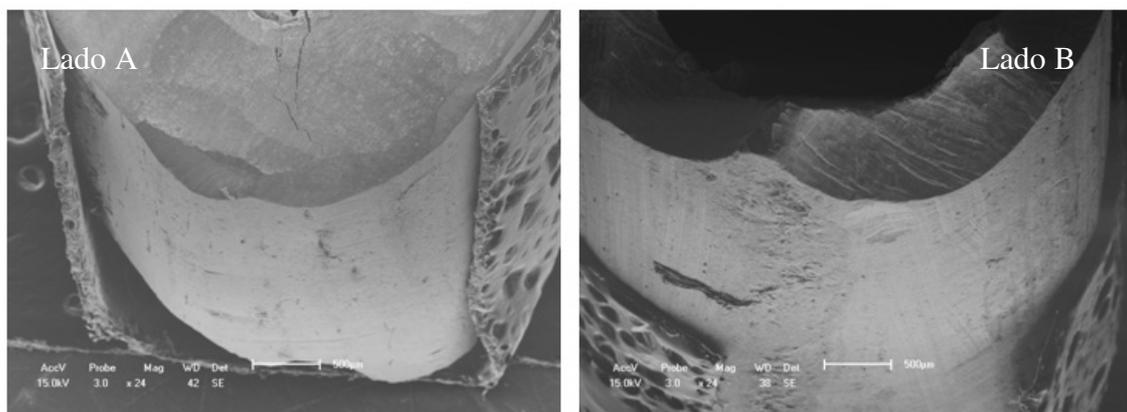


Figura 8: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado B), com aumento em 24 vezes da lateral do anel ósseo.

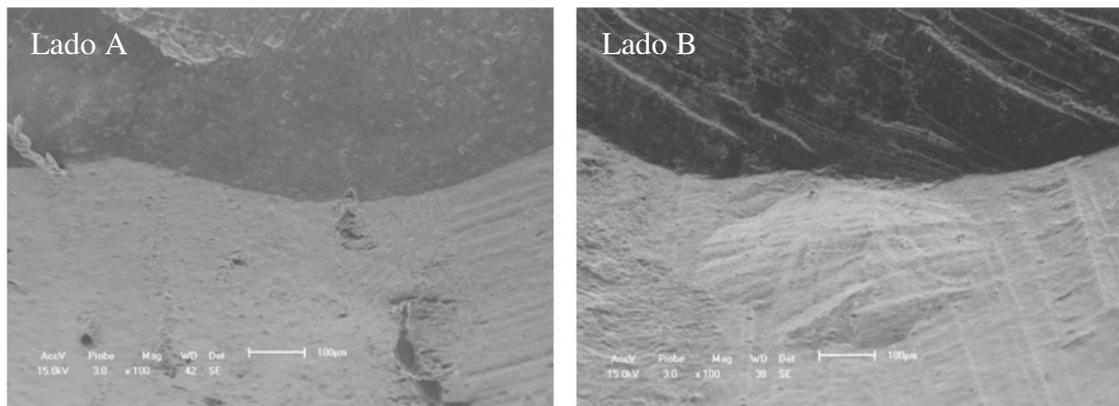


Figura 9: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado B), com aumento em 100 vezes da lateral do anel ósseo.

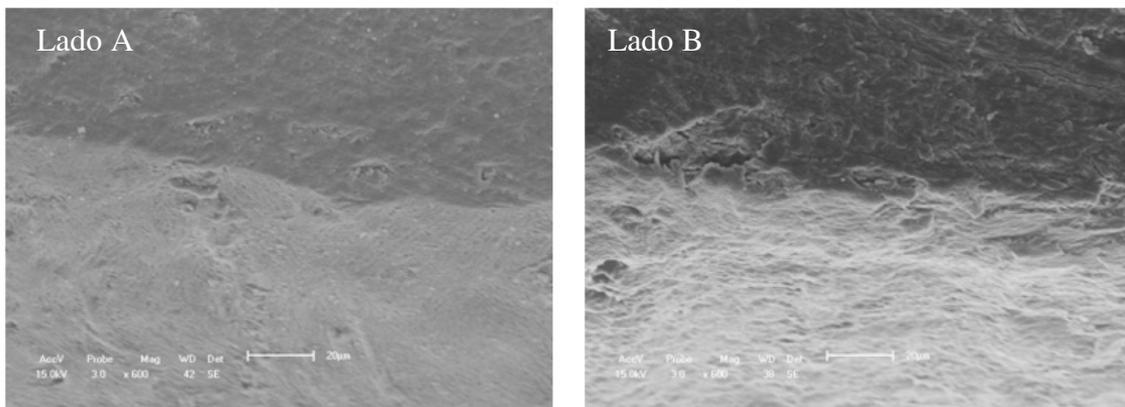


Figura10: Osteotomia com Alta Rotação (Lado A) e Motor Cirúrgico a 1500 rpm (Lado B), com aumento em 600 vezes da lateral do anel ósseo.

Ao avaliar descritivamente o processo de irrigação, comparando o uso bombas peristálticas de motor cirúrgico e a realizada manualmente, pode-se notar algumas diferenças significativas.

Ao avaliar a irrigação, podemos observar, nos procedimentos laboratoriais, que:

- Em relação ao tempo de osteotomia, aquela com irrigação com bomba peristáltica foi mais rápida do que a manual, porque não foi necessário pausa para preencher a seringa.
- No processo de osteotomia com trefina 100% dos ossos apresentou-se íntegro, sem trinca ou fratura, independente da irrigação adotada;

Ao analisar a técnica de irrigação com Microscopia Eletrônica de Varredura:

- Verificou-se que o trajeto não se manteve retilíneo nos dois tipos de irrigação, visto que a broca desenvolveu certa tendência a trajetórias específicas, em função do atrito com o tecido ósseo (Figura 11), todavia a bomba peristáltica promoveu maior regularidade no corte (Figura 13 e 14);
- Nos dois tipos de irrigação foram encontradas microfissuras (Figura 12);
- Na irrigação manual, verificou-se uma discrepância maior entre as linhas de corte, do que com a irrigação realizada por bombas peristálticas (Figura 15 e 16).

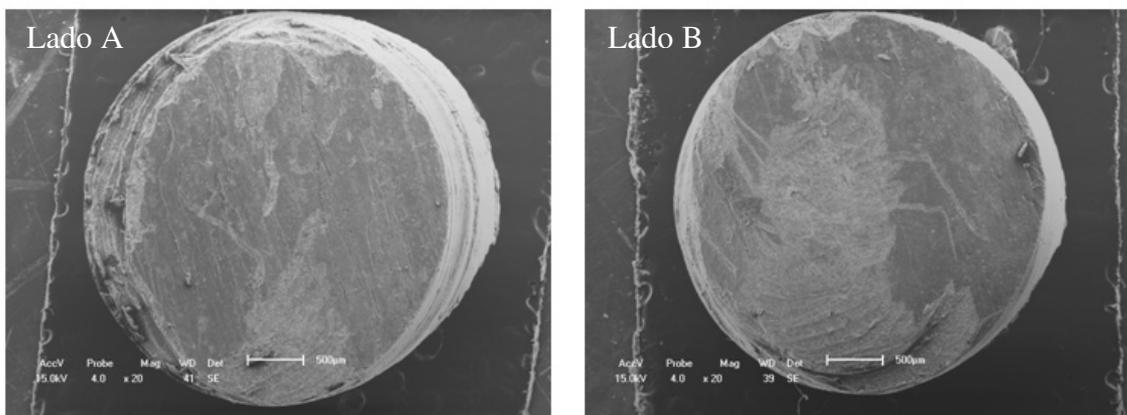


Figura 11: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado A) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado B), com aumento em 20 vezes da superfície do disco ósseo.

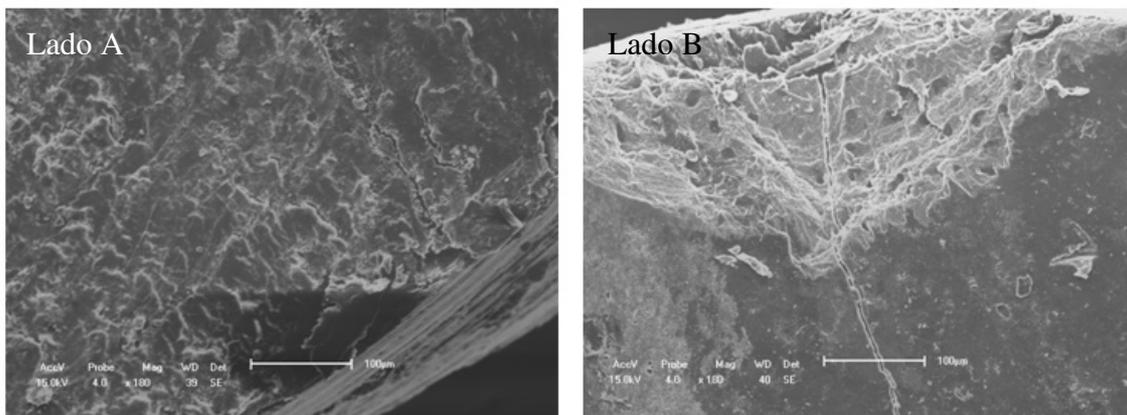


Figura 12: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado A) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado B), com aumento em 180 vezes da superfície do disco ósseo.

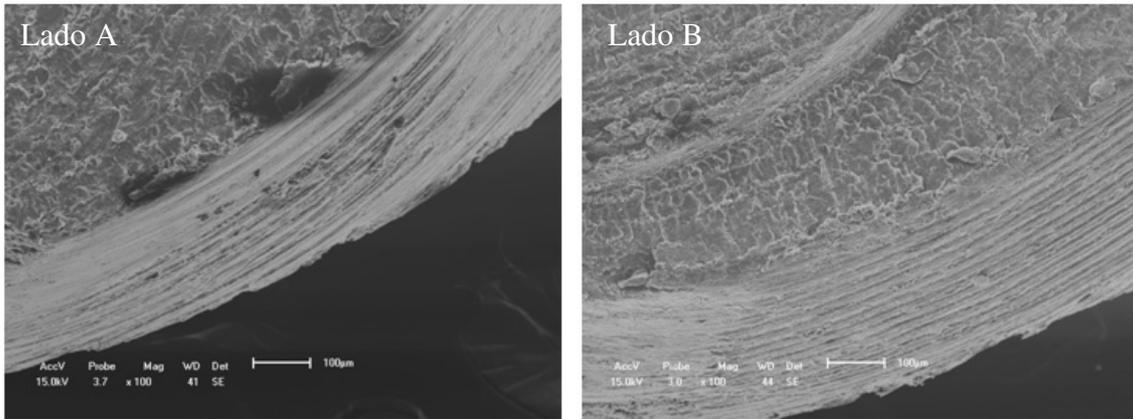


Figura 13: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado A) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado B), com aumento em 100 vezes da lateral do disco ósseo.

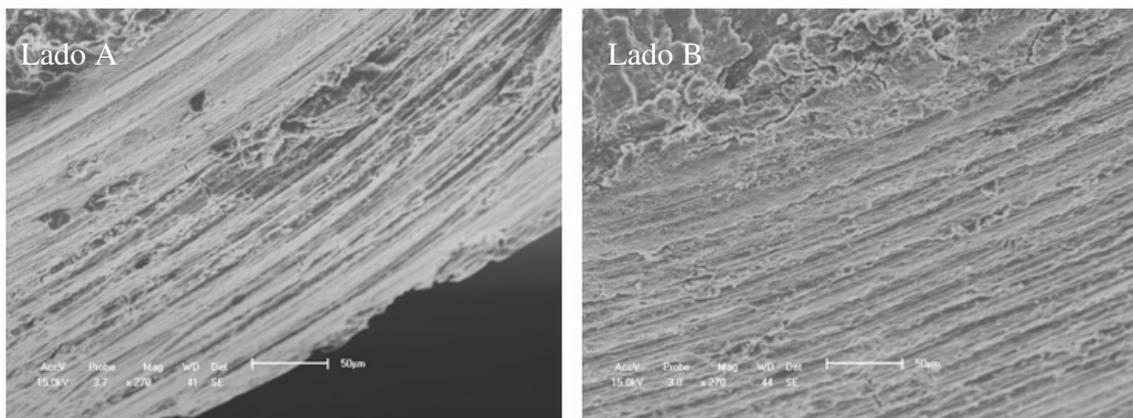


Figura 14: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual (Lado A) e Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico (Lado B), com aumento em 270 vezes da lateral do disco ósseo.

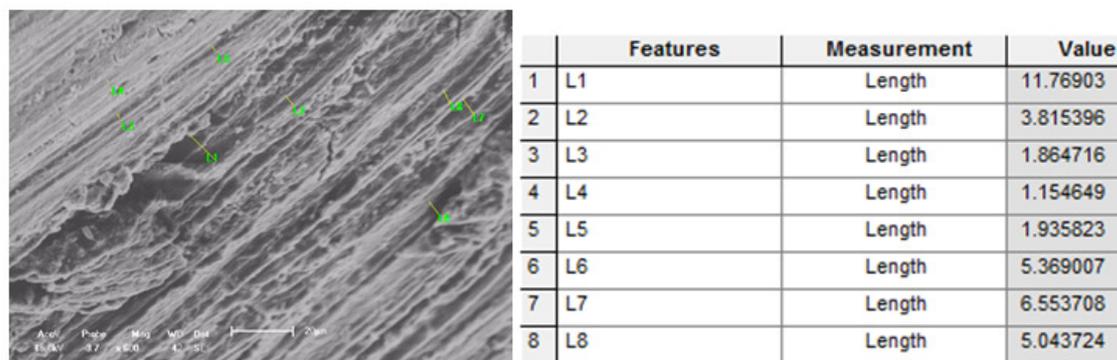
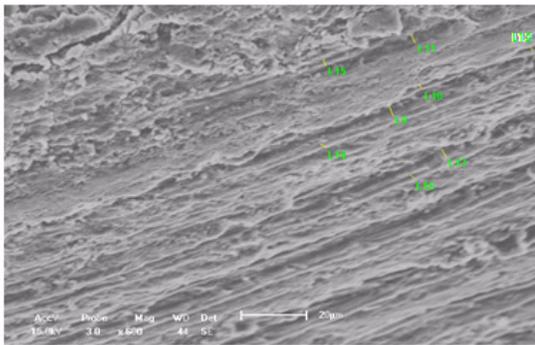


Figura 15: Osteotomia com Trefina usando Irrigação Manual em aumento de 600 vezes da lateral do disco ósseo.

Tabela 2: Valores referentes às distâncias após corte ósseo usando Irrigação Manual (Valores em Micrometro).



	Features	Measurement	Value
1	L9	Length	3.966542
2	L10	Length	1.551223
3	L11	Length	3.537333
4	L12	Length	1.586617
5	L13	Length	3.290641
6	L14	Length	2.754828
7	L15	Length	2.501272
8	L16	Length	1.731650

Figura 16: Osteotomia com Trefina usando Irrigação com Bombas Peristálticas de Motor Cirúrgico em aumento de 600 vezes da lateral do disco ósseo.

Tabela 3: Valores referentes às distâncias após corte ósseo usando Irrigação com Bombas Peristáltica (Valores em Micrometro).

5.2 Resultados da Microscopia de Luz

Ao avaliar descritivamente o processo de osteotomia, comparando o uso de brocas esférica em caneta de alta rotação e motor cirúrgico a 1500 rpm, pode-se notar algumas evidências na Microscopia de Luz, que foram:

- Nas margens dos blocos ósseos mostram uma evidente camada alterada de tecido, composta por um tecido escurecido de aspecto carbonizado, próximo ao osso cortical;
- Nas margens das peças ósseas podem ser observados fragmentos ósseos deslocados durante o corte ósseo;
- Nos fragmentos ósseos obtidos por caneta de alta rotação e motor cirúrgico, a superfície mostrava-se bastante irregular.

Já na avaliação descritiva do processo de irrigação, pode-se notar algumas evidências na Microscopia de Luz que foram:

- Nas margens da peça pode ser visualizada uma camada de tecido carbonizado;
- Nas margens das peças ósseas podem ser visualizados fragmentos ósseos deslocados durante a osteotomia;

- Nos fragmentos ósseos obtidos por trefina, tanto na irrigação manual como na realizada por bombas peristálticas, a superfície mostrava-se bastante regular.

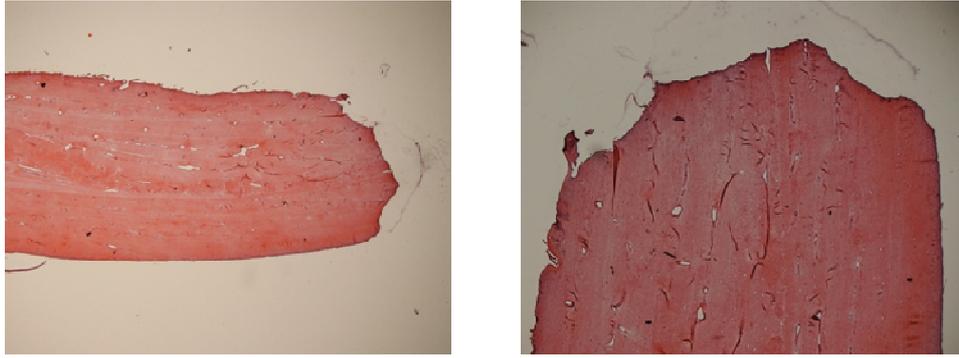


Figura 17: Microscopia Óptica de anéis ósseos que sofreram osteotomia com motor de implante a 1500 rpm – Amostra 3, aumentos de 40x e 100x.

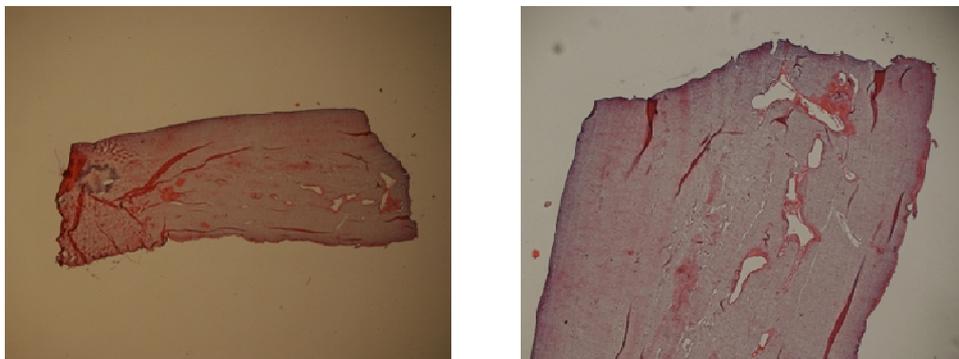


Figura 18: Microscopia Óptica de anéis ósseos que sofreram osteotomia com caneta de alta rotação - Amostra 2, aumentos de 40x e 100x.

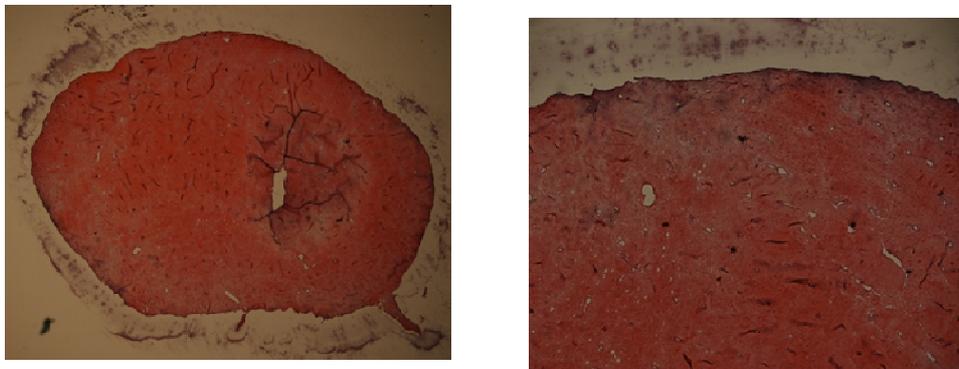


Figura 19: Microscopia Óptica de anéis ósseos que sofreram osteotomia com trefina utilizando irrigação manual Amostra 3, aumentos de 40x e 100x.

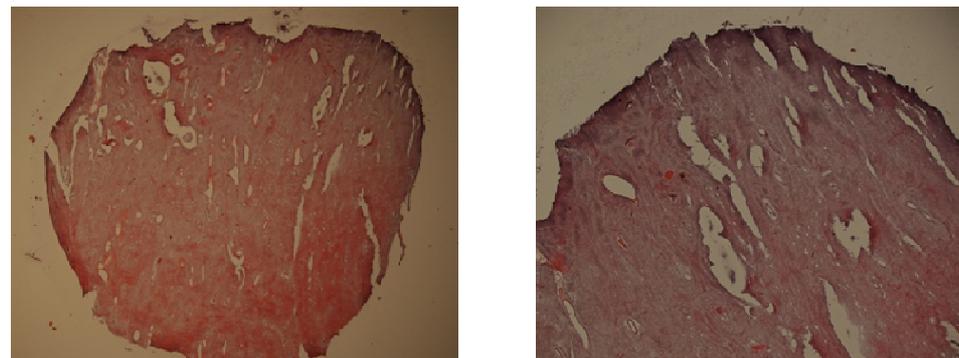


Figura 20 Microscopia Óptica de anéis ósseos que sofreram osteotomia com trefina com irrigação por bombas peristálticas de motor de implante – Amostra 4, aumentos de 40x e 100x.

5.3 Resultados da Histomorfometria

Inicialmente foram selecionadas as imagens obtidas pela microscopia de luz dos ossos processados histologicamente para serem estudadas com auxílio do software para histometria Image ProPlus 4. Este estudo teve como objetivo quantificar a área de tecido ósseo carbonizado para avaliar o perímetro do tecido ósseo existente e o perímetro do tecido carbonizado presente no bloco ósseo. Optou-se pela realização do estudo histomorfométrico apenas nas peças obtidas por osteotomia com trefina usando irrigação manual com soro fisiológico (GA) e nas osteotomia com trefina usando soro fisiológico proveniente de bombas peristálticas do motor cirúrgico (GB).

5.3.1 Histomorfometria de amostras do grupo de osteotomia com trefina com Irrigação Manual (GA).

Para esta análise, foram selecionadas 05 amostras. Todas as amostras (Grupo GA e Grupo GB) foram retiradas no mesmo osso. Os estudos histomorfométricos geraram imagens e valores referentes ao perímetro da peça óssea analisada e o perímetro do tecido carbonizado.

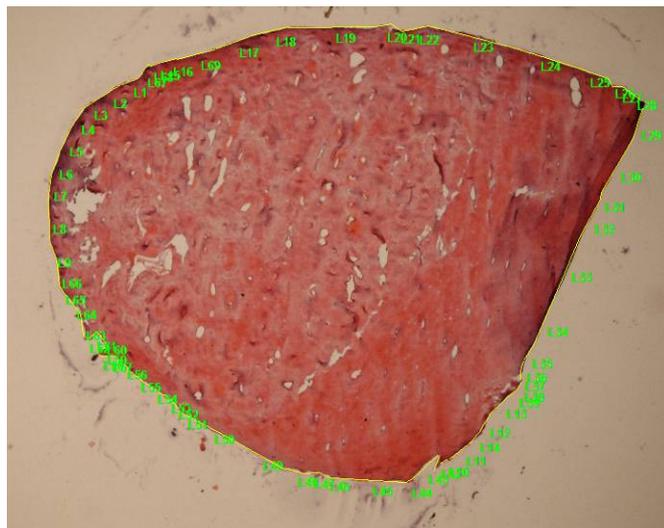


Figura 21: Perímetro da amostra do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.

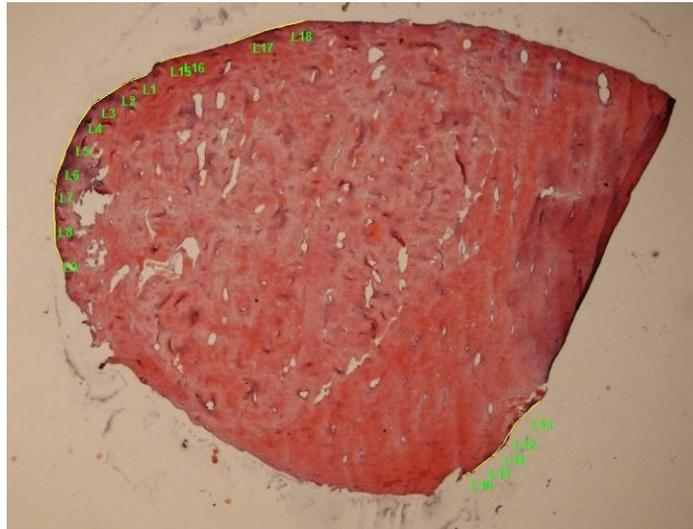


Figura 22: Medida de tecido carbonizado da amostra do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.

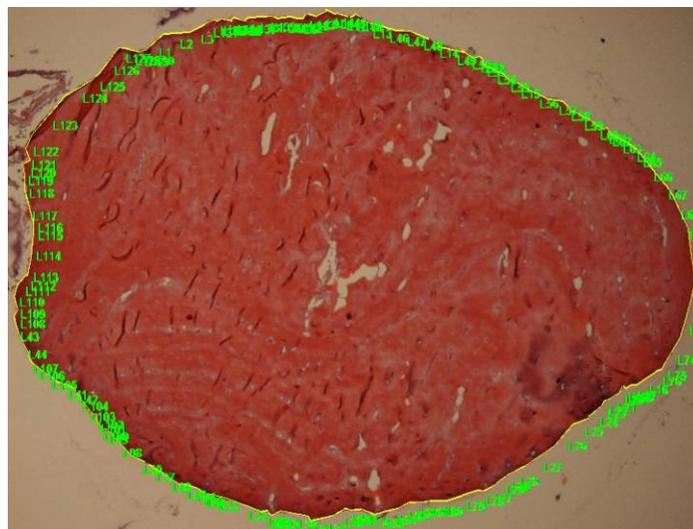


Figura 23: Perímetro da amostra 05 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.

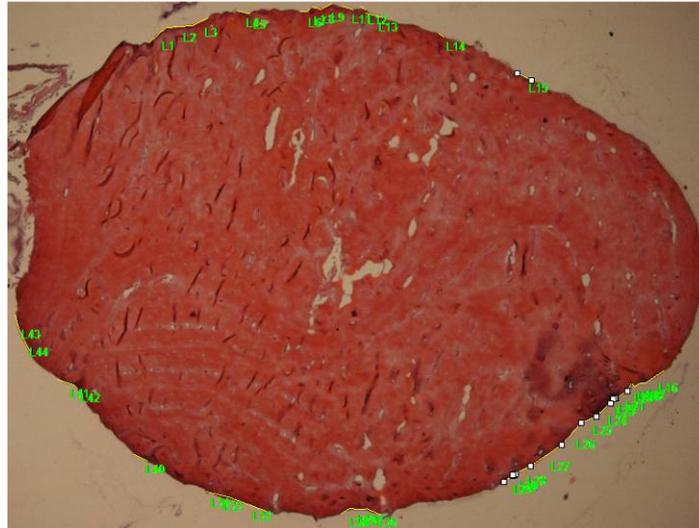


Figura 24: Medida de tecido carbonizado da amostra 05 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual.

Amostra	Perímetro	Tecido Carbonizado	Percentual de Tecido Carbonizado
Manual 1	1233.298	659.5542	53,48%
Manual 2	1127.754	504.1275	44.70%
Manual 3	1124.382	335.2175	29.81%
Manual 4	1023.91	256.5897	25,06%
Manual 5	1210.153	345.4206	28,54%

Tabela 4: Medidas de tecido carbonizado e perímetro das amostras do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação manual. Valores em Micrometro (μm).

Diante dos resultados observados, pode-se notar que houve uma variação considerável dos resultados obtidos entre as amostras de osteotomia com trefina utilizando a irrigação manual, podendo notar uma variação de até 402.9645 μm entre a amostra que apresentou maior e menor índice de tecido carbonizado.

5.3.2 Histomorfometria de amostras do grupo de osteotomia com trefina com Irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante (GB).

Para esta análise, também foram selecionadas 05 amostras. Todas as amostras (Grupo GA e Grupo GB) foram retiradas no mesmo osso. Para realização deste processo foi utilizado

um motor de implante com irrigação proveniente de bombas peristálticas, onde foi selecionada a programação que promove maior percentual de liberação de soro (100%). Os estudos histomorfométricos geraram imagens e valores referentes ao perímetro da peça óssea analisada e o perímetro do tecido carbonizado.

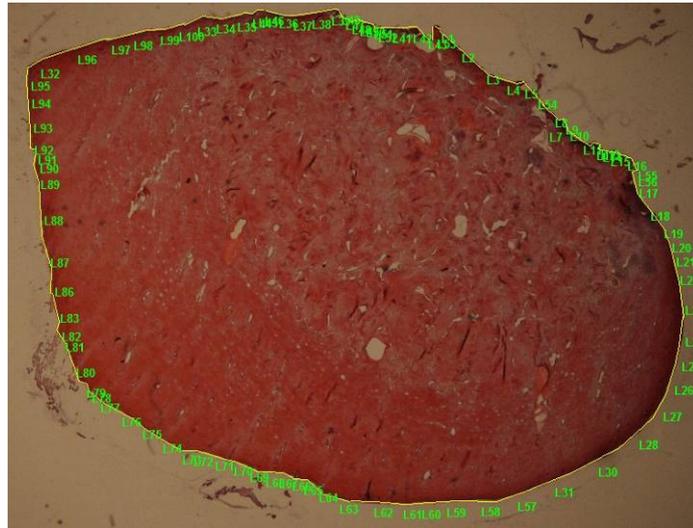


Figura 25: Perímetro da amostra 02 do grupo de osteotomia com trefina com irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante.

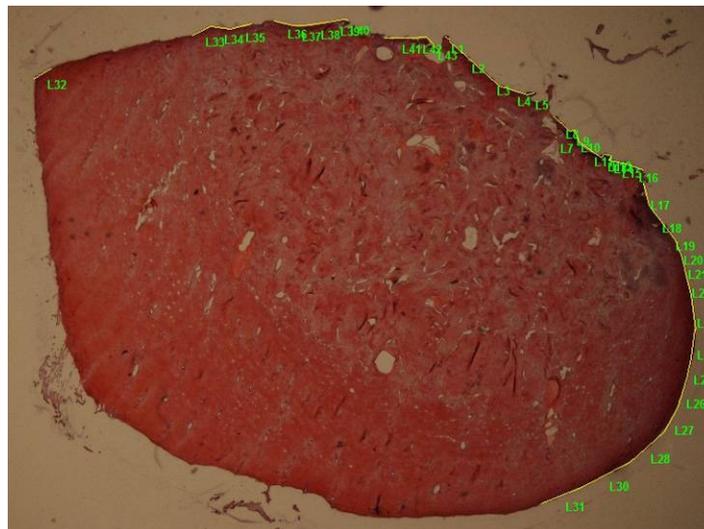


Figura 26: Análise Histomorfométrica do tecido carbonizado da amostra 02 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante.

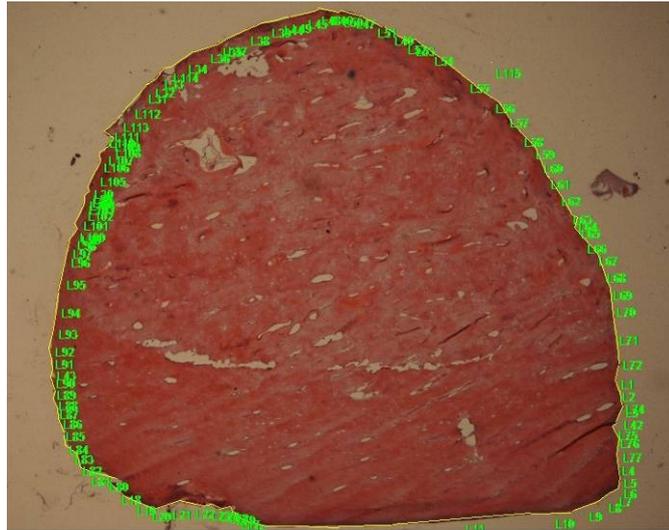


Figura 27: Perímetro da amostra 02 do grupo de osteotomia com trefina com irrigação promovida por bombas peristálticas de motor de implante.

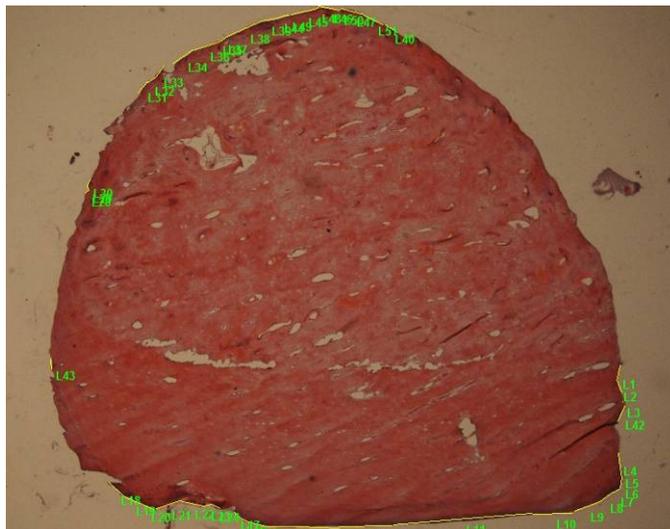


Figura 28: Análise Histomorfométrica do tecido carbonizado da amostra 01 do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante.

Amostra	Perímetro	Tecido carbonizado	Percentual de Tecido Carbonizado
Motor 1	1132.74	559.231	49,36%
Motor 2	1202.055	528.9614	44,00%
Motor 3	1179.148	505.6428	42,88%
Motor 4	1219.283	559.262	45,87%
Motor 5	1188.552	777.0694	65,37%

Tabela 5: Medidas de tecido carbonizado e perímetro das amostras do grupo de Osteotomia com trefina com irrigação proveniente de bombas peristálticas de motor de implante. Valores em Micrometro (μm).

Nos resultados observados, pode-se notar que houve uma variação considerável dos resultados obtidos entre as amostras de osteotomia com trefina utilizando a irrigação com bombas peristálticas, podendo notar uma variação de até 271.4266 μm entre a amostra que apresentou maior e menor índice de tecido carbonizado.

Diante destes resultados, para verificar se a diferença entre os resultados obtidos entre as amostras de osteotomia com trefina utilizando a irrigação com bombas peristálticas e irrigação manual foi significativa, os dados obtidos foram analisados através de teste estatístico, utilizando o programa PRISM 4.0 com o Teste T Student não-pareado o qual gerou um gráfico (Gráfico 1).

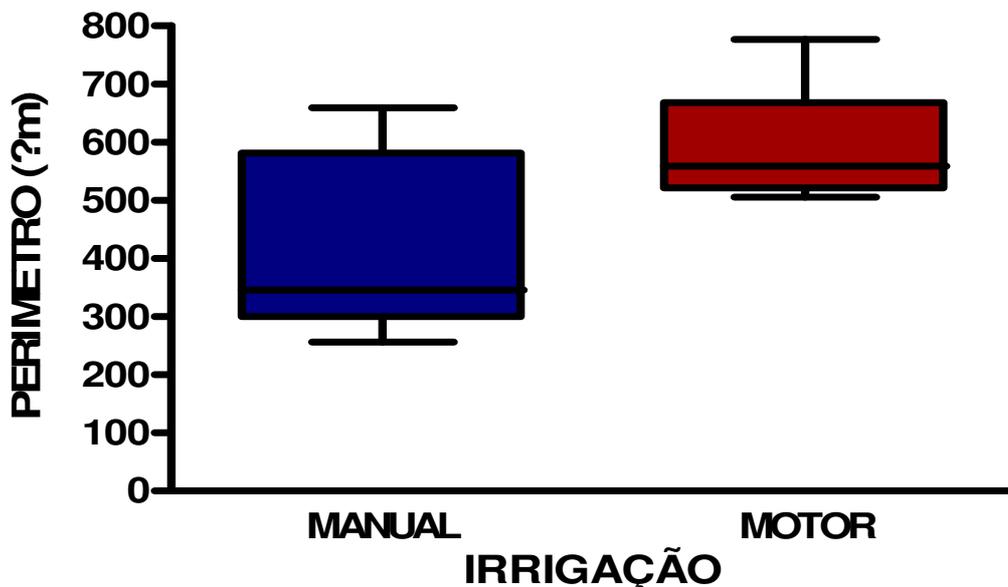


Gráfico 1: Perímetro da área carbonizada provocada pela osteotomia com motor de implante usando irrigação manual e por bombas peristálticas. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student não-pareado. *p<0,05.

Na análise estatística dos resultados obtidos, observou-se que os resultados obtidos nas osteotomias utilizando a irrigação manual foram 420.2 ± 72.08 (média \pm e.p.m., n=5, *p<0,05). Já nas osteotomias utilizando a irrigação com bombas peristálticas de motores de implantes, observou que os resultados foram 586.0 ± 48.81 (média \pm e.p.m., n=5, *p<0,05).

6 DISCUSSÃO

Após a realização do experimento, algumas ponderações podem ser realizadas com segurança baseadas nas constatações provenientes das técnicas cirúrgicas, das análises sobre microscopia eletrônica de varredura – MEV, da microscopia de luz e da histomorfometria.

O trabalho experimental tem uma validade importante, pois, para estudar e compreender a osseointegração de enxertos ósseos em seres humanos é importante que sejam feitos primeiramente estudos experimentais em animais.

Neste estudo, o animal de pesquisa selecionado foi o coelho. A escolha se deu pela praticidade, por ser base para estudos posteriores, pelo menor custo envolvido na pesquisa de animais de pequeno porte, e principalmente, pela aceitação desse animal pela maioria dos Comitês de Ética em Pesquisa em Animais.

Em pesquisas para estudo do reparo ósseo na região buco-maxilo-facial, seria esperado que as osteotomias fossem realizadas na mesma área anatômica, por causa da origem intramembranosa. Contudo, no presente estudo, a área selecionada foi tíbia, fêmur e úmero, ossos de origem endocondral. O fato destes ossos serem de origem endocondral, não atrapalhou o entendimento do processo de osteotomia, visto que, por o animal ser adulto, a estrutura do tecido ósseo formado pelos dois mecanismos é indistinguível⁷⁴, onde observamos que em ambos os tipos de ossificação a sua estrutura é semelhante. Os modelos clássicos de origem dos tecidos ósseos, intramembranosa ou endocondral, referem-se apenas ao mecanismo pelo qual o osso começa a se formar no indivíduo enquanto órgão em desenvolvimento^{26,64,69}. Além disso, a tíbia, fêmur e úmero se assemelham em muito à mandíbula, pois apresenta 02 corticais ósseas envolvendo um tecido ósseo medular. Apresenta também um volume ósseo suficientemente capaz de suportar perfurações de 05 mm de diâmetro, sem que haja ruptura ou fratura indesejada e que também possa ser submetida ao processamento laboratorial das peças histológicas com preservação de suas estruturas.

No aspecto clínico observou-se menor tempo cirúrgico da osteotomia realizada com caneta de alta rotação e quando foi utilizada a irrigação realizada por bombas peristálticas de motor de implante. A redução de tempo em osteotomia com caneta de alta rotação foi devido à ausência de fraturas e trincas ósseas, o que permitiu serem efetuados mais rápidos os anéis

ossos. Já a redução de tempo com irrigação realizada por bombas peristálticas de motor de implante, provavelmente ocorreu pelo fato de não haver a necessidade de pausa para preencher a seringa durante a osteotomia. Uma vez que todo o procedimento é facilmente executado, fica evidente que torna o processo mais rápido. Esta interrupção do ato cirúrgico para os equipamentos associados gera um pequeno hiato na continuidade do mesmo, levando além do aumento do tempo cirúrgico, desvio do foco da área a sofrer osteotomia.

Quanto à operacionalização da técnica de enxerto, salientamos que ela é muito bem aceita e largamente empregada através do uso de brocas, sendo essa a metodologia de eleição para os procedimentos de enxertos ósseos. Outra diferença presente, que deve ser investigada, está na necessidade de utilização de spray ar, pelo equipamento alta rotação. Esse spray é desnecessário quando se trata do uso de brocas montadas em motores cirúrgicos elétricos, pois nesses casos o resfriamento se dá através de bombas peristálticas, que impulsionam a solução irrigadora através de um circuito estéril sem a necessidade de adição de ar. Preocupação adicional é tomada com a possibilidade de introdução desse spray no interior dos tecidos, causando possíveis enfisemas e infecções.

Observando o aspecto das osteotomias através da MEV, a regularidade da forma dos cortes é mais evidente no método que utiliza caneta de alta rotação. Isso se deve ao fato da caneta em alta rotação não exercer força excessiva com o tecido operado, não gerando tendências de trajetórias determinadas por maior ou menor atrito do tecido. As brocas são instrumentos rotatórios e mesmo muito equilibradas desenvolvem certa tendência a trajetórias específicas, em função do atrito com o tecido ósseo, e como a trajetória deve constantemente ser compensada pela firmeza do pulso do cirurgião, o que nem sempre determina uma osteotomia retilínea.

Com relação à microfissuras, na MEV pode-se observar a presença em todos os grupos, o que se assemelha ao estudo de Peavy, Reinisch, Payne, Venugopalan⁵⁷ que fizeram um amplo estudo para comparar o efeito dos lasers infra-vermelhos, comprimento de onda variando do 2,9 a 9,2 μm , com o da serra cirúrgica pneumática convencional em osso cortical bovino. A serra pneumática para corte de osso, além dos danos térmicos, também criaram múltiplas microfissuras na superfície óssea cortada; esses danos foram associados à fricção mecânica da serra. Os autores afirmaram que a ablação de tecido ósseo cortical pode ser obtida com um mínimo de trauma tecidual, através do laser no espectro do infra-vermelho, incluindo os lasers dos seguintes comprimento de onda: 2,1 a 2,94 μm ; 6,0 a 7,5 μm e 9,6 a 10,6 μm .

Outro ponto a ser observado na MEV foi à presença de *smear layer*, que foi mais encontrada no corte ósseo com motor de implante. Sasaki, Aoki, Ichinose, Yoshino, Yamada, Ishikawa.⁶⁶ que realizaram um estudo para analisar a ultra-estrutura de osteotomias preparadas por laser de Er:YAG, laser de CO₂ e broca cirúrgica. Neste experimento os autores concluíram que o laser de Er:YAG provoca uma superfície microirregular, livre de *smear layer* e de produtos tóxicos, com pouco dano térmico, visto que a camada alterada não passou de 30 µm de espessura. Esse tipo de superfície contribui para uma maior aderência do coágulo e dos elementos do sangue nos estágios iniciais da cicatrização.

A superfície que ficou mais homogênea após osteotomia foi à com irrigação manual, onde as camadas alteradas foram inferiores a 30 µm de espessura, o que leva a uma maior aderência do coágulo e dos elementos do sangue no início da cicatrização, segundo Sasaki, Aoki, Ichinose, Yoshino, Yamada, Ishikawa⁶⁶.

Na análise da microscopia de luz, o uso de brocas promoveu um tecido alterado ou anormal sobre as margens das osteotomias. O tecido considerado como alterado era composto por um tecido de coloração enegrecida, compatível com tecido carbonizado. Além disto, a osteotomia produziu fragmentos ósseos deslocados durante o corte do tecido ósseo, podendo estes serem observados na MEV e na microscopia de luz. Os fragmentos deslocados da cortical óssea, provavelmente, são originados da fresagem mecânica da broca no osso e o tecido carbonizado originado do aquecimento excessivo da broca sobre o osso cortado. A presença de reduzido dano térmico pode ser explicada pelo tipo de broca que utilizamos (laminada que facilita o corte) usadas em motor cirúrgico (1.500 rpm) e em caneta de alta rotação e pelas diferentes técnicas de irrigação constante durante todo o tempo da realização das osteotomias.

Os resultados do presente estudo não concordam com os encontrados por Okamoto, Carvalho, Saad Neto, Carvalho⁵³, pois estes não observaram tecidos alterados após as osteotomias realizadas com brocas cirúrgicas em baixa rotação com resfriamento. Pesquisas mostram que esse tipo de alteração tecidual pode ser evitado usando irrigação e brocas cirúrgicas específicas^{29,53,60}. Semelhante aos nossos resultados, Sasaki, Aoki, Ichinose, Ishikawa⁶⁵ e Sasaki, Aoki, Ichinose, Yoshino, Yamada, Ishikawa⁶⁶, encontraram uma fina camada escura de tecido abaixo de uma outra camada de resíduos (*smear layer*) em osteotomias promovidas pela broca em baixa rotação, provavelmente causadas pela rotação da broca em 10.000 rpm. Pourzarandian, Watanabe, Aoki, Ichinose, Sasaki, Nitta, et al..⁶¹,

também encontraram uma camada de tecido escura na margem da osteotomia quando utilizaram a broca em baixa rotação a 10.000 rpm.

Segundo Sasaki, Aoki, Ichinose, Ishikawa⁶⁵ concluíram durante as osteotomias resultaram em carbonização da superfície óssea, que por sua vez provocou desnaturação proteica, e formação de produtos tóxicos que contribuíram para uma reparação óssea demorada. Martins (2001) fez um estudo semelhante, e mostrou que o laser de Er:YAG usado nas densidades de energia de 300, 350 e 400 mJ; 6 Hz, em tecido ósseo de ratos, também levou a um dano térmico, e somente aos 90 dias a reparação tecidual foi homogênea na interface entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo adjacente. Os grupos que utilizaram broca cirúrgica apresentaram integração entre o tecido ósseo neoformado com o osso adjacente, desde os 07 dias do pós-operatório.

Em varias pesquisas pode-se ver que a camada de tecido alterado retardou a integração entre tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo adjacente^{17,18,52}.

Na análise histomorfométrica, após se fazer a análise estatística, utilizando o programa PRISM 4.0 com o Teste T Student não-pareado, pode-se observar que os resultados obtidos nas osteotomias com trefina utilizando a irrigação manual (420.2 ± 72.08) apresentou resultados semelhantes aos que utilizaram a irrigação com bombas peristálticas de motores de implantes (586.0 ± 48.81), não havendo diferença significativa.

Diante destes fatos, fica elucidado a importância deste tipo de estudo para elucidar o processo manipulação de aloenxertos irradiados e congelados, obtendo uma metodologia apropriada para otimizar as enxertias ósseas a fim de se conseguir minimizar injúrias térmicas e físicas no tecido ósseo.

7 CONCLUSÃO

Nas condições desse estudo foi possível concluir que:

- Houve maior regularidade do corte ósseo utilizando caneta de alta rotação do que motor de implante;
- O corte com trefina usando irrigação com bombas peristálticas do motor de implante se mostrou mais homogêneo do que aquele obtido pela técnica com irrigação manual;
- Todas as técnicas estudadas promoveram a formação de tecido carbonizado nos fragmentos ósseos, sem diferenças estatísticas nas técnicas de irrigação.

REFERÊNCIAS

1. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone replacement grafts: the bone substitutes. *Dent Clin North Am.* 1998; 42(3):491-503.
2. Alexander JW. Bone grafting. *Vet Clin North Am Small Anim Prat.* 1987;17(4): 811-9.
3. Aspenberg P, Johnsson E, Thorngren KG. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J Bone Joint Surg Br.* 1990; 72: 1036-7,
4. Bojrab MJ. Enxertamento osseo. In: Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais. 3ª ed. São Paulo: Rocap; 1996. p. 786-93.
5. Bonfiglio M, Jeter WS, Smith CL. The immune concept: its relation to bone transplantation. *Ann NY Acad Sci.* 1955; 59: 417-33.
6. Boyne FJ. Histologic response of bone to sectioning by high-speed rotary instruments. *J Dent Research.* 1966; 45(2): 270-76.
7. Boyne PJ. Review of the literature on cryopreservation of bone. *Cryo-biology* 6. 1968: 341-357.
8. Brito JHM, Pádua JM. Regeneração e reparação dos tecidos. In: Zanini SA. Cirurgia e traumatologia buco-maxilo-facial. Rio de Janeiro: Revinter; 1990.
9. Brown KL, Cruess RL. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. A review. *J Bone Joint Surg Am.* 1982; 60(2): 270-9.

10. Buck BE, Resnick LS, Shah SM, Malinin TI. Human immunodeficiency virus cultured from bone. Implications for transplantation. *Clin Orthop*. 1990; 251: 249-53.
11. Castania VA, Volpon JB. Enxerto ósseo processado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno. Ensaio mecânico e teste em cães. *Rev Bras Ortop Ped*. 2003; 4(2): 22-9.
12. Chapman MW, Rodrigo JJ. Bone grafting, bone graft substitutes and growth factors. In: Chapman MW. *Chapman's Orthopaedic Surgery*. Lippincott Williams e Wilkins, 2001.
13. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontology* 2000. 1999; 19:40-58.
14. Cornell CN, Lane JM. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop*, 1998; 335: 267-73.
15. Curtiss Junior PH, Powell AE, Herndon CH. Immunological factors in homogeneous-bone transplantation. III – The inability of homogeneous rabbit bone to induce circulating antibodies in rabbits. *J Bone Joint Surg*. 1959; 41: 1482-8.
16. Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*. 2000; 289 (5484): 1501-4.
17. El Montaser MA, Devlin H, Sloan P, Dickinson MR. Pattern of healing of cavariial bone in the rat following application of the Erbium-YAG laser. *Lasers Surg Med*. 1997; 21(3): 255-61.
18. El Montaser MA, Devlin H, Dickinson MR, Sloan P, Lloyd RE. Osseointegration of titanium metal implants in Erbium-YAG laser-prepared bone. *Implant Dent*. 1999; 8 (1): 79-82.
19. Fedeli Junior A, Phillipi J, Girardi D, Brandl R. Reparação óssea após osteotomias - Avaliação de diferentes instrumentos rotatórios. *Rev Gaucha Odontol*. 2001; 49(4): 223-9.

20. Feofiloff ET, Jesus-Garcia R. Técnicas de obtenção, processamento, armazenamento e utilização de homoenxertos ósseos: Protocolo do Banco de Ossos da Escola Paulista de Medicina. *Rev Bras Ortop.* 1996; 31(11): 895-903.
21. Fideler BM, Vangsness Junior CT, Moore T, Li Z, Rasheed S. Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in frozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadaver. *J Bone Joint Surg.* 1994; 76: 1032-5.
22. Figueiredo AS. Estudo morfológico comparativo entre implantes de osso bovino desvitalizado, hidroxapatita de coral, poliuretana de mamona e enxerto ósseo bovino autógeno, em coelhos [Tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Doutorado em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, 2000.
23. Figueiredo AS, Takita LC, Goldenberg S. Comparação entre a hidroxapatita porosa de coral e o enxerto ósseo autólogo em coelhos. *Acta Cir Bras.* 1998; 12(2): 84-8.
24. Fogaça WC. Análise da integração do aloenxerto ósseo de crânio criopreservado e irradiado, adicionado de medula óssea autógena: estudo experimental em coelhos [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2007.
25. Fujiki EN, Honda EK, Fukushima WY, Chikude T, Menezes Júnior DR, Oliveira CAP, Telles DF. Enxerto liofilizado homólogo em artroplastias de revisão em quadril. *Rev Bras Ortop.* 2005; 40(5): 280-7.
26. Gartner LP, Hiatt JL. *Tratado de Histologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
27. Gertzbein SD, deDemeter D, Cruickshank B, Kapasouri A. The effect of laser osteotomy on bone healing. *Lasers Surg Med.* 1981; 1: 361-73.

28. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop*. 1987; 225: 7-16.
29. Gregori C, Nosé AS. Manobras cirúrgicas fundamentais. In: Gregori C. São Paulo: Sarvier; 1996. p. 87-102.
30. Hart MM, Campbell ED, Kartub MG. Establishing a bone bank. *AORN J*. 1986; 43: 808-11.
31. Herndon CH, Chase SW. The fate of massive autogenous and homogenous bone grafts including surfaces. *Surg Gynecol Obstet*. 1954; 98: 273-90.
32. Horton JE, Tarpley TM, Wood LD. The healing of surgical defects in alveolar bone produced with ultrasonic instrumentation, chisel and rotary bur. *Oral Surg Oral Med Oral Path*. 1975; 39(4): 536-46.
33. Jacques JW, Fagundes DJ, Figueiredo AS, Inouye CM, Scapulatempo RP, Sassioto MCP. O papel da poliuretana da mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. *Rev Col Bras Cir*. 2004; 31 (4): 236-241.
34. Lavrisheva GI. Transplantation of tissues preserved in formaldehyde solutions. *Acta Chirur Plast*. 1981; 23: 1-7.
35. Leite FRM, Ramalho LTO. Bone regeneration after demineralized bone matrix and castor oil (*Ricinus communis*) polyurethane implantation. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16 (2):122-126.
36. Lexer E. Die verwendung der frein knochenplastik nebst versuchen uber gelenkversteifung und gelenktransplantation. *Archiv Kin Chir*. 1908; 86: 939-54 apud Moreau MF, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters

medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials*. 2000; 21(4):369-76.

37. Logripo GA, Burgess B, Teodoro R, Fleming JL. Procedure for bone sterilization with beta-propiolactone. *J Bone Joint Surg*. 1957; 39: 1356-64.

38. Lopes JCA, Lopes RR. Reparação periodontal após cirurgia de aumento de coroa clínica por meio de instrumentos manuais e rotatórios: Estudo biométrico em humanos. *Revista Periodontia* [periódico na Internet]. Março, 2001 [acesso em 2009 Jan 12]: [aproximadamente 18 p.]. Disponível em:
http://www.revistasobrepe.com.br/arquivos/edicao_anterior/ed_mar_01/file___D__2001_marco_rep_peri_rep_peri.pdf

39. Lopes MCA. Reparação óssea após osteotomias com broca tronco-cônica, serra oscilatória e serra recíprocante. Estudo histológico em cães [dissertação]. Piracicaba: Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 1997.

40. Macedo LGS, Costa CES, Pelegrine AA, Cosmo LAM, Jahn RS, Gromatzky A. Utilização da matriz derivada do órgão do esmalte (emdogain®) em defeitos periodontais. *R Periodontia*. 2008; 18 (02): 2-6.

41. Macedo LGS, Monteiro ASF, Macedo NL, Mazzucchelli-Cosmo LA. Osso humano fresco congelado em reconstruções ósseas: estudo retrospectivo e relato de casos. *ImplantNews*. 2007; 4(1): 50-56.

42. Mankin HJ, Doppelt S, Tomford W. Clinical experience with allograft implantation. The first ten years. *Clin Orthop*. 1983; 174: 69-86.

43. Martinez SA, Walker T. Bone grafts. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1999; 29(5): 1207-19.

44. Martins GL. Estudo microscópico do reparo ósseo na mandíbula de ratos submetida a ostectomias a fresa cirúrgica e laser de Er:YAG [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia, 2001.
45. Mehra V, Gill MS, Bhusnurmath SR, Nagi ON. Comparison of fresh autogenous with formalin preserved allogeneic bone grafts in rabbits. *Int Orthop*. 1993; 17: 330-334.
46. Mello JB, Mello GPS. *Laser em odontologia*. São Paulo: Santos, 2001.
47. Michaud RJ, Drabu KJ. Bone allograft banking in the United Kingdom. *J Bone Joint Surg*. 1994; 76: 350-351.
48. Mizutani A, Fujita T, Watanabe S, Sakakida K, Okada Y. Experiments on antigenicity and osteogenicity in allotransplants cancellous bone. *Int Orthop*. 1990; 14: 231-340.
49. Monti LM. Estudo radiográfico digital e densitométrico em mandíbulas de suínos, submetidas a osteotomia com brocas de alta e baixa rotação, com refrigeração líquida [tese]. Araçatuba: Unesp. Câmpus de Araçatuba. 2005.
50. Morandini ACF, Santos CFS, Taba Junior M. Fundamentos e princípios biológicos da engenharia tecidual em periodontia – revisão de literatura. *R Periodontia*. 2008; 18 (02):14-18.
51. Moreau MF, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials*. 2000; 21: 369-76.
52. Nelson JS, Orenstein A, Liaw LL, Berns MW. Mid-infrared erbium:YAG laser ablation of bone: the effect of laser osteotomy on bone healing. *Lasers Surg Med*. 1989; 9: 362-74.

53. Okamoto T, Carvalho ACP, Saad Neto M, Carvalho PSP. Efeitos de diferentes tipos de osteotomia sobre a reparação óssea: estudo histológico em cães. *Rev Odontol UNESP*. 1984; 13(1/2): 71-8.
54. O' Malley BW. Free Bone Grafts. Baylor College of Medicine [periódico na Internet]. 1992 [acesso em: 2008 Maio 20]. Disponível em: www.bcm.edu/oto/grand/81392.html.
55. Ottolengui CE. Massive osteo and osteo-articular bone grafts: technique and results of 62 cases. *Clin Orthop*. 1972; 87: 156-64.
56. Parrish FF. Allograft replacement of part of the end of a long bone following excision of a tumor: report of twenty-one cases. *J Bone Joint Surg*. 1973; 55: 1-22.
57. Peavy GM, Reinisch L, Payne JT, Venugopalan V. Comparison of cortical bone ablations by using infrared laser wavelengths 2.9 to 9.2 μm . *Lasers Surg Med*. 1999; 26: 421-34.
58. Pereira LV. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. *Ciênc saúde coletiva*. 2008; 13(1): 07-14.
59. Pereira MV, Amaral RG. Avaliação do pós-operatório em cirurgia de 3^{os} molares inferiores inclusos, utilizando-se a alta e a baixa rotação nas osteotomias [tese]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. 2006.
60. Pinelli LAP, Carvalho PSP. Efeitos da osteotomia com e sem irrigação externa e da variação do tempo de fresagem: estudo histomorfométrico em cães. Parte II. *3i Innovations Journal*. 1999; 3 (2): 18-25.
61. Pourzarandian A, Watanabe H, Aoki A, Ichinose S, Sasaki KM, Nitta H, et al. Histological and TEM examination of early stages of bone healing after Er:YAG laser irradiation. *Photomed Laser Surg*. 2004; 22(4): 342-50.

62. Reynolds FC, Oliver DR, Ramsey R. Clinical evaluation of the merthiolate bone bank and homogenous bone grafts. *J Bone Joint Surg.* 1951; 33: 873-883.
63. Ross MV, Camisa Junior A, Michelin AF. Procedimentos de um banco de ossos e a aplicabilidade dos enxertos por ele proporcionados. *Acta ortop Brás.* 2000; 8 (3):122-7.
64. Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. *Histologia: texto e atlas.* 2ª ed. São Paulo: Panamericana, 1993.
65. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Ishikawa I. Ultrastructural analysis of bone tissue irradiated by Er:YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2002; 31: 322-32.
66. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Yoshino T, Yamada S, Ishikawa I. Canning electron microscopy and fourier transformed infrared spectroscopy analysis of bone removal using Er:YAG and CO2 lasers. *J Periodontol.* 2002; 73 (6): 643-652.
67. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone tissue engineering. State of the Art and future trends. *Macromolecular Biosc.* 2004; 4:743-65.
68. Scales J. Tissue reaction to synthetic materials. *Proc R Soc Med.* 1953; 46: 674-9.
69. Shenck RK. Regeneração óssea: bases biológicas. In: Buser D; Dahlin C; Schenck RK. *Regeneração óssea guiada na implantodontia.* São Paulo: Quintessence Editora Ltda; 1996. p. 49-100.
70. Silva Júnior JJ, Silva JAO, Ponzi EAC. Estudo comparativo entre cinzel e broca no resultado pós-cirúrgico do 3º molar incluso. *International Journal of Dentistry.* 2007; 6 (1): 12-6.

71. Silva MJA, Tavano O, Guimarães SAC, Gomes MF. Estudo do comportamento do tecido ósseo frente ao implante do polímero de mamona em raios de coelhos, pela análise quantitativa das radiopacidades nas imagens radiográficas convencionais. *Rev FOB*. 1997; 5: 69-77.
72. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology*. 2000; 24:99-126.
73. Solomon L. Bone grafts [Editorial]. *J Bone Joint Surg*. 1991; 73: 706-7.
74. Sperber GH. Craniofacial development. BC Decker: Hamilton; 2001.
75. Toledo HJB. Osteotomia com brocas de alta e baixa rotação, com e sem refrigeração líquida: estudo histopatológico duplo cego em suínos [tese]. Araçatuba: Unesp. Campus de Araçatuba. 2004.
76. Tomford WW, Mankin HJ. Bone Banking. Update on methods and materials. *Orthop Clin North Am*. 1999; 30: 565-70.
77. Tsonis PA. Regenerative biology: the emerging field of tissue repair and restoration. *Differentiation*. 2002; 70(8): 397-409.
78. Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM. The bone induction principle. *Clin Orthop*. 1967; 53: 243-83.
79. Zheng L, Wang Q. The current situation and future of extracellular matrix materials bone tissue engineering. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2001; 18(3): 470-474.

80. Zorici S, Bobinac D, Lah B, Maric I, Cvijanovic O, Bajek S et al. Study of Healing Process after transplantation of Pasteurized Bone Grafts in Rabbits. *Acta Med Okayama*. 2002; 56: 121-8.

81. Wise MD. Stability of gingival crest after surgery and before anterior crown placement. *J Prosthet Dent*. 1985; 53 (1): 20-3.

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](#)