



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
CURSO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL: MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL

**ANÁLISE MICROSCÓPICA DO REPARO TECIDUAL EM CAVIDADES
PREENCHIDAS COM CIMENTO DE FOSFATO DE
CÁLCIO E OSSO AUTÓGENO**

JOÃO GABRIEL SOUZA PINTO

CANOAS-RS

2007

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

JOÃO GABRIEL SOUZA PINTO

**ANÁLISE MICROSCÓPICA DO REPARO TECIDUAL EM CAVIDADES
PREENCHIDAS COM CIMENTO DE FOSFATO DE
CÁLCIO E OSSO AUTÓGENO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Luterana do Brasil como requisito final para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. Aurelício Novaes Silva Júnior

Co-orientador: Prof.Dr. Luís Alberto dos Santos

CANOAS-RS

2007

DEDICATÓRIA

A **Deus**

Pelo privilégio de viver, proteção, amparo e inspiração!

A **os meus pais, Gabriel e Florina Pinto**

*Por me proporcionar a vida e a educação,
Pela nossa linda família,
Pelo amor e caráter demonstrado durante esses anos,
Agradeço o apoio e o incentivo sempre demonstrado.
Amo muito a vocês!*

A **os meus irmãos Alice, Carmem, Clarissa, Laura e Marcelo Souza Pinto,**

*Pelo carinho com seu irmão caçula,
Pelo cuidado sempre evidenciado,
Pela amizade verdadeira e sincera,
Pelo apoio constante em meu dia-a-dia,
Pelos exemplos de vida pessoal e profissional!
Vocês fazem parte de mim!*

*A*os meus **cunhados e cunhada,**

Pela amizade profunda ao ponto de se confundir amavelmente como meus irmãos, pelo incentivo e por me deixarem sempre feliz, fazendo minhas irmãs e irmão, sempre alegres!

*A*os meus **sobrinhos e sobrinhas,**

Por despertar, dia-a-dia, a todos nessa família, a vontade eterna de viver, brincar e ser feliz!

A minha namorada **Graziele Borin,**

Pelo companheirismo e pelo amor demonstrados durante o período de graduação e pós-graduação.

Tua ajuda foi muito importante para realização deste trabalho!

Tu és exemplo de dedicação e amor em pessoa!

Amo-te muito!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*A*o meu orientador **Prof. Dr. Aurelício Novaes Silva Júnior**

Divido contigo a alegria e a satisfação de poder ter realizado este trabalho,

Tu sabes o quanto foste importante para mim nesses dois anos.

Sem tua orientação jamais atingiria este momento.

Obrigado pela amizade verdadeira e pelos ensinamentos valiosos!

À **Prof^a Dr^a Tânia Isolan**

Agradeço pelos ensinamentos e incentivo durante esta caminhada,

Sempre ao nosso lado, ensinou-nos a fazer o certo e sempre respeitar a todos.

És exemplo de sabedoria, dedicação e educação irrepreensíveis.

*A*o **Prof. Dr. Pedro Gonzáles Hernandez**

*Obrigado, professor, por não apenas me ensinar a fazer,
Mas ensinar o porquê de estar fazendo!*

Obrigado pela confiança e pela oportunidade!

*Sua dedicação diária faz com que este Curso
cresça cada vez mais atingindo a excelência!*

A **Prof^a Dr^a Maria da Graça Boucinha**

Obrigado pela oportunidade de conviver com sua sabedoria e humildade.

Sem seus conselhos jamais teria completado este trabalho.

Obrigado pela ajuda junto aos nossos pacientes!

*A*o **Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos**

Pela co-orientação deste trabalho e colaboração no fornecimento do Cimento de Fosfato de Cálcio.

Obrigado pelos ensinamentos e oportunidades proporcionadas em nome de todo Labiomat® - UFRGS.

A **Prof^a Dr^a Marília Gerhardt de Oliveira**

*Pelo exemplo de dedicação à Odontologia e a Cirurgia Bucomaxilofacial,
Pela oportunidade de conhecê-la e perceber a pessoa amável que és,
Obrigado pela sua ajuda, importantíssima e fundamental neste trabalho!*

*A*os **Professores do Curso de Especialização em CTBMF**

*Felipe Batista, Luis Eduardo Schneider, Paulo Presser,
Ricardo Krause, Ricardo Smidt e Sandro Gracelli:*

Obrigado pelos ensinamentos valiosos que me foram confiados, pela oportunidade de ter sido aluno de vocês e pela amizade proporcionada durante esses dois anos. Vocês são parte fundamental do meu crescimento!

AGRADECIMENTOS

Em nome de Amantino e Nilce meu agradecimento **a toda família Biavatti Borin**, pelo apoio e pelo carinho proporcionado nesta caminhada. Vocês foram essenciais para concretização desse momento.

Ao **professor Ms. Edílson Martins** pela oportunidade de vivenciar, na prática, a Cirurgia Bucomaxilofacial, junto ao HUSM. Tua conduta e vontade de vencer como profissional me faz forte a cada dia. Obrigado pelos ensinamentos e pela confiança em mim depositada!

Aos **professores da disciplina de Cirurgia Bucomaxilofacial da Universidade de Santa Cruz do Sul**: Dr. Léo Kraether Neto, Prof. Mahamud Hamid e Ms. Athos Schulze. Agradecimento especial ao Prof. Dr. Luis Piazza pelo apoio e incentivo e ao Prof. Ms. Volnei Martins por acreditar em mim e sempre oportunizar o aprendizado extra-classe. Muito obrigado pela *base* a mim proporcionada!

Ao **Professor Carlos Frederico Caccia**, pelos ensinamentos durante meu estágio junto ao hospital de Pronto-Socorro de Porto Alegre (HPS/PA).

À **Profª Drª Vânia Fontanella** pela oportunidade de fazer parte deste Curso de Mestrado, pelos ensinamentos e pelo privilégio de ter sido seu aluno.

À **Profª Ms. Ivana** pelos ensinamentos Ortodônticos no ambulatório de Cirurgia Ortognática e pelo companheirismo sempre demonstrado.

Ao **Prof. Dr. Adair Busato** pela brilhante coordenação frente a este Programa de Pós-Graduação, incansável em suas atitudes de tornar cada vez melhor este curso. Parabéns!

À **Profª Drª Fabiana Ckless Moresco**, pela ajuda na interpretação e na avaliação das lâminas histológicas referentes a este trabalho.

À **Profª Drª Maria Antonieta Lopes**, pela ajuda na interpretação e avaliação das imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Engenheiro **Eubirajara Medeiros e à Promm®**, Indústria de Materiais Cirúrgicos Ltda. (Porto Alegre-RS), pela ajuda na confecção de materiais cirúrgicos e pelo apoio nesta pesquisa.

Aos **meus colegas de mestrado**: Kalinka, Audrei, Humberto, Ricardo, Luis, Mariana, Flaviane e Fernando, obrigado pela ajuda e apoio constantes. Vocês fazem parte desta conquista! Agradecimento especial à **Maria Teresa** pelo companheirismo, a vontade de vencer e acima de tudo por ser sempre verdadeira em todos os momentos, tu és exemplo de vida e dedicação! Ao colega **Rogério Aguiar** pelo companheirismo, amizade e ensinamentos oportunizados durante esse convívio. Somente com um grupo forte e coeso o êxito maior pode ser alcançado. Obrigado a todos!

Aos **meus amigos de infância**: Fernando, Marcelo, Renato, Felipe e Alessandro; valeu o apoio, galera!

Aos meus colegas e **amigos de segundo grau**: Toscani, Carlão, Cairale, irmãos Selbach, irmãos Fortes, Bob, Geandre, Alemão, Nico, Marlon e Crichinan. Obrigado pela amizade verdadeira e duradoura!

Aos meus **amigos da Mário Druck**: Digão, Pirata, Laion, Celso, Nando e Cia. Valeu o apoio e incentivo!

Aos meus **colegas e amigos de Faculdade**: Otavinho, Henrique, Léo, Rafa, Volnei, Jamil, Rui, Tiaguinho, Xandão, Nico, Benrhard, Gunther, Antonio Neto, Toco, Miranda e, em especial pelo convívio nesses dois anos de Mestrado ao colega Gláucio Müller. Agradeço a todos pela ajuda, amizade e convívio fraterno durante os anos de Faculdade. Obrigado por existirem!

Aos meus **colegas, amigos e amigas de Mestrado**: Vidal, Bruno, Chico, Alex, Mezzomo, Fábio S., Fábio M., Zanatta, Giuliano, Larissa, Suzana, Carol A., Carol P., Andréia, Grasiela e Daniel. Obrigado pelo convívio e amizade proporcionada nesses anos e boa sorte a todos!

Aos **colegas do curso de Especialização**: Lucas, Paula, Fabiana, Renata, Alexandre, Aline, Fabrício, Guilherme, Leandro, Gonçalo, Daniela e Letícia, pelos anos passados juntos e pela amizade concretizada.

Aos alunos de Graduação do Curso de Odontologia da ULBRA: **Márcio, Maurício e Bruno**, pelo auxílio na parte experimental deste trabalho; ao **Rolf** pela amizade cultivada. Vocês foram importantíssimos nessa conquista. Obrigado!

Ao amigo **Júlio César, Karina e colegas de trabalho** da clínica Orthoclass, pela oportunidade e amizade proporcionada.

Aos **funcionários da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA**, em especial aos funcionários do bloco cirúrgico da Faculdade de Odontologia, **Sueli, Giliege e Eneidir**, bem como os funcionários do bloco cirúrgico do Hospital Independência, em especial à **Neiva**.

Ao **Tiago e ao Jéferson**, Engenheiros de Materiais, alunos do curso de Doutorado da UFRGS, pela ajuda na parte de biomateriais e pela amizade proporcionada.

À **Gabriela e toda equipe do Biotério** – ULBRA, pela ajuda com os animais desta pesquisa e pela oportunidade de realização de toda a parte experimental deste trabalho.

À toda **equipe do Laboratório de Histologia – ULBRA**, em nome da **Clarence, Nelson e Rose**, pela ajuda na confecção das lâminas histológicas, utilizadas nesse estudo. Obrigado também pela amizade proporcionada.

Ao **Leandro e** toda equipe do **Laboratório de Microscopia Eletrônica**
– ULBRA, pelas imagens obtidas, devidamente utilizadas neste estudo.

À **ULBRA** por me oportunizar esta experiência única de realizar o sonho de me tornar um Cirurgião e Traumatologista Bucomaxilofacial. Agradeço à casa pelo acolhimento e pelos excelentes ensinamentos. Sua estrutura física é, sem dúvida, referenciada por todos e fruto de um trabalho sério de todos os coordenadores de graduação e pós-graduação e aqueles que fazem o cotidiano dessa Faculdade e que um dia acreditaram neste curso. Parabéns! Orgulho-me de fazer parte dessa Instituição de ensino superior!

Aos pacientes, por confiarem a mim a sua cura e por me oportunizarem o aprendizado durante esses anos.

Aos animais envolvidos neste trabalho; a Ciência, de alguma forma, agradece suas existências; meu muito obrigado!

A todos que, de uma forma ou de outra, estiveram comigo na construção deste trabalho. Obrigado!

*"Por acaso, surpreendo-me no espelho:
Quem é esse que me olha e é tão mais
velho que eu? (...)
Parece meu velho pai - que já morreu!
(...)
Nosso olhar duro interroga:
"O que fizeste de mim?" Eu pai? Tu é
que me invadiste.
Lentamente, ruga a ruga... Que
importa!
Eu sou ainda aquele mesmo menino
teimoso de sempre
E os teus planos enfim lá se foram por
terra,
Mas sei que vi, um dia - a longa, a
inútil guerra!
Vi sorrir nesses cansados olhos um
orgulho triste..."*

MÁRIO QUINTANA

RESUMO

Biomateriais implantados e associados a enxertos ósseos com emprego na Odontologia têm sido muito pesquisados nos últimos anos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar, por meio de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o reparo tecidual em cavidades preenchidas com cimento de fosfato de cálcio e sua associação ao osso autógeno (CFC+OA), assim como o processo de reparo tecidual ocorrido durante a implantação deste material, comparado com enxerto de osso autógeno (OA). Para isso, utilizou-se 15 ratos da raça *Rattus norvegicus albinus*, cepa Wistar, divididos em quatro grupos, de acordo com o material implantado ou tecido enxertado: Grupo I (OA), Grupo II (CFC), Grupo III (CFC+OA) e Grupo IV (CFC+OA), sendo este último grupo, utilizado para análise por meio de MEV. Foram realizadas duas perfurações junto ao fêmur direito, sendo estas cavidades preenchidas por OA (cavidade proximal em relação à articulação coxofemoral) e CFC (cavidade distal à articulação). Além disso, junto ao fêmur esquerdo, foram realizadas mais duas perfurações, preenchidas pela mistura de CFC+OA. Os períodos de observação foram de 30, 60 e 120 dias. Os achados histológicos demonstraram ausência de infiltrado inflamatório, reabsorção óssea e necrose óssea nos grupos I, II e III. Após avaliação das lâminas histológicas, os resultados obtidos quanto à neoformação óssea, comparando-se os três grupos, não diferenciaram com significância estatística. Em relação à MEV, foi evidenciada a completa união e integração da mistura de CFC+OA junto ao tecido ósseo, após o período cicatricial de 120 dias, havendo ausência de processo inflamatório. O Cimento de Fosfato de Cálcio, bem como a mistura de CFC+OA apresentaram biocompatibilidade, com neoformação óssea semelhantes a do enxerto ósseo autógeno. A avaliação desses dados permite concluir que o Cimento de Fosfato de Cálcio, puro ou em associação ao osso autógeno pode ser potencialmente utilizado como opção ao enxerto nos tratamentos de defeitos ósseos, considerando o modelo animal utilizado nesta pesquisa.

Descritores¹: Reparos; materiais biocompatíveis; enxerto ósseo.

¹ BIREME – Centro Latino-Americano e do Caribe de Informações em Ciências da Saúde. DeCS: Descritores em Ciências da Saúde. São Paulo. BIREME/OPAS, 2004. Disponível em: <http://decs.bvs.br>. Acesso em 04 de junho de 2007.

ABSTRACT

Biomaterials implanted and associates with bone crafts for application in the Dentistry have been very searched in the last years. The objective of this research was to evaluate, by means of Optic Microscopy and scanning electron microscopy (SEM), the tissue repair in sockets filled with calcium phosphate cement in association to the autogenous bone (CPC+AB), as well as the process of tissue repair occurrence during the implantation of this material, compared with autogenous bone craft (AB). For this, was used 15 rats of the race *Rattus norvegicus albinus*, Ceba Wistar, divided in four groups, in accordance with the material implanted or tissue craft: Group I (AB), Group II (CPC), Group III (CPC+AB) and Group IV (CPC+AB), being this last group, used for analysis by means of SEM. Two perforations was made in the right femur and the socket had been carried with AB (proximal socket in relation to the joint femur-thigh) and CPC (distal socket the joint). Moreover in the left femur, more two perforations had been carried, filled for the CPC+AB mixture. The period of observation was of 30, 60 and 120 days. The histological findings had demonstrated absence of inflammatory infiltrated, bone resorption and bone necrosis in groups I, II and III. After evaluation of the histological blades, the gotten results obtained from the bone neoformation, comparing the three groups, they had not been statistic significant. In relation to the SEM, it was evidenced the complete union and integration of the mixture of CPC+AB to the bone tissue, after the cicatricial period of 120 days, having absence of inflammatory process. The calcium phosphate cement, as well as the CPC+AB mixture had presented biocompatibility, with bone neoformation, similar to the autogenous bone craft. The evaluation of these data allows to conclude that the calcium phosphate cement, pure or in association to the autogenic bone can potentially be used as option to enxert in the treatments of bone defects, considering the used animal model in this research.

Descriptors: Repair; biocompatible materials; bone craft.

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5. RESULTADOS	49
5.1 RESULTADOS DESCRITIVOS DO EXAME DE MICROSCOPIA ÓPTICA	50
5.1.1 Osso Autógeno (Grupo I).....	51
5.1.2 Cimento de Fosfato de Cálcio (Grupo II).....	53
5.1.3 Cimento de Fosfato de Cálcio e Osso Autógeno (Grupo III).....	56
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5.3.1 Comparação entre os grupos.....	59
5.3.2 Comparação entre os Subgrupos.....	60
5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (GRUPO IV)	60
5.4.1 Grupo IV A.....	61
5.4.2 Grupo IV B.....	61
5.4.3 Grupo IV C.....	62
6. DISCUSSÃO	65
7. CONCLUSÕES	72
8. REFERÊNCIAS	74
ANEXOS	
Anexo A - Termo de avaliação e aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ULBRA.....	81
Anexo B - Termo de concessão do material (CFC) para realização da pesquisa, através do laboratório de Biomateriais (Labiomat®) da UFRGS.....	82
Anexo C - Termo de concessão do material (broca trefina e o mini triturador ósseo) para realização da pesquisa, confeccionados pela PROMM® Indústria e Comércio de Materiais Cirúrgicos – Porto Alegre/ RS - Brasil.....	83
Anexo D - Diagrama de um Guia Cirúrgico de Titânio.....	84
Anexo E - Diagrama de uma Broca do tipo Trefina de Titânio.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama ilustrativo demonstrando os diferentes profissionais que trabalham com biomateriais.....	21
Figura 2 - Ilustração demonstrando as diferentes áreas de aplicação dos biomateriais no corpo humano.....	23
Figura 3 - Imagem ilustrando o acesso ao fêmur direito do animal e sua devida exposição para confecção das cavidades.	41
Figura 4 - Imagem ilustrando a confecção da primeira perfuração realizada com broca trefina, no fêmur direito do animal para posterior colocação dos materiais de enxerto.	42
Figura 5 - Imagem ilustrando o fêmur direito do animal, com as cavidades devidamente preenchidas por CFC e OA.	42
Figura 6 - Imagem ilustrando o fêmur esquerdo do animal, com as cavidades devidamente preenchidas pela mistura de CFC+OA.	43
Figura 7 - Fotomicrografia evidenciando neoformação óssea e medula óssea. Grupo osso autógeno; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	52
Figura 8 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo osso autógeno; tempo experimental de 60 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).	52
Figura 9 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo osso autógeno; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).	53
Figura 10 - Fotomicrografia evidenciando neoformação óssea. Grupo cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100 x. Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	54
Figura 11 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo cimento de fosfato de cálcio, tempo experimental de 60 dias; Aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	55
Figura 12 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100 x. Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	55
Figura 13 - Fotomicrografia evidenciando neoformação óssea. Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	57

Figura 14 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 60 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	57
Figura 15 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea. Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100 x; Coloração Hematoxilina e Eosina. (H. E.).....	58
Figura 16 - Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Tempo do pós operatório: 30 dias; aumento 50X; escala de magnificação 1 mm.....	61
Figura 17 - Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Tempo do pós operatório: 60 dias; aumento 50X; escala de magnificação 1mm.....	62
Figura 18 - Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Tempo do pós operatório: 120 dias; aumento 50X; escala de magnificação 1mm.....	63

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADROS

Quadro 1 - Tipos de biomateriais e suas aplicações (PARKER JB, 1979).....	25
Quadro 2 - Organização dos grupos e subgrupos por períodos de observação.....	38
Quadro 3 - Resultados obtidos quanto aos implantes de OA, CFC e OA+CFC em número de animais acometidos.....	50
Quadro 4 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GI.....	51
Quadro 5 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GII.....	54
Quadro 6 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GIII.....	56

TABELAS

Tabela 1 - Para cada tratamento: comparação entre tempo, teste de Kruskal-Wallis.....	59
Tabela 2 - Para cada tempo: comparação entre tratamento, teste de Friedman.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μm: micrometro(s)

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura.

ULBRA : Universidade Luterana do Brasil.

®: Marca Registrada.

CFC: Cimento de Fosfato de Cálcio

mm: Milímetro.

Cm: Centímetros

OA: Osso autógeno

CFC+OA: Osso autógeno em associação com cimento de fosfato de cálcio

HA: Hidroxiapatita

G I: Grupo 1

G II: Grupo 2

G III: Grupo 3



1. INTRODUÇÃO

1990; POTTER; ELLIS III, 2004), pois apresenta uma boa biocompatibilidade com os tecidos adjacentes.

Segundo Ellis III (2000), os enxertos autógenos são compostos por tecidos do próprio indivíduo. É o único, entre os tipos de enxerto ósseo, a fornecer células ósseas vivas imunocompatíveis, essenciais à fase I da osteogênese, fase essa responsável pela proliferação da matriz óssea, em especial os osteóides. Quanto mais células vivas forem transplantadas, mais tecido ósseo será formado. No entanto, apresentam como desvantagem a necessidade de um segundo sítio cirúrgico doador, a limitação de quantidade tecidual e a reabsorção e dificuldade de adaptação do seu contorno.

Os materiais aloplásticos são divididos em reabsorvíveis e não-reabsorvíveis. Segundo Potter e Ellis III (2004), esse tipo de material vem ganhando cada vez mais aceitação no mercado específico, devido à fácil utilização e manipulação e por diminuir a morbidade do sítio doador do enxerto. Outros benefícios dos materiais aloplásticos são: diminuição do tempo cirúrgico, múltiplos tamanhos e formatos disponíveis, além de serem aparentemente infindáveis e inesgotáveis. As desvantagens desses tipos de materiais estão no fato de não serem pertencentes ao nosso organismo. Contudo, existe o risco de uma rejeição, somente de reação de corpo estranho e inflamatória fazendo com que uma nova intervenção cirúrgica seja necessária em alguns casos. Nesses casos, materiais reabsorvíveis são preferidos, pois estudos mostram que alguns materiais não-reabsorvíveis, podem causar reações a longo prazo (BROWN; BANKS, 1993; MAURIELLO; FLANAGAN; PEYSTER, 1984).

Hoje em dia, existe uma grande variedade de materiais de implantes, disponíveis para as reconstruções craniofaciais. Dentre eles, existem os materiais reabsorvíveis e não-reabsorvíveis. Como exemplos de materiais aloplásticos não-reabsorvíveis, podemos citar: titânio, polietileno poroso, silicone, teflon e hidroxiapatita.

Como exemplo de materiais reabsorvíveis temos: osso autógeno, cartilagem autógena, materiais alogênicos e xenogênicos, fásia liofilizada, filme de gelatina e Cimento de Fosfato de Cálcio (KONTIO, 2004).

Dentre os materiais, citados anteriormente, a hidroxiapatita (HA) é sem sombra de dúvidas um dos materiais mais utilizados e difundidos ao longo dos anos. Considerada um componente químico natural do corpo humano,

respostas inflamatória ou tóxica não são observadas nos tecidos circunvizinhos. Talvez a característica mais importante da HA seja a osteocondutividade, a qual conduz crescimento ósseo no interior do enxerto, promovendo a estabilidade e manutenção do volume do implante (SHINDO *et al.*, 1993).

Ainda segundo Shindo *et al.* (1993), estudos têm demonstrado a capacidade de crescimento do tecido osteóide no interior do bloco de HA porosa, estendendo-se até a altura original. As limitações das formas cerâmicas são: blocos frágeis com formas pré-determinadas e normatizadas, não permitindo seu contorno preciso; falta de estabilidade estrutural das formas granulares, dificultando sua permanência nos enxertos.

Essas desvantagens estariam ausentes se um material tivesse composição similar ao das cerâmicas de Fosfato de Cálcio, e, portanto, exibissem propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade, e que, por sua vez, fosse moldável na forma e nas dimensões do defeito ósseo que se pretendesse corrigir. Essas possibilidades e outras de interesse são apresentadas no Cimento de Fosfato de Cálcio (CFC), recentemente apresentado no mercado especializado (CARRODEGUAS *et al.*, 1999).

Os CFC são materiais constituídos por um pó e um líquido, os quais, ao serem misturados, formam uma pasta que toma presa espontaneamente, à temperatura ambiente ou corporal como resultado da precipitação de um ou vários Fosfatos de Cálcio (DRIESENS *et al.*, 1998).

O pó pode ser composto por um ou vários Fosfatos de Cálcio, outros sais de Cálcio e certos aditivos orgânicos. O líquido pode ser água ou soluções aquosas de compostos de cálcio ou fosfato, que também podem conter certos aditivos orgânicos (CHOW, 1998).

As características que determinam os CFC em biomateriais atrativos para a reconstrução ou remodelação óssea estão ligadas à facilidade de manipulação e moldagem sem ter que dar forma prévia ao implante, adaptando-se totalmente à forma da cavidade óssea, obtendo um íntimo contato entre o osso e o cimento desde os primeiros estágios da implantação. Além disso, os CFC diferenciam-se dos outros cimentos ósseos por não apresentar reação exotérmica (aquecimento) durante o processo de

endurecimento, evitando-se assim, a necrose tecidual no sítio de implantação (DRIESSENS *et al.*, 1997).

A principal desvantagem deste cimento é a sua baixa resistência mecânica, que no melhor dos casos consegue se igualar ao osso trabecular. Composições mais resistentes de Cimentos de Fosfato de Cálcio encontrariam aplicações na consolidação de fraturas múltiplas, fixação de próteses articulares e substituição de corpos vertebrais (SANTOS, 2002).

A partir desse conhecimento, Santos (2002) desenvolveu um CFC, reforçado por fibras de polipropileno, melhorando suas características mecânicas. Os resultados obtidos mostram que as fibras adicionadas aumentam mais acentuadamente a resistência à tração e a tenacidade à fratura dos cimentos, sendo obtidos valores de resistência próximos ao do osso cortical humano.

Genericamente, os CFC, comportam-se *in vivo* de maneira semelhante às biocerâmicas, ou seja, são reabsorvidos devido à atividade osteoclástica formando, ao mesmo tempo, novo tecido ósseo na interface osso-implante. Desta forma, os CFC não atuam como substitutos permanentes do osso, apenas temporários, sendo lentamente substituídos por tecido ósseo de nova formação. Esse comportamento típico tem sido denominado de osteotransdutividade (osteotransdução). A velocidade com que esse fenômeno ocorre depende fortemente do tipo de CFC, do sítio de implantação e da idade do indivíduo receptor, entre outros fatores (DRIESSENS *et al.*, 1998).



2. REVISTA DE LITERATURA

2. REVISTA DE LITERATURA

2.1 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto. Serve de suporte para partes moles e protege órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. Aloja e protege a medula óssea, formadora das células do sangue. Proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis, e constitui um sistema de alavancas que amplia as forças geradas na contração muscular.

Além dessas funções, os ossos funcionam como depósito de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os e liberando-os, de maneira controlada, para manter constante a concentração desses importantes íons nos líquidos corporais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O tecido ósseo é o mais desenvolvido tecido conjuntivo de sustentação e é composto de duas matrizes: orgânica e mineral. Seu peso consiste em 33% de matriz orgânica, que é composta de 90-95% de fibras colágenas, predominantemente colágeno tipo I. O restante é um meio homogêneo denominado substância fundamental amorfa, composta de proteoglicanas. Esta matriz é permeada por cálcio e fosfato na forma de cristais de hidroxiapatita (HA) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, que perfazem os 67% remanescentes do osso constituindo a matriz mineral. Nessa matriz, há também Fosfato de Cálcio não-cristalino, íons citrato, bicarbonato, flúoreto, magnésio, potássio e sódio em menores quantidades. A hidroxiapatita e o colágeno são os responsáveis pela dureza e resistência do tecido ósseo, permitindo que ele resista à compressão e à tensão (CORSETTI, 2005).

As células encontradas no tecido ósseo são basicamente: os osteócitos (fundamentais para manutenção do tecido ósseo), osteoblastos (produtores da parte orgânica da matriz) e osteoclastos (células gigantes, móveis e multinucleadas, que reabsorvem o tecido ósseo, participando dos processos de remodelação dos ossos) (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994).

O tecido ósseo apresenta duas formas estruturais principais: osso entrelaçado ou primário e osso lamelar ou secundário. O osso entrelaçado é

uma forma imatura caracterizada por organização irregular de fibras colágenas. Durante o desenvolvimento ósseo, esta é a primeira forma de osso produzida. A seguir é remodelado para formar osso lamelar, cuja estrutura constitui a maior parte do esqueleto maduro. O osso lamelar, quando disposto arquiteleticamente de forma aberta, constitui o osso esponjoso. Este osso maduro é representado por sucessivas camadas que formam uma massa sólida, o osso cortical (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994).

Como não existe difusão de substâncias através da matriz calcificada do osso, JUNQUEIRA e CARNEIRO (2004) reforçam que a nutrição do tecido ósseo depende de canais e canalículos, os chamados sistemas de Havers e Volkmann, ambos existentes na matriz.

2.1.1 Células no Tecido Ósseo

Os osteócitos são as células encontradas no interior da matriz óssea, ocupando as lacunas das quais partem canalículos. Dentro dos canalículos, os prolongamentos dos osteócitos estabelecem contatos através de junções comunicantes, por onde podem passar pequenas moléculas e íons de um osteócito para o outro. A pequena quantidade de material extracelular presente no espaço entre os osteócitos (e seus prolongamentos) e a matriz óssea também constitui uma via de transporte de nutrientes e metabólitos entre os vasos sanguíneos e os osteócitos. Os osteócitos são células achatadas, com forma de amêndoa e são essenciais para a manutenção da matriz óssea.

Os osteoblastos são as células que sintetizam a parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. São capazes de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz. Quando em intensa atividade sintética, são cubóides, com citoplasma muito basófilo. Porém, em estado pouco ativo, tornam-se achatados e a basofilia citoplasmática diminui. Uma vez aprisionado pela matriz recém sintetizada, o osteoblasto passa a ser chamado de osteócito. A matriz se deposita ao redor do corpo da célula e de seus prolongamentos, formando assim, as lacunas e os canalículos. Os osteoblastos em fase de síntese mostram as características ultra-estruturais das células produtoras de proteínas. A matriz óssea recém-formada, adjacente aos osteoblastos ativos e que não está ainda calcificada, recebe o nome de

osteócito (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteoclastos são células móveis, gigantes, extremamente ramificadas, com partes dilatadas que contêm de 6 a 50 núcleos ou mais. As ramificações são muito irregulares, com forma e espessura variáveis. Frequentemente nas áreas de reabsorção do tecido ósseo encontram-se porções dilatadas dos osteoclastos, colocadas em depressões das matrizes escavadas pela atividade do osteoclasto e conhecidas como lacunas de Howship. A superfície ativa dos osteoclastos, voltada para a matriz óssea, apresenta prolongamentos vilosos irregulares. A maioria desses prolongamentos tem a forma de folhas ou pregas que se subdividem. Circundando essa área com prolongamentos vilosos, existe uma zona citoplasmática, chamada de zona clara, pobre em organelas, porém contendo muitos filamentos de actina. A zona clara é um local de adesão do osteoclasto com a matriz óssea e cria um microambiente fechado, ácido (H⁺), colagenase e outras hidrolases que atuam localmente digerindo a matriz orgânica e dissolvendo os cristais de sais de cálcio. A atividade dos osteoclastos é coordenada por citocinas (pequenas proteínas sinalizadoras que atuam localmente) e por hormônios como a calcitonina (produzida pela glândula tireóide) e paratormônio (secretado pelas glândulas paratireóides) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.1.2 Reparo do Tecido Ósseo e Histogênese

A formação de um novo tecido ósseo ocorre, a partir de três mecanismos biológicos: *osteogênese*, *osteoindução* e *osteocondução* (KONTIO, 2004). Dois tipos de processo são indispensáveis para que isso aconteça: a *ossificação intramembranosa*, que ocorre no interior de uma membrana cognitiva e o processo de *ossificação endocondral* (TEN CATE, 1994). Além disso, diversos autores descrevem basicamente três estágios fisiológicos do reparo: inflamatório, fibroblástico (reparadora) e de remodelação (CORSETTI, 2005).

2.1.2.1 Histogênese

Osteogênese:

Em 1982, GRAY e ELVES publicaram uma pesquisa experimental utilizando um modelo canino no qual discutiam a osteogênese que ocorria nos enxertos de osso esponjoso. Nesse trabalho os autores demonstraram que as células competentes das áreas doadoras são responsáveis pelo início da osteogênese no reparo, nesse tipo de enxerto. Essas células estão presentes tanto no osso enxertado como no leito receptor, sendo que as duas populações participam do processo de osteogênese. O espaço causado pelo defeito ósseo e devidamente preenchido por um enxerto ósseo possui um reparo realizado através de osteogênese. Os osteoblastos endosteais possuem uma sobrevivência pós enxerto de até cinco dias, dependendo também de sua habilidade em absorver nutrientes junto aos tecidos subjacentes (MARX, 1994). Lâminas internas de osteoblastos dentro do enxerto ósseo geram um potente fator de crescimento, enquanto células endoteliais iniciam capilarmente o crescimento interno (CAPPLAN, 1994).

Ellis III e Sinn (1993) formularam a teoria da osteogênese em duas fases. Nesta teoria, a regeneração do enxerto ósseo inicia com a deposição de nova matriz osteóide pelas células transplantadas. A fase I é responsável pela maior parte do osso neoformado e está diretamente relacionada à difusão de nutrientes das margens do leito receptor e à quantidade de células ósseas viáveis transplantadas. A fase II inicia após a segunda semana com intensa angiogênese e proliferação fibroblástica do leito receptor para o enxerto. Fibroblastos e outras células mesenquimais diferenciam-se em osteoblastos, dando continuidade à osteogênese, devido ao mecanismo de indução de proteínas encontradas no osso (ELLIS III; MESSO, 2004).

Osteoindução:

A osteoindução é definida pela capacidade de um material induzir células mesenquimais indiferenciadas a se diferenciarem em osteoblastos (MARX; SAUDERS, 1986). A osteoindução é uma das principais propriedades

2004; ELLIS III; MESSO, 2004).

Os enxertos autógenos podem ser obtidos de diferentes regiões do corpo e retirados de várias formas, sendo a crista do osso íliaco (enxertos ósseos esponjoso-medulares), a calota craniana, a tíbia, as costelas e a mandíbula (especialmente para enxertos de menores proporções) as áreas doadoras de eleição do Cirurgião Bucomaxilofacial (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2001).

Nos enxertos autógenos há a desvantagem da necessidade de um segundo sítio cirúrgico para a obtenção do enxerto, o que pode, muitas vezes, contra-indicar o procedimento. O osso autógeno cortical oferece excelente suporte estrutural para o sítio receptor. É uma excelente alternativa para segmentos de defeitos maiores de 5 ou 6 cm que requerem suporte estrutural imediato. Exemplo disto são as seqüelas de traumatismos orbitários, nas quais a perda óssea promove a enoftalmia. Para defeitos maiores que 12 cm, os enxertos vascularizados são superiores aos não vascularizados.

2.1.3.2 Enxerto Ósseo Alógeno

Os *Enxertos Alógenos* são aqueles obtidos de outro indivíduo da mesma espécie. Uma vez que os indivíduos são, em geral, diferentes geneticamente, os enxertos são rotineiramente tratados para reduzir a antigenicidade, não permitindo que esse tipo de enxerto participe da fase I da osteogênese. A atuação desses enxertos na osteogênese é puramente passiva; eles oferecem uma matriz de tecido duro para a indução da fase II, fase essa responsável pela angiogênese e proliferação fibroblástica do leito receptor sobre o enxerto ósseo e logo começa a osteogênese do tecido conjuntivo. Ultimamente, o enxerto Alógeno mais comumente utilizado é o liofilizado. Possui a vantagem de não haver a necessidade de realização de uma segunda cirurgia, em um outro sítio. Sua maior desvantagem é de não haver a fase I da osteogênese. Atualmente, existem em alguns estados do Brasil, bancos de ossos que podem ser requisitados mediante preenchimento de documentação específica. Entretanto, essa ainda não é uma opção extensamente utilizada na Cirurgia Bucomaxilofacial.

2.1.3.3 Enxerto Ósseo Xenógeno

Os enxertos ósseos xenógenos são aqueles retirados de uma espécie e transplantados para outra diferente. As diferenças antigênicas desses enxertos são mais pronunciadas do que no osso alo gênico. Exige um tratamento mais vigoroso do enxerto, para prevenir rápida rejeição do enxerto, contra-indicando seu uso, além de também não fornecer células viáveis para a formação da fase I da osteogênese (ELLIS III, 1996). O exemplo mais comum empregado na Odontologia é o enxerto ósseo bovino liofilizado.

O estudo do osso liofilizado data do século XIX, quando era empregado para o preenchimento de cavidades produzidas por cirurgias de osteomielites. O primeiro estudo feito com osso desmineralizado para reconstrução ocorreu em 1899, quando Senn foi capaz de efetuar um reparo parcial de defeito no crânio canino, usando osso descalcificado xenogênico, proveniente de carneiro (PALMA, 2004). Entretanto, o osso liofilizado possui certas desvantagens, como incompatibilidade do hospedeiro, potencial de contaminação de espécies resultando na infecção do sítio receptor e o potencial de transmissão de doenças do doador para o receptor do enxerto (CARLSON; MARX; BUCK, 1995).

2.2 BIOMATERIAIS

A definição mais aceita de biomateriais é a da Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas de 1982, a qual diz que se entende por biomaterial:

Toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais" (WILLIAMS, 1987).

Isso significa que em sentido mais amplo são enquadrados nessa categoria todos os materiais empregados em Odontologia, Medicina, Medicina

Veterinária e Farmacologia, além daqueles que entram na forma de implantes em contato direto com o tecido do corpo. Uma definição prática é dada por Park, segundo o qual “biomateriais são tudo que, de modo contínuo ou intermitente, entra em contato com fluidos corpóreos, mesmo que esteja localizado fora do corpo” (PARK, 1979).

Diante da busca constante de um substituto ideal para tecidos humanos, devido à complexidade do tratamento reparador, tem sido dado destaque aos materiais aloplásticos. Dentre eles, podemos citar os metais (titânio, platina, ouro), os polímeros (polietileno, poliéster, polimetilmetacrilato, silicone) e as cerâmicas (Hidroxiapatita, Cimento de Fosfato de cálcio) (CORSETTI, 2005; LEONEL *et al.*, 2003).

Esse tipo de material vem ganhando cada vez mais aceitação no mercado específico, devido ao fácil uso e manipulação e por diminuir a morbidade do sítio doador do enxerto (POTTER; ELLIS III, 2004).

Inúmeros fatores devem ser examinados antes que um material possa ser utilizado como implante. Uma das primeiras etapas de avaliação do biomaterial é a avaliação biológica *in vitro*, e um dos primeiros testes é o de citotoxicidade, em que o biomaterial é colocado em contato com células de mamíferos de uma maneira direta ou indireta. Observa-se o nível de letalidade das células que define se o material é ou não citotóxico. A seguir, testes *in vivo* se fazem necessários, para a avaliação do material em termos de biocompatibilidade, definidos como a resposta do meio fisiológico ao corpo implantado. Uma etapa posterior verifica a adequação do material em exercer a função pré-estabelecida a qual o implante foi destinado, determinando sua biofuncionalidade. Testes mais prolongados podem ainda revelar se há chances de respostas carcinogênicas ao longo dos anos (SEPÚLVEDA *et al.*, 1999a).

Como característica imprescindível, esses materiais devem ser biocompatíveis, devem atender ao requisito de biofuncionalidade (VALLET-REGÍ; RODRÍGUEZ-LORENZO; SALINAS, 1997) para o qual foram projetados, não estimulando ou provocando o mínimo de reações alérgicas ou inflamatórias. De acordo com os conceitos de biofuncionalidade, é importante que o implante permita o desempenho imediato e com êxito da função específica (estática e dinâmica) da parte do corpo que está sendo substituída.

Neste conceito estão incorporados também os problemas associados à degradação química dos materiais, visto que o meio fisiológico pode ser bastante agressivo, mesmo aos materiais considerados extremamente inertes quimicamente, levando à redução da eficiência do implante (HENCH; WILSON, 1999).

Biocompatibilidade significa que o material e seus possíveis produtos de degradação devem ser tolerados pelos tecidos envoltórios e não devem causar prejuízos ao organismo a curto e longo prazo. Para que um material seja aceito clinicamente como um material de implante, ele precisa atender a alguns requisitos fundamentais (RAVAGLIOLI; KRAJEWSKI, 1992):

- o material deve ser biocompatível, ou seja, sua presença não deve causar efeitos nocivos no local do implante ou no sistema biológico;
- os tecidos não devem causar a degradação do material, como corrosão em metais, ou pelo menos que seja de forma tolerável;
- o material deve ser biofuncional, ou seja, deve ter as características mecânicas adequadas para cumprir a função desejada, pelo tempo desejado; e
- o material deve ser esterilizável.

Outros benefícios dos materiais aloplásticos são: diminuição do tempo cirúrgico, múltiplos tamanhos e formatos disponíveis, além de serem aparentemente infundáveis ou inesgotáveis.

Entretanto, as desvantagens desse tipo de material passam por não serem materiais pertencentes ao nosso organismo, por isso correm o risco de uma rejeição, somente de reação de corpo estranho e inflamatória fazendo com que uma nova intervenção cirúrgica seja necessária em alguns casos. Nesses casos, materiais reabsorvíveis são preferidos, pois estudos mostram que alguns materiais não-reabsorvíveis podem causar reações a longo prazo (BROWN; BANKS, 1993).

O trabalho no campo dos biomateriais envolve especialistas de diferentes campos de atividades. A confecção de uma prótese bucomaxilofacial, por exemplo, necessita de profissionais como engenheiros de materiais, cirurgiões bucomaxilofacial, biólogos, Médicos Veterinários entre outros técnicos. É imprescindível a ação coordenada e multidisciplinar para que um biomaterial possa ser desenvolvido. Veja abaixo a figura 1 que apresenta

um diagrama desenvolvido por Vallet-regí; Rodríguez-Lorenzo; Salinas (1997) e adaptado por Santos¹.

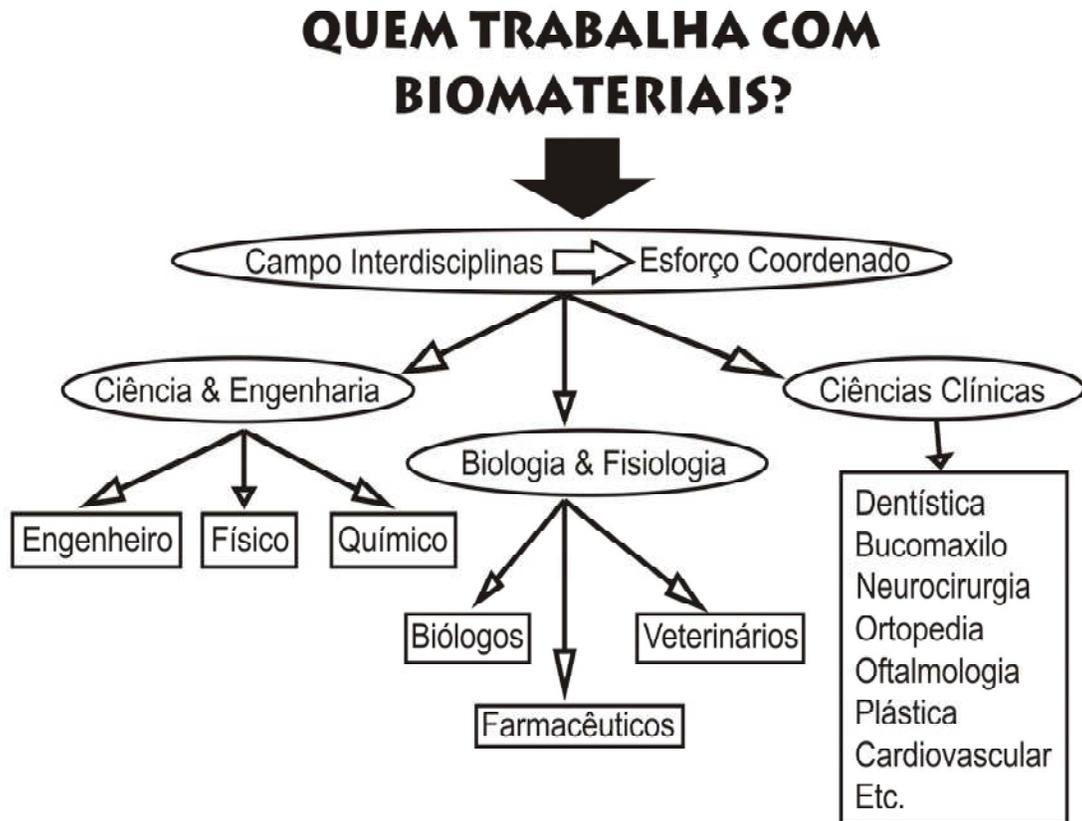


Figura 1 - Diagrama ilustrativo demonstrando os diferentes profissionais que trabalham com biomateriais.

2.2.1 Classificação dos Biomateriais

Nenhum material de implante é sempre inerte, quando em contato com os fluidos corpóreos, sendo que todos causam um tipo de resposta no tecido hospedeiro (WILSON, 1997). Assim, os biomateriais podem ser classificados de acordo com seu comportamento em meio fisiológico (HENCH; WILSON, 1999):

Biotoleráveis: materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes através da formação de camada envoltória de

¹ SANTOS, L.A. Notas de aula da disciplina “Biomateriais”. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

tecido fibroso. Atinge-se, assim, no máximo, a chamada “osteoproximação” à distância, provavelmente induzida pela liberação por parte do material de componentes (p. ex. monômeros, íons, produtos de corrosão) que se alojam no tecido hospedeiro. A espessura dessa camada, assim como sua composição, depende do tipo de material empregado. Quanto maior a espessura da camada de tecido fibroso formado, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos – como o Polietileno de Alta Densidade Linear (PEAD) utilizado na cabeça de próteses femorais –, assim como a grande maioria dos metais.

Bioinertes: materiais também tolerados pelo organismo, mas a formação de envoltório fibroso é pequena, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o faz em quantidades ínfimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima. A resposta fagocitária será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos, esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono.

Bioativos: materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osseointegração), em função da similaridade química entre esses materiais e a parte mineral óssea. O colágeno e a fase mineral do osso adjacente são depositados diretamente sobre a superfície do material do implante, dando origem a uma ligação resistente à tração entre o material bioativo e o osso. Os principais materiais dessa classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.

Reabsorvíveis: materiais que após certo período de tempo em contato com os tecidos acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para a retirada do material de implante. Os principais exemplos destes materiais são: o fosfato tricálcico (TCP) e o poli (ácido láctico).

Outra classificação dos biomateriais é dada por Vallet-Regí; Rodríguez-Lorenzo; Salinas (1997):

Biomédicos: a qual considera todos os materiais, biocompatíveis, de

origem artificial.

Biológicos: a qual considera todos os materiais, biocompatíveis, de origem natural.

2.2.2 Aplicações dos Biomateriais

A reconstituição e substituição de tecidos duros, tais como ossos e dentes, têm sido mais desenvolvidos do que a de tecidos moles (MACHADO, 2007). Metais, cerâmicas, polímeros e compósitos são materiais comumente utilizados em cirurgias realizadas nas diferentes áreas de atuação nas diversas regiões do corpo humano (VOLKMER, 2006) como mostra a figura 2.

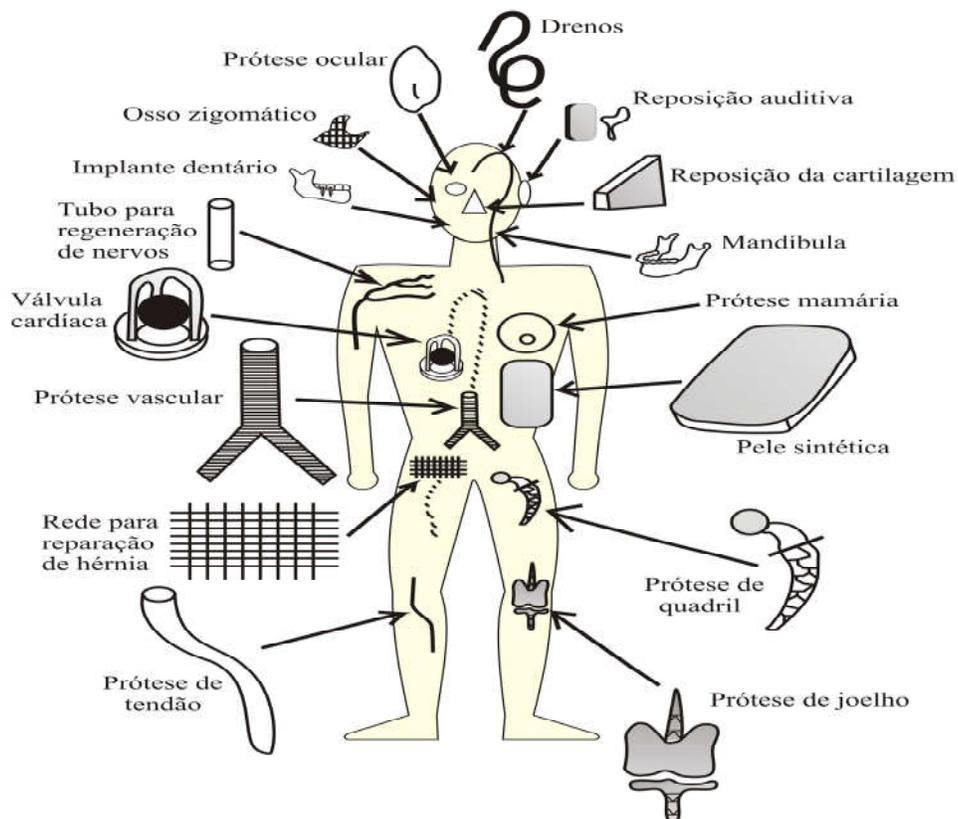


Figura 2 - Ilustração demonstrando as diferentes áreas de aplicação dos biomateriais no corpo humano.

2.2.3 Tipos de Biomateriais

Os biomateriais se subdividem basicamente em: metais, polímeros, cerâmicas e compósitos. No quadro 1 verifica-se os tipos de biomateriais, vantagens e desvantagens, e suas aplicabilidades clínicas.

podem ser altamente polidas, o que as permite suportar grandes cargas, seja em contato consigo mesmo ou com materiais poliméricos em meios fisiológicos (BEN-NISSAN, 2003).

Em termos gerais, as biocerâmicas podem ser classificadas como bioinertes ou bioativas (VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004). Porém, a Conferência da Sociedade Européia para Biomateriais não considera o termo bioinerte adequado, pois quando um material é posto em contato com o corpo humano induz algum tipo de resposta, mesmo que mínima (KAWACHI *et al.*, 2000). No entanto, o termo ainda é comumente utilizado por diversos autores, e sua definição mais aceita é de um material que apresenta uma resposta interfacial mínima, do tecido hospedeiro, pela formação, por exemplo, de uma cápsula fibrosa ao redor do material. Já uma biocerâmica bioativa, termo bem aceito na comunidade científica, é conceituada como aquela que induz uma determinada atividade biológica por parte do tecido hospedeiro frente à presença do material (VOLKMER, 2006).

As vantagens dos materiais cerâmicos são a resistência à corrosão, a baixa condutibilidade térmica e o módulo de elasticidade semelhante a do osso (SANTOS, 2002).

A primeira biocerâmica amplamente difundida foi a alumina, a qual é considerada bioinerte. Além da alumina, outras cerâmicas como a zircônia, o óxido de titânio, os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, apresentam uso muito difundido atualmente (MACHADO, 2007).

As biocerâmicas mais utilizadas são a hidroxiapatita sintética, o fosfato tricálcico e o vidro bioativo os quais são compostos por fosfato e cálcio, numa proporção semelhante ao osso humano (BOURGUIGNON FILHO, 2005).

2.2.3.2 Vidro Bioativo

As propriedades osteocondutoras e osteoestimuladoras apresentadas pelo vidro bioativo têm sido demonstradas em diversos estudos. Este biomaterial é utilizado em várias composições e tamanhos de partículas no tratamento de doença periodontal; em fissuras palatinas; em cirurgias periapicais; em defeitos ósseos císticos (SCHEPERS *et al.*, 1993); em levantamento do assoalho do seio maxilar (FURUSAWA; MIZUNUMA, 1997) e,

Considerada um componente químico natural do corpo humano, respostas inflamatória ou tóxica não são observadas nos tecidos circunvizinhos. Talvez a característica mais importante da HA seja a osteocondutividade, a qual conduz crescimento ósseo para o interior do enxerto, promovendo a estabilidade e manutenção do volume do implante (SHINDO *et al.*, 1993; JACKSON; YAVUZER, 2000). As preparações de HA têm sido apresentadas em forma de cerâmicas, comercializadas como formas densas ou porosas, blocos e grânulos. A forma porosa promove osseointegração mais consistente, resultando na formação de união forte entre o enxerto e osso adjacente.

Ainda segundo Shindo *et al.* (1993), estudos têm demonstrado a capacidade de crescimento do tecido osteóide no interior do bloco de HA porosa, estendendo-se até a altura original.

As limitações das formas cerâmicas são blocos frágeis, com formas pré-determinadas e normatizadas não permitindo seu contorno preciso. Além disso, a falta de estabilidade estrutural das formas granulares dificulta sua permanência nos enxertos e pode apresentar o risco de migração para além do sítio de implantação, podendo alcançar o tecido mole e provocar reações granulomatosas e até mesmo sua expulsão para fora do organismo (DRIESSENS *et al.*, 1997).

2.2.3.4 Cimento de Fosfato de Cálcio (CFC)

Essas desvantagens citadas no item anterior estariam ausentes se um material tivesse composição similar ao das cerâmicas de fosfato de cálcio, e, portanto, exibissem propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade e que, por sua vez fosse moldável na forma e nas dimensões do defeito ósseo que se pretendesse corrigir. Essas possibilidades e outras de interesse são identificadas nos CFC, apresentado no mercado especializado internacional já há algum tempo (CARRODEGUAS *et al.*, 1999).

Diversos tipos de CFC têm sido desenvolvidos tendo potencial aplicação no campo da ortopedia (PIOLETTI *et al.*, 2000).

Os CFC são materiais constituídos por um pó e um líquido, os quais, ao serem misturados, formam uma pasta que toma presa espontaneamente à

temperatura ambiente ou corporal como resultado da precipitação de um ou vários fosfatos de cálcio (DRIESENS *et al.*, 1998).

O pó pode ser composto por um ou vários fosfatos de cálcio, outros sais de cálcio e certos aditivos orgânicos. Por sua vez, o líquido pode ser água ou soluções aquosas de compostos de cálcio ou fosfato, que também podem conter certos aditivos orgânicos (CHOW, 1998).

As características que determinam os CFC em biomateriais atrativos para a reconstrução ou remodelação óssea estão ligadas à facilidade de manipulação e moldagem sem ter que dar forma prévia ao implante, adaptando-se totalmente à forma da cavidade óssea, obtendo um íntimo contato entre o osso e o cimento desde os primeiros estágios da implantação. Além disso, os CFC diferenciam-se dos outros cimentos ósseos por não aquecer durante o processo de endurecimento, evitando, assim, a necrose tecidual no sítio de implantação (DRIESENS *et al.*, 1997).

São sete os principais tipos de CFC, de acordo com a quantidade de fosfatos de cálcio precipitados, conforme o sistema ternário Ca(OH)-H₃PO₄-H₂O (DRIESENS *et al.*, 1997).

Do ponto de vista clínico, existem certos requisitos que um cimento ósseo deva cumprir, o que reduz ainda mais os tipos de CFC de interesse. Esses requisitos são curar e endurecer *in vivo* em tempo razoável, possuir uma resistência mecânica apropriada durante o período requerido, pH neutro (6,5 – 8,5) durante e depois da cura para evitar efeitos citotóxicos, fácil manipulação, ausência de toxicidade, perfeita adesão ao tecido ósseo e ausência de características alergênicas e cancerígenas (LEMAITRE; MIRTCHI; MORTIER, 1987).

Segundo Machado (2007), os cimentos de fosfato de cálcio reúnem uma série de vantagens que permitem seu uso como preenchimento e substituto de partes danificadas do sistema ósseo, dentre as quais estão:

- I) preparação do cimento ser realizada no ato cirúrgico;
- II) curto tempo de moldagem e enxerto;
- III) exigência de mínima cavidade para o implante;
- IV) ajuste à geometria óssea específica do paciente;
- V) ótimo contato entre osso e implante;
- VI) curto tempo de cura à temperatura corporal;

- VII) ausência de retração e de expansão durante a cura;
- VIII) ausência de liberação de calor durante a cura;
- IX) permanência do pH da massa em escala neutra durante e após a cura;
- X) resistência à compressão final compatível com a dos ossos;
- XI) biocompatibilidade e estímulo à neoformação óssea.

Os CFC desenvolvidos até o momento e que por sua vez cumprem os requisitos anteriores podem se classificar de acordo com o composto formado durante a cura em cimentos de hidroxiapatita desenvolvidos por Brow e Chow, na metade da década de 1980 (BROW; CHOW, 1985 apud CARRODEGUAS et al., 1999), e cimentos de fosfato de dicálcio diidratado (MIRTCHI; LEMAITRE; TERA0, 1989).

Até o momento são conhecidas três marcas comerciais de CFC, todas recentemente lançadas: *Norian Skeletal Repair System*® (Norian Corp., Cupertino, CA, EUA), *Cementek*® (Teknimed S.A., Vic en Bigorre, França) e *Biocement D*® (Biomaterial, Darmstaldt, Alemanha).

A principal desvantagem desse cimento é a sua baixa resistência mecânica, que no melhor dos casos consegue se igualar ao osso trabecular. Composições mais resistentes de Cimentos de Fosfato de Cálcio encontrariam aplicações na consolidação de fraturas múltiplas, fixação de próteses articulares e substituição de corpos vertebrais (SANTOS, 2002).

A partir desse conhecimento, Santos (2002), desenvolveu um CFC, reforçado por fibras de polipropileno, melhorando suas características mecânicas. Os resultados obtidos mostram que as fibras adicionadas aumentam mais acentuadamente a resistência à tração e a tenacidade à fratura dos cimentos, sendo obtidos valores de tenacidade próximos ao do osso cortical humano.

Genericamente, os CFC, comportam-se *in vivo* de maneira semelhante às biocerâmicas, ou seja, são reabsorvidos devido à atividade osteoclástica formando, ao mesmo tempo, novo tecido ósseo na interface osso-implante. Desta forma, os CFC não atuam como substitutos permanentes do osso, apenas temporários, sendo lentamente substituídos por tecido ósseo de nova formação. Esse comportamento típico tem sido denominado de osteotransdutividade (osteotransdução). A velocidade com que esse fenômeno ocorre depende fortemente do tipo de CFC, do sítio de implantação e da idade

do indivíduo receptor, entre outros fatores (DRIESSENS *et al.*, 1998).

As experiências clínicas com o uso do CFC são ainda relativamente escassas, devido a sua recente aparição. As aplicações clínicas do CFC são as mais diversas na área Médica e Odontológica, tais como Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF), Traumatologia, Ortopedia, Cirurgia Plástica, Implantodontia, Prótese Dentária e Bucomaxilofacial, entre outras (SANTOS *et al.*, 2005).



3. PROPOSIÇÃO

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o reparo tecidual *in vivo* frente a enxertos de OA, implantes de CFC e uma mistura de CFC+OA, preenchendo cavidades ósseas realizadas em fêmures de ratos, através de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Como objetivos secundários buscou-se avaliar a biocompatibilidade tecidual promovida por cada um desses materiais.



4. METODOLOGIA

4. METODOLOGIA

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Esta pesquisa foi avaliada e aprovada como eticamente adequada pelo plenário do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos e Animais da ULBRA (Anexo A), de acordo com as Leis 6.638/79 e 9605/98, com decreto 24.645/34, com os princípios éticos na experimentação animal (COBEA), com os princípios para pesquisa envolvendo animais (GENEBRA, 1985) e outras instruções que tratam da matéria.

4.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA

O presente trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma tradicional qualitativo-quantitativo, no *design* de estudo quase experimental (CAMPBELL; STANLEY, 1979).

4.3 LOCAL

O experimento foi idealizado no Departamento de Pós-graduação, nível de Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do curso de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil - ULBRA (Canoas-RS). O material inorgânico foi confeccionado no Departamento de Materiais da Escola de Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (Porto Alegre-RS). A parte experimental foi desenvolvida no Biotério da Universidade Luterana do Brasil - ULBRA (Canoas-RS).

4.4 VARIÁVEIS

4.4.1 Variável independente

Cimento de Fosfato de Cálcio e Osso Autógeno

de cálcio diidratado, gerando poros no cimento que facilitam a osteocondução dos tecidos. O material desenvolvido é parte dos resultados da tese de doutoramento de Santos (2002).

Foram realizadas quatro perfurações nos fêmures dos ratos, utilizando uma broca do tipo trefina, fabricada pela Promm® – Indústria de Materiais Cirúrgicos Ltda. (Porto Alegre-RS), conforme o termo de concessão a que se refere o Anexo C.

Nos fêmures direitos, foram realizadas duas perfurações: a primeira cavidade, na porção medial da articulação coxofemoral, na diáfise femural, será preenchida com osso autógeno. A segunda cavidade será preenchida com CFC puro e será localizada, distalmente, também em diáfise femural, a uma distância de 0,8mm da primeira perfuração, sendo padronizada por um guia cirúrgico confeccionado pela Promm®.

A terceira e a quarta cavidades foram realizadas nos fêmures esquerdos e foram devidamente preenchidas com uma mistura de CFC mais osso autógeno (CFC+OA), numa proporção de 1:1, sendo padronizadas e confeccionadas da mesma maneira que as do fêmures esquerdos.

Os materiais foram levados a suas respectivas cavidades, através de uma espátula do tipo Thompson® N° 12 (Dental MFG. Co USA).

4.6 ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos distintos: Grupo I (OA), Grupo II (CFC), Grupo III (CFC+OA) e Grupo IV (CFC+OA), cada um com cinco animais.

Grupo I: Este grupo ficará evidenciado pelas amostras contendo apenas enxerto ósseo autógeno (OA), ou seja, todos os primeiros defeitos ósseos realizados nos fêmures direitos e localizados medialmente à articulação coxofemoral, totalizando 15 amostras.

Grupo II: Este grupo ficará evidenciado pelas amostras contendo apenas Cimento de Fosfato de Cálcio (CFC), ou seja, todos os segundos defeitos ósseos, realizados nos fêmures direitos e localizados distalmente à articulação coxofemoral, totalizando 15 amostras.

Grupo III: Este grupo ficará evidenciado pelas amostras contendo a

mistura de CFC+OA, numa proporção de 1:1. Todos os defeitos ósseos realizados nos fêmures esquerdos e localizados medialmente à articulação coxofemoral farão parte dessa amostra, totalizando 15 amostras.

Grupo IV: Este grupo ficará evidenciado pelas amostras contendo a mistura de CFC+OA, numa proporção de 1:1. Todos os defeitos ósseos realizados nos fêmures esquerdos e localizados distalmente à articulação coxofemoral farão parte dessa amostra, totalizando 15 amostras. Este grupo foi submetido à análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Em todos os grupos o período de observação foi de 30, 60 e 120 dias. Dessa forma, cada grupo foi subdividido em três subgrupos (A, B, C), de acordo com o período de observação (Quadro 2).

Quadro 2 - Organização dos grupos e subgrupos por períodos de observação

GRUPO	PROCEDIMENTOS	SUBGRUPOS	AMOSTRA (n)	PERÍODO DE OBSERVAÇÃO
I	OA	GI A	05	30 dias
		GI B	05	60 dias
		GI C	05	120 dias
II	CFC	GII A	05	30 dias
		GII B	05	60 dias
		GII C	05	120 dias
III	CFC + OA	GIII A	05	30 dias
		GIII B	05	60 dias
		GIII C	05	120 dias
IV	CFC + OA (MEV)	GIV A	05	30 dias
		GIV B	05	60 dias
		GIV C	05	120 dias

Fonte: Dados da pesquisa (ULBRA, 2007)

Os animais foram mantidos individualmente, em gaiolas de polietileno medindo 27 cm de comprimento X 20 cm de largura X 18 cm de altura. A cobertura era metálica e o assoalho forrado por serragem de pinho. Eles foram

mantidos em uma sala separada sob condições adequadas de temperatura (25°C), umidade relativa e ventilação, com intervalos de 12 horas entre claridade e escuridão. As gaiolas foram etiquetadas e numeradas conforme o grupo correspondente, data e duração da cirurgia e da morte dos animais, além do nome do pesquisador e do orientador responsável pelo experimento.

Os procedimentos de manipulação, alimentação e limpeza foram realizados por pessoal treinado em bioterismo. Os animais foram alimentados com dieta padrão de Biotério (Ração Nuvital®) e água *ad libitum*. A limpeza das gaiolas foi realizada diariamente com água corrente, sabão e desinfetantes, a fim de se diminuir os riscos de contaminação e infecções.

4.7 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO / EXCLUSÃO

Para que os animais pudessem ser incluídos nos experimentos, deveriam:

- ser da raça proposta;
- estar em bom estado nutricional; e
- chegar ao final do período de observação com bom estado de saúde.

Os critérios avaliados para exclusão dos animais abrangeram:

- presença de complicações (infecções, necroses, debilitação do estado geral), trazendo problemas e desconforto ao animal durante o período do experimento e no momento da morte dos mesmos; e
- fratura óssea de um dos fêmures, constatada ao término do período de observação.

4.8 TÉCNICA CIRÚRGICA

Previamente ao ato cirúrgico, os animais foram anestesiados com uma associação de Tiletamina-Zolazepam (Zoletil® 50) na dosagem 20mg/kg, 0,4ml/kg (suplementados com metade da dosagem, se necessário: 0,2ml/kg) injetados via intramuscular.

Após a obtenção do efeito anestésico, foi procedida a tricotomia das regiões coxofemorais direita e esquerda, com o auxílio de lâminas de bisturi, número 21, evitando-se lesão epidérmica. Com a pele exposta e livre de pêlos,

procedeu-se a antissepsia da região com iodoform alcoólico a 2%. A região operatória foi isolada utilizando-se campos cirúrgicos fenestrados de tecido, previamente esterilizados, adaptados para o procedimento. Os sítios para intervenção cirúrgica foram os ossos do fêmur direito e esquerdo dos animais.

Com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo, devidamente estabilizado através de micropore estéril, o acesso ao fêmur direito foi obtido por meio de incisão contínua longitudinal de aproximadamente 2,0 cm de extensão na pele e tecido subcutâneo, na região superior medial direita, com o auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15, montada em cabo de bisturi nº 3.

Utilizando-se um descolador tipo *Molt* nº 9 e uma tesoura do tipo *Matzembraum*, foram procedidos a divulsão e o acesso até a exposição do periósteo. Em seguida o periósteo foi incisado e descolado ao longo da área óssea a ser exposta, permitindo assim, acesso direto à face exposta da diáfise do fêmur. Esse mesmo procedimento deu-se também do lado esquerdo.

Após a exposição da diáfise (Figura 3), fez-se uso do guia cirúrgico. O guia de titânio utilizado (Anexo D) possui 16 mm de comprimento de base com uma haste de 40 mm que se continua com a base. Uma empunhadura de 10 mm facilita sua preensão. Esse guia cirúrgico possui dois orifícios de 2mm de diâmetro, estando equidistantes 8 mm entre si. Tais orifícios serviram para padronizar a realização das perfurações.

Nas perfurações utilizou-se uma broca do tipo trefina (Anexo E), tendo como medidas na ponta ativa 2 mm de diâmetro externo, 1,8 mm de diâmetro interno e 4 mm de altura de corte, confeccionada pela Promm[®]. Um motor elétrico (Driller BLM600[®]) com 1000 rpm acoplado a uma peça reta (KAVO[®]) também se fizeram necessários para confecção das cavidades. Os defeitos criados apresentaram um padrão de profundidade, determinado pelo rompimento da cortical óssea e pela profundidade da medula.

Os animais foram submetidos à confecção de uma primeira cavidade na face lateral do fêmur, em região proximal à junção coxofemoral sob irrigação constante de solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% (Figura 4). A segunda cavidade foi previamente delimitada pelo uso do guia cirúrgico, procedendo-se da mesma forma que a primeira. O primeiro acesso cirúrgico e as respectivas perfurações deram-se primeiro no lado direito do animal, sendo realizadas e padronizadas igualmente junto ao fêmur esquerdo,

posteriormente.

Foram realizados, ao todo, quatro defeitos ósseos nos dois fêmures dos animais, 02 do lado direito e 02 do lado esquerdo. A primeira cavidade, localizada no fêmur direito, proximal à articulação coxofemoral, foi preenchida com osso autógeno. A segunda cavidade do lado direito foi preenchida com CFC puro (Figura 5). A terceira e a quarta cavidades, localizadas no fêmur esquerdo, foram preenchidas com uma mistura de CFC e osso autógeno (Figura 6) triturado com o auxílio de um triturador de osso confeccionado pela Promm[®]. A quarta cavidade, preenchida com uma mistura de CFC+OA, foi submetida a uma análise de MEV.

A sutura foi realizada por planos, utilizando-se fio de sutura reabsorvível (Vicryl 4.0 – Ethicon[®]), montado em agulha atraumática semicircular de 1,5 cm de comprimento e secção triangular. Na pele foi utilizado fio de Nylon 4.0, monofilamentado, também com agulha atraumática semicircular de 1,5 cm (Ethicon[®]).

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um mesmo cirurgião, devidamente calibrado e padronizado através da realização de um projeto piloto. O instrumental foi esterilizado em autoclave. Equipamentos de proteção individual (EPI) também foram utilizados.

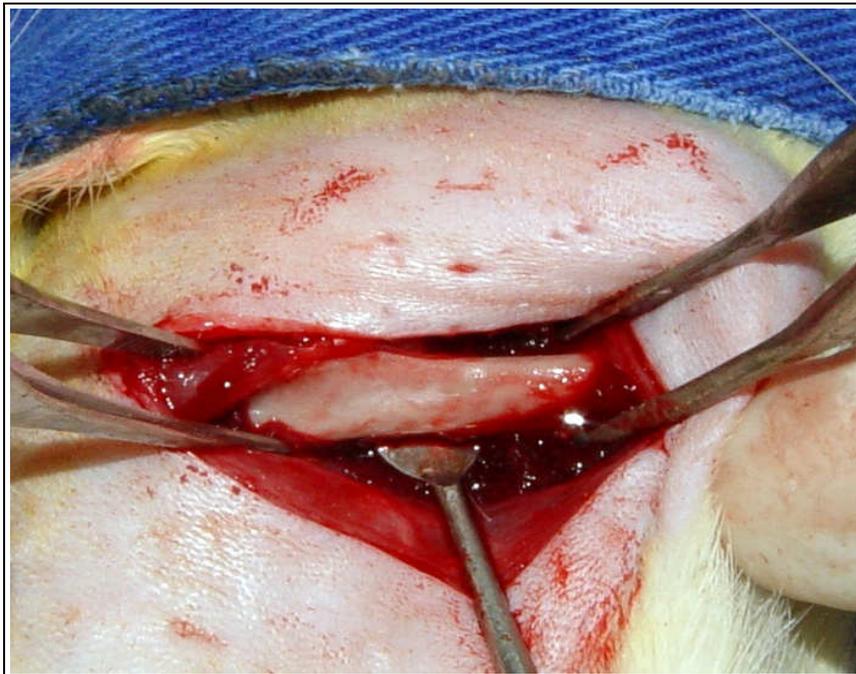


Figura 3 - Imagem ilustrando o acesso ao fêmur direito do animal e sua devida exposição para confecção das cavidades.

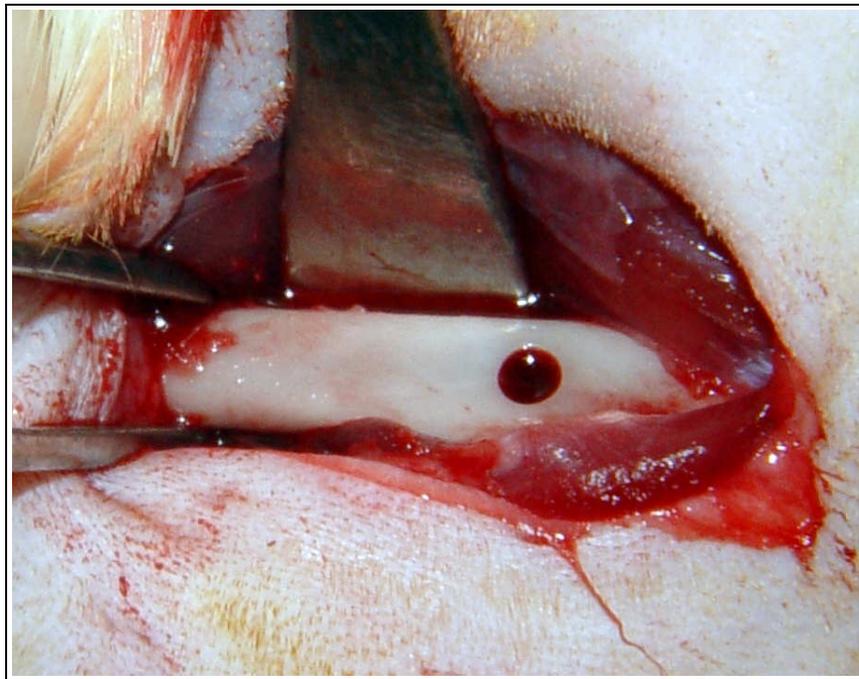


Figura 4 - Imagem ilustrando a confecção da primeira perfuração realizada com broca trefina, no fêmur direito do animal para posterior colocação dos materiais de enxerto.

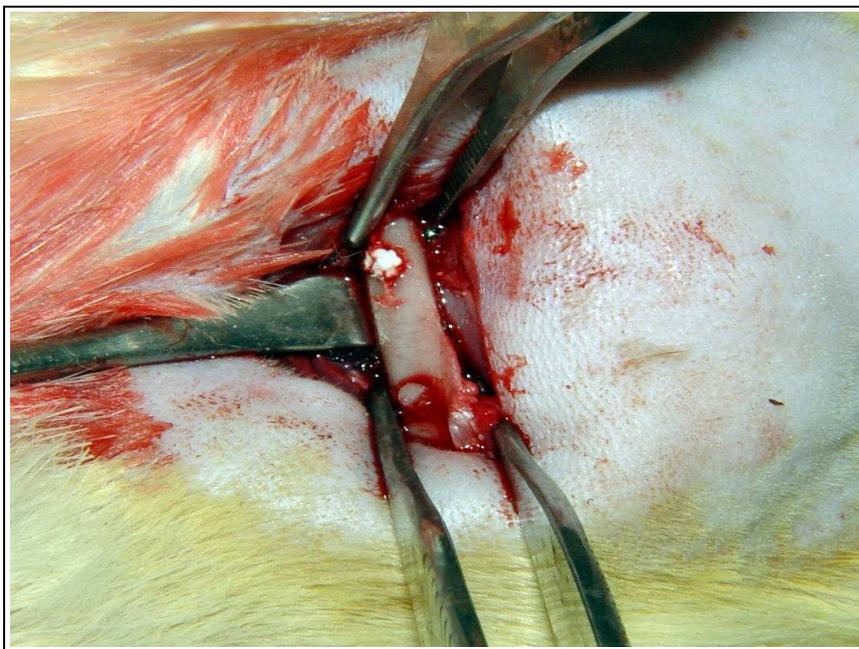


Figura 5 - Imagem ilustrando o fêmur direito do animal, com as cavidades devidamente preenchidas por CFC e OA.

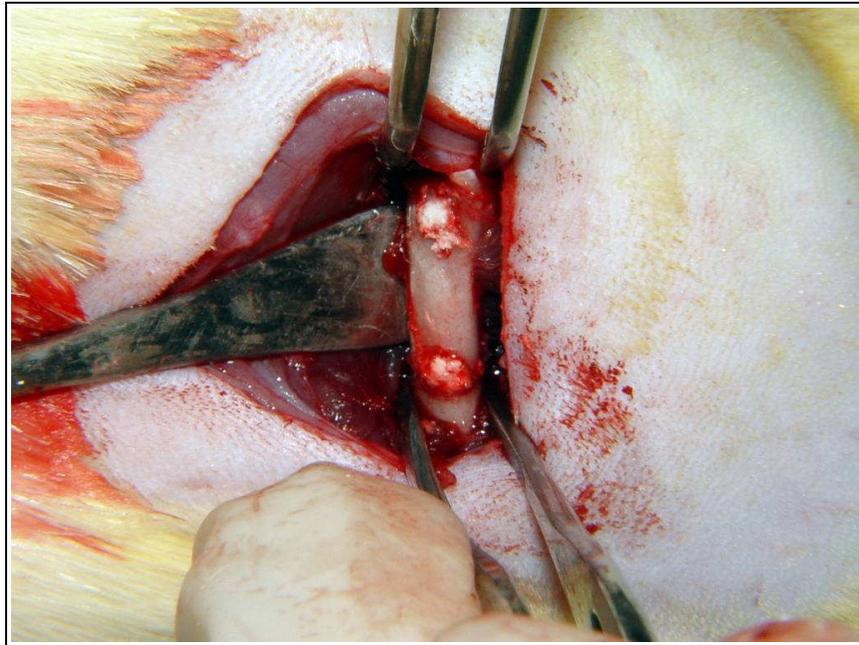


Figura 6 - Imagem ilustrando o fêmur esquerdo do animal, com as cavidades devidamente preenchidas pela mistura de CFC + OA.

4.9 PÓS-OPERATÓRIO

Após o término da cirurgia, foi aplicada sobre a região da sutura uma pomada de uso tópico (Terramicina; Bayer® - SP), como medida antisséptica no local da ferida cirúrgica. Cada animal recebeu analgésico via oral (Paracetamol – Tylenol® gotas), numa dose máxima diária de até 200 mg/kg, por três dias após a cirurgia. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram devolvidos as suas respectivas gaiolas, devidamente identificadas e numeradas, e mantidos em monitoramento diário durante todo período de observação até a morte.

4.10 MORTE E OBTENÇÃO DA AMOSTRA TECIDUAL

Para a obtenção das amostras teciduais os animais foram sacrificados nos períodos de observação propostos anteriormente, que foram de 30, 60 e 120 dias após a realização da cirurgia. Para cada data correspondente foram mortos 05 animais, totalizando 15 animais ao final dos três períodos. O

procedimento foi realizado por meio de uma dose alta de Tiletamina-Zolazepam (Zoletil® 50 mg).

Após a morte, procedeu-se um novo acesso aos fêmures dos animais, a fim de se obter as peças para realização da rotina histológica. As cavidades foram separadas com disco de diamante (Commet®). Em seguida, os espécimes (fêmures do lado direito e a primeira cavidade, medial à articulação coxofemoral, dos fêmures esquerdos) foram fixados em formalina 10%, e encaminhados para o Laboratório de histologia da ULBRA.

Todos os procedimentos de anestesia e morte foram acompanhados e supervisionados pela Médica-Veterinária, Drª Maria da Graça Boucinha Marques – CRMV-RS 2824, que esteve presente no local durante esses processos.

4.11 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Após a fixação por um período de 48h, as peças foram descalcificadas em ácido nítrico a 5%, para, posteriormente, serem cortados junto ao micrótomo. Através de um equipamento denominado Histotécnico ou processador automático de tecidos, o tecido então passou por uma bateria de reagentes, que incluem o álcool 95%, álcool absoluto, xilol e parafina líquida a 60°C. Cada reagente tem uma ação específica sobre o tecido. O álcool desidrata e já prepara o material para posteriormente ser banhado pelo próximo reagente que vem a ser o xilol. O xilol tem a função de facilitar a impregnação do tecido pela parafina líquida e dessa forma permitir a obtenção de um material homogêneo e totalmente impregnado sob a forma de um bloco de parafina.

Com a utilização de um equipamento denominado micrótomo, o bloco de parafina contendo o material em estudo foi cortado em fatias muito finas com o propósito de se obter uma melhor qualidade de observação dos diferentes tipos de tecidos e células. A espessura usada foi de aproximadamente 5 micrômetros. Os finos cortes de parafina com o tecido foram estirados em água quente a uma temperatura de 50°C e, posteriormente, foram capturados com a própria lâmina de vidro, se obtendo, assim, a lâmina histológica com o corte aderido nela. A secagem é fundamental para que não fique qualquer umidade

entre o fino corte e a lâmina, ficando este bem aderido para a etapa seguinte, que é a coloração.

No processo de coloração, as lâminas seguiram para uma bateria de reagentes com os quais elas foram coradas. A coloração utilizada foi a combinação da Hematoxilina de Harris e Eosina Amarelada. Além das etapas dos corantes, a bateria é formada por outros reagentes, como o álcool absoluto para a desidratação do tecido e o xilol para a desparafinização e, posteriormente, no final do processo, para a diafanização ou clareamento, deixando o tecido mais translúcido e adequado para uma posterior observação ao microscópio. Após a coloração, as lâminas histológicas estavam prontas para serem montadas, utilizando-se um meio de inclusão denominado Entellan.

Para cada peça foram realizadas 3 lâminas, num total de 135 lâminas. Desse total, foram selecionados 45 cortes que exibiram ausência de artefatos e excelência de coloração. Posteriormente, as lâminas foram avaliadas por um patologista. Os cortes histológicos foram realizados de uma forma longitudinal, com relação ao fêmur de cada animal.

As lâminas foram observadas junto ao microscópio ótico (LEICA DMLB2[®]). Para tal, foram utilizados os aumentos microscópicos de 40x e 100x, visando o estudo do processo de reparo ósseo através da análise descritiva. Procedeu-se a aquisição das imagens para análise histológica através do microscópio ótico Zeiss AxioStar plus[®] e por uma câmera digital Axion[®], sendo as imagens processadas pelo programa Axiovision[®].

A análise histológica foi realizada através do estudo descritivo dos cortes histológicos, levando-se em consideração a presença ou ausência dos seguintes critérios morfológicos (TAKEDA, 1988; MORESCO, 1997; MELLO, 2006):

- Neoformação Óssea
- Necrose Óssea
- Reabsorção Óssea
- Infiltrado Inflamatório

Para a avaliação de tecido ósseo neoformado, estabeleceu-se um padrão de análise levando-se em consideração um protocolo baseado nos seguintes critérios (GUIMARÃES, 2006):

- nenhum osso neoformado (0);
- pouca quantidade de osso neoformado (1);
- média quantidade de osso neoformado (3); e
- muito osso neoformado (5).

Esse critério foi utilizado apenas para o item neoformação óssea, devido ao fato de os outros não demonstrarem nenhum parâmetro efetivo que permitisse a avaliação histológica.

Portanto, foi estabelecido um estudo quase experimental, no qual o critério neoformação óssea foi o único a demonstrar valores para todas as amostras, nos diferentes períodos de observação estudados.

O cegamento do estudo caracterizou-se em codificar as lâminas aleatoriamente, num total de 45, para que o examinador desconhecesse a qual grupo pertencia cada lâmina examinada. Os dados foram anotados e registrados em uma ficha padronizada.

A calibragem do examinador foi realizada da seguinte maneira: aleatoriamente, 20 lâminas previamente codificadas, sem o conhecimento do grupo ao qual pertenciam, foram submetidas à leitura histológica e os dados foram registrados em ficha padronizada. Após uma semana de intervalo, realizou-se nova leitura das mesmas lâminas e os novos dados eram também registrados. Havendo concordância em pelo menos 80% da análise, considerava-se que o examinador estava calibrado. A cada 10 lâminas analisadas repetia-se o mesmo processo acima citado em uma lâmina escolhida, também aleatoriamente.

4.12 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Os espécimes (segunda cavidade, distal à articulação coxofemoral, dos fêmures do lado esquerdo, Grupo IV) desse grupo foram submetidos à análise de MEV. Para isso as peças foram cortadas e colocadas em vidros previamente preparados e etiquetados, contendo solução de Glutaraldeído a 2%, seguindo-se a rotina laboratorial de rotina para MEV.

Após a metalização das amostras, as peças foram levadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (Philips® XL20) e avaliadas de acordo com uma vista lateral, direta ao fragmento, sem cortes longitudinais, como na

análise histológica.

A análise baseou-se fundamentalmente na presença ou na ausência de inflamação do material colocado com relação ao osso adjacente. A integração íntima entre o osso e o material implantado pode ser evidenciado com o passar do tempo, no que diz respeito à neoformação óssea.

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos a partir da avaliação qualitativa das lâminas histológicas foram submetidos à análise estatística.

Com o objetivo de comparar os tratamentos e os tempos entre si, foram realizados os testes estatísticos não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Friedman.

Os valores obtidos após análise de tecido ósseo neoformado foram transferidos para uma tabela na qual se registrou e calculou a formação óssea total em cada lâmina analisada. Todos esses valores foram transportados para o programa Microsoft Excel® para Windows®, inseridos nas tabelas definitivas e submetidos à análise estatística por meio do programa SPSS® 10.0 para o sistema Windows®.



5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Os dados obtidos são apresentados levando-se em consideração os critérios avaliados:

- neoformação óssea;
- reabsorção óssea;
- necrose óssea;
- infiltrado inflamatório.

Embora a avaliação microscópica tenha sido feita observando-se os critérios acima, estes foram pouco ou nada evidenciados na avaliação da análise do material, com exceção da neoformação óssea.

Os resultados obtidos com relação à análise microscópica da neoformação óssea foram analisados estatisticamente através dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Friedman com níveis de significância de 5%, visando verificar se houve alterações significativas.

Após comparou-se: G I (OA), G II (CFC), G III (CFC+OA), de acordo com o tempo, nos subgrupos A, B e C, nos itens supracitados, evidenciando o item neoformação óssea presente.

A seguir apresenta-se um quadro ilustrativo do três grupos. Os números correspondem ao número de animais acometidos por grupo.

Quadro 3 - Resultados obtidos quanto aos implantes de OA (G I), CFC(G II) e OA+CFC (G III) em número de animais acometidos

ITENS AVALIADOS	SUBGRUPOS (TEMPO)								
	GI A	GII A	GIII A	GI B	GII B	GIII B	GI C	GII C	GIII C
Reabsorção Óssea	1	1	2	0	1	3	0	0	0
Infiltrado Inflamatório	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Neoformação Óssea	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Necrose Óssea	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fonte: Dados da pesquisa (ULBRA, 2007)

5.1 RESULTADOS DESCRITIVOS DO EXAME DE MICROSCOPIA ÓPTICA

Os resultados obtidos através da microscopia óptica para os grupos experimentais e de controle estão de acordo com as estruturas avaliadas: reparo ósseo, neoformação óssea, necrose óssea e infiltrado inflamatório.

Neste item foram avaliados os materiais colocados individualmente nos fêmures dos animais: osso autógeno (GI), Cimento de Fosfato de Cálcio (GII) e osso autógeno mais Cimento de Fosfato de cálcio (GIII), nos três tempos de aplicação: 30, 60 e 120 dias.

Para a análise da neoformação óssea foi instituído um protocolo baseado em um estudo quase experimental em que foram atribuídos valores específicos para os diferentes estágios de neoformação óssea nos variados grupos. Estes valores foram definidos em ausente (0), pouco (1), médio (3) e muito (5), vide página 47 (GUIMARÃES, 2006). A comparação deu-se, também, entre os subgrupos, ou seja, em um mesmo período de tempo, mas com diferentes tipos de materiais.

5.1.1 Osso Autógeno (Grupo I)

Neste grupo não foram evidenciadas áreas compatíveis com necrose óssea e infiltrado inflamatório, apresentando apenas um animal com reabsorção óssea nos períodos de 30 e 60 dias. Nenhum animal apresentou tal reabsorção no período de 120 dias.

Quanto ao tecido ósseo neoformado, ele estava presente em todos os animais, nos diferentes períodos.

Quadro 4 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GI

GRUPO	TEMPO	OSSO NEOFORMADO				NÚMERO ANIMAIS (<i>n</i>)	<i>p</i>
		AUSENTE	MODERADO	ALTO	INTENSO		
GI	30 dias	0 (0%)	0 (0%)	3 (60%)	2 (40%)	05	0,368
	60 dias	0 (0%)	0 (0%)	2 (40%)	3 (60%)	05	
	120 dias	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	4 (80%)	05	

Fonte: Dados da pesquisa (ULBRA, 2007).

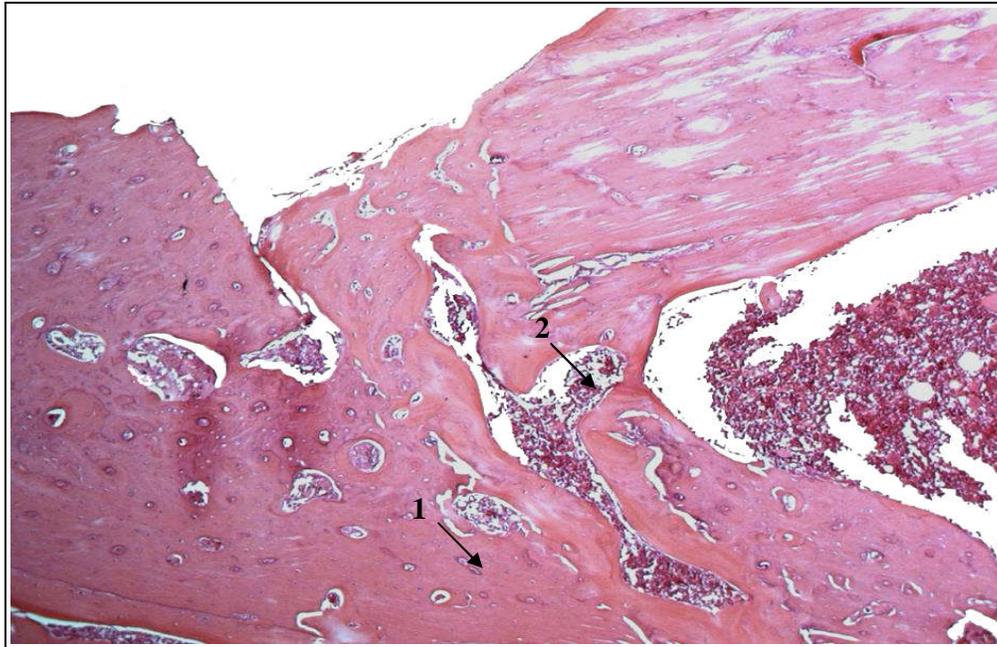


Figura 7 - Fotomicrografia evidenciando neoforção óssea (1) e medula óssea (2). Grupo osso autógeno; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

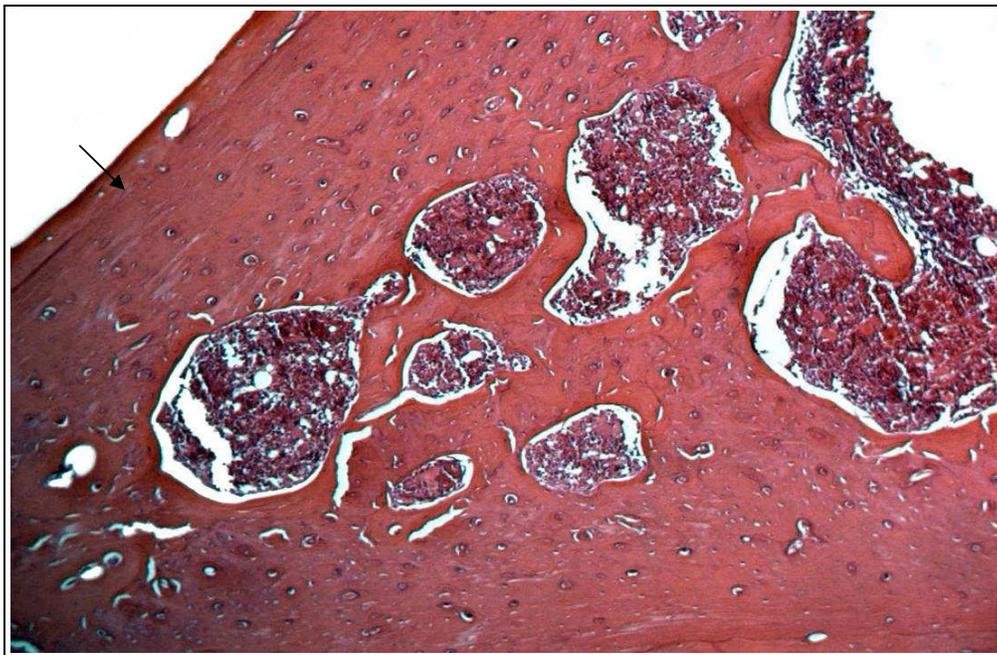


Figura 8 - Fotomicrografia demonstrando neoforção óssea (seta). Grupo osso autógeno; tempo experimental de 60 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

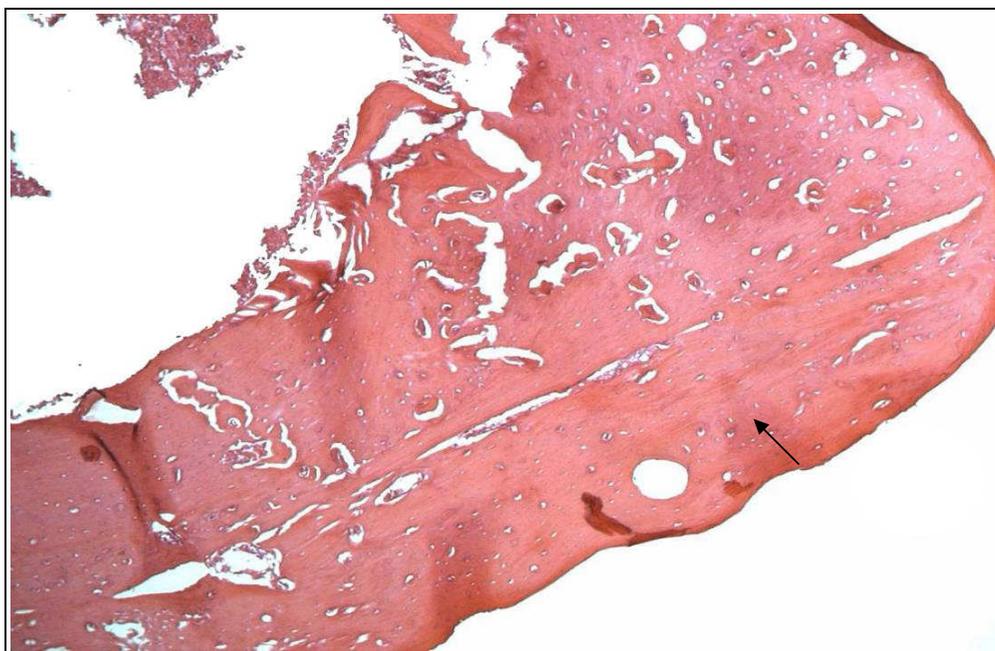


Figura 9 - Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea (seta). Grupo osso autógeno; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

A análise microscópica dos espécimes do grupo I mostrou um tecido ósseo neoformado imaturo, principalmente ao que se refere às figuras 1 e 2 (30 e 60 dias), preenchendo toda cavidade óssea, apresentando discretas áreas de tecido ósseo medular. As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo, contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior. Foi possível observar soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados.

5.1.2 Cimento de Fosfato de Cálcio (Grupo II)

Neste item, observou-se ausência nos critérios de avaliação de necrose óssea e infiltrado inflamatório, além de apresentar apenas dois animais com reabsorção óssea, nos períodos de 30 e 60 dias. Nenhum animal apresentou tal reabsorção em 120 dias.

Quanto ao tecido ósseo neoformado, ele estava presente em todos os animais, nos diferentes períodos.

Quadro 5 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GII.

GRUPO	TEMPO	OSSO NEOFORMADO				NÚMERO ANIMAIS (n)	<i>p</i>
		AUSENTE	MODERADO	ALTO	INTENSO		
GII	30 dias	0 (0%)	0 (0%)	4 (80%)	1 (20%)	05	0,459
	60 dias	0 (0%)	0 (0%)	2 (40%)	3 (60%)	05	
	120 dias	0 (0%)	0 (0%)	2 (40%)	3 (60%)	05	

Fonte: Dados da pesquisa (ULBRA, 2007).

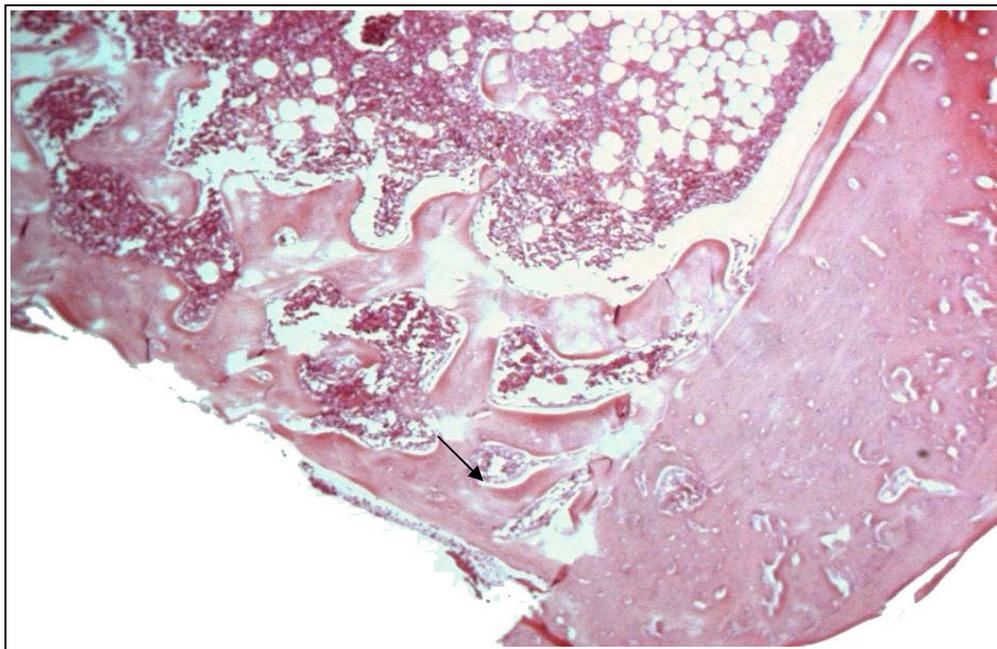


Figura 10 -Fotomicrografia evidenciando neoformação óssea (seta). Grupo cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

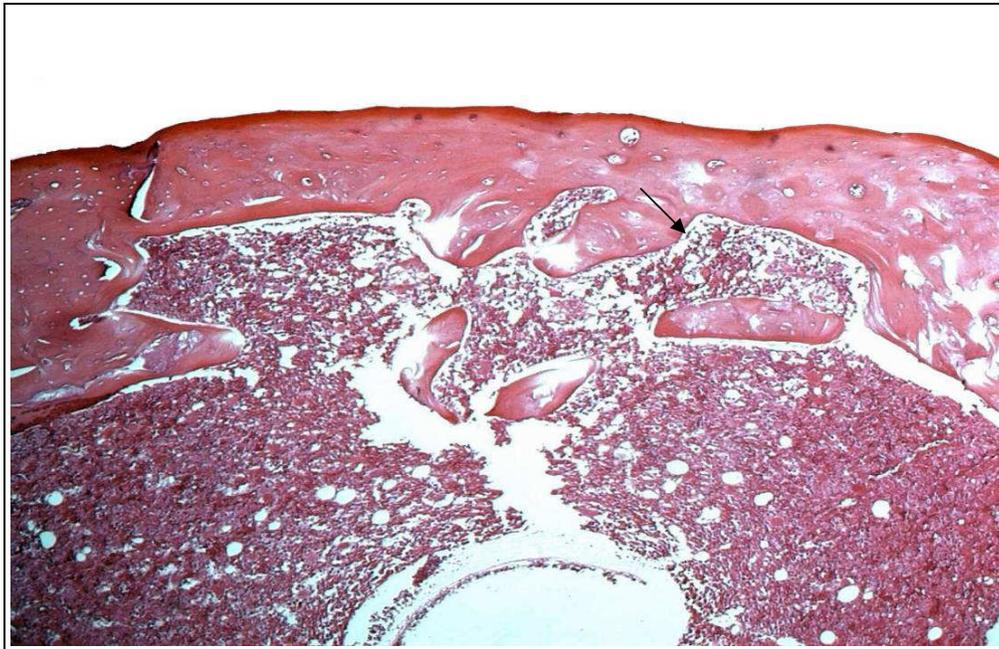


Figura 11 -Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea (seta). Grupo cimento de fosfato de cálcio, tempo experimental de 60 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).



Figura 12 -Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea (seta). Grupo cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100 x. Coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

A análise microscópica dos espécimes do grupo II mostrou um tecido ósseo neoformado imaturo (Figura 10), preenchendo toda cavidade óssea, apresentando discretas áreas de tecido ósseo medular (Figura 11). As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior. Foi possível observar soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados.

5.1.3 Cimento de Fosfato de Cálcio e Osso Autógeno (Grupo III)

Neste item observou-se ausência, nos critérios de avaliação, de necrose óssea, infiltrado inflamatório e apresentando apenas dois animais com reabsorção óssea, nos períodos de 30, 60 e 120 dias. Nenhum animal apresentou tal reabsorção em 120 dias.

Quanto ao tecido ósseo neoformado, ele estava presente em todos os animais, nos diferentes períodos.

Quadro 6 - Comparação da presença de tecido ósseo neoformado com relação ao GIII.

GRUPO	TEMPO	OSSO NEOFORMADO				NÚMERO ANIMAIS (n)	p
		AUSENTE	MODERADO	ALTO	INTENSO		
GIII	30 dias	0 (0%)	0 (0%)	4 (80%)	1 (20%)	05	0,459
	60 dias	0 (0%)	0 (0%)	3 (60%)	2 (40%)	05	
	120 dias	0 (0%)	0 (0%)	2 (40%)	3 (60%)	05	

Fonte: Dados da pesquisa (ULBRA, 2007).

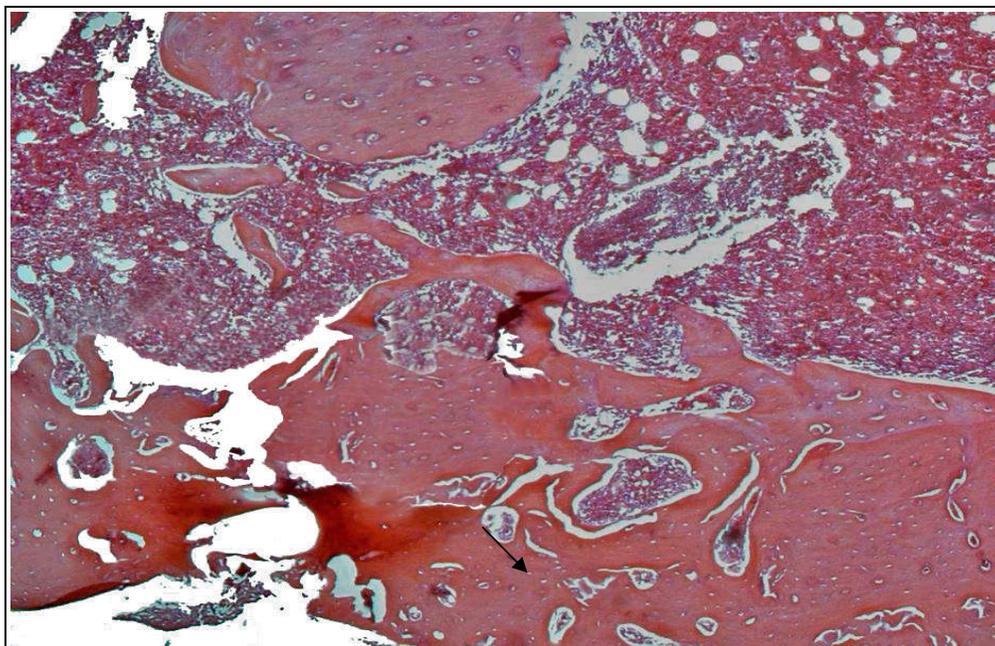


Figura 13 -Fotomicrografia evidenciando neoformação óssea (seta). Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 30 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

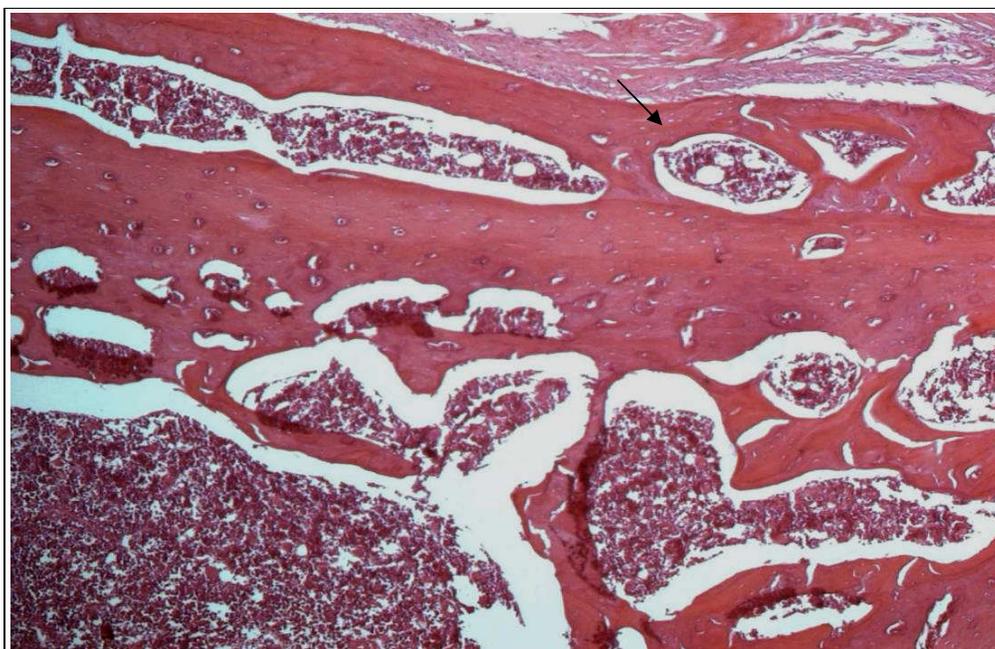


Figura 14 -Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea (seta). Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 60 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

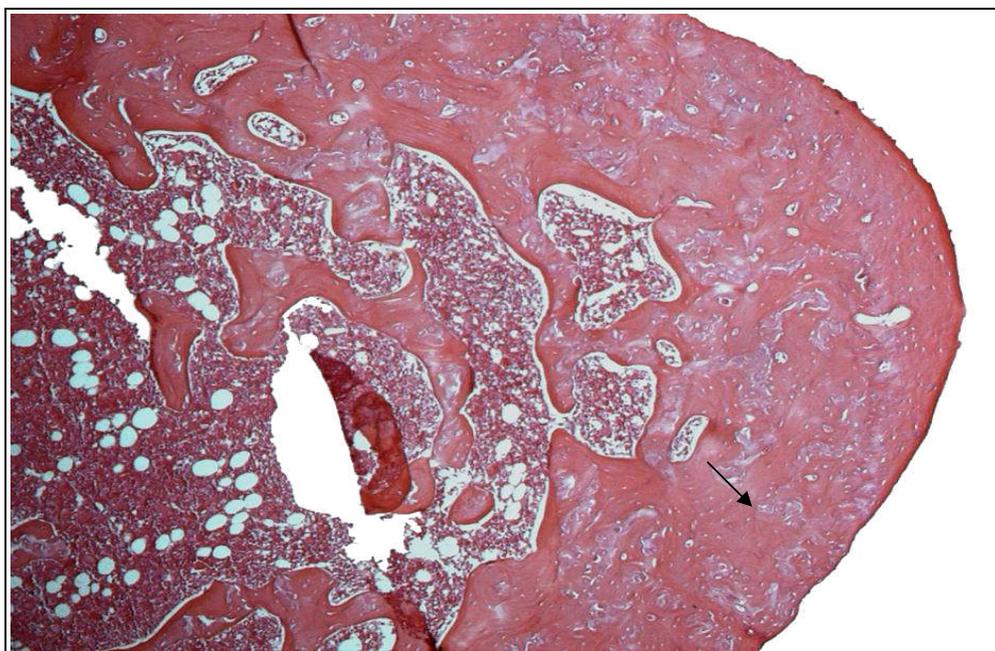


Figura 15 -Fotomicrografia demonstrando neoformação óssea (seta). Grupo osso autógeno + cimento de fosfato de cálcio; tempo experimental de 120 dias; aumento aproximado de 100x; coloração Hematoxilina e Eosina (H. E.).

A análise histológica dos espécimes do grupo III mostrou um tecido ósseo neoformado imaturo (Figuras 13 e 14), preenchendo toda cavidade óssea, apresentando discretas áreas de tecido ósseo medular. As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior. Foi possível observar soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados.

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos a partir da avaliação qualitativa das lâminas histológicas foram submetidos à análise estatística.

Neste trabalho a análise estatística se deu através de tabelas e alguns testes destacados a seguir.

Com o objetivo de comparar os tratamentos e os tempos entre si, foram realizados os testes estatísticos, não-paramétricos, de Kruskal-Wallis e

Friedman.

Para o processamento e análise desses dados foi utilizado o *software* SPSS versão 10.0 para Windows®.

5.3.1 Comparação entre os grupos

Foi realizada a comparação entre os tratamentos com relação ao tempo de reparo ósseo. Os números correspondem à escala qualitativa referida nas páginas 46 e 47.

Tabela 1 - Para cada tratamento: comparação entre tempo

Tempo	Animal	Tratamento		
		OA	CFC	CFC + OA
30	1	3	3	3
	2	5	5	3
	3	5	3	3
	4	3	3	5
	5	3	3	3
60	6	3	5	5
	7	5	5	3
	8	5	5	5
	9	3	3	3
	10	5	3	3
120	11	5	3	5
	12	5	5	5
	13	5	3	3
	14	5	5	3
	15	3	5	5
P		0,459	0,368	0,459

p= nível mínimo de significância do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Para cada tratamento (grupo) verifica-se, através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, ao nível de significância de 5%, não haver diferença significativa nos escores em relação aos diferentes tempos.

5.3.2 Comparação entre os Subgrupos

Foi realizada a comparação entre os tempos com relação ao tratamento do reparo ósseo. Os números correspondem à escala qualitativa referida nas páginas 46 e 47.

Tabela 2 - Para cada tempo: comparação entre tratamento

Tempo	Animal	Tratamento			p
		OA	CFC	CFC + OA	
30	1	3	3	3	0,717
	2	5	5	3	
	3	5	3	3	
	4	3	3	5	
	5	3	3	3	
60	6	3	5	5	0,717
	7	5	5	3	
	8	5	5	5	
	9	3	3	3	
	10	5	3	3	
120	11	5	3	5	0,779
	12	5	5	5	
	13	5	3	3	
	14	5	5	3	
	15	3	5	5	

p= nível mínimo de significância do teste não-paramétrico de Friedman

Para cada tempo verifica-se, através do teste não-paramétrico de Friedman, ao nível de significância de 5%, não haver diferença significativa nos escores em relação aos diferentes tratamentos.

5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (GRUPO IV)

Os espécimes (segunda cavidade, distal à articulação coxofemoral, dos fêmures do lado direito) de cada grupo foram submetidos à análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), ou seja, apenas osso autógeno + Cimento de Fosfato de Cálcio foram analisados. Para isso, as peças foram cortadas e colocadas em vidros previamente preparados e etiquetados, contendo solução de Glutaraldeído a 2%, seguindo-se a tramitação laboratorial de rotina para MEV.

5.4.1 Grupo IV A

Na Microscopia Eletrônica de Varredura verificou-se, no grupo IV A (30 dias), ausência de reação inflamatória, bem como recobrimento, ainda que incipiente, por tecido ósseo (Figura 16 seta).

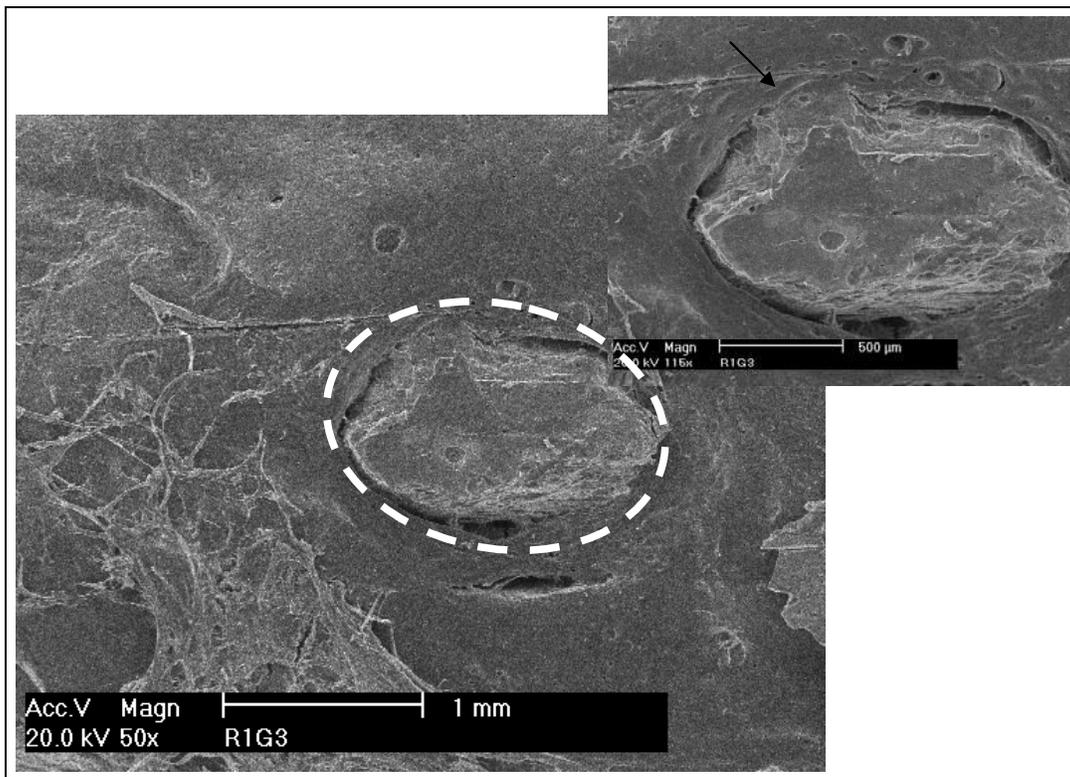


Figura 16 -Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Observar a separação entre osso periférico e o material introduzido (área destacada). Tempo do pós operatório: 30 dias; aumento 50x; escala de magnificação 1 mm.

5.4.2 Grupo IV B

No grupo IV B (60 dias), verificou-se ausência de reação inflamatória, bem como um maior recobrimento por tecido ósseo maduro (seta). Também é percebido o início das perfurações vasculares sugestivas de remodelação óssea (Figura 17).

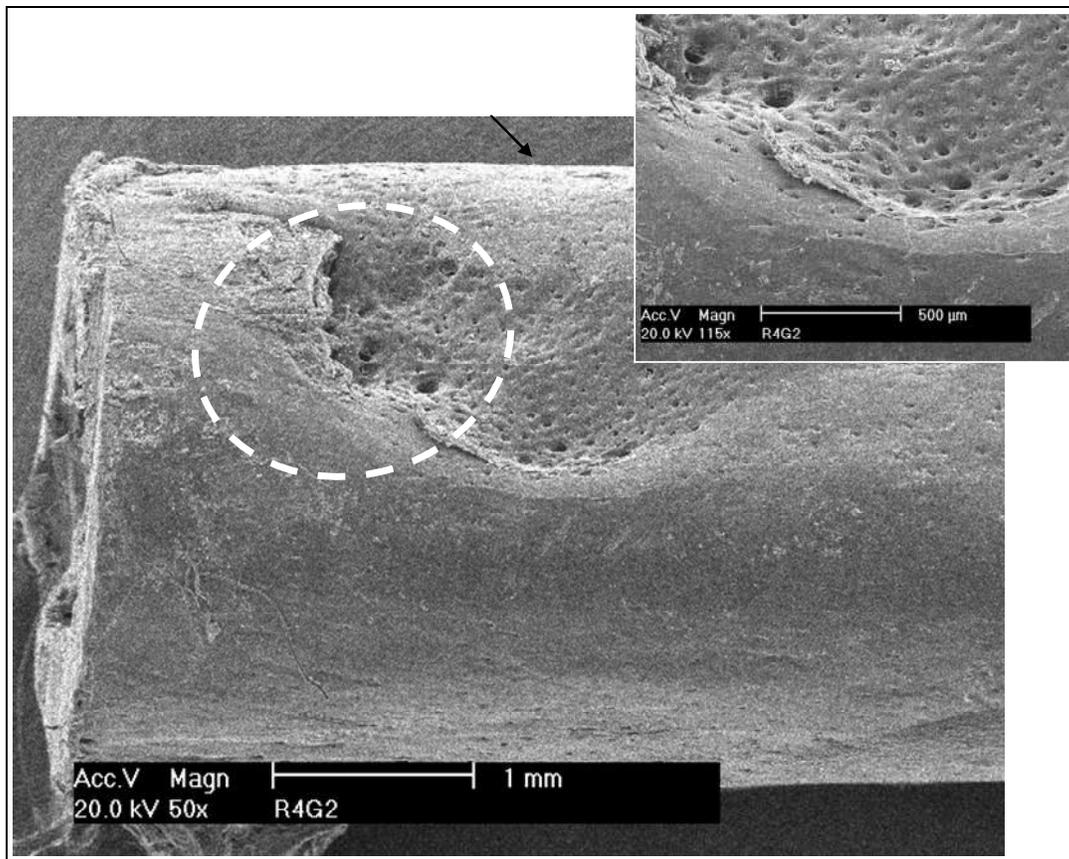


Figura 17 -Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Observar o início das perfurações vasculares sugerindo remodelações ósseas (substituição de osso imaturo, recém formado, por osso maduro). Tempo do pós operatório: 60 dias; aumento 50x; escala de magnificação 1 mm.

5.4.3 Grupo IV C

No grupo IV C (120 dias), verificou-se ausência de reação inflamatória, evidenciando ausência por completo de separação entre osso periférico e o material introduzido (seta). Também são percebidas áreas com muitas perfurações para entrada de vasos sanguíneos, sugerindo processo de intensa remodelação/formação óssea (Figura 18).

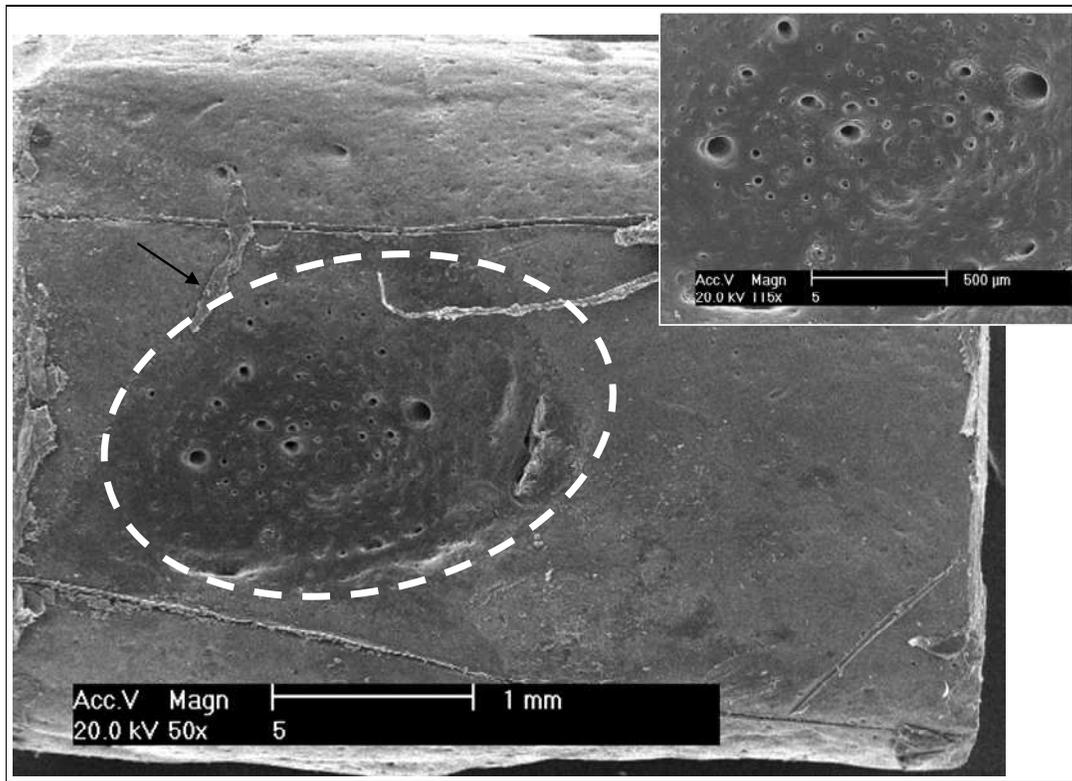


Figura 18 -Eletromicrografia de varredura do implante à base de CFC+OA, em fêmur de rato. Observar área de intensa vascularização, processo de intensa remodelação óssea. Tempo do pós operatório: 120 dias; aumento 50x; escala de magnificação 1mm.



6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Embora a Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial tenha avançado técnica e cientificamente nos últimos anos, sabe-se que, devido à complexidade dos traumas faciais e a dificuldade de reabilitação desses pacientes, o biomaterial ideal ainda não foi encontrado.

A reparação de defeitos ósseos constitui, há muitos anos, verdadeiro desafio para periodontistas, cirurgiões bucomaxilofaciais, traumatologistas, cirurgiões plásticos, ortopedistas, entre outros (LINDE *et al.*, 1993; PECORA *et al.*, 1997). Esse desafio tem levado muitos pesquisadores a trabalharem em busca de novas técnicas e dispositivos que auxiliem esse processo, levando em consideração a análise seqüencial dos eventos cicatriciais associados às cirurgias que utilizam esses biomateriais (ALMEIDA *et al.*, 2000). O comportamento biológico *in vivo* dos Cimentos de Fosfato de Cálcio tem sido estudado em diversos modelos animais (KURASHINA *et al.*, 1998; RAHAL *et al.*, 2002; MORAES *et al.*, 2004). Baseado nisso, este estudo utilizou um Cimento de Fosfato de Cálcio desenvolvido por Santos (2002), contendo adição de sulfato de cálcio, obtendo um cimento α -TCP (tricálcio fosfato) de dupla pega.

A escolha por esse modelo experimental em ratos ocorreu a partir da necessidade de se mostrar *in vivo* o comportamento do CFC puro e o CFC associado à mistura com osso autógeno. Outro fator que estimulou a pesquisa foi a oportunidade de testar experimentalmente *in vivo* um CFC com baixo custo de produção desenvolvido pelo Laboratório de Biomateriais da UFRGS.

O uso freqüente de tais espécimes animais em experimento deve-se ao fato destes modelos experimentais facilitarem o acesso e a manipulação técnica, a disponibilidade de instalações de Biotério adequadas para sua manutenção, além de apresentarem um menor custo correspondente aos objetivos propostos.

O número de animais utilizados para a amostra deste experimento mostrou-se compatível com os objetivos definidos, haja vista a crescente tendência de diminuição das amostras experimentais por critérios bioéticos, não causando prejuízo quanto à validação científica do mesmo, conforme já explicitado por Siegel (1975) e Barbetta (1999).

Da mesma forma, a técnica cirúrgica executada foi desenvolvida sempre pelo mesmo operador, devidamente treinado e calibrado para realização das cirurgias. Outro fator de importância foi a realização de um projeto piloto prévio à realização do trabalho, buscando-se uma padronização da técnica cirúrgica, que foi de fundamental importância para as correções de possíveis erros técnicos tanto no pré como no trans e pós-cirúrgico.

O enxerto ósseo autógeno ainda é considerado o padrão ouro dentre os materiais de reconstrução do esqueleto facial (KONTIO, 2004; KRISHNAN; JOHNSON, 1997; ELLIS III; SINN, 1993; ELLIS III; MESSO, 2004; COBB *et al.*, 1990; POTTER; ELLIS III, 2004). Por este fato e para efeito comparativo, neste estudo, as cavidades consideradas como controles foram preenchidas com osso autógeno, mantendo-o como referência de comparação ao Cimento de Fosfato de Cálcio. Além disso, o fato do padrão de reparo ósseo neste modelo animal já ser bem conhecido e descrito pela literatura disponível, dispensa a necessidade de confecção de cavidades sem nenhum preenchimento.

Clinicamente, os enxertos ósseos exibem limitações importantes, como a necessidade de um sítio doador. Nos reparos de defeitos ósseos e cirurgias para aumento esquelético, um problema encontrado é a capacidade do enxerto de manter a forma e o volume com o tempo, mostrando uma tendência à reabsorção (KURASHINA *et al.*, 1998). Por outro lado, uma das vantagens demonstradas pelo Cimento de Fosfato de Cálcio avaliado é a propriedade da osteotransdutividade, que se traduz na capacidade do material apenas ser reabsorvido se, e somente se, novo tecido ósseo for formado.

De fato, os estudos disponíveis até agora na literatura exibem resultados controlados do comportamento do osso autógeno como melhor material para reconstrução facial. Nesta pesquisa, apesar da análise comparativa não apresentar diferença estatisticamente significativa entre os materiais, observa-se uma melhor organização dos tecidos adjacentes ao enxerto, no que se refere ao grupo de enxerto ósseo autógeno. Ainda assim, não foi evidenciado infiltrado inflamatório, necrose óssea e, além disso, apenas um animal apresentou reabsorção óssea, nesse tipo de material.

Nesse contexto, os materiais aloplásticos têm-se apresentado como boa alternativa de enxertos. Dentre eles, as biocerâmicas parecem ser as mais biocompatíveis e biotoleráveis pelo organismo (VOLKMER, 2006).

Segundo Kurashina *et al.* (1997), o Cimento de Fosfato de Cálcio, bem como as biocerâmicas são hoje amplamente reconhecidos e aceitos como substitutos ósseos, seja na Ortopedia ou na cirurgia Bucomaxilofacial, principalmente por sua biocompatibilidade e sua extensiva condutividade óssea.

O Cimento de Fosfato de Cálcio representa um novo grupo de materiais para reconstrução e reabilitação óssea. No entanto, o número de pesquisas documentadas na literatura é ínfimo. Dados como tempo de reabsorção, tanto para o cimento em pasta como para os pré-fabricados são ainda desconhecidos. Outras informações sobre o uso dos CFCs são reportadas basicamente em modelos animais e têm demonstrado regeneração óssea satisfatória. Estudos em defeitos maiores e em modelo humano são necessários para uma melhor conclusão científica a respeito do comportamento desse material (SCHMITZ; HOLLINGER; MILAM, 1999).

Do ponto de vista histológico, esse estudo não evidenciou reação inflamatória nos enxertos realizados com cimento de fosfato de cálcio, conforme já descrito nos trabalhos de Kurashina *et al.* (1997), Santos (2002), Corsetti (2005), Moraes (2004), Schmitz (1999) e Miyamoto *et al.* (1996). Apesar disso, a biocompatibilidade deste material foi observada nos três períodos de observação (30, 60 e 120 dias) descritos neste estudo.

Na análise histológica do grupo I (30 dias) para os três tipos de materiais colocados (OA, CFC e OA+CFC), observou-se ausência de necrose óssea e infiltrado inflamatório. Quanto à reabsorção óssea, ela tornou-se presente em apenas uma cavidade preenchida por OA, uma por CFC e duas pela mistura.

Também na análise histológica do grupo II (60 dias) para os três materiais colocados (OA, CFC e OA+CFC), observou-se ausência de necrose óssea e infiltrado inflamatório. No que concerne à reabsorção óssea, ela estava presente em apenas uma cavidade preenchida por CFC e duas preenchidas por CFC+OA, embora estivesse ausente em todas as cavidades preenchidas por OA.

Já na análise histológica do grupo III (120 dias) para os três materiais colocados (OA, CFC e OA+CFC), a ausência de necrose óssea e infiltrado inflamatório se deram, provavelmente, devido ao tempo transcorrido do experimento. Neste estudo, especula-se que isso ocorreu independentemente

do tipo de material utilizado. Quanto ao critério reabsorção óssea, ela se tornou ausente nas cavidades preenchidas por CFC, CFC+OA, e OA.

A ausência de inflamação e necrose óssea também poderá ter ocorrido por dois motivos: manutenção da cadeia asséptica e irrigação constante durante as perfurações. A certificação da esterilização do material (CFC) em radiação gama foi um outro fator que permitiu a manutenção da cadeia asséptica, evitando possíveis complicações pós-operatórias. A observação da irrigação copiosa, profusa e contínua por intermédio de solução fisiológica de NaCl a 0,9%, durante a realização da perfuração, permitiu uma avaliação histológica segura e excludente de viés do item necrose óssea.

Embora possa existir uma maior tendência de neoformação óssea no grupo de OA nos períodos de 30, 60 e 120 dias, ela estava presente em todas as lâminas examinadas. Apesar disso, a análise histológica dos grupos citados neste estudo não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre os materiais implantados. Estes resultados aproximam-se daqueles já descritos por Corsetti (2005) e Volkmer (2006).

Uma das dificuldades encontradas nesta pesquisa durante a manipulação do CFC foi a sua solubilidade. Isso acarretou uma maior dificuldade de aderência do material ao sítio de implantação quando este apresentava um alto índice de umidade, em contato com líquidos. Entretanto, isto pôde ser controlado por meio de boa aspiração no local e da utilização de campos cirúrgicos bem adaptados.

A padronização na confecção das cavidades foi obtida por meio de uma broca trefina (2 mm de largura e 4 mm profundidade), proporcionando a inserção de uma quantidade padronizada de material nas diferentes cavidades confeccionadas. O guia cirúrgico fabricado especialmente para as perfurações também foi extremamente útil no objetivo de dimensionar as distâncias entre as cavidades, conferindo ao estudo um protocolo padronizado e confiável.

Para localização das cavidades, uma lupa esteroscópica foi utilizada. Nos grupos I (30 dias) e II (60 dias) a visualização foi mais evidente, sendo que do grupo III (120 dias) a dificuldade de visualização foi maior. Em novos estudos a aplicação de um parafuso próximo à cavidade poderá servir de referência para colocação do guia cirúrgico, facilitando a localização das fenestrações.

A análise de microscopia eletrônica de varredura no grupo I (30 dias) apresentou uma integração incipiente do material implantado (CFC+OA), com neoformação de osso imaturo ao redor desse implante, evidenciando também a ausência de reação inflamatória, reforçando assim a idéia de biocompatibilidade desse material, conforme já demonstrado por Moraes (2004).

Já o grupo II (60 dias) apresentou uma maior integração do material implantado, demonstrando maior aumento da área de vascularização (canais de *Volkman* ou *Harvers*), evidenciando também a ausência de reação inflamatória.

O grupo III (120 dias) apresentou a maior das integrações do material, o que já era esperado, haja vista a avaliação do tempo de 60 dias. A área vascular estava aumentada, o que propiciou ao enxerto uma intensa remodelação óssea e uma integração definitiva com o osso. Estruturas tubulares sugerindo presença de canais de *Volkman* e de *Harvers* foram observados.

A análise da MEV permitiu concordar-se com Carrodeguas *et al.* (1999) ao preconizar que, em modelos animais, o CFC é reabsorvido devido à atividade osteoclástica, sendo substituído por novo tecido ósseo. Dessa forma, o cimento acaba atuando como um substituto temporário e não permanente do tecido ósseo. Esse comportamento é denominado osteotransdutividade, cuja velocidade é fortemente influenciada pelo sítio de implantação, tipo de CFC e idade do indivíduo receptor.

Jackson e Yavuzer (2000) relatam que dentre os biomateriais o mais promissor e bem tolerado é o Cimento de Fosfato de Cálcio. O fato desse material não apresentar resposta inflamatória crônica, reações tóxicas ou reações de corpo estranho, sendo bem tolerado pelo corpo humano e o estabelecimento de uma união sólida deste cimento e osso adjacente, com subsequente substituição por osso maduro, o torna um material único entre os biomateriais disponíveis.

Rossa *et al.* (2005) afirmaram que a importância da realização de sua pesquisa no país foi demonstrar que esse tipo de material pode ser produzido nacionalmente, reduzindo os custos em cerca de 60% em relação ao material importado. O CFC utilizado nesse experimento foi produzido pelo Laboratório de Biomateriais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Se

comparado com as marcas comerciais desse cimento, o custo de fabricação do material utilizado nessa pesquisa fica diminuído em cerca de 250%.

Dessa forma, sugere-se estudos com maiores e menores períodos de observação com o intuito de uma melhor elucidação do processo de reparo ósseos frente aos biomateriais, bem como a análise da Microscopia Eletrônica de Varredura, principalmente no que se refere ao tempo de reabsorção.



7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada e com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que, para o modelo animal pesquisado:

- ❖ O osso autógeno apresentou um ótimo padrão de reparo tecidual, confirmando ser um material de excelente aplicação nos tratamentos dos defeitos ósseos.

- ❖ Os resultados obtidos, sem diferenças estatisticamente significativas, entre OA, CFC e CFC+OA no reparo ósseo, possibilitam o uso da mistura em situações nas quais haja a necessidade desse tipo de associação.

- ❖ O maior período de observação (120 dias) demonstrou uma melhor integração osso-implante.

- ❖ A pequena presença de reabsorção e a ausência necrose óssea evidenciada neste estudo permitem sugerir que o CFC pode ser um material promissor na reconstrução de defeitos ósseos.



8. REFERÊNCIAS

8.REFERÊNCIAS

- Alexander JW, Bone grafting. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*. 1987; 17(4):811-819.
- Almeida JD, Carvalho YR, Rocha RF, Arisawa EAL. Estudo da reparação óssea em mandíbula de ratos. *Rev Fac Odontol São José dos Campos*. 2000 Jan-Jun; 3(1): 49-53.
- Assael AL, Feinerman DM. Lag screw technique for orbital floor reconstruction with autologous bone grafts. *J Oral Maxillofac Surg*. 1994 Jun; 52(6): 646-7.
- Barbetta PA. *Estatística Aplicada às Ciências Sociais*. 3ª ed. Florianópolis: Editora da UFSC; 1999.
- Ben-Nissan B. Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 2003 Oct; 7(4-5): 283-8.
- Bourguignon Filho AM. Avaliação microscópica do processo de cicatrização de defeitos ósseos em tíbias de ratos com implantes de vidro bioativo (biogran®) e enxertos de osso bovino inorgânico (gen-ox®) [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2005.
- Brown AE, Banks P. Late extrusion of alloplastic orbital floor implant. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1993 Jun; 31(3):154-7.
- Burkitt HG, Young B, Heath JW. *Wheater Histologia Funcional*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
- Campbell DT, Stanley JC. *Delineamentos Experimentais e Quase-experimentais de Pesquisa*. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária; 1979.
- Caplan AI. The mesengenic process: Bone repair and regeneration. *Clin plast surg*. 1994 Jul; 21(3): 429-35.
- Carlson ER, Marx RE, Buck BE. The Potential for HIV Transmission Through Allogenic Bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod*. 1995 Jul; 80 (1):17-23.
- Carrodegua RG, Mondéjar SP, Santos LA, Rigo ECS, Boschi AO. Cimentos de Fosfato de Cálcio: uma nova alternativa para remodelação e reconstrução óssea. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. 1999; 2(10):30-2.
- Chow L.C. Bioceramics In: Le Geros R.Z. e LeGeros J.P. (eds.). *Proceedings of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine, 1998, New York, World Scientific Publishing, Vol.11, p. 45-49.*

Cobb CM, Eick DJ, Barker BF, Mosby EL, Hiatt WR. Restoration of mandibular continuity defects using combinations of hydroxylapatite and autogenous bone: microscopic observations. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990 Mar; 48(3):268-75.

Corsetti A. Avaliação do reparo ósseo em fêmures de ratos após implante de blocos de cimento de fosfato de cálcio e enxerto ósseo autógeno [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.

Driessens FC, Planell JA, Boltog MG, Khairoun I, Ginebra MP. Osteotransductive bone cements. *Proc Inst Mech Eng.* 1998; 212(6): 427-35.

Driessens FCM, Fernández E, Ginebra MP, Boltong MG, Planell JA. Calcium phosphate and ceramic bone cements vs. acrylic cements. *Anal Quim Int.* 1997; 93: S38-S43.

Ellis III E, Sinn DP. Use of homologous bone in Maxillofacial Surgery. *J oral Maxillofac Surg.* 1993 Nov; 51(11) 1181-93.

Ellis III E. Reconstrução Cirúrgica dos Defeitos da Mandíbula . In: Peterson LJ, Ellis III E, Hupp JR, Tucker MR. *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.606-16.

Ellis III E. Reconstrução cirurgica dos Defeitos Maxilares. In: Peterson LJ, Ellis III E, Hupp JR, Tucker MR. *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 663-75.

Ellis III E, Messo E. Use of nonresorbable alloplastic implants for internal orbital reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jul; 62(7): 873-81.

Finkemeier CG. Current Concepts Review Bone-grafting and Bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg.* 2002; 84-A (3):454-64.

Furusawa T, Mizunuma K. Osteoconductive Properties and Efficacy of Resorbable Bioactive Glass as a Bone-Grafting Material. *Implant Dent.* 1997; 6(2):93-101.

Guimarães SAC. Processo de reparo. *Patologia básica da cavidade bucal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1982. p. 282-315.

Guimarães KB. Fotoengenharia do processo de reparo ósseo induzido pela laserterapia de baixa potência (GaAIs): estudo em fêmures de ratos [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre; 2006.

Hench LL, Wilson J. *An Introduction to Bioceramics*. Singapore: World Scientific Publisch Co. Ptde. Ltda; 1999.

Ishikawa K, Takagi S, Chow LC, Suzuki K. Reaction of calcium phosphate cements with different amounts of tetracalcium phosphate and dicalcium phosphate anhydrous. *J Biomed Mater Res.* 1999 Sep; 46(4): 504-10.

Jackson IT, Yavuzer R. Hydroxyapatite cement: an alternative for craniofacial skeletal contour refinements. *Br J Plast Surg.* 2000 Jan; 53(1):24-9.

Junqueira LC, Carneiro J. Tecido Ósseo. In: Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.136-153.

Kawachi EY, Bartan CE, Reis RR, Alves OL. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Química Nova. 2000 Jul-Ago; 23(4): 518-22.

Kontio R. Treatment of orbital fractures: the case for reconstruction with autogenous bone. J Oral Maxillofac Surg. 2004 Jul; 62(7): 863-8.

Krishnan V, Johnson JV. Orbital floor reconstruction with autogenous mandibular symphyseal bone grafts. J Oral Maxillofac Surg. 1997 Apr; 55(4): 327-30.

Kurashina K, Kurita H, Kotani A, Kobayashi S, Kyoshima K, Hirano M. Experimental cranioplasty and skeletal augmentation using α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement: a preliminary short-term experiment in rabbits. Biomaterials. 1998 Apr-May; 19(7-9): 701-6.

Kurashina K, Kurita H, Kotani A, Takeuchi H, Hirano M. In vivo study of a calcium phosphate cement consisting of α -tricalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide. Biomaterials. 1997 Jan; 18(2):147-51.

Le Geros RZ. Calcium Phosphates Materials in restorative Dentistry: a review. Adv Dent Rest, 1988; 2(1): 164-80.

Leonel ECF, Mangilli PD, Ramalho, LTO, A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea – estudo em ratos. Cienc Odontol Bras. 2003 jul/set; 6(3):19-24.

Linde A, Alberius P, Dahlin C, Bjurström K, Sundin Y. Osteopromotion: A Soft-Tissue Exclusion Principle Using a Membrane for Bone Healing and Bone Neogenesis. J Periodontol. 1993; 64(11 Suppl): 1116-28.

Lemaitre J, Mirtchi A, Mortier A. Calcium phosphate cement for medical use: state of the art and perspectives of development. Sil In Ceram Sci Technol. 1987; 52 (9-10):141-6.

Machado JLM. Desenvolvimento de cimento ósseo de fosfato de cálcio como suporte para o crescimento de tecidos [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.

Marx RE. Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. Clin plast surg, 1994 Jul; 21(3): 377-92.

Marx RE, Saunders TR. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca RJ, Davis WH. Reconstructive preprosthetic. Oral and Maxillofacial Surgery. Philadelphia: Saunders;1986. p.347-428.

Mauriello JA, Flanagan JC, Peyster RG. An unusual late complication of orbital floor fracture repair. Ophthalmology. 1984 Jan; 91(1): 102-7.

Mello EDA. Análise histológica comparativa do reparo ósseo em osteotomias realizadas por laser de Er:YAG e broca cirúrgica, submetidas à laserterapia de baixa potência. [Tese]: Porto Alegre. Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre, 2006.

Mirtchi A, Lemaitre J, Terao N. Calcium Phosphate Cements: study of of the beta-tricalcium phosphate--monocalcium phosphate system. *Biomaterials*.1989 Sep; 10(7):475-80.

Miyamoto Y, Ishikawa K, Takechi M, Yuasa M, Kon M. Non-decay type fast-setting calcium phosphate cement: setting behaviour in calf serum and its tissue response. *Biomaterials*, 1996 Jul; 17(14):1429-35.

Moraes PC, Padilha filho JG, Canola JC, Santos LA, Macoris DG, Alessi AC. Biocompatibilidade do Cimento de Fosfato de Cálcio implantado no rádio de coelhos. *Acta Cir Bras*, 2004; 19(4):351-9.

Moresco FC, Comparação dos aspectos microscópicos dos folículos pericoronários de terceiros molares inferiores, terceiros molares superiores e caninos superiores retidos em diferentes tipos de retenção [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1997.

Palma FR. Reparo Ósseo após Implantes com Hidroxiapatita e Osso Liofilizado: Estudo Histológico em Ratos [dissertação]. Canoas: Universidade Luterana do Brasil; 2004.

Paris MF. Reconstrução de osso alveolar, em área dentada, com uso de hidroxiapatita: estudo experimental em ratos *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre; 2002.

Park JB. *Biomaterials, an introduction*. New York: Plenum Press; 1979.

Pecora G, Andreana S, Margarone JE, Covani U, Sottosanti JS. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. *Oral Surg Oral Méd Oral Pathol, Oral Radiol Endod*. 1997 Oct, 84(4):424-9.

Pioletti DP, Takei H, Lin T, Landuyt PV, Ma QJ, Kwon SY *et al*. The effects of calcium phosphate cement particles on osteoblast functions. *Biomaterials*. 2000 Jun; 21(11):1103-14.

Potter JK, Ellis III E. Biomaterials for reconstruction of the internal orbit. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Oct; 62(10): 1280-97.

Rahal SC, Mortari AC, Caporali EHG, Vulcano LC, Santos FAM, Takahira RK. Densitometria óptica radiográfica na avaliação do hiperparatireoidismo secundário nutricional induzido em gatos jovens. *Ciênc Rural*. 2002; 32(3):421-5.

Rossa Jr C, Marcantonio Jr E, Santos LA, Boschi AO, Raddi, MS. Cytotoxicity of novel formulations of calcium phosphate cements: a comparative in vitro study. *Artif Organs*. 2005; 29(2): 114-21.

- Ravaglioli A, Krajewski A. Bioceramics: Materials, Properties, Applications. New York: Chapman & Hall, 1992. p.444
- Sanan A, Haines SJ. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. *Neurosurgery*, 1997; 40(3): 588-603.
- Santos LA. Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica. [Tese]: Campinas. Universidade Estadual de Campinas, 2002.
- Santos LA, Carrodéguas R, Padilha JG, Boschi Filho AO, Arruda ACS. Cimento ósseo de fosfato de cálcio de dupla pega: avaliação in vivo. *Projeções*. 2005; 23(1): 47-53.
- Schmitz JP, Hollinger JO, Milam SB. Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review. *J Oral Maxillofac Surg*, 1999 Sep; 57(9): 1122-6.
- Schenk R K, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1994 Jan-Feb; 9(1): 13-29.
- Schepers EJ, Ducheyne p, Barbier L, Schepers S. Bioactive Glass Particles of Narrow Size Range: A New Material for the Repair of Bone Defect. *Implant Dent*, 1993; 2(3):151-6.
- Sepúlveda P, Pandolfelli VC, Rogero SO, Higa OZ, Bressiani JC. Hidroxiapatita porosa produzida através do *gelcasting* de espumas visando aplicações biomédicas. *Cerâmica*, 1999a Nov-Dez; 45(296): 198-202.
- Shindo ML, Constantino PD, Friedman CD, Chow LC. Facial Skeletal Augmentation Using Hidroxyapatite Cement. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1993; 119(2):185-90.
- Siegel S. Estatística Não-paramétrica para as Ciências do Comportamento. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 1975.
- Silva Júnior AN. Avaliação do efeito do laser diodo (AsGaAl) infravermelho de 830nm na biomodulação da cicatrização óssea [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2000.
- Silva Júnior AN, Somacal TP, Beltrão GC, Quesada GAT. Tratamento Cirúrgico Avançado na Reconstrução de Defeito Ósseo Maxilar utilizando Enxerto Autógeno de Mandíbula. *Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia – BCI*; 2001; 08(31): 207-10.
- Shimizu Y, Sugawara H, Furusawa T, Mizunuma K, Inada K, Yamashita S. Bone Remodeling With Resorbable Bioactive Glass and Hydroxyapatite. *Implant Dent*, 1997; 6(4): 269-74.
- Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1988 Dec; 17(6): 388-91.
- Ten Cate AR. *Histologia Bucal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.

Vallet-Regí M, González-Calbet MJ. Calcium phosphate as substitution of bone tissues: Progress in Solid State Chemistry, 2004; 32(1-2):1-31.

Vallet-Regí M, Rodríguez-Lorenzo LM, Salinas AJ. Synthesis and Characterisation of Calcium Deficient Apatite. Solid State Ionics, 1997; 101-103(part 2):1279-1285.

Volkmer TM. Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método gel-casting de espumas para uso como implantes. [Dissertação]. Porto alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

Williams DF. Definitions in Biocompatibility. Amsterdam: CRC Press; 1987.

Wilson J. Biocompatibility and Tissue Response to Implants: Analises de Química. Journal of the Spain Royal of Chemistry, 1997; 93(1):19s-21s.



ANEXOS

ULBRA

ANEXO A

Termo de avaliação e aprovação do projeto de pesquisa pelo comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e Animais da ULBRA



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E EXTENSÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS E ANIMAIS

TERMO DE AVALIAÇÃO

CEP-ULBRA 2006-014A							
Título: AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO REPARO ÓSSEO EM CAVIDADES PREENCHIDAS COM CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO (CFC)							
Autor(a) e Pesq. Resp: João Gabriel Souza Pinto							
Prof. Orient: Aurelino Novaes Silva Junior							
Tipo de projeto:							
	Pesquisa	TCC	x	Dissertação	Tese	Dir. Pesq:	
Curso:	Odontologia					Ingresso:	13/03/2006
Instituição onde será realizada: Ulbra Canoas/RS							
Patrocinador: Autor							
Data: Reunião Ordinária de 30/03/2006							

O projeto de pesquisa, acima identificado, foi avaliado e APROVADO como eticamente adequado e de acordo com as Leis 6.638/79 e 9605/98, com o Decreto 24.645/34, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA), com os Princípios para Pesquisa envolvendo Animais (Genebra, 1985) e outras instruções que tratam da matéria, pelo plenário do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e Animais da ULBRA.

O pesquisador responsável deverá apresentar relatórios anuais a este CEP, informando os resultados parciais do projeto, bem como comunicar a data de conclusão da pesquisa.

Canoas, 12 de abril de 2006.


DR. JOSÉ SCHNEIDER SANTOS
Coordenador do CEP-ULBRA

ANEXO B

Termo de concessão do material (CFC) para realização da pesquisa, através do laboratório de Biomateriais (Labiomat[®]) da UFRGS.



Departamento de Materiais - DEMAT
Escola de Engenharia - EE - UFRGS
Av. Bento Gonçalves, 9500, Setor IV - Prédio 74
Campus do Vale - 91501-970 - Porto Alegre - RS - Brasil
Tel 55 51 3316 9424/Fax 55 51 3316 9429
luis.santos@ufrgs.br



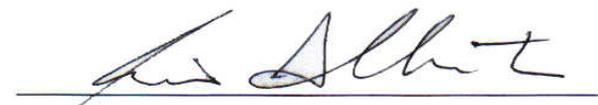
Porto Alegre, 21 de Novembro de 2005.

À
Comissão Científica e de Ética da FO/ULBRA

Prezados Senhores,

Venho por meio desta informar que os implantes de Cimento de Fosfato de Cálcio a serem utilizados na pesquisa intitulada “**AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO REPARO ÓSSEO EM CAVIDADES PREENCHIDAS COM CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO (CFC)**”, do aluno João Gabriel Souza Pinto, serão confeccionados pelo Laboratório de Biomateriais, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

Cordialmente,



Prof. Dr. Luís Alberto dos Santos
Coordenador Labiomat - UFRGS

ANEXO C

**Termo de concessão do material (broca trefina e o mini triturador ósseo)
para realização da pesquisa, confeccionados pela PROMM Indústria e
Comércio de Materiais Cirúrgicos – Porto Alegre/ RS - Brasil.**



PROMM Indústria de Materiais Cirúrgicos LTDA

Porto Alegre, 28 de Novembro de 2005.

**À
Comissão Científica e de Ética da FO/ULBRA
Nesta Universidade**

Prezados Senhores,

Venho por meio desta informar que a broca trefina e o mini triturador ósseo a serem utilizados na pesquisa intitulada **“AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO REPARO ÓSSEO EM CAVIDADES PREENCHIDAS COM CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO (CFC)”**,

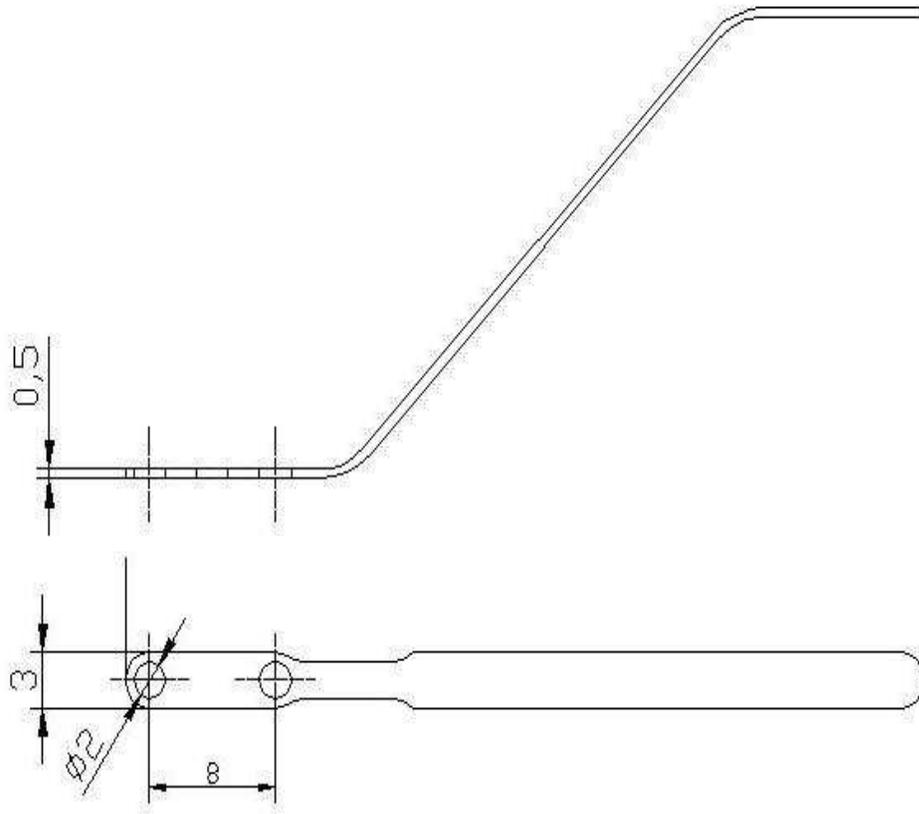
do aluno João Gabriel Souza Pinto, serão confeccionados pela PROMM Indústria e Comércio de Materiais Cirúrgicos – Porto Alegre/ RS - Brasil.

Cordialmente,

EUBIRAJARA BEZERRA MEDEIROS

Diretor da PROMM Indústria de Materiais Cirúrgicos

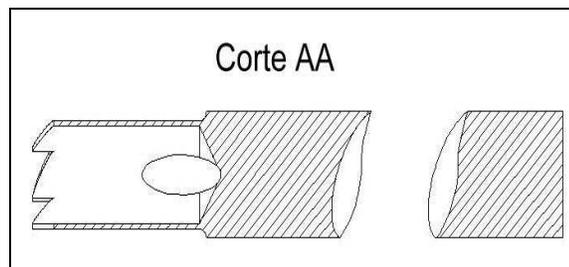
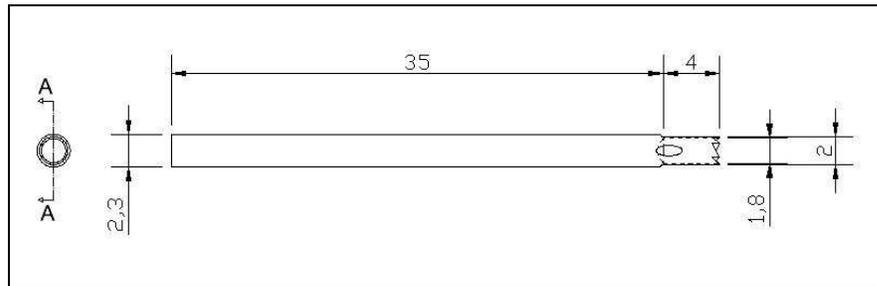
ANEXO D



Promm

Nome da peça: Guia
Material: Titânio - 2004
Dimensões em mm
Telefone: (051) 3342-3136

Anexo E



Promm

Nome da peça: Trefina
Material: Titânio - 2004
Dimensões em mm
Telefone: (051) 3342-3136

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](#)