

TESE DEFENDIDA POR Sérgio Tadeu  
Bernatavicius E APROVADA PELA  
COMISSÃO JULGADORA EM 01/09/2004

Eliana  
ORIENTADOR

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA  
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

**UTILIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE POLI (L-ÁCIDO-LÁTICO)  
CONTENDO MEDICAMENTO NO TRATAMENTO DE PERDA DO  
TECIDO DENTAL.**

Autor: Sergio Tadeu Bernatavicius

Orientador: Eliana Aparecida de Rezende Duek

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA  
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA TÉRMICA E FLUIDOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

UTILIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE POLI (L-ÁCIDO-LÁTICO)  
CONTENDO MEDICAMENTO NO TRATAMENTO DE PERDA DO  
TECIDO DENTAL.

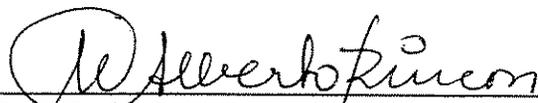
Autor: Sergio Tadeu Bernatavicius  
Orientadora: Eliana Aparecida de Rezende Duek



Prof<sup>ª</sup>. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek, Presidente  
Universidade Estadual de Campinas



Prof<sup>ª</sup>. Dra. Cecília A. de Carvalho Zavaglia  
Universidade Estadual de Campinas - FEM



Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria do Carmo Alberto - Rincon  
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo- CCMB

0100 50 6217

Campinas, 01 de Setembro de 2004

## DEDICATÓRIAS

### À Deus

“No corre-corre do meu dia-dia, esqueço-me tantas vezes de Te agradecer. Obrigado Senhor pelos meus pais e amigos, por todos aqueles que entraram na minha história de vida e me ensinaram a crescer, a ser mais gente; pelo término desta jornada, o mais sincero agradecimento a Ti, que me confiou a vida. Através de minha fé, de minhas orações, de meu amor, agradeço-Te por tudo que fui, que sou e ainda serei e, principalmente, por nunca ter me deixado nos momentos difíceis e por ter me permitido chegar até aqui, dedico-lhe esta vitória.”

### Aos meus pais

“De vocês recebi o Dom mais precioso do universo: a Vida. Já por isso seria infinitamente grato, mas vocês não se contentaram em presentear-me apenas com ela; revestiram minha existência de amor, carinho e dedicação. Abriam a porta do meu futuro iluminando o meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar: o estudo. Hoje, neste dia, procuro encontrar entre palavras aquela que gostaria que seus corações ouvissem. E só encontro uma simples e sincera palavra: Obrigado. Dividam comigo, os méritos desta conquista, porque ela lhes pertence; ela é tão sua quanto minha.”

### A minha querida esposa Débora

“A você, que abriu mão de momentos de convívio, que sofreu a minha ausência quando o dever e o estudo me chamavam. A você que agora vê, com muito alívio, este fim de etapa e por mais que não queira demonstrar esta mais feliz do que eu; dedico-lhe este trabalho.”

### A minha pequenina Isabella

“A você obrigado por existir e deixar os meus dias mais iluminados.”

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Eliana Duek o vosso incentivo e orientação na conclusão deste trabalho representa um marco da minha realização profissional. A você muito obrigado.

À Profa. Dra. Cecilia pela dedicação, amizade, honestidade e exemplo profissional. Receba a minha gratidão.

Aos amigos Alberto e Carol pela amizade, profissionalismo e pelos conhecimentos transmitidos.

Agradeço todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

BERNATAVICIUS, Sergio Tadeu, *Utilização de Microesferas de Poli (L-ácido-lático) Contendo Medicamento no Tratamento de Perda do Tecido Dental*, Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2004. 71p. Dissertação (Mestrado)

Um dos pontos que deve ser considerado de difícil solução no Brasil, é a perda dentinária. Vários materiais tem sido estudados para minimizar o problema, mas nenhum atende às necessidades de tal aplicação. Nesse sentido, o objetivo do presente avaliar a biocompatibilidade do Poli (L-ácido-lático), PLLA, contendo vancomicina e piroxicam no tratamento de grandes perdas de dentina onde pode ou não ocorrer a exposição da polpa dental, casos onde a exposição leva ao tratamento endodôntico ou exodontia. Para tanto, foram realizados estudos in vivo em coelhos e humanos, ambos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas parecer número 490/2003.

Os estudos em coelhos foram realizados utilizando-se de um modelo experimental onde foi implantado as microesferas contendo medicamento nos incisivos centrais e após 20, 40, e 60 dias os dentes foram cortados e submetidos à análise histológica. Após 20 dias de implante, verificou-se regiões centrais de hipocalcificações em relação ao implante e formação de pontos de dentina. Não foi localizado processo inflamatório em função da utilização dos medicamentos. Após 40 dias verificou-se a que a calcificação começa por áreas globulosas que crescem e se fundem, porém o processo muitas vezes é imperfeito, resultando áreas de matriz orgânica não calcificada; são as áreas interglobulares. Após 60 dias, verificou-se a formação de tecido de normalidade o que demonstra a eficácia das microesferas com medicamento como material reparador.

A análise in vivo em humanos se fez necessária para avaliar a resposta frente à aplicação do material, seu efeito antiinflamatório e analgésico em casos de exposição pulpar e

grande perda dentinária, além da avaliação do retorno da função ao elemento dental, ou seja, controle da dor e possibilidade de mastigação normal.

Observou-se após 60 dias que todos os pacientes implantados não apresentaram dor a nenhum dos testes realizados e mantinham a vitalidade pulpar, as microesferas com medicamento aqui também se mostraram eficazes no controle antiinflamatório e infeccioso.

O estudo in vivo indicou que as microesferas de PLLA contendo vancomicina e piroxicam apresentam grande potencial para serem utilizadas para aplicação em questão, já que o material favorece a formação de uma neodentina e controla os processos inflamatório e infeccioso.

Palavras Chave

Liberação Controlada, Microesferas, PLLA, Materiais Capeadores Diretos

## ABSTRACT

BERNATAVICIUS, Sérgio Tadeu, Use of Microspheres of Poly (L-lactide acid) Contends Medication in the Treatment of Loss of the Tissue Dental, Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2004. 71p. Dissertation (Mestrado)

One of the points that it should be considered of difficult solution in Brazil, is the loss dentine. Several materials have been studied to minimize the problem, but none assists to the needs of such application. In that sense, the objective of the present to evaluate the biocompatibility of the Poly (L-lactide acid), PLLA, contends vancomicina and piroxicam in the treatment of great dentin losses where cannot or not to happen the exhibition of the dental pulp, cases where the exhibition takes to the treatment endodontic or exodontia. For so much, studies in was accomplished In vivo in rabbits and humans, both approved by the Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas to seem number 490/2003.

The studies in rabbits were accomplished being used of an experimental model where it was implanted the microesferas contends medication in the incisive central and after 20, 40, and 60 days the teeth were cut and submitted to the analysis histological. After 20 days of it implants, it was verified central areas of hipocalcification in relation to the it implants and formation of dentin points. Inflammatory process was not located in function of the use of the medications. After 40 days the one was verified that the calcification begins for areas interglobules that grow and they are founded, even so the process a lot of times it is imperfect, not resulting areas of organic matrix not calcified; they are the areas interglobules. After 60 days, the formation of normality tissue was verified that demonstrates the effectiveness of the microspheres with medication as reparative material.

The analysis in vivo in humans if made necessary to evaluate the answer front to the application of the material, its effect antiinflammatory and analgesic in cases of exhibition pulp

and great loss dentine, besides the evaluation of the return of the function to the dental element, that is to say, control of the pain and possibility of normal mastication.

It was observed after 60 days that all the implanted patients didn't present pain to none of the accomplished tests and they maintained the vitality pulpar, the microspheres with medication here was shown also effective in the control antiinflammatory and infectious.

The study in vivo it indicated that the microspheres of PLLA contends vancomicina and piroxicam they present great potential for they be used for application in subject, since the material favors the formation of a neodentine and it controls the inflammatory and infectious processes.

#### Key Words

Controlled liberation, Microspheres, PLLA, Material Direct Capeadores

## ÍNDICE

Lista de Figuras	i
Lista de Tabela	iv
Nomenclatura	v
<b>Capítulo 1 Introdução</b>	<b>01</b>
1.1 Objetivos	03
<b>Capítulo 2 Revisão da Literatura</b>	<b>04</b>
2.1 Anatomia dental	04
2.2 Avaliação das Principais Teorias da Cárie	05
2.3 Soluções e Materiais Atuais para Perda do Tecido Dental	08
2.4 Biomateriais Poliméricos	12
2.5 Liberação Controlada de Medicamentos	20
2.6 Obtenção das Microesferas	22
2.7 Medicamentos Utilizados	23
2.7.1 Piroxicam	23
A) Beta-ciclodextrina piroxicam	23
B) Indicações	23
C) Contra-indicações	24
2.7.2 Vancomicina	24
<b>Capítulo 3 Materiais e Métodos</b>	<b>25</b>
3.1 Obtenção das Microesferas com medicamento	25
3.2 Estudo Experimental em Coelhos	26
3.2.1 Método Cirúrgico	26
3.2.2 Procedimentos Histológicos para Microscopia de Luz	27
3.3 Estudo Experimental em Humanos	28
3.3.1 Descrição da População	28
3.3.2 Descrição da Técnica de Aplicação do PLLA em Humanos	28
3.4 Análise dos Dados	29

<b>Capítulo 4 Resultados e Discussões</b>	30
4.1 Materiais Atuais, Obtenção das Microesferas e Estudo da Degradação <i>In Vitro</i>	30
4.2 Estudo <i>in vivo</i>	34
4.2.1 Estudo <i>In Vivo</i> em Coelhos	34
A) Microscopia de Luz	35
4.2.2 Estudo <i>In Vivo</i> em Humanos	50
<b>Capítulo 5 Conclusões</b>	56
<b>Capítulo 6 Referências Bibliográficas</b>	58
<b>Anexo I</b>	66
<b>Anexo II</b>	68
<b>Anexo III</b>	71

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.: Esquema para a regulação do metabolismo de glicose do *S. mutans* durante crescimento contínuo sob limitação de glicose (a) e sob limitação de nitrogênio na presença do excesso de glicose (b). G-6-P, glicose 6-fosfato; frutose 1,6-difosfato; GAL-3-P, gliceraldeído 3-fosfato; PEP, fosfoenolpiruvato; PK, piruvato quinase; LDH, lactato desidrogenase; PFL, piruvato formiato-liase. +, ativação; -, inibição. Letras de imprensa maiúscula, alta concentração de intermediários intracelulares na célula; letras de imprensa minúscula, baixa concentração de intermediários intracelulares na célula (Yamada e Carlsson).

Figura 4.1.: Morfologia das microesferas de PLLA (a) antes da degradação.

Figura 4.2.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente normal apresentando esmalte com região de tufos (T), fusos (F) e lamelas (L); na região da dentina observamos a dentina pericanalicular (DP) e os espaços Czermack (EC). Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.3.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se regiões centrais de hipocalcificações em relação ao implante. Tricrômico de Masson. 100x

Figura 4.4.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se limite amelodentinário com tufos e lamelas. Tricrômico de Masson. 200x

Figura 4.5.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se região central com formação de pontos de dentina. Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.6.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se região central destacando o local do implante. Tricrômico de Masson. 20x

Figura 4.7.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se áreas interglobulares de formação de dentina. Tricrômico de Masson. 100x

Figura 4.8.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se dentina neoformada e áreas interglobulares de formação de dentina. Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.9.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se túbulos dentinários em várias direções. Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.10.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 60 dias. Observa-se esmalte com região de tufos (T), fusos (F) e lamelas (L); na região da dentina observamos a dentina pericanalicular (DP) e os espaços Czermack (EC). Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.11.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 60 dias. Observa-se tecido de normalidade. Tricrômico de Masson. 400x

Figura 4.12.: Foto Micrografia de um corte transversal de um dente com implante de hidróxido de cálcio após 60 dias. Observa-se que não ocorreu a regeneração do material como apresentado nos casos anteriores. Verifica-se claramente o corte das brocas esféricas demonstrando o espaço deixado pelo material capeador. Tricrômico de Masson. 100x

Figura 4.13.: Radiografia periapical mostrando aumento da massa dentinária sobre a polpa.  
Evolução bimestral.

## **LISTA DE TABELA**

Tabela 1.: Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (10 dias).

Tabela 2.: Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (30 dias).

Tabela 3.: Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (60 dias).

## NOMENCLATURA

MTA – Mineral Trióxido Agregado

IRM – Cimento Óxido de Zinco e Eugenol

Tg – Temperatura de Transição Vítrea (°C)

Tc – Temperatura de Cristalização (°C)

GC – Grau de Cristalinidade (%)

RPM – Rotações por minuto

## Fatores

m – mili (10<sup>-3</sup>)

μ - micro (10<sup>-6</sup>)

PVAI – Poli (álcool vinílico)

SV – Amostras sem o cloridrato de vancomicina

TGA – Análise Termogravimétrica

W/O – Primeira emulsão do processo por dupla emulsão

W/O/W – Processo por dupla emulsão

## Capítulo 1

### INTRODUÇÃO

Dentre alguns problemas de difícil solução na odontologia podemos incluir os casos de grande perda dentinária, onde existem apenas dois tipos de tratamento, a retirada do elemento dentário ou exodontia e o tratamento do canal (endodontia) ou retirada da polpa, o que acarreta a perda da vitalidade do dente. No Brasil, por falta de recursos, a primeira opção é a mais utilizada.

A literatura mostra que não existem antecedentes de materiais que possam ser utilizados sobre a polpa sem que ocorra danos a mesma, portanto, o principal benefício do estudo em questão é a diminuição da perda de elementos dentais pela população de baixa renda, além da diminuição dos casos de endodontia para as demais faixas de renda da população, mantendo a vitalidade pulpar em todos os casos.

Estudos mostram que a situação do Brasil em relação à saúde bucal é crítica. Em 1996, a Secretaria de Estado da Saúde, em parceria com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, realizaram um estudo na cidade de São Paulo, em escolares da rede pública e privada de ensino, no qual foram examinadas 89.114 pessoas, nas faixas etárias de 5 a 12, 18, 35 a 44 e 65-74 anos, provenientes de 133 municípios das 24 regiões de saúde. Neste estudo, através do Levantamento Epidemiológico em Saúde Bucal (Estado de São Paulo), foi possível observar as seguintes perdas dentárias por faixa etária, até 12 anos 3,72%, até 18 anos 8,64% e de 35 a 44 anos 20,9% de perdas.

Observa-se, em síntese, que nenhuma meta da OMS (Organização Mundial da Saúde) havia sido atingida pela população do Estado de São Paulo em 1998. Tais características epidemiológicas indicam importante comprometimento das condições de saúde e, portanto, da qualidade de vida, em todas as faixas etárias da população.

Em outro levantamento realizado pelo Ministério da Saúde e publicado pelo Conselho Federal de Odontologia em março de 2004 (CFO num.059) mostrou que junto com as mortes por câncer de boca, o grande número de desdentados é um de nossos principais problemas de saúde bucal. Em todo o país, 75% dos idosos (acima de 60 anos) não têm um dente sequer na boca. Na faixa etária entre 30 e 44 anos, 30% dos adultos são desdentados. Desses, mais de 15% necessitam de dentadura. Dados do Ministério indicam, ainda que há, no país, cinco mil adolescentes desdentados e sem prótese na boca. Somente 10% dos idosos têm 20 ou mais dentes na boca, entre adultos este percentual sobe para 54%, e na faixa etária entre 15 e 19 anos, apenas 55% dos adolescentes têm todos os dentes.

Vários estudos tem sido desenvolvidos no sentido de se utilizar materiais para minimizar tais problemas. Apesar dos esforços, ainda não existe um material adequado que possa ser utilizado sobre a polpa sem que ocorra danos a mesma, devolvendo função ao aparelho mastigatório.

Dentre os materiais estudados para diversas aplicações na área médico-odontológica, os polímeros bioreabsorvíveis vem se destacando devido às suas características de biodegradação e bioreabsorção, o que permite que os mesmos exerçam suas funções como suporte temporário e em seguida são reabsorvidos pelo organismo. Dentre os dispositivos estudados a base desses polímeros, as microesferas são indicadas em aplicações para liberação controlada de medicamentos, apresentando como principal vantagem em relação aos sistemas convencionais o fato do medicamento ser ministrado a um nível terapêuticamente desejável no plasma.

## **OBJETIVOS**

Diante do exposto os objetivos desse trabalho são utilização de microesferas de poli (L-ácido láctico) contendo medicamento na recuperação de tecidos dentinários lesados, buscando dar função estrutural temporária, suporte para fixação e separação entre tecidos moles (polpa) e tecido duro (dentina), recuperação (regeneração guiada de tecido), controle do processo

inflamatório, implicando na possibilidade de tratar dos dentes, sem ter que, necessariamente, extraí-los.

## Capítulo 2

### REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1 Anatomia Dental

Os componentes do dente, de modo geral, consistem de uma coroa, coberta por esmalte translúcido muito duro e uma raiz coberta por cimento. A dentina contém uma cavidade central, a polpa do dente, a qual se estreita em direção à raiz, como um canal do dente que se abre próximo ou na sua extremidade, através de um forame, denominado de forame apical. A raiz é circundada por osso alveolar, seu cimento é separado do alvéolo ósseo pelo ligamento periodontal. Próximo da margem cervical, o dente, ligamento periodontal e osso adjacente são cobertos pela gengiva, de coloração rosa pálido. A polpa é um tecido conjuntivo frouxo bem vascularizado, envolvida por dentina. Os corpos celulares dos odontoblastos estão em uma lâmina pseudo-estratificada que reveste a face pulpar. A dentina possui túbulos nos quais se encontram um único processo citoplasmático de um odontoblasto. O ligamento periodontal é um denso tecido conjuntivo que possui, além das células típicas deste tecido, células epiteliais. As principais funções do ligamento periodontal são manter os dentes presos nos alvéolos e fornecer informação sensitiva a respeito do movimento do dente (PAIVA & ANTONIAZZI, 1988).

O emprego dos materiais odontológicos visa modular a resposta inflamatória e controlar o processo infeccioso tendo, assim, importante papel no sucesso da terapia odontológica. Quando substâncias irritantes são utilizadas no tratamento odontológicos, a concentração de líquido no interior dos canalículos dentinários pode sofrer alteração de tal modo a provocar a degradação de mastócitos e isso resulta na liberação de histidina, substância P, produzindo a bradicinina ou prostaglandina, proteínas plasmáticas ativas que desencadeiam a reação inflamatória. O resultado de mediadores endógenos de inflamação é a vasodilatação arterial, elevação da pressão hidrostática capilar, aumento da passagem de proteínas plasmáticas para o interstício pulpar e

aumento da pressão no tecido da polpa. Esses eventos conduzem a uma nova redução no fluxo sanguíneo pulpar que permite o aumento da concentração de produtos injuriosos no líquido intersticial. A dor da pulpite é associada com inflamação pulpar e elevação da pressão tecidual. As reações inflamatórias, desde de que não tratadas em tempo hábil, evoluem para mortificação pulpar (necrose), podendo causar complicação no periodonto apical, uma vez que, tanto as toxinas microbianas, quanto os produtos tóxicos da decomposição pulpar, promovem igualmente a lise dos tecidos periapicais (PAIVA & ANTONIAZZI, 1988).

## **2.2 Avaliação das Principais Teorias da Cárie**

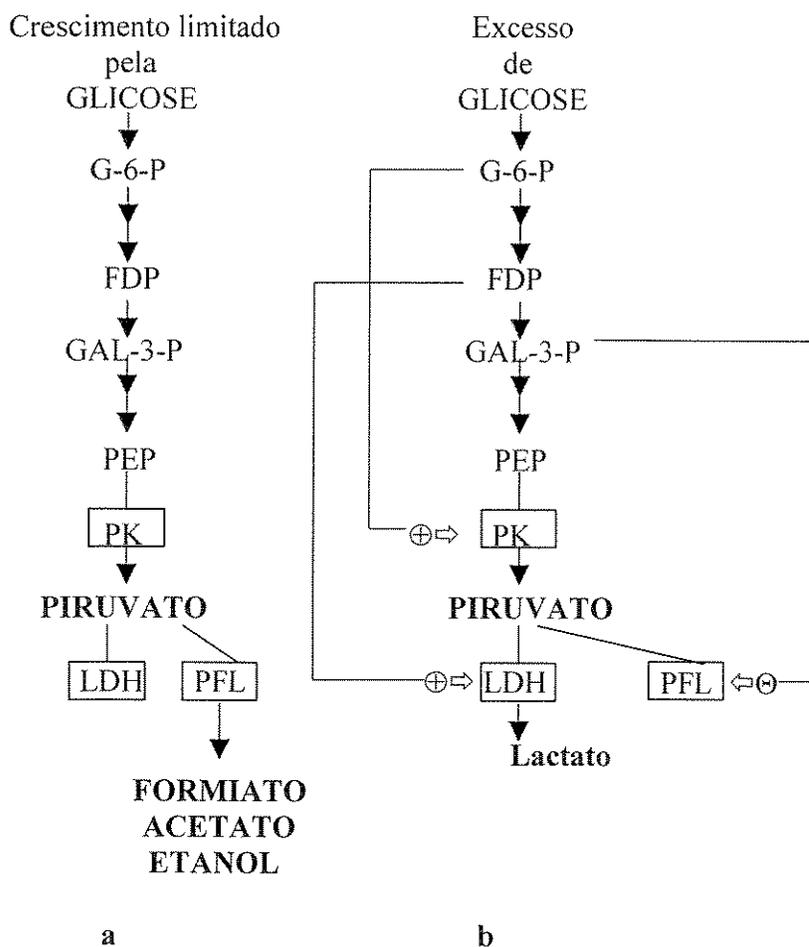
Não há dúvida que os ácidos estão envolvidos na formação da cárie. Na ausência de lesões cariosas e na placa, o pH diminui após um bochecho com um substrato adequado à fermentação bacteriana. Através da inserção de delicados elétrodos de antimônio na placa, em superfície lisa de dentes anteriores, STEPHAN (1940) provou que com dois a quatro minutos de bochecho com soluções de sacarose ou glicose, o pH caía aproximadamente 6,5 para 5,0 e voltava gradualmente para pH original com 40 minutos. Mas recentemente, através do uso da telemetria e de um elétrodo miniatura de vidro, sensor de pH, construído em um aparelho removível, tem sido possível obter-se medidas contínuas e diretas do pH da placa interproximal *in situ* na interface dente-placa pode permanecer por muito tempo. A quantidade e duração da queda do pH são influenciados por: 1) quantidade de placa interdentária; 2) flora predominante; 3) velocidade do fluxo salivar; 4) tipo e concentração do substrato e 5) localização da placa (vestibular ou lingual se comparados com as superfícies interproximais).

Uma variedade de ácidos orgânicos tem sido identificada através de técnicas cromatográficas específicas na placa dentária, em culturas bacterianas isoladas da placa e em lesões cariosas. Isto inclui os ácidos láctico, acético, propiônico, fórmico e butírico. Entretanto, as concentrações relativas destes ácidos podem variar. Isto pode ser esperado, porque a placa abriga uma população bacteriana mista de microorganismos homo e heterolático fermentativos, assim como microorganismos ácido fermentativos que diferem em suas capacidades fermentativas. Não somente as proporções destes microorganismos possuem uma dinâmica de fluxo diferente, como

as proporções relativas dos seus produtos finais não são constantes e são influenciadas por variáveis como pH, tipo e concentração de substrato e tensão de oxigênio (ZHANG, 1982).

Diversos estudos têm utilizado colônias puras de microorganismos, de maneira que muito pouco é conhecido sobre a capacidade bioquímica da placa dentária. De acordo com um estudo da placa encubada *in vitro* durante cinco horas, a concentração do ácido lático foi semelhante ou menor às dos ácidos acéticos ou propiônico. Imediatamente após a ingestão de sacarose, o total de produção de ácido lático pela placa excede o total de ácidos voláteis; acético maior que propiônico, e somente indícios do ácido n-butírico podem ser detectados. Várias horas depois, os ácidos voláteis (especialmente acético) podem ser considerados no número total de ácido na placa. *S. Mutans* e *S. Sanguis* crescem em meio puro de cultura sob condições limitadas de nitrogênio ou glicose, produzindo produtos finais voláteis. Quando a glicose se encontra disponível e a fonte de nitrogênio limita o crescimento, o lactato torna-se o principal produto fermentado. Entretanto, quando a glicose se encontra limitada (como pode ocorrer em uma placa sem nutrientes) os principais produtos da fermentação são o etanol, acetato e formiato. Os *S. mutans* desenvolvidos em meios de cultura contínuos formam vários produtos fermentáveis além do lactato. Durante o rápido crescimento dos *S. mutans*, o lactato é o produto final mais abundante, enquanto os ácidos voláteis gordurosos predominam durante um crescimento lento (NEWBRUN, 1988).

Um esquema proposto para a regulação do metabolismo do *S. mutans* durante um crescimento contínuo sob limitação de glicose (a) e sob limitação de nitrogênio na presença ou excesso de glicose (b) é mostrado na Figura 2.1. Quando o *S. mutans* cresce em condições limitadas de glicose (a), a baixa concentração intracelular de glicose 6-fosfato restringe a atividade do piruvato quinase e o nível aumentado de fosfoenol piruvato é utilizado para o transporte efetivo de glicose no interior da célula. Em contrapartida, a atividade do piruvato formiato-liase responsável pela formação do formiato, acetato e etanol é terrivelmente aumentada; presumivelmente ela é uma enzima que se pode induzir. Por outro lado, quando o *S. mutans* está crescendo na presença de glicose excessiva (b), esta enzima é inibida pelo d-gliceraldeído 3-fosfato. Além disso, os níveis de frutose 1-6-disfosfato aumentam, favorecendo a atividade do lactato desidrogenase e conseqüentemente há formação de lactato.



**Figura 2.1.** Esquema para a regulação do metabolismo de glicose do *S. mutans* durante crescimento contínuo sob limitação de glicose (a) e sob limitação de nitrogênio na presença do excesso de glicose (b). G-6-P, glicose 6-fosfato; FDP, frutose 1,6-difosfato; GAL-3-P, gliceraldeído 3-fosfato; PEP, fosfoenolpiruvato; PK, piruvato quinase; LDH, lactato desidrogenase; PFL, piruvato formiato-liase. +, ativação; -, inibição. Letras de imprensa maiúscula, alta concentração de intermediários intracelulares na célula; letras de imprensa minúscula, baixa concentração de intermediários intracelulares na célula (YAMADA & CARLSSON, 1976).

Entretanto, o pH da placa não é sempre ácido e pode aumentar após a queda inicial causada pelos substratos fermentáveis. Isto é devido parcialmente à capacidade tampão da saliva, mas pode também ser explicado por outros processos metabólicos da placa. A flora mista da placa dentária pode descarboxilar certos aminoácidos (arginina, ácido aspártico, glutâmico, histidina, lisina e ornitina) e formar dióxidos de carbono e as respectivas aminas.

Portanto podemos dizer que cárie dentária é uma doença multifatorial, onde se verifica a interação de três fatores principais: o hospedeiro (principalmente a saliva e os dentes), a microbiota e o substrato ou dieta; além de um quarto fator – o tempo – que deve ser considerado em qualquer discussão sobre a etiologia da cárie. Diagramaticamente, estes fatores podem ser vistos como quatro círculos justapostos. Para que ocorra a cárie, deve haver condições favoráveis a cada um destes fatores. Em outras palavras, a cárie requer um hospedeiro susceptível, uma microbiota bucal cariogênica e um substrato adequado que devem estar presentes em um período de tempo suficiente. Reciprocamente, a prevenção da cárie baseia-se nas tentativas de: 1) aumentar a resistência do hospedeiro (terapia com flúor, selantes oclusais, imunização), 2) diminuir o número de microorganismos que estão em contato com os dentes (controle de placa), 3) modificar o substrato através da seleção de gêneros alimentícios não cariogênicos e 4) reduzir a permanência do substrato na boca, limitando a frequência da ingestão (NEWBRUN, 1988).

### **2.3 Soluções e Materiais Atuais Para Perda do Tecido Dental**

Devido a grande ocorrência de grandes perdas dentais (esmalte, dentina, perfurações cervicais ou radiculares), houve a necessidade de estudos, por um material que preenchesse os requisitos ideais para um perfeito selamento destas perdas; os materiais mais comumente utilizados são o IRM (cimento óxido de zinco e eugenol), MTA (Mineral Trióxido Agregado®), Hidróxido de Cálcio e Amálgama.

Segue abaixo comparativo em relação a adaptação marginal, capacidade bactericida, toxicidade, indução de tecido ósseo.

O Hidróxido de cálcio parece preencher melhor os requisitos para estimular o selamento das perfurações, pois além da facilidade de sua inserção, eventuais extravasamentos seriam rapidamente reabsorvidos, inclusive na luz da perfuração, propiciando, teoricamente, a reorganização do tecido periodontal e o conseqüente selamento biológico por tecido mineralizado (BRAMANTE 1980).

De acordo com LEE *et al.* (1993) o MTA foi desenvolvido para ser utilizado principalmente, após a realização de cirurgias paraendodônticas e em casos de perfurações radiculares iatrogênicas, reabsorções internas, apicificação, capeamento pulpar e pulpotomias.

TORABINEJAD *et al.* (1995a) estudou o MTA como material para retrobturação em dentes de cães, comparando-o ao amálgama de prata. A resposta tecidual perirradicular avaliada histologicamente por um período de 2, 5, 10 e 18 semanas após a cirurgia perirradicular, observou-se, estatisticamente que o MTA mostrou menos inflamação e menos cápsulas fibrosas adjacentes ao MTA, constatou-se também presença de cimento ao redor da superfície da retroobturação.

No que concerne ao efeito antimicrobiano do MTA, TORABINEJAD *et al.* (1995b) verificaram sua ação contra as bactérias facultativas. *S. falcalis*, *S. mitis*, *S. mutuaans*, *S. salivarius*, *lactobacilus sp*, *S. aureus*, *S. epidermites*, *Bacilus subtilis* e *Escherichia coli B* e sete anaeróbicas estritas *Prenotellas (Bacteróides) Melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, que freqüentemente infectam os canais radiculares. Após o crescimento dessas bactérias em meio sólido, os MTA experimentais foram colocados sobre esses meios. Constatou-se que o agregado tem efeito antibacteriano sobre algumas bactérias facultativas e nenhum efeito sobre as bactérias anaeróbicas estritas.

SOARES (1996) avaliando, histologicamente, a resposta pulpar do MTA comparado ao hidróxido de cálcio, em dentes de cães submetidos à pulpectomia, concluiu que a formação de barreira de tecido duro ocorreu em 91,66% dos dentes tratados com Hidróxido de Cálcio e em 96,43% dos casos em que foi utilizado o MTA (casos sem contaminação).

TORABINEJAD *et al.* (1997) avaliaram a resposta tecidual da região periapical subjacente ao material retrobturador, utilizando o MTA e o Amálgama em dentes incisivos superiores de macacos. Retalhos mucoperiostal foram realizados e as aberturas ósseas realizadas com brocas, assim como o preparo da cavidade no terço apical dos dentes. As cavidades foram preenchidas com o MTA e Amálgama. Após cinco meses, a resposta tecidual foi avaliada histologicamente. Os resultados mostraram a região perirradicular sem a presença de infiltração adjacente ao ápice que continham o MTA. Apresentaram, também, camadas de cimentos sobre a obturação. As cavidades que continham o Amálgama mostraram inflamação ao redor da região perirradicular e ausência de cimento.

BARBOSA *et al.* (1997) comparou o Hidróxido de Cálcio com a clorexidina e o paramoclorofenol canforado quanto ao efeito antibacteriano. Neste utilizaram a difusão em 'Agar para avaliar a atividade inibitória destes medicamentos sobre bactérias achadas ao interior do canal radicular. Não houve diferença estatisticamente significativa na avaliação dos medicamentos testados. No entanto o paramonoclorofenol canforado mostrou maior zona de inibição frente as colônias de bactérias estudadas.

A sua vez, FISCHER *et al.* (1998) determinaram o tempo necessário para a bactéria *Serratia marcescens* penetrar em uma espessura de 3mm dos seguintes materiais: Amálgama sem zinco, IRM, Super-EBA e o MTA, quando utilizado com material retrobturador. Foram utilizados 56 dentes uniradiculares humanos extraídos. Os dias requeridos para a penetração *S. marcescens* foram no Amálgama sem zinco começou a penetrar em 10 a 63 dias, IRM em 28 a 91 dias; Super-EBA, em 42 a 101 dias. No MTA não houve penetração bacteriana até 49º dia.

SHABAHANG *et al.* (1999) fizeram um estudo em raízes imaturas, a fim de comparar a indução de formação de tecido duro usando a proteína osteogênica-1, Hidróxido de Cálcio e o MTA em dentes de cães. O grau de formação de tecido duro foi analisado e a quantidade de inflamação avaliada através de estudo histomorfológico. Segundo os dados estatísticos, o MTA produziu a formação de tecido duro com maior significância. A diferença entre a produção de tecido duro entre os três materiais testados não foi significativa estatisticamente.

Comparando algumas propriedades do MTA com as do Hidróxido de Cálcio, observa-se algumas similaridades entre elas, principalmente com respeito a disposição de novo tecido duro, com o propósito de procurar desvendar o mecanismo de ação do MTA, até então desconhecido, HOLLAND *et al.* (1999) desenvolveram um estudo conjuntivo de ratos implantado tubos de dentina preenchidos com o MTA ou Hidróxido de Cálcio. Com avaliações à luz da microscopia polarizada e reações histoquímicas, esse experimento demonstrou que os resultados obtidos com Hidróxido de Cálcio foram iguais aos obtidos com o MTA.

HOLLAND *et al.* (1999) trabalhando com os dentes de cães, fizeram um estudo histopatológico, comparando o MTA com os cimentos OZE consistente, IRM e Super-EBA. Os resultados, 180 dias pós-operatórios, demonstraram que o único material que exibiu tecido tipo cementóide, em íntimo contato com o material retrobturador foi o MTA

TORABINEJAD & CHIVIAN (1999) fizeram um estudo experimental com o material MTA, uma vez que este material tem apresentado, *in vitro*, ser um material que previne a microinfiltração, é biocompatível, e promove a regeneração dos tecidos originais quando colocado em íntimo contato com a polpa dental ou tecidos perirradiculares.

RIBEIRO *et al.* (2001) avaliaram o comportamento clínico e os aspectos radiográficos do MTA em procedimento cirúrgico paredodônticos, foram selecionados treze dentes portadores de lesões periapicais crônicas refratárias ao tratamento endodôntico convencional. Os espécimes foram submetidos à apicetomia, retropreparados por meio de pontas ultra-sônicas (Enac) e retrobturados com MTA. Os dentes foram submetidos, periodicamente, a análise clínica e radiográfica. No final do período de um ano preservando, puderam ser observados, sinais clínicos e radiográficos de reparação tecidual em todos os espécimes. Em função dos resultados obtidos, o MTA parece apresentar-se viável como material retrobturador nos procedimentos cirúrgicos relacionados com dentes portadores de infecções periapicais persistentes pós-terapia endodôntica.

## 2.4 Biomateriais Poliméricos

Um material biocompatível pode ser definido como aquele que não determina uma resposta inflamatória aguda ou crônica no tecido e não provoca uma diferenciação apropriada dos tecidos circunjacentes ao implante (SCHALDACH, 2000). Interações entre o material e o tecido circunjacentes também podem resultar em complicações envolvendo o próprio dispositivo implantável: infiltração de líquido, corrosão e abrasão mecânica, bem como reações a corpos estranhos, podem afetar as propriedades do implante.

Até onde alcançam as considerações da engenharia, existe uma quantidade de materiais que pode ser utilizada para desenvolver e/ou fabricar um dispositivo implantável. Mas, os requisitos médicos são mais constringentes, porque o dispositivo implantável, enquanto restaura a função comprometida, deve também garantir que não exerça, a longo ou médio prazo, qualquer distúrbio ao corpo do paciente. Portanto, a escolha do material é crítica. Obter a biocompatibilidade representa uma tarefa interdisciplinar, que envolve pesquisadores de várias áreas: médicos e engenheiros (SCHALDACH, 2000).

Um outro fator que deve ser levado em conta é o limite de tolerância que o tecido apresenta no que se refere à remoção dos produtos de degradação, já que se for ultrapassado esse limite, pode ocorrer inflamações no tecido, diminuição do tempo de vida útil do dispositivo, reabsorção óssea ou mesmo necrose do tecido. Dentre os biomateriais, os mais usados são os metálicos, cerâmicos e polímeros. Os dispositivos metálicos, que são mais rígidos do que o osso, são freqüentemente usados na fixação interna de fraturas. As vantagens deste tipo de implante são basicamente: um curto período de recuperação e exata reposição do osso fraturado (PISTNER *et al.*, 1992).

Entretanto suas desvantagens são inúmeras: possível stress do osso e relativa osteoporose, devido à ausência de um funcionamento normal de carga no local do implante; reações alérgicas contra os diferentes componentes do metal (STEINHAUSER, 1968a, STEINHAUSER, 1968b; AKESON *et al.*, 1975; BRADLEY *et al.*, 1979); problemas de corrosão (COHEN & WULF, 1972; THULL & SCHALDACH, 1975; MEACHIM & WILLIAMS, 1981; MEACHIM &

PEDLEY, 1981); sensibilização (BLACK, 1986; WEILER *et al.*, 1996), uso de equipamentos de Raios-X e em casos de dispositivos temporários existe, muitas vezes, a necessidade de uma segunda cirurgia para a remoção do implante, o que representa, sem dúvida, um incômodo ao paciente e encarecimento do seu tratamento.

Estes problemas expostos acima praticamente deixam de existir quando nos referimos aos implantes de polímeros bioreabsorvíveis, que vem a ser implantes que cumprem somente uma função temporária no corpo, sendo que depois do tecido ou órgão ter sido regenerado, eles degradam no ambiente em que se encontram na forma de compostos atóxicos, que por sua vez são eliminados pelo organismo através de uma absorção ou excreção.

Essa biodegradabilidade vem acompanhada de outras vantagens, como por exemplo, a transferência gradual de carga do implante para o osso em recuperação, o que não é possível no caso dos implantes metálicos, já neste tipo a transferência de carga é realizada pelo material metálico, o que pode acarretar uma re-fratura no mesmo local onde houve a remoção do material implantado (MIDDLETON & TIPTON, 2000).

Os polímeros bioreabsorvíveis podem ser naturais ou sintéticos, como exemplo de biomateriais poliméricos podemos citar os policarbonatos, poliuretanos, polianidridos e os poliésteres alifáticos, sendo que os sintéticos, em geral, oferecem maiores vantagens sobre os materiais naturais, já que podem ser elaborados de maneira a propiciar uma variedade muito grande em termos de propriedades, quando comparados aos de fontes naturais (BARROWS, 1986).

Os fatores que afetam o desempenho dos polímeros bioreabsorvíveis são aqueles já bem conhecidos no ambiente científico. São estes: seleção do monômero, seleção do iniciador, condições do processo e a presença de aditivos (MIDDLETON & TIPTON, 2000). Estes fatores, por sua vez, influenciam a hidrofiliabilidade do polímero, a cristalinidade, a temperatura de transição vítrea, a temperatura de fusão, massa molar, grupos finais, seqüência de distribuição (ao acaso X blocos) e a presença de resíduos de monômeros ou aditivos (ODIAN, 1981).

De maneira geral, o critério na seleção de um polímero para uso como biomaterial envolve dois fatores: as propriedades mecânicas e o tempo de degradação em função das necessidades da aplicação (MIDDLETON & TIPTON, 2000). Um polímero ideal para uso como biomaterial deve apresentar as seguintes características:

- Não provocar respostas tóxicas/inflamatórias no tecido no qual foi implantado;
- Ser metabolizado pelo organismo após ter cumprido sua proposta de recuperação, sem deixar traços;
- Ser facilmente processado na forma de um produto final;
- Ser facilmente esterilizável.

Dentre os polímeros bioreabsorvíveis o poli (ácido láctico) e o poli (ácido glicólico) estão entre os raros usados clinicamente (DOMB *et al.*, 1994; LEWIS, 1990). Este interesse por estes tipos de polímeros vem do fato deles já terem aprovação para um certo número de aplicações clínicas pelo U.S. Food and Drug Administration, órgão responsável pela liberação de alimentos e drogas nos EUA (ENINK, 1987).

O campo de aplicações destes polímeros é vasto e já data de um período relativamente longo, sendo estes materiais empregados como dispositivos em: implantes (KULKARNI *et al.*, 1966), materiais de suturas (CUTRIGHT *et al.*, 1971), próteses, materiais de reparação ortopédica (LENSLAG *et al.*, 1987; ROZEMA *et al.*, 1991), pinos intramedulares (MANMINEM *et al.*, 1992) na área odontológica (ZISLIS *et al.*, 1989; IKADA, 1989) e em liberação controlada de drogas (DOMB *et al.*, 1994).

O poli (L-Lactide), PLLA, é um polímero semicristalino com ponto de fusão ao redor de 180°C e uma cristalinidade por volta de 70%, tornando-o dentre os poli (lactides), o que possui a menor taxa de degradação. As propriedades mecânicas apresentadas por este polímero são muito boas, já que apresentam uma boa resistência à tração e um alto módulo de Young (VERT *et al.*, 1995).

Enquanto que para PLLA o tempo de reabsorção do material pelo organismo pode levar mais de 36 meses, para o copolímero esse tempo pode ser reduzido para aproximadamente 6

meses, dependendo da proporção existente entre os meros. Essa capacidade de controlar o tempo de degradação no organismo é, sem dúvida, notável, o que justifica a grande quantidade de pesquisas que vem sendo feitas com esse material (PLGA).

A copolimerização é um processo que resulta numa grande versatilidade de propriedades e desempenho que se pode obter dos materiais. Copolímeros são polímeros que apresentam em sua estrutura dois ou mais tipos de meros. Para um copolímero a % dos componentes (comonomeros) bem como o tipo de distribuição dos meros nas macromoléculas são características muito importantes, as quais interferem nas propriedades. Essa diferenciação é ainda mais acentuada quando comparamos o copolímero PLGA com o homopolímero PLLA.

As características de bioabsorção, propriedades mecânicas e biocompatibilidade dos polímeros absorvíveis, principalmente do PLLA, têm colocado-os como fortes candidatos para substituição dos dispositivos metálicos, pois torna uma segunda cirurgia para remoção dos mesmos após a recuperação do osso, desnecessária. Isso diminui custos hospitalares, riscos de complicações cirúrgicas e o tempo de recuperação do paciente.

O desempenho de um dispositivo ortopédico depende de uma série de fatores. Primeiro o dispositivo deve ter o projeto próprio com resistência adequada. Deve ser manufaturado sobre controle suficiente de forma a não incorporar defeitos no implante. A seleção do material é importante e deve garantir biocompatibilidade e resistência a corrosão durante o tempo necessário para recuperação do osso.

O uso de materiais absorvíveis é baseado no seguinte conceito: quando a resistência do local fraturado aumenta devido ao processo natural de recuperação a absorção começa a ocorrer. O implante suporta uma elevada fração da carga transmitida ao osso durante os primeiros estágios do processo de recuperação. A redução gradual da resistência do implante, devido à absorção, transfere uma percentagem crescente da carga ao osso em recuperação. Como resultado, o local da fratura recuperada deve desenvolver uma resistência comparável àquela do osso original. De forma ideal esses processos devem ocorrer de maneira simultânea.

LEENSLAG *et al.* (1987) sintetizaram poli (L-lático) com alta massa molecular (massa molar média =  $1 \times 10^5$ ), à temperatura de 100-120°C. e estudaram suas propriedades mecânicas e morfológicas. Placas e parafusos deste material foram utilizados no tratamento de fraturas mandibular de cães e ovelhas. A cura do osso foi excelente e procedeu-se sem formação de calos ou sinal de inflamações. Além disso, acompanhou-se o processo de degradação durante a cura. As placas foram moldadas por compressão do material ( $T = 200^\circ\text{C}$  e  $P = 18 \times 10^3 \text{ Kg}$ ). Após 11 semanas de implantação verifica-se a degradação, a qual entre outros fatores foi atribuída a microporosidade do implante.

MANNIMEN *et al.* (1992) realizaram um estudo comparando propriedades mecânicas de parafusos de PLLA reforçado com fibras, implantando parafusos de metal e de PLLA para fixação de ossos em ovelhas. As dimensões para parafusos foram de 50mm de comprimento, 3,2mm na parte central e 4,5mm de diâmetro das linhas externas. Os parafusos de PLLA foram moldados por compressão nas mesmas dimensões. As radiografias entre 6 a 12 semanas mostraram a união do osso sem sinais de inflamações e com enfraquecimento do osso para o caso do parafuso metálico enquanto com parafusos de PLLA houve um aumento da resistência. As forças no osso agem principalmente na direção do parafuso, a rigidez do parafuso metálico o qual passa através do osso carrega parte dessas forças. Os estudos indicam que o uso de parafusos de PLLA, ao invés de metálico, na fixação de osso em ovelhas evita a proteção ao stress e enfraquecimento do osso. Entretanto, parafusos de PLLA não são recomendados para uso sem suporte externo em regiões de alto esforço mecânico. Os autores comentam a dificuldade em se comparar os dispositivos devido a incompletas informações moleculares, estruturais e mecânicas.

BÖSTMAN *et al.* (1992a) verificaram a migração de partículas poliméricas durante a degradação de implantes poli (ácido glicólico) em fêmur de coelho, utilizando parafusos e pinos. Os resultados mostraram que a partir de 6 semanas de implante ocorreu a união do osso e os orifícios intra-articulares dos canais do implante foram preenchidos com um tecido fibroconectivo e fragmentos do polímero migraram para o tecido hospedeiro a uma distância de aproximadamente 0,85mm a partir do implante original. Pouco mais tarde esses autores (BÖSTMAN *et al.*, 1992b) realizaram um estudo mais detalhado através de dados histológicos, histomorfométricos e verificaram os primeiros sinais de invasão do tecido no implante após 40

dias. Após 7 dias verificaram a formação de uma camada de fibroblastos circundando o implante. Analisaram a variação do volume do osso e contagem de células.

Além de pinos e parafusos, outra possibilidade é a utilização de haste implantadas na parte intramedular do osso. KUMTA *et al.* (1992) estudaram a degradação de PGA e copolímeros PGA-PLA após implantação intramedular e subcutânea em coelhos. Após 2 semanas, o material perdeu 73% da resistência no implante intramedular e 64% no subcutâneo. Implante de PGA foram comparados com hastes Kirschner para fixação de pequenas fraturas intra-articulares de mão. Em seis meses não foram verificadas nenhuma diferença entre os 2 grupos, nem reação alérgica.

Além de testes em animais, trabalhos recentes mostram a viabilidade de aplicação para fixação de fraturas em seres humanos, com resultados satisfatórios. (NAKAMURA *et al.*, 1993; PIHLAJAMÄKI *et al.*, 1992).

Segundo BÖSTMAN (1991) um estudo envolvendo 516 pacientes nos quais foram implantados com pinos de PGA ou PGA-PLA, em uma clínica de trauma em Helsinki, Finlândia, revelou as seguintes falhas dos implantes poliméricos que necessitaram recuperação:

- Falha na fixação da fratura – 1,2%
- Infecção bacteriana – 1,7%
- Inflamação não infecciosa após cerca de 20 semanas de implante – 7,9%

Böstman conclui que esta taxa de cerca de 8% de complicação nos implantes deve ser sempre analisada comparando-a com a necessidade de se executar uma segunda operação no caso implantes metálicos.

Outro tipo de material utilizado para fixação de fraturas são os materiais reforçados. Consistem de materiais absorvíveis, por ex: PGA/PLA reforçado com aproximadamente 60% de fibras do próprio polímero (TÖRMALA *et al.*, 1987). VAINIOMPAA *et al.* (1987) estudaram o poli glicólico (PGA) reforçado com fibras e verificaram alta resistência mecânica, como

conseqüência da adesão entre as fibras e a matriz. Outra possibilidade consiste em materiais poliméricos reforçados com hidroxiapatita. (TÖRMALA, 1991).

Além dos dispositivos ortopédicos, os polímeros absorvíveis podem ser incluídos em outra linha de pesquisa relacionada: o estudo de proteínas morfogenéticas induzindo crescimento ósseo. Nesse caso, o PLLA pode ser útil como um composto com polietileno glicol (PEG) ou hidroxiapatita funcionando como um carregador para proteína. Proteínas morfogenéticas são capazes de induzir a diferenciação de células tipo mesênquima na cartilagem e no osso através do processo de ossificação endocondral (MIYAMOTO *et al.*, 1993).

Também sob a forma de membranas, os polímeros são usados em tecidos ósseos. Regeneração guiada de tecido (do inglês, Guided Tissue Regeneration – GTR), é uma técnica usada para o tratamento de defeitos ósseos em regiões nas quais o osso está em íntimo contato com um tecido mole. Consiste em separar através de uma membrana absorvível ou não, os dois tipos de tecido, impedindo que haja invasão de regiões que devem ser preenchidas com tecido ósseo em recuperação pelo tecido mole.

ROBERT *et al.* (1993) avaliaram a biocompatibilidade e degradação de membranas de PLA com alta massa molecular e com adição de até 30% em peso de oligômeros de PLA obtidas com o intuito de servirem como implantes periodontais para GTR. Eles implantaram as membranas sob a derme no abdômen de ratos. Os resultados obtidos mostraram que essas membranas são muito bem toleradas pelo tecido, sem reação inflamatória. Quanto maior a concentração de polímero com baixa massa molecular, maior a taxa de degradação. A absorção dos implantes foi completa após 60 dias. As membranas foram progressivamente substituídas por tecido conectivo fibroso.

ZELLIN *et al.* (1995) testou 10 diferentes tipos de membranas absorvíveis e não absorvíveis, indicadas para GTR periodontal. Furos passantes de 5mm de diâmetro nas mandíbulas de ratos adultos foram realizados e cobertos com as membranas. As análises foram efetuadas após 6 semanas do implante. O estudo mostrou que diferentes membranas variam fortemente em termos de eficácia em promover a reconstrução óssea, mesmo sendo

quimicamente semelhantes. Além disso, membranas desenhadas especificamente para aplicações em periodontia podem não ser adequadas para recuperação de regiões ósseas.

PIATTELLI *et al.* (1996) avaliou a possibilidade de regeneração óssea utilizando novas membranas absorvíveis e não absorvíveis comercialmente disponíveis (Guidor Matrix Barrier® e Gore-Tex®) indicadas a princípio para aplicações em periodontia. Os ensaios foram realizados através de implantes em tíbias de ratos. Concluíram que a degradação das membranas não interferiu na recuperação dos ossos, não havendo reação inflamatória nos dois tipos de membrana e que a membrana Guidor pode ser utilizada para regeneração GTR ósseo.

PINEDA *et al.* (1996) implantaram membranas de PLA com poros de vários tamanhos em 15 coelhos para cobrir um largo defeito ósseo de 10mm criado propositadamente. Radiografias pós-implante revelaram um hematoma na região do defeito que foi desaparecendo à medida que a formação de um novo tecido ósseo foi ocorrendo, independentemente do tipo de membrana utilizada. Os autores concluíram que a função primária das membranas usadas para cobrir defeitos ósseos é a de preservar componentes osteogênicos presentes no espaço sob a membrana e garantir o crescimento das células na cavidade medular.

LAM *et al.* (1994) realizaram um estudo abrangente e detalhado *in vitro* e *in vivo* analisando a degradação de membranas porosas e não porosas de poli (L-ácido láctico) que poderiam ser utilizadas tanto em GTR quanto em suporte para cultura de células. Analisaram as mudanças na massa molecular, na polidispersividade, na temperatura de fusão, na energia de fusão, na resistência a tração, no módulo de elasticidade, na massa e na área superficial das membranas sob degradação. Estes autores constataram que as membranas porosas apresentam os maiores valores de massa molecular e temperatura de fusão e degradam mais rapidamente em relação às membranas não porosas. No entanto, as membranas não porosas apresentaram os maiores valores de energia de fusão, indicando a presença de moléculas pequenas formando domínios cristalinos mais facilmente.

SILVA *et al.* (1985) utilizou tri-etil-citrato para preparar pequenos tubos flexíveis de PLLA absorvíveis para GTR de nervos rompidos em ratos adultos. Os resultados indicaram um significativo aumento de células em função do tempo quando comparado com o grupo de controle.

## 2.5 Liberação Controlada de Medicamentos

Por algumas décadas partes do corpo tem sido substituídas ou reparadas com materiais naturais ou materiais sintéticos previamente selecionados. Dispositivos biomédicos têm sido desenvolvidos atualmente por engenheiros, químicos e bioquímicos pela modificação da composição e conseqüentemente das propriedades de materiais poliméricos.

Diante deste quadro, companhias farmacêuticas e pesquisadores de medicamentos têm muitas razões para acreditar no crescente interesse do desenvolvimento de drogas poliméricas.

Neste última década há uma crescente atenção para o desenvolvimento de dispositivos para a liberação controlada de drogas, pesticidas, nutrientes, produtos agrícolas e fragrâncias. (LANGER, 1989). Entretanto, na área farmacêutica quase todos os sistemas que haviam sido desenvolvidos até 1976 eram incapazes de promover a liberação gradual de drogas com peso molecular ponderal médio acima de 600 Daltons ( $M_w > 600$ ). Até meados da década de 70 sistemas efetivos para a liberação controlada de macromoléculas não podiam ser desenvolvidos (KOST, 1988).

Contudo segundo LANGER & FOLKMAN (1976) citado por DUMITRIU & DUMITRIU (1993) após árduos esforços, foram desenvolvidos sistemas de liberação controlada que permitiam a liberação de agentes bioativos com massa molar de  $2.10^6$  Daltons.

O uso do termo Sistemas Poliméricos (“*Polymeric System*”) significando controle de drogas tem sido chamado **Tecnologia de Liberação Controlada**. Entretanto autores como LANGER & PEPPAS (1981), definem que o termo Liberação Controlada como sendo a duração da ação em liberar o medicamento em um ou mais dias.

O termo “*polymeric drugs*” inclui polímeros que contêm um medicamento ou uma unidade quimioterapêutica como parte de sua estrutura. Para isto o polímero deve possuir unidades ativas como grupos pendentes ou grupos terminais na cadeia polimérica. Podem ainda ser encontrados polímeros que atuam apenas como veículos para liberação de medicamentos, sendo comumente designados como “*polymeric drug carriers*” e a escolha do material está diretamente ligada a sua inatividade biológica.

Entretanto segundo DUMITRIU *et al.* (1989), para que o material polimérico possa ser escolhido, este deve possuir propriedades específicas que são listadas abaixo por ordem de importância:

- O polímero deve ser solúvel e facilmente sintetizável sendo que sua massa molar deve ser finita e com estreita distribuição;
- O polímero deve promover sítios onde a droga possa ser acoplada ou então que promova ligações entre ele e a droga. Estes sítios e ligações devem possuir estabilidade controlada;
- O polímero deve ser diretamente predestinado ao tipo de célula pela suas características físico-químicas ou pela adição de aditivos específicos;
- Deve ser compatível com o meio biológico, ou seja, não tóxico e não antigênico;
- Deve ser biodegradável ou ser eliminado do organismo após o cumprimento da sua função.

A liberação controlada de drogas oferece inúmeras vantagens em relação ao sistema convencional de dosagem de medicamentos. Entre elas pode-se citar a redução da toxicidade, onde a droga é mantida a um nível terapêuticamente desejável no plasma. Observa-se também uma maior conveniência para os pacientes, uma vez que os efeitos colaterais gerados pelo sistema convencional de administração da droga podem ser minimizados pelas pequenas quantidades de medicamento que o sistema de liberação controlada aplica. Do ponto de vista econômico os sistemas de liberação controlada de medicamentos são potencialmente mais baratos e geram um menor desperdício do medicamento, maior eficiência do processo (LANGER; PEPPAS, 1981), permitindo que tratamentos que não eram possíveis, tornassem rotineiros (KUMAR, 2000).

Há vários meios de se promover a liberação controlada de drogas, mas duas formas vêm se destacando pelas suas propriedades diferenciadas: as nano e as micropartículas.

Durante estas últimas duas décadas, diversos materiais têm sido utilizados para este fim, entre eles as poliamidas, poliuretanos e poliacrilamidas (JAIN, 2000), no entanto são os poliésteres alifáticos PLA, PGA e especialmente o PLGA copolímero (ácido láctico-glicólico) que têm despertado um enorme interesse para este tipo de aplicação devido as suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade (JALIL; NIXON, 1990).

O PLLA homopolímero (estrutura estereoisomérica do ácido láctico), também tem sido bastante utilizado com veículo para liberação de fármacos. Entretanto este material apresenta elevado tempo de degradação (ZOPPI *et al.*, 2001). Uma alternativa para alterar este longo tempo de degradação tem sido obter blendas do PLLA com outro polímero que pode ser biodegradável ou não. Além de alterar o tempo de degradação a blendas geram uma melhora nas propriedades e mecânicas do composto final (NIJENHUIS *et al.*, 1996).

## 2.6 Obtenção das Microesferas

Segundo KUMAR (2000), microesferas são a rigor partículas esféricas ocas ao passo que microcápsulas são definidas como partículas de tamanho entre 50nm a 2mm contendo uma substância como núcleo. Entretanto nota-se que a designação de microesferas e microcápsulas são utilizadas como sinônimos. Partículas esféricas e esferas também são utilizadas, entretanto a morfologia rígida e o maior tamanho nesta definição estão implícitos.

Segundo JALIL & NIXON (1990) um grande número de técnicas têm sido desenvolvidas para a obtenção das microesferas. Sendo assim para a escolha da técnica deve-se observar:

- Polímero a ser utilizado
- Droga a ser encapsulada
- Duração do tratamento
- Aplicação das microesferas no paciente (JALIL; NIXON, 1990, WU, 1995b, LEWIS, 1990).

A técnica escolhida deve assegurar a estabilidade e a atividade biológica da droga durante e ao final do processo de encapsulamento. Ao final deste processo as microesferas deve possuir tamanho inferior a 250  $\mu\text{m}$  (idealmente este valor deve estar abaixo de 125  $\mu\text{m}$ ) e não devem

exibir agregados ou aderência. Além disto a qualidade das microesferas bem como o perfil da liberação do principio ativo devem ser reprodutíveis (JAIN, 2000).

## **2.7 Medicamentos utilizados**

### **2.7.1 Piroxicam**

#### *A) Beta-ciclodextrina piroxicam*

A formulação de piroxicam é aquela na qual a substância ativa forma um complexo com beta-ciclodextrina. A beta-ciclodextrina, um oligossacarídeo cíclico que deriva da hidrólise enzimática do amido comum, graças à particular estrutura química da qual é provida, pode formar complexos de inclusão (“encapsulação molecular”) com vários fármacos, melhorando-lhes as características de solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Beta-ciclodextrina piroxicam apresenta solubilidade elevada na água e uma absorção mais rápida quando relacionado com o piroxicam após administração oral e retal. A melhor solubilidade leva a um rápido aumento dos níveis plasmáticos e a um alcance precoce do valor de pico que se evidencia clinicamente com um aparecimento mais rápido e uma intensidade maior do efeito analgésico e antiflogístico e torna possível a administração de uma única dose diária., graças às suas propriedades farmacêuticas e farmacocinéticas, é eficaz no tratamento das afecções de natureza reumática e(ou) flogística com componente algico marcante, que comprometem seriamente as condições gerais e a atividade normal dos pacientes e nas quais é necessário uma terapia que seja ao mesmo tempo eficaz, rápida e intensiva.

#### *B) Indicações*

Tratamento dos estados dolorosos agudos, como dores por afecções reumáticas articulares e extra-articulares, dor musculoesqueléticas, dismenorréia, cefaléia, dor pós-traumatismo e pós-operatória, odontalgia.

### C) *Contra-indicações*

Hipersensibilidade ao medicamento, úlcera gastroduodenal, gastrite, distúrbios hepáticos e renais graves, insuficiência cardíaca grave, hipertensão arterial severa, alterações hematológicas graves, diátese hemorrágica. Gravidez confirmada ou suspeita, lactação.

### 2.7.2 **Vancomicina**

O cloridrato de vancomicina é um antibiótico de amplo espectro ativo contra inúmeros organismos Gram-positivos e beta-hemolíticos, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococci*, *Corynebacterium*, *Clostridium* e o *Clostridium difficile*. Deve-se reservar o uso do cloridrato de vancomicina a pacientes alérgicos a penicilina, pacientes que não obtiveram respostas terapêuticas com outros antibióticos como penicilina ou cefalosporinas; em infecções por organismos sensíveis a vancomicina e resistentes a outras drogas.

A via endovenosa é indicada em pacientes com infecções dos ossos e articulações, septicemia (cepas multiresistentes de *Staphylococcus sp*). Endocardite bacteriana causada por *Staphylococcus sp*, *Streptococcus viridans*, *S. bovis*, *Corynebacterium*, *Enterococcus faecalis*. O medicamento é indicado tanto como profilático como para tratamento.

O Cloridrato de Vancomicina é um antibiótico glicopeptídeo produzido pelo *Streptomyces orientalis*. A vancomicina é bactericida para a maioria dos microorganismos, bacteriostático para enterococos. Inibe a síntese da parede celular, ligando-se com o precursor de alanina e também age seletivamente impedindo a síntese do RNA, provocando a lise bacteriana. Ela é pouco absorvida pelo trato gastrointestinal. No caso da via oral, a excreção é primariamente fecal. Quando administrado por via endovenosa, a ligação protéica é de aproximadamente 55%. Amplamente distribuída através dos líquidos corporais, não atravessa a barreira hematoencefálica. A excreção é principalmente renal (90%) e biliar. Sua vida é de 4 a 11 horas.

## Capítulo 3

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção das Microesferas com Medicamento

Inicialmente 0,5 gramas de PLLA foram pesadas e dissolvidas em 4,5 ml de diclorometano (Quimex), mais 900  $\mu$ l de uma solução aquosa do cloridrato de vancomicina (Eurofarma) a 5% em relação a massa do polímero, mais 5% em relação a massa do polímero de piroxicam (Carlo Erba). Após a dissolução dos polímeros e sob agitação constante em agitador magnético (Fisatom mod.752 A), foi adicionada a esta solução 800 ml de água destilada. O sistema então foi agitado por trinta segundos a 700 rpm formando assim a primeira emulsão (W/O) onde a fase aquosa descontínua permanecia dispersa na fase oleosa contínua. Ainda sob forte agitação à esta primeira emulsão adicionou-se 2 ml de solução aquosa de PVA1 (VETEC) a 1%. Sob agitação a 700 rpm por trinta segundos foi formada a segunda emulsão (W/O/W). Esta emulsão foi então vertida em um béquer contendo 100 ml de solução aquosa de PVA1 a 0,2 % sendo agitada por um minuto. Após a agitação o sistema foi vertido em um béquer com solução aquosa de álcool isopropílico a 2,5% para a decantação das microesferas. Sob agitação severa e constante o solvente foi retirado por evaporação. Esta etapa do trabalho foi desenvolvida por CERONI (2004).

Por final as microesferas foram filtradas à vácuo onde foi utilizado um filtro Sartorius grade 392 (80g/cm<sup>3</sup>), lavadas com água destilada por três vezes consecutivas e secas em dissecador à vácuo. Durante o processo de dissolução dos polímeros, alíquotas de DMC foram adicionadas com intuito de manter a quantidade de solvente constante. O processo descrito foi adaptado de OLDHAM *et al.* (1999).

### 3.2 Estudo Experimental em Coelhos

Para a realização do estudo histológico da interação das microesferas com medicamento com os tecidos dentais de coelhos, foram utilizados oito animais da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), machos, de mesma linhagem, com peso médio de 3 quilogramas, do Centro de bioterismo do CCMB-PUC-SP .

Durante todo o experimento os animais foram mantidos no Biotério do Centro de bioterismo do CCMB-PUC-SP . Neste período os animais foram submetidos a uma dieta com ração e água à vontade, sendo mantidos em gaiolas metálicas individualizadas, sob condições controladas de iluminação (12 horas de luz/ 12 horas de escuro) e temperatura (21 a 25°C).

No período pré-operatório os animais receberam terapêutica profilática composta de dipirona diluída em água.

Como medicação anestésica foi administrado em cada animal um medicamento sedativo, analgésico e relaxante muscular na dosagem de 5mg/kg (Rompum-Bayer do Brasil); após um período em torno de 20 minutos, foi administrado um medicamento neuropilético e tranqüilizante na dosagem de 0,5 mg/kg (Xilasina-Anasedan®) e em seguida foi administrado o anestésico geral cloridrato de ketamina, na dosagem de 0,2 mg/kg (Ketamina-Dopalen®). Com essa dosagem conseguiu-se uma solução profunda por aproximadamente 90 a 120 minutos.

#### 3.2.1 Método Cirurgico

A Abertura da câmara pulpar foi realizada nos incisivos superiores com broca esférica número dois montada em micromotor.

Os incisivos do lado direito constituíram o grupo experimental, estes foram abertos sem irrigação e com broca não estéril. Após exposição pulpar, foi implantado no interior da cavidade da polpa dental, com o auxílio de espátula de inserção, as microesferas contendo medicamento. A seguir, procedeu-se à restauração temporária com cimento fosfato de zinco (SS White).

Como controle foram utilizados os incisivos do lado esquerdo. Nestes foram abertos sem irrigação e com broca não estéril o fechamento da cavidade pulpar foi feito com restauração provisória, de hidróxido de cálcio e com cimento fosfato de zinco (SS White), usado rotineiramente em Odontologia.

O acompanhamento pós-operatório foi observado verificando diariamente o bom estado geral dos animais, sendo que nos seis dias seguintes foi administrado analgésico (dipirona gotas) na água dos animais.

### *3.2.2 Procedimentos histológicos para microscopia de luz*

Após 20, 40, 60, dias os animais foram anestesiados, como medicação anestésica foi administrada em cada animal um medicamento sedativo, analgésico e relaxante muscular na dosagem de 5mg/kg (Rompum-Bayer do Brasil); após um período em torno de 20 minutos, foi administrado um medicamento neuropilético e tranqüilizante na dosagem de 0,5 mg/kg (Xilasina-Anasedan) e em seguida foi administrado o anestésico geral cloridrato de ketamina, na dosagem de 0,2 mg/kg (Ketamina-Dopalen®). Com essa dosagem conseguiu-se uma solução profunda por aproximadamente 90 a 120 minutos, após este procedimento realizamos o corte do incisivo central através de um disco diamantado, sendo que o corte foi realizado próximo a região gengival.

A fixação dos dentes foi realizada com a imersão em solução neutra de formol a 10% por 24 horas. Após 24 horas os dentes passaram para etapa de descalcificação. A descalcificação foi realizada com uma solução de ácido nítrico 10%.

Após a fixação, as peças foram lavadas em água corrente durante 12 horas e em seguida submetidas à desidratação crescente de álcoois (70%, 80%, 90%, 95% e absoluto).

As amostras foram diafanizadas por imersão em xilol e posteriormente foram incluídas em parafina. Os preparados foram seccionados a uma espessura de 4 µm. Os cortes serão fixados entre lâmina e lamínula com o uso do entelan (Merk), para análise histológica.

Em seguida as lâminas foram coradas pela técnica Tricômico de Masson (ROMEIS, 1968). Esta coloração possibilita a visualização de tecido conjuntivo, citoplasma, fibroblastos, vasos sanguíneos, queratina e fibras musculares, corados em vermelho/rosa; cartilagem e tecido ósseo em azul e o núcleo celular em azul escuro. As laminas foram fotografadas em microscópio Nikon E-800.

### **3.3 Estudo Experimental em Humanos**

Esta etapa teve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas parecer numero 490/2003 (anexo I).

#### *3.3.1 Descrição da População*

A influência do material restaurador vai ser testada em 14 voluntários humanos sadios (sete mulheres, sete homens; de 20 à 30 anos de idade em média). Sendo excluídos indivíduos com problemas de saúde e mulheres grávidas.

Os voluntários serão recrutados através da gravidade da perda dentinária, em todos os casos foi aplicado hidróxido de cálcio antes do implante com PLLA.

#### *3.3.2 Descrição da Técnica de Aplicação do PLLA em Humanos*

- a. Avaliação da extensão da perda dentinária através de exame clínico.
- b. Avaliação radiográfica do elemento dental escolhido, verificando a proximidade da perda em relação a polpa.
- c. Teste de vitalidade pulpar através de temperatura (Frio e Calor), é fundamental resposta positiva frente ao teste (responder com pequeno choque-dor).
- d. Processo anestésico local através de mepivacaina.
- e. Limpeza da cavidade através de caneta de baixa rotação e brocas multilaminadas (irrigação com água).
- f. Condicionamento de esmalte por 15-30 segundos com gel ácido a base de clorhexidina 2%, lavagem com jato de água por 15-20 segundos e secagem com jato de ar.
- g. Aplicação e fopolimerização de adesivo dentinário na região do esmalte.

- h. Aplicação do PLLA através de espatula de inserção, de 10 a 20 mg em média, deve variar em função do tamanho da cavidade.
- i. Fechamento da cavidade com resina fotopolimerizável.
- j. Exame radiográfico bimestral no primeiro ano e semestral no segundo e terceiro anos.(visitas de controle e tempo de acompanhamento).

Obs. O material estará considerado aceito a partir da segunda semana da aplicação na cavidade, desde que não cause desconforto ao paciente (dor), e sua função devolvida assim que é realizado o fechamento da cavidade com a resina fotopolimerizável, não acarretando custo algum aos pacientes testados tanto no resultado positivo quanto no negativo.

A avaliação do processo inflamatório será em função do desconforto do paciente (dor), sendo que nos casos onde não ocorra possibilidade de controle através de antiinflamatório (no caso será usado piroxican) o processo será descontinuado sendo realizado o tratamento usual, endodontia nos casos de não lesão de furca nas raízes e exodontia nos casos onde as mesmas estejam afetadas, (a observação também é válida em casos da desistência do paciente durante o processo).

Lembrando que não haverá custo algum para os pacientes testados em qualquer etapa do tratamento.

### **3.4 Análise dos Dados**

As comparações entre os resultados dos grupos controles (todos foram implantados com hidróxido de cálcio) e dos implantados foram realizadas pelos testes estatísticos não paramétricos de Kruskal-Wallis (comparações múltiplas), informados nas tabelas 1,2 e 3 (anexo II).

## Capítulo 4

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 4.1 Materiais Atuais, Obtenção das Microesferas e Estudo da Degradação *in vitro*

Apesar das novas técnicas utilizadas na terapia odontológica, muitas são as intercorrências ocorridas durante o tratamento.

No entanto, as dificuldades em se ter um material ideal para as grandes perdas dentinárias, vem justificando a grande quantidade de estudos e pesquisas nesta área.

Foi constatado que as condições assépticas são fatores primordiais para o sucesso do tratamento de perdas dentinárias extensas. (LANTZ & PERSON, 1967).

O Hidróxido de Cálcio parecia preencher, melhor os requisitos para estimular o selamento das perfurações, entre eles, facilidade de inserção, reabsorção de possíveis extravasamentos proporciona reorganização do tecido periodontal e selamento biológico. Bem como mostrou ser bactericida (BRAMANTE, 1980).

Devido às infiltrações dos materiais existentes como Amálgama, IRM, Super-EBA e Hidróxido de Cálcio, foi desenvolvido o MTA, um material com características ideais para o uso em perfurações, em cirurgias paraendodônticas, reabsorções internas, apicificações e capeamento pulpar.

O MTA tem dentre suas vantagens a facilidade de manipulação e inserção, além de não necessitar de campo seco (LEE *et al.*, 1993).

Em relação a adaptação marginal quando comparado o MTA ao Amálgama, Super-EBA e o IRM, concluiu ser o MTA aquele que melhor resultado obteve, (TORABINEJAD *et al.*, 1995).

Alguns estudos mostraram que o MTA apresentou a melhor reparação tecidual perirradicular porém com características inflamatórias, quando comparado ao Amálgama de Prata e Hidróxido de Cálcio (TORABINEJAD *et al.*, 1995; 1997; SOARES, 1996; SHABAHANG *et al.*, 1999), no entanto, outros estudos demonstraram que não houve diferença entre Hidróxido de Cálcio e MTA em relação a deposição de tecido duro e reparação tecidual, (HOLLAND *et al.*, 1999).

Avaliando-se a extensão do problema, nesse trabalho propôs-se avaliar a aplicação de microesferas de PLLA contendo vancomicina e piroxicam nas proporções 5%, respectivamente, visando a recuperação de tecidos dentinários lesados. As microesferas foram obtidas pelo processo de dupla emulsão de acordo com CERONI (2004).

Em estudos realizados por Ceroni (CERONI, 2004), determinou-se o tamanho e distribuição de tamanho das microesferas, utilizando-se um espectrofotômetro Mastersizer S. A técnica de espectrometria de espalhamento de luz laser (comprimento de onda de  $\lambda = 488\text{nm}$ ) consiste na incidência de um feixe de luz laser no particulado; o tamanho da partícula será inversamente proporcional ao desvio do ângulo de luz espalhada, com este equipamento são medidas partículas de tamanho entre 0,05 a 3500 microns.

Os dados mostraram que as microesferas de PLLA apresentaram uma distribuição de diâmetros de partículas em torno de 250 microns.

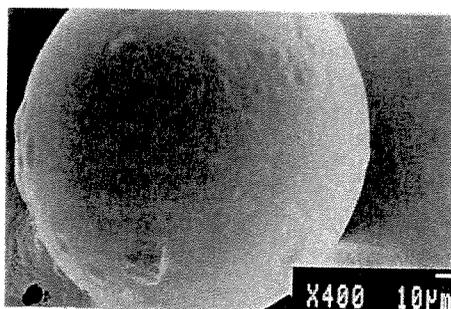
Segundo JAIN (2000) um sistema de liberação de medicamentos deve apresentar partículas com diâmetros médios que não excedam 250 microns e idealmente 155 microns. A distribuição abaixo mostra os valores dos diâmetros médios obtidos em pontos específicos a partir da distribuição gaussiana na faixa de D10 a D90.

A distribuição gaussiana de diâmetros onde pontos específicos da curva foram analisados para estudo, o valor de diâmetro médio da distribuição (D50) das microesferas de PLLA apresentou-se ligeiramente acima do valor máximo (250 microns) para se obter um encapsulamento de fármacos, porém como vamos perceber mais adiante esta diferença com relação aos diâmetros não afetou a eficiência das microesferas no estudo proposto, segue abaixo tabela com diâmetros médios obtidos em pontos específicos da curva gaussiana.

Diâmetro das microesferas de PLLA (microns)	
D10 (min.)	157,34
D20	188,02
D50 (média)	257,26
D80	340,70
D90 (max.)	392,23

Em estudo *in vitro* Ceroni (CERONI, 2004) avaliou o processo de degradação das microesferas de PLLA por microscopia eletrônica de varredura (MEV), análises térmicas e cromatografia de permeação em gel.

A figura abaixo mostra a eletromicrografia das microesferas de PLLA antes da degradação e verifica-se uma superfície lisa.



(a)

Figura 4.1: Morfologia das microesferas de PLLA (a) antes da degradação.

Após serem submetidas a degradação *in vitro*, constatou-se que as microesferas de PLLA, não apresentaram alterações morfológicas até 20 semanas de estudo.

O estudo da degradação *in vitro* de dispositivos de PLLA através de análises térmicas indicaram que não houve degradação no período estudado, no entanto, verificou-se um aumento do grau de cristalinidade durante o processo de degradação. Esse aspecto é muito discutido na literatura (DUEK *et al.*, 1999) e alguns autores sugerem que isto é devido ao rearranjo de cadeias curtas geradas no processo de degradação com formação de novos cristais. Outros entretanto acreditam que a degradação das regiões amorfas simplesmente gera uma maior porcentagem das regiões cristalinas. Esse processo é explicado por como sendo próprio da hidrólise das ligações ésteres ocorrendo primeiramente na fase amorfa (LI *et al.*, 1990, LEENSLAG *et al.*, 1987). No entanto LI *et al.* (1990), afirmam que o processo de degradação é mais complexo do que simplesmente relacionar as partes amorfas e cristalinas. Em estudo utilizando diferentes placas de DL-PLA amorfo, observaram que a degradação é heterogênea, sendo mais rápida no centro do que na superfície da amostra em meio aquoso.

LI *et al.* (1990), sugerem ainda que inicialmente a amostra homogênea, em contato com meio aquoso, sofre hidrólise, com conseqüente clivagem da ligação éster confirmado pelo decréscimo da massa molar. No início do processo é provável que a degradação principalmente na superfície devido ao gradiente de absorção de água e a concentração de grupos carbonila no centro catalisa o processo. Esse processo autocatalítico ocorre durante o processo de degradação dos poliésteres alifáticos. Entretanto o processo de degradação é dependente da estrutura química e da configuração das cadeias poliméricas, bem como da morfologia do dispositivo envolvido.

LAM *et al.* (1994) confirmaram o processo de autocatálise ao estudarem que membranas não porosas de PLLA sofrem degradação mais rápida que as porosas, pois as últimas facilitam a dissolução e difusão dos produtos da degradação para o meio aquoso (DUEK *et al.*, 1999).

Embora a degradação das microesferas de PLLA não tenha sido observada por MEV e análises térmicas, dados do GPC confirmaram a degradação das micropartículas até a nona semana de estudo.

## 4.2 Estudo *in vivo*

### 4.2.1 Estudo *In Vivo* em Coelhos

A análise *in vivo* é necessária para avaliar a resposta do tecido ao material. Algumas características fundamentais devem ser atendidas para que o material possa ser aplicado sobre os tecidos dentais e serão discutidas a seguir.

O material deve ser poroso e com diâmetros de poros de tamanho adequado para permitir a invasão do tecido, pois no caso de tecido dental o crescimento ocorre por ancoragem, os prolongamentos dos odontoblastos (células formadoras de dentina) tendem a penetrar entre os espaços das microesferas e em suas porosidades estabelecendo assim o meio adequado para uma neoformação de dentina, portando, a interconexão entre os poros e o tamanho destes, em função do tamanho de células invasoras, também são fatores fundamentais. Materiais macroporosos têm provado ser muito importante para formação de neotecidos (GROOT 1997).

Além disso, deve haver uma boa adesão entre o tecido e o material. Outras características importantes são a biocompatibilidade, a taxa de degradação, a resistência mecânica e o design apropriado (SOMMERLATH & GILLQUIST, 1992). A principal dificuldade encontrada quanto a um biomaterial é conciliar suas propriedades físicas, químicas e mecânicas para a funcionalidade do implante com um nível aceitável de reação inflamatória, a qual geralmente é causada por moléculas solúveis ou íons liberados dos materiais utilizados como implantes.

Sabe-se da literatura que o PLLA é amplamente utilizado clinicamente em pacientes em uma série de aplicações, sendo considerado biocompatível, além de que os polímeros bioreabsorvíveis são excelentes substratos para cultura de células.

Nesse sentido, as microesferas de PLLA com medicamento foram implantadas nos coelhos para avaliação dos diferentes tipos de resposta biológicas.

Em nenhum dos casos foi notado regiões que pudessem indicar necroses ou qualquer reação através de análise macroscópica da região implantada (dente) durante a retirada das amostras. Não houve sinais de alteração no comportamento em nenhum dos coelhos e não foi observada nenhuma diferença significativa entre os coelhos de um mesmo grupo quanto à resposta aos implantes.

#### *A) Microscopia de Luz*

A análise ao microscópio de luz do fragmento de tecido dental onde foi realizado o implante das microesferas mostra que em nenhum dos cortes foi possível manter os fragmentos das microesferas, ficando apenas o registro de sua presença através da marca deixada e do tecido dental neoformado (dentina).

Os dados colhidos através dos exames histológicos foram classificados por ordem de tempo de implantação das microesferas de PLLA com medicamento, o grupo controle com hidróxido de cálcio foi analisado apenas com 60 dias.

### **Avaliação histológica de um corte do dente (sem implante)**

#### **Esmalte**

Podemos verificar através da (Figura 4.2) a região de adesão do esmalte com a dentina, denominada limite amelo-dentinário, a qual é subdividida em três regiões:

- *Tufos* – região do esmalte e se localizam no limite amelo dentinário e é hipocalcemiante;
- *Fusos* – projeções da estrutura da dentina (prolongamentos do odontoblasto);
- *Lamelas* – estrutura hipocalcificada e encontram-se em toda extensão do esmalte.

Avaliando a formação do esmalte de dentro para fora, verifica-se que o mesmo é acelular, avascular e as células que o constituem tem vida curta. Quando ele está totalmente formado as

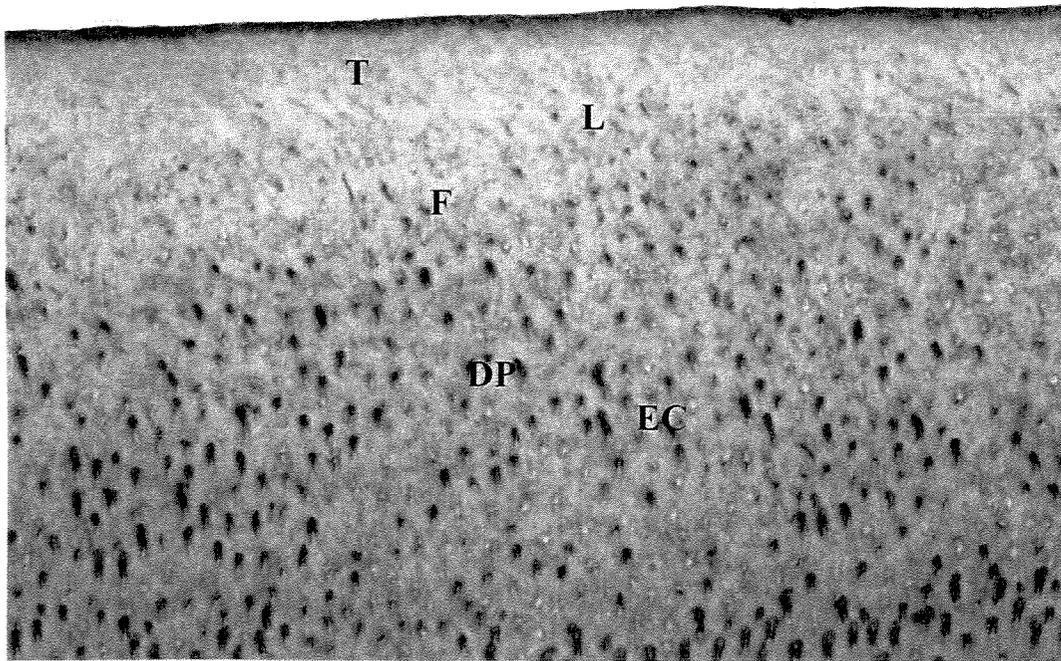
células que o secretam deixa de existir; por isso, este tecido jamais será reparado biologicamente, quando agredido.

### **Dentina**

A dentina apresenta canalículos no seu interior, onde se encontram os prolongamentos das células odontoblásticas que se localizam na polpa, esses prolongamentos apresentam ramificações em seu trajeto. Esses prolongamentos são chamados de **fibrila de Tomes**.

As paredes dos canalículos preenchidos pelas fibrilas de Tomes apresentam uma concentração maior de hidroxiapatita, são hipermineralizadas e são denominadas de dentina intercanalicular ou pericanalicular (Substância Orgânica = 10% e Substância Mineral = 90%).

A hidroxiapatita tem forma arredondada, e isso pode gerar regiões hipomineralizada, resultando em uma massa dentinária com espaços, onde os cristais não se fusionaram. Esses espaços hipocalcificado quando presente na dentina coronária são denominados **espaços de Czermack** e quando localizados na dentina radicular são chamados de **zona granulosa de Tomes** (SOARES, 1996).

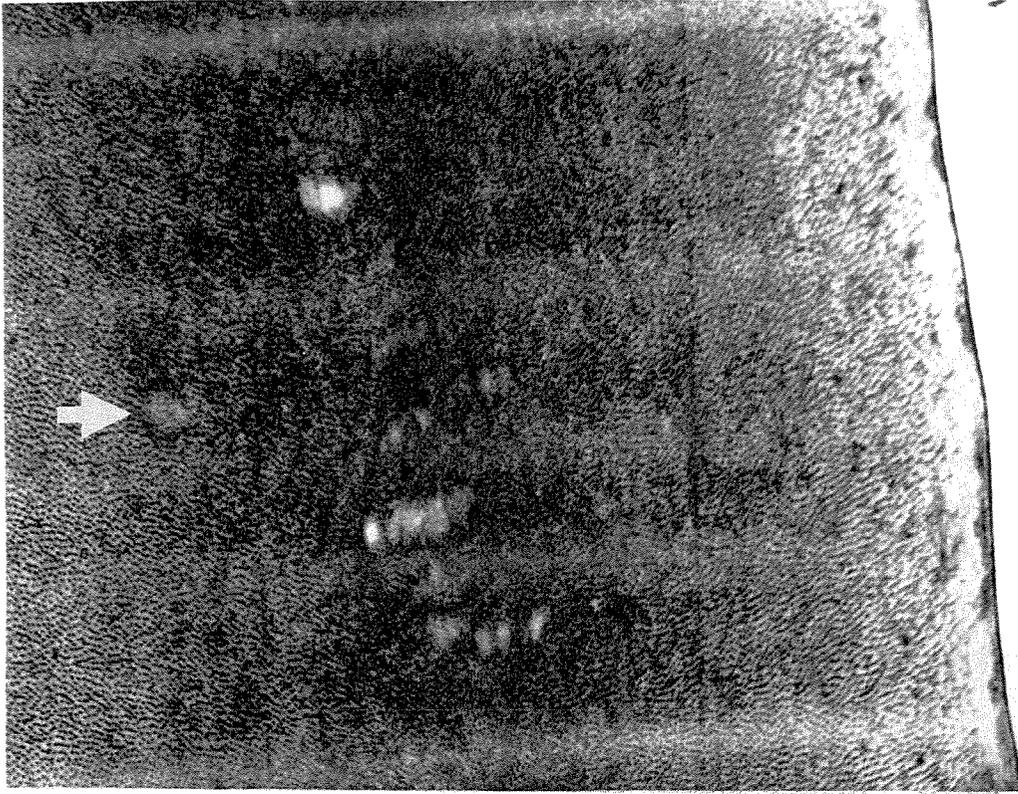


**Figura 4.2.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente normal apresentando esmalte com região de tufos (T), fusos (F) e lamelas (L); na região da dentina observamos a dentina pericanalicular (DP) e os espaços Czermack (EC). Tricrômico de Masson. 400x

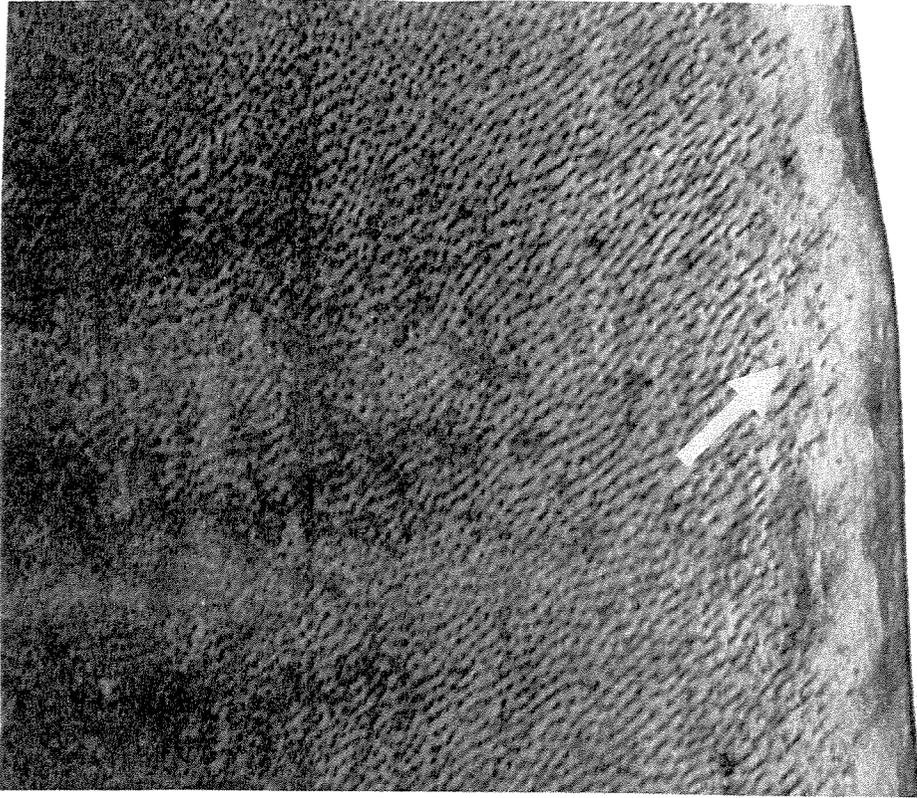
Avaliação histológica com implante de microesferas com medicamento após 20 dias.

Em todos os espécimes, foram observadas pontes dentinárias constituídas de material amorfo, de contorno irregular, com variação de mineralização (região periférica) e com inclusão de células odontoblásticas no seu interior (Figuras 4.3, 4.4, 4.5). Verifica-se através das fotomicrografias a adesão do esmalte com a dentina e o limite amelo-dentinário com uma grande região de tufos e lamelas.

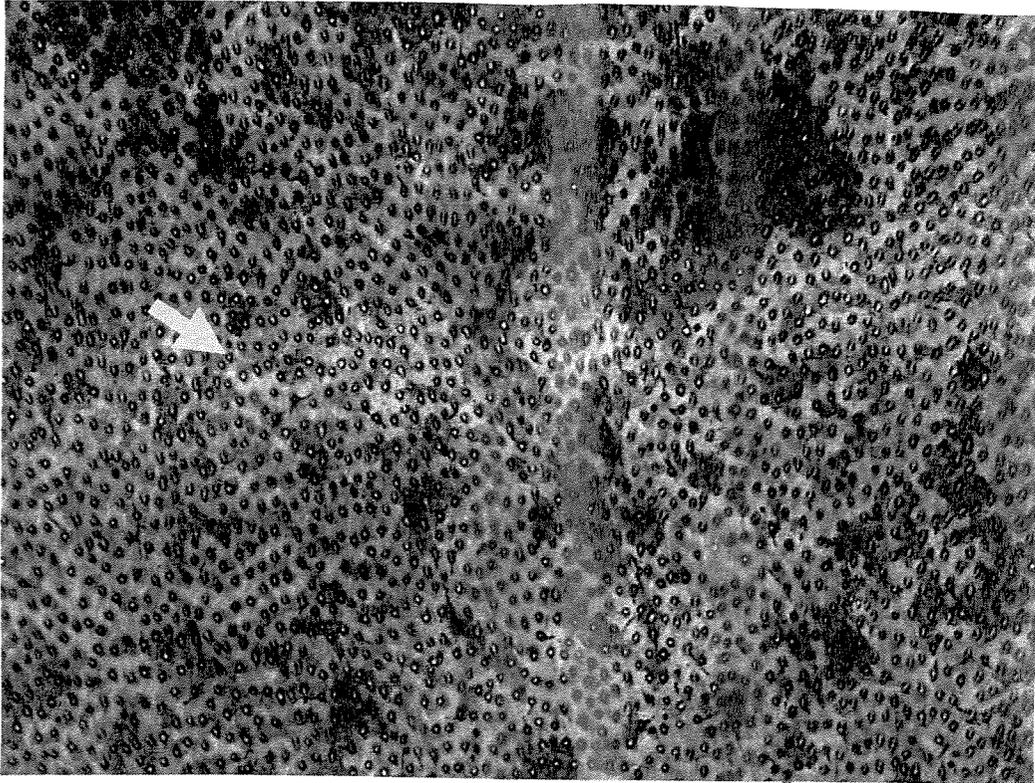
Observa-se ainda, com aumento de 400x (Figura 4.5), que a região central apresenta uma hipocalcificação em função do defeito provocado para o implante do material. Não foi possível verificar em nenhum momento infiltrado inflamatório.



**Figura 4.3.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se regiões centrais de hipocalcificações em relação ao implante (seta). Tricrômico de Masson. 100x



**Figura 4.4.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se limite amelodentinário (seta) com tufos e lamelas. Tricrômico de Masson. 200x



**Figura 4.5.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 20 dias. Observa-se região central com formação de pontos de dentina (seta). Tricrômico de Masson. 400x

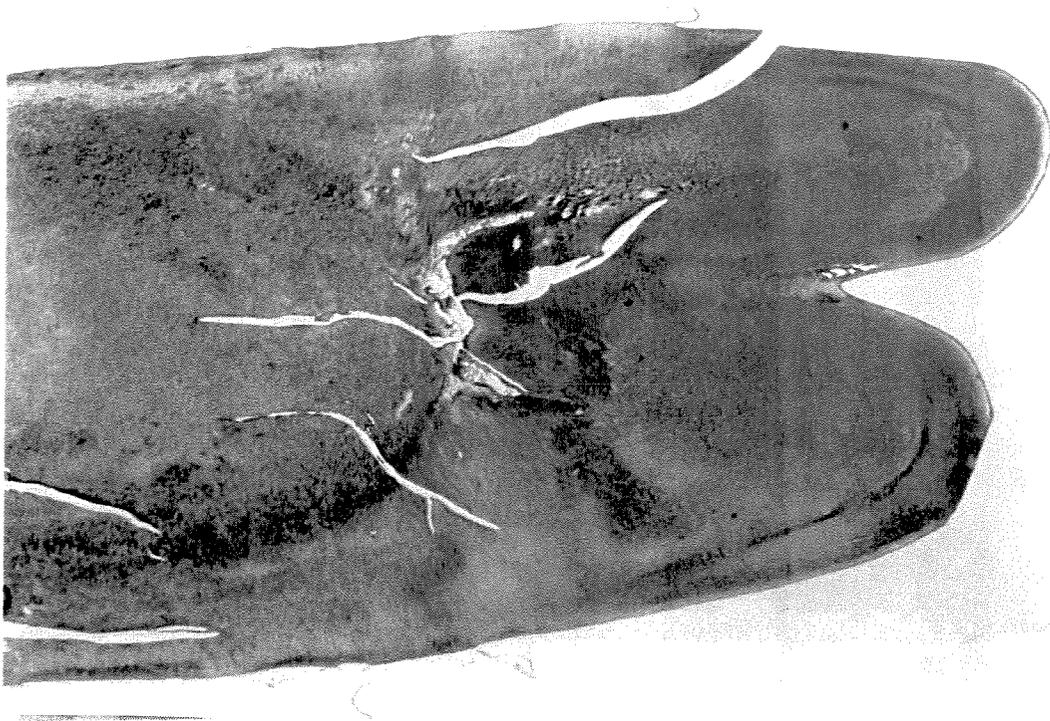
#### Avaliação histológica com implante de microesferas com medicamento após 40 dias.

Os espécimes exibiram ponte dentinária regular na sua formação, com graus de mineralização variáveis (Figuras 4.6 e 4.7).

As pontes dentinárias desse grupo eram mais espessas (Figura 4.8) que as obtidas anteriormente, (Figura 4.5), com a formação de túbulos dentinários, com maior inclusão de células odontoblásticas e maior grau de calcificação.

A calcificação da dentina, (Figura 4.6) mostrada na microscopia demonstra lacunas deixadas pelas microesferas mais também comprova que a calcificação começa por áreas

globosas que crescem e se fundem. porém o processo muitas vezes é imperfeito, resultando áreas de matriz orgânica não calcificada, são as áreas interglobulares (Figuras 4.6 e 4.7). Verifica-se as diferentes direções da dentina em formação na Figura 4.9, além da região central do implante na Figura 4.6. Não foi possível verificar em nenhum momento infiltrado inflamatório em função do implante.



**Figura 4.6.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se região central destacando o local do implante. Tricrômico de Masson. 20x



**Figura 4.7.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se áreas interglobulares de formação de dentina (seta). Tricrômico de Masson. 100x



**Figura 4.8.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se dentina neoformada e áreas interglobulares de formação de dentina. Tricrômico de Masson. 400x



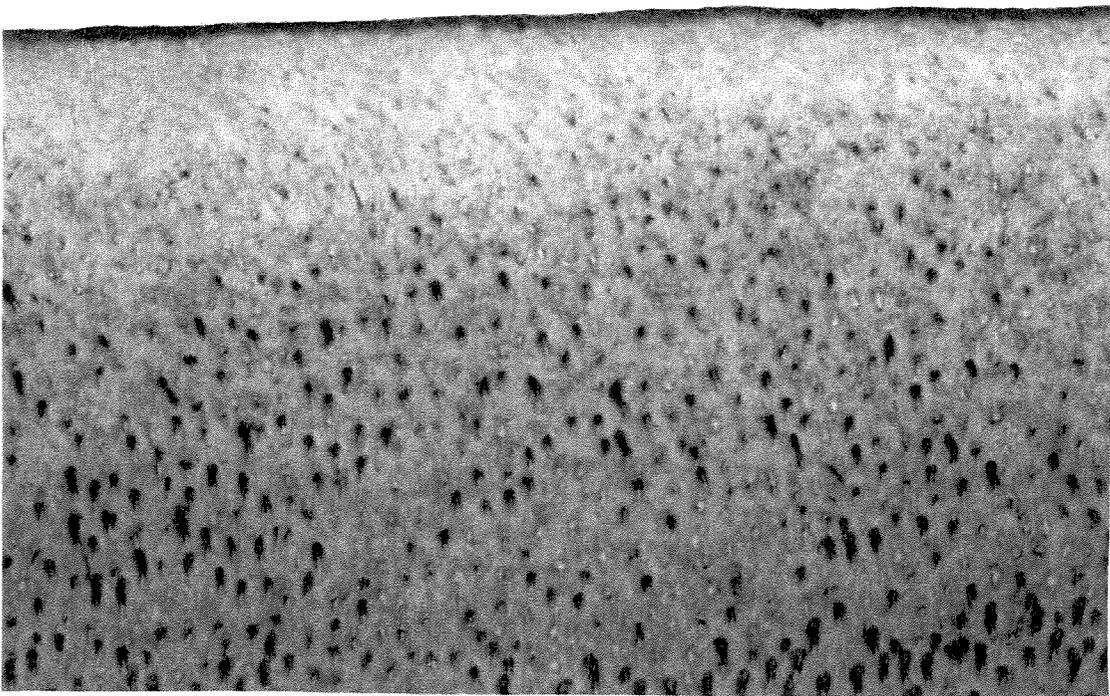
**Figura 4.9.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 40 dias. Observa-se túbulos dentinários (seta) em várias direções. Tricrômico de Masson. 400x

Avaliação histológica com implante de microesferas com medicamento após 60 dias.

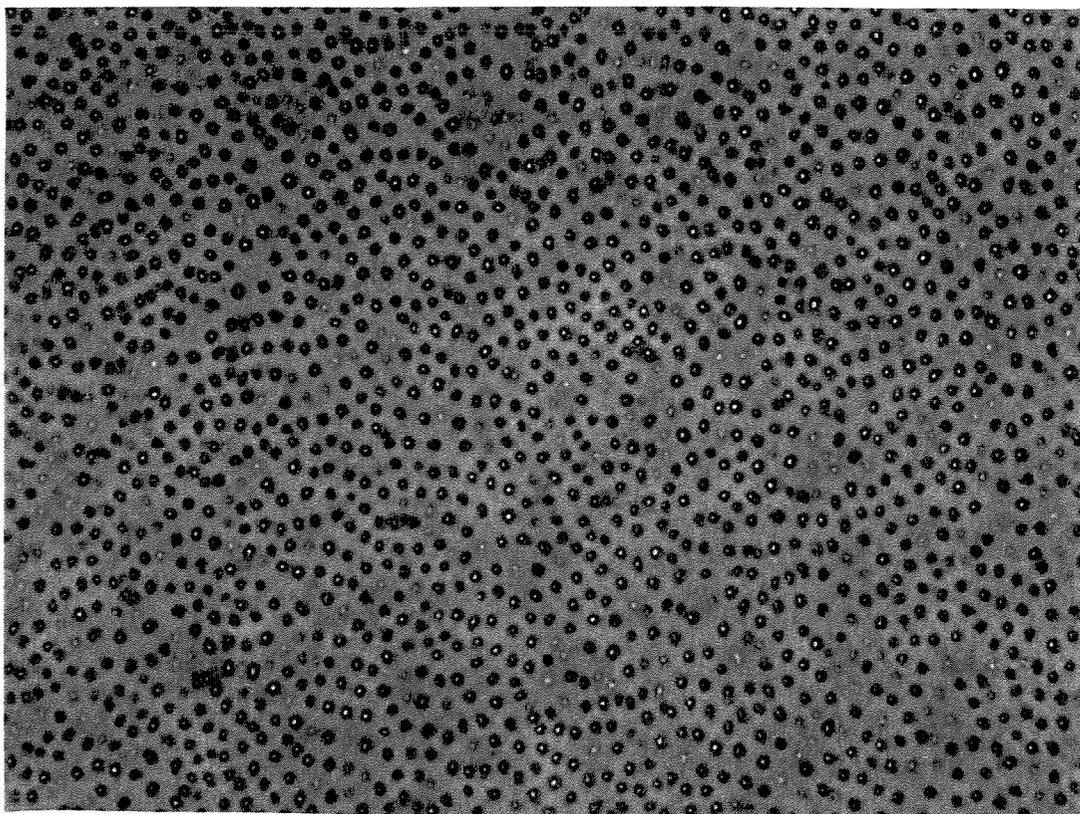
Verifica-se através da fotomicrografia (Figura 4.10) a adesão do esmalte com a dentina o limite amelo-dentinário e as estruturas **tufos** – região do esmalte que se localizam no limite amelo dentinário; **fusos** – projeções da estrutura da dentina (prolongamentos do odontoblasto); **lamelas** – estrutura hipocalcificada que está em toda extensão do esmalte.

Observa-se também no seu interior, canálculos, contendo prolongamentos das células odontoblásticas que se localizam na pulpa. Esses prolongamentos apresentam ramificações em

seu trajeto, as paredes dos canalículos preenchidos pelas fibrilas de Tomes e regiões hipomineralizadas, devido à formação da massa dentinária, apresentando espaços onde os cristais não se fusionaram, Figura 4.10. Nesse período do implante verifica-se que o tecido formado é semelhante ao apresentado na Figura 4.2.



**Figura 4.10.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 60 dias. Observa-se esmalte com região de tufos (T), fusos (F) e lamelas (L); na região da dentina observamos a dentina pericanalicular (DP) e os espaços Czermack (EC). Tricrômico de Masson. 400x



**Figura 4.11.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de microesferas de PLLA com medicamento após 60 dias. Observa-se tecido de normalidade. Tricrômico de Masson. 400x

Avaliação histológica do hidróxido de cálcio após 60 dias.

Foram observadas pontes dentinárias constituídas de material amorfo, de contorno irregular, com variação de mineralização.

Porém não foi observado a regeneração do material como apresentado nos casos anteriores, Verifica-se claramente na figura 4.12 o corte das brocas esféricas demonstrando o espaço deixado pelo material capeador.



**Figura 4.12.** Fotomicrografia de um corte transversal de um dente com implante de hidróxido de cálcio após 60 dias. Observa-se que não ocorreu a regeneração do material como apresentado nos casos anteriores. Verifica-se claramente o corte das brocas esféricas demonstrando o espaço deixado pelo material capeador. Tricrômico de Masson. 100x

A presença de bactérias é apontada como a responsável por respostas pulpaes indesejáveis. Diversos autores demonstraram que, garantindo-se o vedamento marginal, ocorre a ausência de resposta inflamatória e a formação de ponte dentinária frente a diversos materiais (BRÄNNSTRÖM, 1982; COX *et al.*, 1987; 1992; SNUGGS *et al.*, 1993; COX *et al.*, 1996).

Discute-se também se alguma restauração veda completamente a cavidade. Poder-se-ia chegar à conclusão de que as bactérias seriam um agente de baixa virulência, podendo a polpa conviver com ele. Além disso, um número tão pequeno de bactérias não seria capaz de levar a pulpites a necrose pulpar (MONDELLI, 1998). Também quanto ao efeito deletério das bactérias,

HEBLING *et al.* (1999) não encontraram correlação entre a presença de bactérias e a intensidade da resposta inflamatória; atribuindo os autores as respostas mais desfavoráveis à citotoxicidade do sistema restaurador (material) utilizado.

O hidróxido de cálcio tem demonstrado, por muitos anos, a sua eficiência na indução de formação de barreiras mineralizadas (SELTZER & BENDER, 1958; SCIAKY & PISANTI, 1960; EDA, 1961; HOLLAND *et al.*; 1971; RUSSO *et al.*, 1974; CVEK, 1978; COX *et al.*, 1982; HAMMESFARHR, 1987; DE MARCO, 1998; CIAVARELLI *et al.*, 1999).

Por outro lado, várias limitações têm sido atribuídas ao hidróxido de cálcio, como a indução de “barreiras mineralizadas” com defeitos em “túnel”, falta de adesão ao material restaurador e dissolução do cimento abaixo das restaurações (COX *et al.*, 1996; CHAIN *et al.*, 1997). Outra limitação descrita é que, apesar de muitos comprovarem seus efeitos antimicrobianos (COX *et al.*, 1982; 1985; STUART *et al.*, 1991; KONTAKIOUS *et al.*, 1995), outros demonstraram que esse efeito seria restrito a alguns grupos de bactérias e de curta duração (WATTS / PATTERSON, 1987; CHONG & PITTFORD, 1992).

A utilização do Tricrômico de Masson nos permitiu, em função da coloração azulada, a visualização do tecido neformado dentina e rósea nos tecidos normais nos diferentes estágios de tempo do implante.

No grupo controle onde foi implantado apenas o hidróxido de cálcio e o fechamento com fosfato de zinco não apareceu formação de neotecido, verifica-se a região periférica demonstrando o corte da broca esférica. (Figura 4.12).

Nos grupos onde foram implantadas as microesferas, verifica-se que a partir de 10 dias e se prolongando até 20 dias há grande formação de tecido dental; sendo que com 40 dias praticamente toda a estrutura dental está formada, ficando apenas pequenas lacunas deixadas pelas microesferas.

Não ocorreu grande reação inflamatória, o que demonstra a eficiência dos medicamentos anti-inflamatórios.

Em todos os casos não foi detectada qualquer presença de tecido necrosado, demonstrando a manutenção da vitalidade pulpar.

A análise dos implantes de microesferas de PLLA contendo medicamento revelou a formação de um tecido calcificado duro em função da matriz que contém glicoproteínas e colágeno, além de cristais de hidroxiapatita; sendo que a formação deste tecido se deu em função da deposição das microesferas próximo a polpa, o que estimulou os prologamentos citoplasmático dos odontoblastos internos aos túbulos da dentina à formação do neotecido. Além de promover a recuperação de tecidos dentinários lesados, permitiu função estrutural temporária e suporte para fixação e separação entre tecidos moles (polpa) e tecido duro (dentina), como também o controle do processo inflamatório e infeccioso permitindo a manutenção da vitalidade pulpar.

A calcificação da dentina demonstra lacunas deixadas pelas microesferas mas também comprova que a calcificação começa por áreas globulosas que crescem e se fundem, porém o processo muitas vezes é imperfeito, resultando em áreas de matriz orgânica não calcificada, são as áreas interglobulares (JUNQUEIRA 2004).

Na utilização dos implantes de microesferas com medicamento, a presença ou ausência do isolamento absoluto não interferiu nos resultados, ocorrendo a formação de 100% de barreiras dentinárias completas. Esses resultados estão em concordância com a pesquisa clínica de OLIVEIRA & BUSATO (1996).

Quanto aos defeitos e áreas hipomineralizadas, até os 60 dias, a provável presença delas não evidenciou nenhuma resposta pulpar, pois 100% das polpas exibiram características de normalidade. Estudos com maior período de observação são necessários, não para averiguar o efeito do implante de microesferas sobre a polpa, mas sim para verificar a durabilidade do selamento marginal oferecido pelas restaurações adesivas e também para regeneração tecidual.

Demonstrou-se também que as polpas permaneceram normais, pois a barreira neoformada não seria tão permeável, devido a sua característica morfológica osteóide que dificultaria o contato dos agentes irritantes com os processos odontoblásticos.

Os resultados demonstraram que o capeamento pulpar com microesferas de PLLA com medicamentos antiinflamatórios e antibióticos oferecem resultados muito favoráveis,

Como nenhum material até os dias atuais demonstrou ser totalmente efetivo no selamento marginal, a presença de uma barreira mineralizada, mesmo que porosa, seria mais interessante biologicamente do que nenhuma barreira. Assim, o emprego de microesferas é muito promissor.

#### 4.2.2 Estudo *In Vivo* em Humanos

A análise *in vivo* em humanos se fez necessária para avaliar a resposta frente a aplicação do material, seu efeito antiinflamatório e analgésico em casos de exposição pulpar e grande perda dentinária, além da avaliação do retorno da função ao elemento dental, ou seja, controle da dor e possibilidade de mastigação normal.

Todos os pacientes antes do implante das microesferas com medicamento foram examinados quanto à vitalidade pulpar, item fundamental para o sucesso do tratamento.

Todos os pacientes antes de receberem os implantes de microesferas nos dentes em questão, tiveram como tratamento inicial a tentativa de recuperação através do tratamento com hidróxido de cálcio, já citado na literatura como melhor possibilidade frente aos casos de grandes perdas dentinárias e proximidade a polpa.

Os casos onde ocorreram negativa quanto ao tratamento com hidróxido de cálcio foram encaminhados para o implante com microesferas com medicamento.

A dentina é sensível a estímulos diversos, como calor, frio, ácidos e traumatismos. Como o número de fibras nervosas que nela penetram é pequeno e restrito a 1/3 profundo (pulpar), há quem admita que a sensibilidade dentinária seja mais devida a um mecanismo hidrodinâmico do fluido contido no canalículo dentinário. De acordo com esta teoria movimentos de fluidos estimulariam as terminações nervosas localizadas nos canalículos e em torno dos odontoblastos. Qualquer que seja o estímulo recebido pela dentina, a sensação percebida será uma sensação dolorosa.

Portanto se faz necessário um material que consiga aliar estas necessidades, além de possuir uma estrutura que promova a resistência à mastigação.

A avaliação do material se deu através de um questionário feito aos paciente que foram traduzidas nas tabelas 1, 2, 3 (anexo II) bem como pelo exame radiográfico bimestral (anexo III).

Pacientes com oito meses do implante já demonstraram pequeno aumento da lâmina de dentina que separa a polpa, vale a observação que diferente dos coelhos, o crescimento da dentina em humanos é bem mais lento. Tomando como base o tecido ósseo nos casos de exodontia, o reparo é considerado completo quando o alvéolo apresenta-se preenchido por trabéculas ósseas espessas, com pequenos espaços medulares e com a crista alveolar remodelada, o que leva cerca de 21 dias nos coelhos, 48 dias nos cães e 64 dias na espécie humana (CARVALHO & OKAMOTO, 1987).

A princípio é preciso considerar que o surgimento da dor é sempre em sequência a um envolvimento inflamatório agudo sediado em alguma parte ou todo tecido conjuntivo do órgão dental (polpa). Nos casos onde foi implantado as microesferas com medicamento, 100% não apresentaram dor pós implante e tiveram função mastigatória normal.

Foram realizados diversos testes pra verificar a efetividade do implante. Segue abaixo a discussão dos resultados dos mesmos.

Na palpação realizada intrabucalmente, pressionando o dedo indicador contra a gengiva, nas circunvizinhanças da região periapical do dente implantado, não foi detectado tumefações endurecidas ou amolecidas, e extrabucalmente, a palpação não demonstrou nenhuma flutuação ou abscesso exteriorizado. Um dos pacientes apresentou dor a palpação após dez dias do implante em função do mesmo apresentar uma pulpíte em relação a um problema periodontal.

Frente ao teste de mobilidade dental, os dentes implantados não apresentaram movimentação no sentido vestibulo-lingual ou palatino, pois havendo mobilidade está abalado o sistema de sustentação dental.

Na percussão vertical, através de leves batidas de um instrumento metálico na coroa dental no sentido do longo eixo do dente, permitindo verificar se a presença da dor está relacionada a eventos inflamatórios sediados ao redor do periápice, aconteceram dois casos nos primeiros 30 dias sendo que após os 60 dias a sintomatologia desapareceu, provavelmente em função da reação tecidual frente aos medicamentos.

Com relação aos testes térmicos que envolvem a aplicação de frio e calor sobre a estrutura dental na expectativa de que o mesmo se transfira para polpa, a fim de determinar, pela resposta dolorosa e o grau de comprometimento inflamatório deste tecido conjuntivo, o material se mostrou eficiente, 100% dos pacientes apresentaram condições de vitalidade pulpar e normalidade frente aos estímulos térmicos.

O teste térmico sempre deve ser realizado comparativamente entre a polpa do dente doente com outra supostamente normal. Como norma, uma polpa normal reage quando provocada dentro de curto período de tempo, em contraposição àquelas inflamadas, cujas respostas se faz dolorosamente; as polpas necrosadas quase nunca acusam a agressão, dentro do grupo de pacientes apenas um apresentou dor após 60 dias frente ao estímulo de frio, detectado em função de um retração gengival grande em relação ao dente tratado.

Com relação ao exame radiográfico verifica-se que a cárie dentária estimula a formação de dentina secundária na superfície da parede pulpar situada diretamente abaixo daquela. Se o

processo cariioso progride com lentidão, a deposição de dentina secundária pode, em uma certa medida, manter um ritmo igual com seu avanço e, portanto, evitar a exposição da polpa dentária.

A radiografia é importante porque revela a extensão da formação de dentina secundária e a quantidade e espessura de dentina que separa a polpa da lesão cariiosa, freqüentemente se encontrará uma cárie muito extensa que seja suscetível de ser reparada com um tratamento que não exponha a polpa ou que não necessite recorrer a terapia endodôntica, como verifica-se no caso da utilização das microesferas de PLLA com medicamento.

A deposição de dentina secundária em grau variável continua depois da inserção de um material restaurador, e na radiografia isto é comumente evidenciado pela obliteração dos cornos pulpares dos molares (Figura 4.13).

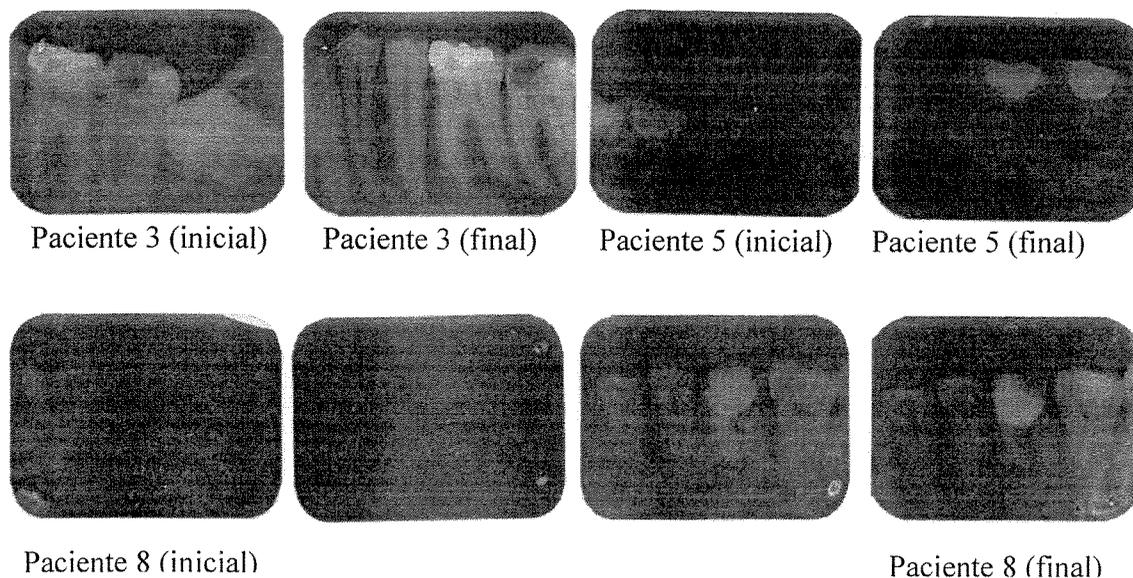


Figura 4.13 Radiografia periapical mostrando aumento da massa dentinária sobre a polpa. Evolução bimestral.

Esta deposição da dentina pode ser o resultado dos procedimentos operatórios para inserção da restauração em um dente com vitalidade e também do estímulo promovido pelas microesferas com medicamento.

Verifica-se que com oito meses do implante já se percebe lamina de dentina mesmo onde ocorreu exposição pulpar (Figura 4.13).

Como comentado anteriormente, a cinética de formação óssea varia de animal para animal e seguramente a de dentina também para a espécie humana, por isso o estudo *in vitro* e *in vivo* em animais, fornece dados aproximados quando se compara com os casos de implantes em seres humanos, onde se avalia apenas os dados radiográficos.

Embora os estudos da degradação *in vitro*, realizados por Ceroni (CERONI, 2004), tenham mostrado que o processo de degradação das microesferas de PLLA, foi detectado após 9 semanas de degradação, o estudo da liberação de cloridrato de vancomicina em microesferas de PLLA, realizado pelo mesmo autor, através de análises cromatográficas, mostrou uma liberação expressiva do medicamento nas primeiras 48 horas, sendo que após esse período a liberação do medicamento tornou-se gradual. LI *et al.* (1999), em estudo da liberação controlada de vancomicina, verificaram a presença do antibiótico após 40 dias de estudo.

Segundo DASH & CUDWORTH II (1998), o processo de liberação de fármacos em polímeros bioreabsorvíveis é mais complexo, comparado à dispositivos de materiais não bioreabsorvíveis, pois a última etapa da liberação é regida pela degradação do material.

Segundo ZANG *et al.* (1994) a cinética de liberação controlada é regida por 3 etapas: a primeira é dependente da concentração do fármaco na superfície do dispositivo, a segunda é regida por processos difusivos e a terceira pela degradação do material. Por isso para que haja uma liberação contínua do medicamento, estes mecanismos, difusão e degradação devem se sobrepor.

No estudo em questão, onde foram implantadas as microesferas de PLLA contendo vancomicina e piroxicam em dentes de coelhos e humanos, verificou-se que a resposta à inflamação que é uma resposta inespecífica do organismo a estímulos etiopáticos de natureza diversa na prática clínica, está mais frequentemente associada a traumatismos, infecções, depósitos de cristais ou de complexos antígeno-anticorpo que tem por objetivo a reparação tecidual após a lesão, que foi comprovado no estudo.

## Capítulo 5

### CONCLUSÕES

O estudo em vivo da implantação de microesferas de PLLA contendo medicamento permitiu as seguintes conclusões descritas a seguir.

Com o estudo dos implantes de microesferas de PLLA com medicamento em coelhos, verificou-se que nos primeiros vinte dias o material apresentava-se em processo de degradação e com invasão de tecido dentinário, após quarenta dias este processo já se mostrava bastante avançado, a calcificação da dentina já aparece em processo, sendo que as lacunas deixadas são principalmente pelo processo de formação da neo dentina através de áreas interglobulares e após sessenta dias o tecido já apresentava normalidade com a formação de todas as estruturas dentais, principalmente entre o esmalte e a dentina. Em nenhuma das fases citadas ocorreu processo inflamatório ou infeccioso que pudesse comprometer a vitalidade pulpar.

No estudo em humanos foi possível concluir que as microesferas com medicamento se mostraram efetivas, principalmente no que diz respeito ao controle do processo inflamatório e ao controle da dor, bem como a manutenção da vitalidade pulpar.

A função de mastigação também foi comprovada no estudo demonstrando que as microesferas com medicamento também são eficazes no que diz respeito à função estrutural funcional.

O estudo ainda mostrou que nos casos mais avançados em humanos (oito meses) ocorreu a formação de dentina sobre a polpa o que comprova sua regeneração.

Estes resultados indicam que as microesferas de PLLA com medicamento apresentam grande potencial para ser utilizado para aplicação em questão, já que o material parece induzir a formação de uma neo dentina.

## Capítulo 6

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, S. A. M.; Doherty, P. J.; Williams, D. F. Mechanisms of polymer degradation in implantable devices, 2. Poly(DL-lactic acid). *Journal of Biomedical Materials Research*, v.27, p.1409-1418, 1993.
- Akeson, W. H.; Woo, S. L. Y.; Coutts, R. D.; Matthews, J. V.; Gonsalves, M. Quantitative histological evaluation of early fracture healing of cortical bones immobilized by stainless steel and composite plates. *Calcif. Tissue Res.*, v.19, p.27-37, 1975.
- Barbosa, C. A.; Gonçalves, R. B.; Siqueira Junior, J. F.; Uzeda, M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod*, v.23, n.5, p.297-300, May 1997.
- Barrows, T. H. Degradable implant materials: a review of synthetic absorbable polymers and their applications. *Clin. Mater*, v.1, p.233-257, 1986.
- Black, C. M.; Paliescheskey, M.; Beaman, B. L. Acidification of phagosomes in murine macrophages: blockage by *Nocardia* asteroids. *J. Infect. Dis.*, v.154, n.6, p.952-958, 1986.
- Böstman, O. M. Current concepts review, absorbable implants for the fixation of fractures. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.73-A, n.1, p.148-153, 1991.
- Böstman, O. M.; Päivärinta, V.; Partio, E.; Manninen, M. J.; Vasenius, J.; Majola, A.; Rokkanen,

- P. The tissue-implant interface during degradation of absorbable polyglycolide fracture fixation in the rabbit femur. *Clin. Orthop. and Related Research*, v.285, p. 263-272, 1992.a.
- Böstman, O. M.; Päivärinta, V.; Manninen, M. J.; Rokkanen, P. Polymeric debris from absorbable polyglycolide screws and pins. *Acta Orthop. Scand.*; v.63, n.5, p.555-559, 1992.b.
- Bradley, G. W.; Mackenna, G. B.; Dunn, H. K.; Daniels, A. V. Effects of flexural rigity of plates on bone healing. *J. Bone Joint Surg.*, v.61, p.866-872, 1979.
- Bramante, C. M. Tratamento de perfurações radiculares com pasta de hidróxido de cálcio e iodofórmio: influência do período de troca – estudo histológico em dentes de cães. Bauru: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 1980. 30f. Tese (Livre – Docência).
- Ceroni Filho, A. S. Obtenção, *Caracterização e Estudo In Vitro de Microesferas de PLLA e da blenda PLLA/PEO para Liberação Controlada do Cloridrato de Vancomicina*. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2004. 95p. Tese (Mestrado).
- Cohen, J.; Wulf, F. J. Clinical failure caused by corrosion of a vitallium plate. *J. Bone Joint Surg. Am.*, v.54, p.617, 1972.
- Cutright, D. E.; Hunsuck, E. E.; Beasley, J. D. Fracture reduction using a biodegradable material, polylactic acid. *J. Oral Surg.*, v.29, p.393-397, 1971.
- Duek, E. A. R.; Zavaglia, C. A. C.; Belangero, W. D. In vitro study of poly (lactic acid) pin degradation. *Polymer*, v.40, p.64-65, 1999.
- Dumitriu, S.; Popa, M.; Dumitriu, M. Polymeric biomaterials as enzyme and drug carries. III. Polymeric drugs and polymeric delivery systems. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, v.4, p.57-73, 1989.
- Domb, A. J.; Amselem, S.; Langer, R.; Maniar, M. *Polyannhydrides as carriers of drugs*. In:

Shalaby SW, editor. Biomedical polymers Designed to degrade systems, New York, Hanser, p.69-96, 1994.

Enink, M. J. PHD Thesis Twente University, 1987.

Holland, R.; Souza, V.; Nery, M. J.; Otobony Filho, J. A.; Barnabé P. F.; Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implamed dentin tubes filled with min aggregate or calcium hydroxide. *J Endod*, v.25, n.3, p.161-166, Mar. 1999.

Ikada, Y. Periodontium regenerierend Materialien S. Gen (G-C Dental Industrial Corp) Offenlegungsschrift DE, AI date of filing, Aug. 1989.

Jain, A. R. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-coglycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials*, v.21, p.2475-2490, 2000.

Jalil, R.; Nixon, J. R. Biodegradable poly (lactide acid) and poly (lactide acid-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release proprieties. *Journal of Microencapsulation*, v.7, p.297-325, 1990.

Kost, J. Polymeric controlled Drug Delivery Systems. *Israel Journal of Technology*, v.24, p.653-660, 1988.

Kulkarni, R. K.; Pani, K. C.; Neuman, C.; Leonard, F. Polylactid acid for surgical implants. *Arch. Surg.*, v.93, p.839-843, 1966.

Kumar, M. N. V. R. Nano and Microparticles as Controlled Drug Delivery Devices. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.3, n.2, p.234-258, 2000.

Kumta, S. M.; Spinner, R.; Leung, P. C. Absorbable intramedullary implants for had fractures, Animal experiments and clinical trial. *The J. of Bone and Joint Surg*, v.743, n.4, p. 563-1992.

- Lam, K. H.; Nieuwenhuis, P.; Molenaar, I.; Esselbrugge, H.; Feijen, J.; Dijkstra, P. J.; Schakeraad, J. M. Biodegradation of porous versus non porous poly(L-lactic acid) films, *J. of Mater. Sci.: Mater, in Med.*, v.5, p. 181-189, 1994.
- Lam, K. H.; Schakenraad, J. M.; Esselbrugge, H.; Feijen, J.; Nieuwenhuis, P. The effect of phagocytosis of poly(L-lactic acid) fragments on cellular morphology and viability, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.27, p.1569-1577, 1993.
- Langer, R. Polymers in controlled release system. *IBC Paper*, v.1, p.1-24, 1989.
- Langer, R. S.; Peppas, N. A. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. *Biomaterials*, v.2, n.4, p.201-214, 1981.
- Langer, R.; Folkman, J. Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules, *Nature*, 463, p.797-800, 1976 In DUMITRIU, S.; DUMITRIU, M. Polymeric Drug Carriers. In Severian Dumitriu, Polymeric Biomaterials (Ed). By Severian Dumitriu v.14, p.435-724, 1993.b.
- Lantz, B; Persson, P. A. Periodontal tissue reactions after perforations in dogs teeth: a histological study. *Odontol TIDSKR*, v.75, n.3, p.209-237, June, 1967.
- Lee, S. L.; Monsef, M.; Torabinejad, M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforation. *J. Endod*, v.19, n.11, p.541-544, Nov. 1993.
- Leenslag, J. W.; Pennings, A. J.; Bos, R. R. M.; Rozema, F. R.; Boering, G. Resorbable materials of poly (L-lactide). VI. Plates and Screws for internal fracture fixation. *Biomaterials*, v.8, p.70-73, 1987.
- Lewis, D. H. *Controlled release of biologically active from lactide/glycolide polymers*. In: Chasen M.; Langer editors. Biodegradable polymers as drug delivery systems. New York: Marcel Dekker, p.1-41, 1990.

- Li, S. M.; Garreou, H.; Vert, M. Structure-property relationships in the case of the degradation of massive aliphatic poly ( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media. Part 2: degradation of lactide-glicolide copolymers: PLA37.5GA25 and PLA75GA25. *J. Mater. Sci: Mater In Med.*, v.1, p.131, 1990.
- Manninen, M. J.; Päivärinta, U.; Taurio, U.; Törmälä, P. Polylactide screws in the fixation of olecranon osteotomies. *Acta Orthop. Scand.*, v.63, n.4, p. 437, 1992.
- Meachim, G.; Pedley, R. B. The tissue response at implant sites. *Fundamental Aspects of Biocompatibility*, v.1, p.107-144, 1981.
- Meachim, G.; Williams, D. F. Changes in monosseous tissue adjacent sites. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1981.
- Middleton, J. C.; Tipton, A. J. Synthetic Biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, v.20, p.2335-2346, 2000.
- Miyamoto, S.; Takaoka, K.; Okada, T.; Yoshikawa, H.; Hashimoto, J.; Suzuki, S.; Ono, K. Polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer, *Clin Orthop. and Related Research*, v.294, p. 333, 1993.
- Nakamura, S.; Ninomija, S.; Takatori, Y.; Morimoto, S.; Kusaba, I.; Kurokawa, T. Polylactide screws in acetabulat osteotomy, *Acta Orthop. Scand.*, v.64, n.3, p. 301, 1993.
- Newbrun, E. *Cariologia* 2<sup>a</sup> ed. Santos Editora, 1988. Cap.1: História e Teorias Iniciais Sobre a Etiologia das Cáries, p.1-16.
- Nijenhuis, A. J.; Colstee, E.; Grijpma, D. W.; Pennings, A. J. High molecular weight Poly (L-lactide) and poly (ethylene oxide) blends: thermal characterization and physical proprieties. *Polymer*, v.37, n.26, p.5849-5857, 1996.

- Odian, G. Principles of polimerization. *Wiley Interscience*, 2ªedition, New York, 1981.
- Piattelli, A.; Scarano, A.; Russo, P.; Matarasso, A. Evaluation of guided bone regeneration in rabbit tibia bioresorbable and non-resorbable membranes, *Biomaterials*, v.17, n.8, p.791-796, 1996.
- Pihlajamäki, H.; Böstman, O.; Hirvensalo, E.; Törmälä, P.; Rokkanen, P. Absorbable pins of self-reinforced poly-L-lactic acid for fixation of fractures and osteotomies, *The J. of Bone and Joint Surg.*, v.748, n.6, p. 853, 1992.
- Pineda, L. M.; Büsing, M.; Meinig, R. P.; Gogolewski, S. Bone regeneration with resorbable polymeric membrane. III. Effect of poly(L-lactide) membrane pore size on the bone healing process in large defects. *Journal of Biomedical Materials Research*, v.31, p. 385-394, 1996.
- Pistner, H.; Bendix D. R.; Muehling, J.; Reuther, J. F. Poly (L-lactide): a long term degradation study in vivo. *Biomaterials*, v.14, p.291-298, 1992.
- Ribeiro, F. C.; Roldi, A.; Pereira, R. S.; Intra, J. B. G.; Adão, A. S.; Rody, M. B. Z. Clinical and radiographic feature of teeth with therapy – resistant periapical lesions retrofilled with mineral trioxide aggregate – MTA. *UFES Rev Odontol*, v.3, n.2, p.40-51, Jul.-Dez. 2001.
- Robert, P.; Mauduit, J.; Frank, R. M.; Vert, M. Biocompatibility and resorbability of a polylactic acid membrane for periodontal guided tissue regeneration, *Biomaterials*, v.14, n.5, p. 353, 1993.
- Rozema F. R.; Boering, G. *Biomaterials*, v.12, p.32, 1991.
- Schaldach, M. *Cardiologia cirurgica perspectivas para o ano 2000*. Biomateriais – Cap.3, 2000.
- Shabahang, S.; Torabinejad, M.; Boyne, P. P.; Abedi, H.; McMillan P. A comparative study of

- root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. *J. Endod.*, v.25, n.1, p.1-5, Jan. 1999.
- Silva, C. F.; Madison, R.; Dikkes, P.; Chiu, T.; Sidman, R. L. An In Vivo Model to Quantify Motor and Sensory Peripheral Nerve Regeneration Using Bioresorbable Nerve Guide Tubes, *Brain Research*, n. 342, p.307-315, 1985.
- Soares, I. M. L. *Resposta pulpar ao MTA – agregado de trióxido mineral – comparada ao hidróxido de cálcio, em pulpotomias: histológico em dentes de cães*. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1996. 74p. Tese (Doutorado).
- Steinhauser, E. Unterkiefer-Konstruktion durch intraorale Knochentransplantate, deren Einheilung und Beeinflussung durch die Funktion-Eine tierexperimentelle Studie, Teil 1. *Schweizer Zahnheilk.*, v.78, p.213, 1968.a.
- Steinhauser, E. Unterkiefer-Konstruktion durch intraorale Knochentransplantate, deren Einheilung und Beeinflussung durch die Funktion-Eine tierexperimentelle Studie, Teil 2. *Schweizer Zahnheilk.*, v.78, p.375, 1968.b.
- Stephan, R. M. Changes in the hydrogen ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. *JADA*, v.27, p.718, 1940.
- Thull, R.; Schaldach, M. Physikalisch-chemische Aspekte chirurgischer Metallimplantate. *Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie*, Bd XIX (Ed. K. Schuchardt) p.56-59, Germany, 1975.
- Torabinejad, M.; Hong, C. U.; Lee, S. J.; Monsef, M.; Pitt Ford, T. R. Investigation of Mineral Trioxide Aggregate for root-end filling in dogs. *J. Endod.*, v.21, n.12, p.603-307, Dec. 1995.a.
- Torabinejad, M.; Hong, C. U.; Pitt Ford, T. R.; Kettering, J. D. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J. Endod.*, v.21, n.8, p.403-406, Aug. 1995.b.

- Torabinejad, M.; Pitt Ford, T. R.; McKendry, D. J.; Abed, H. R.; Miller, D. A. Kariyawasan histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod.* v.23, n.4, p.225-228, Apr. 1997.
- Torabinejad, M.; Chivan, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J. Endod.* v.25, n.3, p.197-205, Mar. 1999.
- Tormala, P; Vainionpaa, S.; Kilpikari, J.; Rokkanen, P. The effects of fibre reinforcement and gold plating on the flexural and tensile strength of PGA/PLA copolymer materials in vitro. *Biomaterials*, v.8, p.42, 1987.
- Tormala, P.; Vasenius, J.; Vainionpaa, S.; Laiho, J.; Pohjomen, T.; Rokkanen, P. Ultra-high-strength absorbable self-reinforced polyglycolide (SR-PGA) composite rods for internal fixation fo bone fractures: in vitro and in vivo study, *J. Biomed. Mater. Res.* V.25, p.1, 1991.
- Vainiopaa, S.; Kilpikari, J.; Laiho, J.; Helevirta, P.; Rokkanen, P.; Tormala, P. Strength and strength retention in vitro, of absorbable, self-reinforced polyglycolide (PGA) rods for fracture fixation, *Biomaterials*, v.8, p. 46, 1987.
- Vert, M.; Schwach, G.; Coudane, J. Presente and future of PLLA polymers. *J. Mater. Sc. Pure Appl. Chem.*, v.32, p.593-597, 1995.
- Weiler, W.; Gogolewoki, S. Enhancement of the mechanical properties of polylactides by solid-state extrusion. *Biomaterials*, v.17, p.529-535, 1996.
- Wu, X. S. Syntesis and properties of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. In: Wise *et al.*, editors Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering. New York: Marcel Dekker. 1015-1054, 1995.
- Yamada, T.; Carlsson, J. The role of pyruvate formate-lyase in glucose metabolism of

*Streptococcus mutans*. *Sp. Suppl. Microbiol. Abstr.*, v.3, p.809-819, 1976.

Zellin, G., Gritli-Linde, A.; Linde, A. Healing of mandibular defects with different biodegradable membranes: an experiment study in rats. *Biomaterials*, v.16, n.8, p. 601-609, 1995.

Zhang, Y. Z. Dental disease of Neolithic age skulls excavated in Shaanxi Province. *Chinese Med. J.*, v.95, p.391-396, 1982.

Zislis, T.; Martin, S. A.; Cerbas, E.; Heath J. R.; Mansfield, J. L.; Hollinger, J. O. A scanning electron microscopic study of in vitro toxicity of ethylene-oxide sterilized bone repair materials. *J. Oral Implants*, v.25, p.41-46, 1989.

Zoppi, R. A.; Duek, E. A. R.; Coraça, D. C.; Barros, P. P. Preparation and Characterization of Poly (L-Lactic Acid) and Poly (Ethylene Oxide) Blends. *Materials Reseach*, v.4, n.2, p.117-125, 2001.

**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

✉ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP

☎ (0\_19) 3788-8936

FAX (0\_19) 3788-8925

🌐 [www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html](http://www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html)

✉ [cep@fcm.unicamp.br](mailto:cep@fcm.unicamp.br)

CEP, 16/12/03.  
(Grupo III)

**PARECER PROJETO: N° 490/2003**

**I-IDENTIFICAÇÃO:**

**PROJETO: “UTILIZAÇÃO DE PPLA (ÁCIDO LÁTICO) BIOREABSORVÍVEL NO TRATAMENTO DE PERDA DO TECIDO DENTAL (DENTINA)”**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Sergio Tadeu Bernatavicus

**INSTITUIÇÃO:** HB Reabilitação Oral (Clínica Particular) e Departamento de Materiais/ Faculdade de Engenharia Mecânica/UNICAMP

**APRESENTAÇÃO AO CEP:** 17/10/2003

**APRESENTAR RELATÓRIO EM:** 16/12/04

**II - OBJETIVOS**

Este projeto de mestrado tem como objetivo utilizar o poli (ácido lático), um polímero bioabsorvível, na recuperação de tecidos dentinários lesados, dando função estrutural temporária e funcionando como suporte para fixação e separação entre os tecidos moles (polpa) e tecido (dentina) em regeneração guiada de tecido controlando o processo inflamatório.

**III - SUMÁRIO**

Serão selecionados sete homens e sete mulheres com idade de 27 anos, peso de 62 kg e 1,7 metros de altura em média. Serão excluídos grávidas e indivíduos com problemas de saúde. Na parte do cronograma está adequadamente descrita uma fase a ser realizada em animais. Há descrição detalhada da técnica a ser utilizada para colocar o produto e acompanhar o seu efeito no paciente. Caso o produto não funcione o paciente será controlado com exodontia ou endodontia.

**IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES**

Projeto bem estruturado com Termo de Consentimento Livre e Esclarecido claro e completo. Os pesquisadores responderam a todas as solicitações do CEP, estando agora o projeto bem estruturado e ético.

## V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

## VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

## VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na XII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de dezembro de 2003.

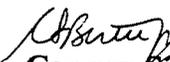
  
**Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo**  
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (10 dias)

PACIENTE num.	ANÁLISE PRÉ IMPLANTE			ANÁLISE PÓS IMPLANTE (10 dias)											
	IDADE (PESO/Kg)	TIPO DE PATOLOGIA	ESTADO DO DENTE	FATOR CAUSADOR ETIOLOGIA	CONTAMINAÇÃO SIM/NÃO	ESTADO DA POLPA	SAÚDE GERAL	CONDIÇÃO DE APARECIMENTO DA DOR	DURAÇÃO E FREQUÊNCIA DA DOR	SEDE DA DOR	TESTE DE MOBILIDADE DENTAL	PALPAÇÃO GENGIVAL	PERCUSSÃO DENTAL VERTICAL	TESTE TÉRMICO FRIO	TESTE TÉRMICO QUENTE
1	25	64 inflamação crônica da polpa pulpite	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / intermitente	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
2	32	70 pulpite	cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
3	35	71 pulpite	cárie oclusal c/ exp. Pulpar	física (amalg.) condensação	não	c/ vitalidade	hipertensão	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
4	20	57 pulpite	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
5	27	65 pericementite aguda	abrasão oclusal	rangimento dos dentes	não	c/ vitalidade	problema oclusal	espontânea	prolongada / contínua	localizada	sim	s/tumefação s/dor	c/dor	s/dor	s/dor
6	24	55 hiperemia pulpar	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / intermitente	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
7	31	74 inflamação crônica da polpa pulpite	cárie oclusal c/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / intermitente	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
8	33	69 pulpite	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	c/tumefação c/dor	c/dor	s/dor	s/dor
9	27	68 pulpite	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
10	28	65 inflamação crônica da polpa pulpite	cárie oclusal 2/3 da coroa	químico (resina)	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / intermitente	localizada	não	s/tumefação c/dor	s/dor	s/dor	s/dor
11	26	62 pulpite	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
12	30	72 pulpite	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
13	31	75 inflamação crônica da polpa pulpite	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	hipertensão	provocada	curta / intermitente	localizada	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor
14	32	69 pulpite	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/tumefação s/dor	s/dor	s/dor	s/dor

Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (30 dias)

PACIENTE num.	IDADE (PESO)(kg)	ANÁLISE PRÉ IMPLANTE											ANÁLISE PÓS IMPLANTE (30 dias)				
		TIPO DE PATOLOGIA	ESTADO DO DENTE	FATOR CAUSADOR ETIOLOGIA	CONTAMINAÇÃO SIM/NÃO	ESTADO DA POLPA	SAÚDE GERAL	CONDIÇÃO DE APARECIMENTO DA DOR	DURAÇÃO E FREQUÊNCIA DA DOR	SEDE DA DOR	MOBILIDADE DENTAL	TESTE DE PALPAÇÃO GENGIVAL	PERCUSSÃO DENTAL VERTICAL	TESTE TÉRMICO FRO	TESTE TÉRMICO QUENTE		
1	25	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	intermitente	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
2	32	carie oclusal 2/3 da coroa	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
3	35	carie oclusal	destruído c/ exp. Pulpar	física ( amalg.) condensação microbiano	não	c/ vitalidade	hipertensão	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
4	20	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
5	27	pericementite aguda	destruído oclusal	rangimento dos dentes	não	c/ vitalidade	problema oclusal	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/umetração s/dor	c/dor	s/dor			
6	24	hiperemia pulpar	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	intermitente	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
7	31	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	intermitente	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
8	33		destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	c/umetração c/dor	c/dor	s/dor			
9	27	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
10	28	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído c/ exp. Pulpar	químico( resina)	não	c/ vitalidade	boa	provocada	intermitente	localizada	não	s/umetração c/dor	s/dor	s/dor			
11	26		destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
12	30	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
13	31	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	hipertensão	provocada	intermitente	localizada	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			
14	32		destruído c/ exp. Pulpar	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/umetração s/dor	s/dor	s/dor			

**Tabela de Resultados dos Implantes de Microesferas com Medicamento (60 dias)**

PACIENTE num.	IDADE	ANÁLISE PRÉ-IMPLANTE		ANÁLISE PÓS-IMPLANTE ( 60 dias )										
		TIPO DE PATOLOGIA	ESTADO DO DENTE	FATOR CAUSADOR ETIOLOGIA	CONTAMINAÇÃO SIM/NÃO	ESTADO DA POLPA	SAÚDE GERAL	CONDIÇÃO DE APARECIMENTO DA DOR	DURAÇÃO E FREQUÊNCIA DA DOR	SEDE DA DOR	TESTE DE MOBILIDADE DENTAL	PALPAÇÃO GENGIVAL	PERCUSSÃO DENTAL VERTICAL	TESTE TÉRMICO FRIO
1	25	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / Intermitente	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
2	32	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
3	35	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	física ( amalg.) condensação microbiano	não	c/ vitalidade	hipertensão	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
4	20	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
5	27	pericementite aguda hiperemia pulpar	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	rangimento dos dentes microbiano	não	c/ vitalidade	problema ocular	espontânea	prolongada / contínua	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
6	24	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / Intermitente	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
7	31	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / Intermitente	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
8	33	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/luminação s/dor	c/dor	s/dor
9	27	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
10	28	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	químico/ resina microbiano	não	c/ vitalidade	boa	provocada	curta / Intermitente	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
11	26	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
12	30	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	não	c/ vitalidade	diabetes	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
13	31	inflamação crônica da polpa pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	sim	c/ vitalidade	hipertensão	provocada	curta / Intermitente	localizada	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor
14	32	pulpíte	destruído s/ exp. Pulpar cárie oclusal 2/3 da coroa	microbiano	sim	c/ vitalidade	boa	espontânea	prolongada / contínua	difusa	não	s/luminação s/dor	s/dor	s/dor

ANEXO III

