

Luis Raimundo Serra Rabêlo
Cirurgião - Dentista

**Estudo comparativo de materiais de preenchimento ósseo
sobre o processo de regeneração óssea guiada
em defeitos perimplantares.**

Análise histológica e histométrica em fêmur de coelhos.

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Doutor em
Clínica Odontológica, na Área de
Cirurgia.

PIRACICABA
2001

i

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Luis Raimundo Serra Rabêlo
Cirurgião - Dentista

**Estudo comparativo de materiais de preenchimento ósseo
sobre o processo de regeneração óssea guiada
em defeitos perimplantares.
Análise histológica e histométrica em fêmur de coelhos.**

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG, 12/04/2002
Assinatura do Orientador

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Doutor em
Clínica Odontológica, na Área de
Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa

Banca Examinadora: Prof. Dr. Luis Augusto Passeri
Prof. Dr. Renato Mazzonetto
Prof. Dr. Roberto Henrique Barbeiro
Prof. Dr. Walter Leal de Moura

PIRACICABA
2001

R112e
EX
FOMBO BC/ 49163
PROC 16.837102
PREÇO R\$ 11,00
DATA
1º CPD

CM00167682-0

IB ID 241024

Ficha Catalográfica

R112e Rabêlo, Luis Raimundo Serra.
Estudo comparativo de materiais de preenchimento ósseo sobre processo de regeneração óssea guiada em defeitos perimplantares. Análise histológica e histométrica em fêmur de coelhos. / Luis Raimundo Serra Rabêlo. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2001. xxii, 129p. : il.

Orientador : Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Ossos – Enxerto. 2. Ossos – Regeneração. 3. Ossos – Defeitos. 4. Histologia. 5. Coelho como animal de laboratório. I. Barbosa, José Ricardo de Albergaria. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 30 de Julho de 2001, considerou o candidato LUIS RAIMUNDO SERRA RABÊLO aprovado.

1. Prof. Dr. JOSE RICARDO DE ALBERGARIA BARBOSA

2. Prof. Dr. ROBERTO HENRIQUE BARBEIRO

3. Prof. Dr. WALTER LEAL DE MOURA

4. Prof. Dr. LUIS AUGUSTO PASSERI

5. Prof. Dr. RENATO MAZZONETTO

22222497

DEDICATÓRIA

À Deus por ter iluminado meu caminho e permitido chegar ao fim dessa jornada.

Aos meus pais, **Paulo e Raimunda**, por tudo que consegui nessa vida. Sem vocês todas as conquistas não teriam sentido e não existiriam. Muito obrigado por todo amor e sacrifício dedicado em minha formação.

Aos meus irmãos, **Paulo Jr. e Teresa**, pela compreensão, amizade e união que nós mantêm juntos, buscando nossas conquistas.

*

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa e demais recursos para realização deste trabalho.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, pelas condições oferecidas para realização desse curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Luis Augusto Passeri, por minha formação e todas as oportunidades que me foram dadas. Muito obrigado Professor por todas as lições, sejam elas de Vida ou Cirurgia, e que nossa amizade permaneça sempre a mesma. Meu sincero agradecimento e respeito.

Ao Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa, pela orientação durante este trabalho, por todos os ensinamentos e por nossa amizade que tornou a realização deste curso mais agradável. Muito obrigado!

Ao **Prof. Dr. Renato Mazzonetto**, por toda ajuda dispensada em minha formação. Todos os ensinamentos e por sua grande amizade. Obrigado por todo o Respeito e Educação que me tratou durante o tempo em que estive “fora de casa”.

Ao **Prof. Dr. Márcio de Moraes**, professor e amigo, agradeço pela forma que me tratou durante os quatro anos de convívio e por todos os ensinamentos. Que suas lições de vida continuem representando um estímulo para todos nós, e que suas virtudes de “Ser Humano” e Cirurgião sejam sempre aspectos de nossa admiração.

Ao **Prof. Dr. Roger William Fernandes Moreira**, meus sinceros agradecimentos por todas oportunidades de aprendizado dispensadas durante a realização do curso. Por todos os aspectos que me faz admirá-lo como professor e amigo.

Aos **Profs. Drs. Pedro Duarte Novaes e Enilson Antônio Sallum** pela colaboração e sugestões na correção deste trabalho durante o exame de qualificação.

Ao **Prof. Dr. Walter Leal de Moura** por toda ajuda dispensada no sentido de realizar este curso de pós-graduação. Obrigado por tudo.

Aos meus irmãos de 4 anos de jornada **Eider, Laureano, Robson, Dinho e Alexandre**, pela amizade e companheirismo que nos fizeram uma família. Chegamos ao final da primeira etapa do nosso caminho, mas ainda falta uma vida inteira. Agora, mesmo que distantes, sei que estaremos juntos e que nossa grande amizade continue sempre a mesma.

Aos também irmãos do curso **Fernando, Maria Cândida, Edmur e Marcelo**. Obrigado por todos os grandes momentos e amizade.

Aos irmãos de Mestrado **Adriano, Alessandro, Sandra, Aleysson e Liliane** por nossa amizade durante os dois anos de convívio. Por todos os bons momentos que passamos durante esta passagem em Piracicaba. Aprendi muito com vocês também!

Aos Novos amigos do Curso (**Júlio, Fabrício, André, Luciana, Wagner, Rubens, Rodrigo, Gustavo, Botelho e Petrus**) pela forma que me trataram e pela amizade mesmo nesse curto período de tempo em que nos conhecemos. Muito obrigado pela ajuda na fase final do trabalho.

Aos amigos **Alexandre Melo e Henrique Rocha** pela ajuda dispensada aos sábados e domingos no cuidado com os animais.

A **Grace Mendonça Dias de Sousa** por toda amizade e ajuda dispensada na realização deste trabalho e durante meu período em Piracicaba. Muito obrigado!

Ao INP – Sistemas de Implantes Nacionais e de Próteses Comércio Ltda, em nome do **Dr. José Tadeu Tesseroli de Siqueira**, pelos implantes cedidos pra este estudo.

Aos amigos do Curso de Pós-graduação em Patologia, **Roberto e Karina** pela grande ajuda prestada durante a realização da fase de histometria.

Aos professores e amigos da Disciplina de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da Universidade Federal do Maranhão, **Josimar Camelo, Antônio Jr., Paulo Rabêlo Jr. e Eider Guimarães Bastos**. Pela dedicação ao ensino da Cirurgia do Maranhão.

Às Funcionárias do Centro Cirúrgico da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp, **Sueli, Edilaine, Miriam e Máira**, e o estagiário **Daniel** que sempre prestaram valiosa colaboração a todos nós alunos de pós-graduação da Área de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial.

Por todos que ajudaram direta e indiretamente na realização deste trabalho. Meu muito Obrigado!

SUMÁRIO

CAPÍTULOS	PÁGINAS
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1- INTRODUÇÃO	3
2- REVISÃO DE LITERATURA	10
3- PROPOSIÇÃO	47
4- MATERIAIS E MÉTODO	49
4.1. ANIMAIS E ANESTESIA	49
4.2. IMPLANTES	50
4.3. MEMBRANA NÃO REABSORVÍVEL	50
4.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	51
4.5. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS E PREPARO HISTOLÓGICO	58
4.6. ANÁLISE HISTOLÓGICA	59
4.7. ANÁLISE HISTOMÉTRICA	60
5- RESULTADOS	65
5.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA	65
5.1.1. PERÍODO DE 3 SEMANAS PÓS-OPERATÓRIA	65
5.1.1.1. GRUPO COÁGULO	65
5.1.1.2. GRUPO OSSO AUTÓGENO	70
5.1.1.3. GRUPO VIDRO BIOATIVO	74
5.1.1.4. OSSO LIOFILIZADO	78
5.1.2. PERÍODO DE 6 SEMANAS PÓS-OPERATÓRIA	83
5.1.2.1. GRUPO COÁGULO	83
5.1.2.2. GRUPO OSSO AUTÓGENO	88
5.1.2.3. GRUPO VIDRO BIOATIVO	92
5.1.2.4. OSSO LIOFILIZADO	97
5.2. ANÁLISE HISTOMÉTRICA	101
5.2.1. DESDOBRAMENTO DO PREENCHIMENTO (TEMPO)	101
6- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	105
7- CONCLUSÕES	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
APÊNDICE	129

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo comparativo de diferentes materiais preenchimentos ósseos sobre o processo de regeneração óssea guiada em defeitos perimplantares do tipo fenestração, realizados em fêmur de coelhos. Defeitos circulares de 2,6mm de diâmetro foram confeccionados na face medial do fêmur, de forma a expor a superfície do implante. Foram colocados 40 implantes de titânio de 6mm de comprimento por 2,6mm de diâmetro, bilateralmente, em fêmur de coelhos. Os defeitos foram preenchidos, de acordo com o grupo estudado, com: vidro bioativo, matriz óssea liofilizada de origem humana, osso autógeno e preenchimento por coágulo, que serviu como controle do experimento. Todos os defeitos, após preenchimento, foram protegidos por membrana de celulose. Os animais foram sacrificados após períodos de 3 e 6 semanas, quando blocos ósseos contendo os implantes, foram descalcificados e processados para posterior análise histológica em microscopia óptica comum e análise histométrica. Os dados histométricos revelaram melhores resultados de formação óssea no período de 3 semanas para os grupos Osso autógeno e Osso liofilizado (37,8% e 37,1%, respectivamente), e não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre si. No período de 6 semanas o grupo Osso autógeno apresentou os maiores resultados de formação óssea (64,1%).

Unitermos: Materiais de preenchimento ósseo, substitutos ósseos, regeneração óssea guiada.

ABSTRACT

The purpose of this study was compare the bone healing after different bone grafting materials in bone tissue regeneration around implants in rabbit's femur. Forty 6 x 2.6mm titanium implants were placed, bilaterally, in the femur of twenty New Zealand rabbits. Circular defects (2.6mm in diameter) were created at mesial of each femur, in order to expose implant threads. Defects were filled with human demineralized freeze-dried bone (Dembone), rabbit bone-chips autografts (autogenous bone) , bioactive glass granules (Perioglas) and control group filled with blood clot (control). All defects were protected with cellulose membranes. Rabbits were sacrificed 3 and 6 weeks after graft placement, the specimens were cut into block sections on a low speed bur and submitted to histologic and histometric analysis. Among the graft materials, autogenous bone and human demineralized freeze-dried bone provided the greatest amount of bone formation (37,8% and 37,1%, respectively) after 3 weeks of healing, with no statistically significant difference between them. After 6 weeks, autogenous bone provided the densest and greatest amount bone formation (64,1%). Between 3 and 6 weeks, the greatest amount of bone formation was provided by autogenous bone grafts, and the control group showed a lesser quantity of bone formation as compared to the grafted groups.

Uniterms: Bone grafting materials, bone substitutes, bone guided regeneration.

1. INTRODUÇÃO

A reabilitação de elementos dentais, quer por razões traumáticas, infecciosas ou congênitas, sempre representou um dos grandes objetivos da Odontologia. O surgimento de novos materiais e técnicas, aliado às pesquisas científicas levou ao pleno desenvolvimento dos implantes dentários. As bases biológicas dessa forma de tratamento tornaram-se melhor compreendidas a partir da introdução do processo de osseointegração, no qual histologicamente, observou-se uma conexão direta entre osso vital e implante, sob a ação de carga funcional (**BRÅNEMARK et al., 1969; ALBREKTSSON et al., 1981; SCHROEDER, 1981**).

Para **CARLSSON et al. (1986)** a região craniofacial apresenta-se como uma das mais favorecidas pela terapêutica através de implantes osseointegrados, o que evidencia uma grande evolução no campo da Odontologia moderna, sendo os mesmos utilizados para substituição de elementos dentais, ancoragem ortodôntica, correção de deformidades adquiridas ou congênitas da região maxilofacial.

Um tecido ósseo com qualidade e volume adequados são condições necessárias para o sucesso a longo prazo da osseointegração. Para tal, tem sido sugerido que uma parede óssea de pelo menos 1 mm deva existir nos lados bucal e lingual do implante, pois a ausência de volume ósseo representa um fator

limitante à utilização de implantes, uma vez que estes necessitariam menor diâmetro levando à prognósticos menos favoráveis (**WORTHINGTON et al., 1994**).

Os defeitos ósseos periimplantares resultantes de sítios de extrações, deiscências e fenestrações levam a resultados menos satisfatórios, uma vez que, em função da perda do contorno original do osso alveolar, o resultado estético-funcional dos implantes pode tornar-se comprometido (**DAHLIN et al., 1989**).

Durante a inserção dos implantes as deficiências ósseas poderão resultar em exposição das superfícies, infecções periimplantares a longo prazo, redução do contato na interface implante-osso e consequentemente levar ao insucesso da osseointegração (**NEWMAN & FLEMMIG, 1988**). A regeneração óssea guiada constitui um procedimento cirúrgico reconstrutivo que envolve os princípios da técnica da regeneração tecidual guiada. Através da utilização de barreiras de membrana torna-se possível evitar a invasão de células não desejáveis na área da ferida cirúrgica, proporcionando a proliferação de células com capacidade osteogênica e resultando em neoformação óssea (**SIMION et al., 1994**).

A utilização da técnica de regeneração óssea guiada tem demonstrado ser efetiva no tratamento dos defeitos ósseos periimplantares, assim como no aumento do volume ósseo previamente à inserção dos implantes (**SIMION et al., 1992; ROMINGER & TRIPLETT, 1994**).

A existência de um espaço adequado para que ocorra a neoformação óssea sob a membrana representa condição fundamental para adequada

regeneração óssea, pois o colapso da membrana, resultante da pressão dos tecidos moles, é um dos principais fatores responsáveis pelo insucesso desta técnica **(BECKER & BECKER, 1990; DAHLIN *et al.*, 1991)**.

Diversos são os materiais para preenchimento utilizados em associação à técnica de regeneração óssea guiada na prevenção do colapso da barreira física, e entre os principais, destacam-se os enxertos ósseos autógenos, os enxertos ósseos heterógenos e os materiais aloplásticos. Os enxertos ósseos autógenos têm demonstrado ser o material de eleição em função de sua compatibilidade e sua capacidade de manter um espaço adequado por período suficiente e induzir a neoformação óssea pela transferência de células com potencial osteogênico, ou seja, mecanismo de osseoindução e osseocondução. Entretanto, a maior desvantagem do osso autógeno como material para enxerto é representada pela maior morbidade relacionada com a necessidade de outros sítios doadores, inclusive extrabucais **(DAHLIN *et al.*, 1991)**.

Uma combinação entre as técnicas de regeneração e a utilização de matriz óssea desmineralizada tem sido preconizada com o objetivo de suprir as limitações apresentadas pelos enxertos de ossos autógenos **(NEVINS & MELLONIG, 1992; MELLONIG & TRIPLETT, 1993)**.

GARCIA (1999) realizou estudo comparativo entre duas matrizes desmineralizadas sobre o processo de regeneração óssea em calvária de coelhos. Os defeitos ósseos realizados foram preenchidos com uma matriz óssea

desmineralizada de origem bovina (OSSEOBOND®) e matriz de origem humana (DEMBONE™). A matriz de origem bovina apresentou reabsorção mais rápida do que a de origem humana.

Os enxertos ósseos congelados secos e desmineralizados apresentam uma resposta rápida de cicatrização nos defeitos ósseos e uma habilidade em induzir neoformação óssea (**URIST, 1965; FREEMAN & TURNBULL, 1977**). Para **MELLONIG & NEVINS (1995)** o osso desmineralizado congelado e seco em associação às membranas é a técnica de regeneração óssea mais utilizada no tratamento das deiscências e fenestrações periimplantares.

A regeneração óssea sobre superfícies de implantes, através do uso concomitante ou não de osso desmineralizado foi avaliada clinicamente por **MATTOUT *et al.* (1995)**. Uma média de 90% de sucesso foi encontrada quando da utilização de membranas de politetrafluoretileno expandido em associação ao osso desmineralizado e os autores concluíram que um efeito clínico positivo é esperado através desta combinação.

A utilização de matriz de osso desmineralizado congelado e seco em combinação com membranas no tratamento de defeitos em implantes de estágio único permite uma cicatrização com mínimo processo inflamatório, assim como menor incidência de complicações interferindo no processo de osseointegração (**COCHRAN *et al.* 1993**).

Uma grande quantidade de formação óssea periimplantar em sítios pós-exodônticos foi observada quando da utilização de matriz óssea desmineralizada e membrana, em comparação ao emprego da membrana isoladamente. Após seis meses de cicatrização uma certa quantidade de partículas ósseas desmineralizadas não-vitais foram detectadas histologicamente (**SIMION et al., 1994**). Para **BECKER et al. (1994)** estas partículas poderiam permanecer por período indeterminado, levando ao enfraquecimento do osso, com conseguinte prejuízo para osseointegração.

Embora os enxertos homogêneos obtidos de bancos de ossos apropriados tenham demonstrado menor risco de transmissão de doenças, algumas questões têm surgido a respeito do potencial osteogênico dos enxertos comumente utilizados. Desta forma, o interesse na avaliação e emprego de materiais aloplásticos no tratamento de defeitos ósseos tem aumentado (**KENT & ZIDE, 1984**). A hidroxiapatita e o trifosfato de cálcio têm sido empregados no tratamento dos defeitos intra-ósseos. No entanto, vários estudos têm demonstrado que geralmente ocorre um encapsulamento do material por tecido conjuntivo com formação óssea mínima ou inexistente (**BALDOCK et al., 1985; CARRANZA et al., 1987; YUKNA, 1993**).

um material bioativo pode ser definido como aquele que apresenta uma resposta biológica específica em sua interface, que resulta na formação de uma união entre os tecidos e o material (**WILSON & NOLLETTI 1990**).

O vidro bioativo tem demonstrado bons resultados como material de preenchimento, devido às propriedades de hemostasia, fácil manipulação, e permitindo uma restauração óssea completa em menor período quando comparado à promovida pela hidroxiapatita particulada (**OONISHI et al, 1997**).

O vidro bioativo em contato com os fluidos orgânicos forma uma camada de sílica promovendo uma formação óssea acelerada. Uma camada de hidroxiapatita carbonada desenvolve-se rapidamente tornando-se indistinguível da apatita natural dos ossos e dentes, as células produzem fibras colágenas, pois aderem as partículas ao osso. Os osteoblastos proliferam ao longo das partículas e iniciam o processo de formação óssea em um período de dois dias (**HENCH & ANDERSON, 1993**).

WHEELER et al (1998) e **TURUNEN et al. (1997)** realizaram estudo comparativo entre dois vidros bioativos utilizados para preenchimento ósseo. O Perioglas® mostrou-se efetivo como material, permitindo a formação da camada de hidroxiapatita na superfície do vidro, induzindo a formação óssea.

Vários materiais de preenchimento têm sido desenvolvidos e estudados com a finalidade de utilização em associação às técnicas de regeneração óssea guiada. No entanto, é objetivo de pesquisa na literatura mundial o desenvolvimento de materiais que satisfaçam plenamente os requisitos de um substituto ósseo ideal, evitando assim a necessidade de um segundo sítio cirúrgico, diminuindo a morbidade do procedimento e tornando-o mais tolerável

para o paciente. Desta forma é oportuno realizar um estudo comparativo, através de análise histológica e histométrica, de materiais de preenchimento ósseo sobre o processo de regeneração óssea guiada em defeitos perimplantares, do tipo fenestração.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A reposição de elementos dentais sempre representou um desafio para a odontologia. Evidências em civilizações antigas indicam que vários materiais homólogos e aloplásticos foram utilizados com esse fim, incluindo dentes humanos e de animais, marfim, osso esculpido e pérolas (**SPIERKEMANN *et al.*, 1995**).

Com a evolução dos materiais dentários, vários mecanismos foram propostos como tentativas de desenvolver fibras de inserção que poderiam servir como ligamento periodontal, sem obter sucesso no entanto (**WORTHINGTON, 1994**).

A partir dos trabalhos de BRÅNEMARK e colaboradores durante os anos 50 e 60, o fenômeno de osseointegração foi proposto como método capaz de estabelecer uma ancoragem direta entre osso e metal observado em microscopia ótica, não havendo a presença de camada tecidual fibrosa envolvendo o implante (**ADEL *et al.*, 1981; CARLSSON *et al.*, 1986; WORTHINGTON, 1994**).

BRÅNEMARK *et al.* (1977) definiram o fenômeno de osseointegração como um contato direto entre osso vivo e a superfície de um implante, à luz da microscopia ótica. Este conceito foi redefinido por **ALBREKTSSON *et al.*, em 1981**, a partir de estudos que levaram a uma melhor compreensão do processo como uma conexão direta estrutural e funcional, entre osso e a superfície de um implante sob a ação de carga funcional.

Os trabalhos de **ALBREKTSSON et al. (1988)** e **ADELL et al. (1990)** demonstraram altos índices de sucesso a longo prazo com a utilização de implantes osseointegrados no tratamento de pacientes totalmente edêntulos. Resultados semelhantes com mínimas variações também foram alcançados em trabalhos realizados por outros centros, que utilizaram menor tempo de acompanhamento (**ZARB & SCHMITT, 1990**). Por outro lado, os problemas isolados, relacionados ao emprego de implantes em pacientes edêntulos continuavam a existir, especialmente em áreas de pobre qualidade óssea ou mesmo naquelas de boa qualidade, mas com quantidade óssea inadequada (**ENGQUIST et al, 1988**).

Entre os fatores significativos para uma longevidade dos implantes destacam-se a quantidade óssea disponível em relação à altura e largura, assim como a morfologia óssea regional. A extensão vertical do osso disponível é definida entre a crista alveolar e os limites anatômicos existentes, sendo de grande importância manter-se uma margem de segurança de 2 mm destas estruturas. A largura é avaliada através da mensuração da distância entre as paredes ósseas bucal e lingual, devendo existir um mínimo de 0,5 mm de osso nos aspectos vestibular e lingual dos implantes. A morfologia óssea deve permitir a colocação do implante com vistas favoráveis em relação às exigências estético-funcionais da prótese, após aplicação de carga axial (**MISCH, 1990; LANGER et al., 1993; WORTHINGTON et al., 1994**).

Os defeitos ósseos provenientes de traumatismos, infecções, perdas ósseas durante ou após extrações, fenestrações e deiscências do osso alveolar na interface do implante ou mesmo defeitos associados com a implantação imediata, são situações que levam ao insucesso da osseointegração, assim como a colocação de implantes em situações inadequadas para uma reabilitação estético-funcional (**DAHLIN et al, 1989; WACHTEL et al., 1991; MELLONIG & NEVINS, 1995**).

O princípio de selamento físico de um sítio anatômico com o objetivo de favorecer o reparo de um certo tipo de tecido e direcionar a regeneração tecidual por algum tipo de barreira mecânica é utilizado em cirurgia reconstrutiva desde **1947**, por **BERG** que estudava a influência dos tecidos moles sobre o processo de osteogênese, e através de seus trabalhos demonstrava fusão óssea da coluna vertebral de forma eficiente, uma vez que os tecidos moles representados pelos músculos paravertebrais, eram mantidos afastados da região através da utilização de enxertos ósseos, criando dessa maneira, um espaço para proliferação de tecido ósseo.

MURRAY, HOLDEN & ROSCHLAU (1957) realizaram trabalho em que protegeram o coágulo sangüíneo de cavidades ósseas com uma estrutura plástica fenestrada, e no interior desta houve o preenchimento por osso, cerca de seis milímetros acima do tecido circunjacente. Os autores concluíram que para a neoformação óssea era necessária a presença de um coágulo sangüíneo,

preservação dos osteoblastos e um contato com tecido vital para haver proliferação celular.

MELCHER & DREYER (1962) demonstraram a importância da preservação do coágulo sangüíneo, estudando o processo de cicatrização no interior de um defeito em fêmur de rato, onde cada coágulo foi protegido com material plástico ou osso orgânico durante o processo de reparo. Encontraram neoformação óssea em todos os defeitos, exceto no grupo controle onde nenhum material de proteção foi utilizado. Concluíram que a função de proteção evitava a invasão do defeito por tecido não osteogênico e preservava o tamanho do coágulo prevenindo sua distorção pela pressão dos tecidos adjacentes.

Através de estudo histológico, **BOYNE (1964)** demonstrou que a colocação de filtros de acetato de celulose melhorou a regeneração de defeitos alveolares em cães, quando comparados a defeitos em que nenhum recurso para proteção do coágulo foi realizado.

Com o objetivo de eliminar a influência dos tecidos moles sobre enxertos na reconstrução de grandes defeitos, **BOYNE (1969)** utilizou filtros de acetato porosos em associação a enxertos ósseos como revestimento de defeitos mandibulares em macacos *Rhesus*, e demonstrou que estes eram capazes de realizar trocas de fluidos teciduais.

NYMAN et al. (1982) documentaram uma nova inserção de fibras do tecido conjuntivo e neoformação de cemento obtidas pela exclusão da proliferação do

epitélio dento-gengival e do tecido conjuntivo gengival na área da ferida adjacente à superfície radicular, e pela criação de espaço entre as superfícies radicular e interna da membrana, favorecendo o crescimento coronal de células do ligamento periodontal. Esta forma de tratamento desenvolveu-se com o objetivo de regenerar tecidos periodontais perdidos em função da doença periodontal inflamatória, no entanto este princípio serviu de base para o desenvolvimento da regeneração óssea guiada

A utilização da regeneração óssea guiada no tratamento dos defeitos ósseos também foi estudada por **KAHNBERG (1979)**. Este autor avaliou o emprego da regeneração óssea guiada em defeitos ósseos de duas e três paredes. Estes foram realizados na base da mandíbula de coelhos, e foram colocadas lâminas de teflon como barreira em dos lados e comparados com lado contra-lateral controle, onde nenhum material foi utilizado. Períodos de 2, 4, 6, 12, 26 e 52 semanas foram analisados histologicamente. Os defeitos protegidos com membrana demonstraram completa regeneração óssea quando comparados com o lado controle em que não se utilizou barreira para prevenir o crescimento de tecido conjuntivo no interior do defeito ósseo.

DAHLIN et al. (1988) avaliaram o uso de membranas para regeneração de defeitos ósseos realizados bilateralmente em mandíbulas de ratos. Um dos lados recebeu proteção com membrana de politetrafluoretileno expandido, enquanto que o lado controle foi coberto apenas com retalho periosteal. Os resultados obtidos através de análise histológica e histomorfométrica mostraram que a

barreira mecânica impediu a penetração de tecido conjuntivo e permitiu formação óssea quando comparado ao lado controle, que recebeu proteção. Este foi preenchido por tecido conjuntivo fibroso, com pouco desenvolvimento de osso neoformado nas margens do defeito.

Com o desenvolvimento dos materiais e das técnicas de regeneração óssea guiada, essa forma de tratamento foi aplicada aos implantes osseointegrados com o objetivo de viabilizar a utilização destes em áreas de pouca disponibilidade óssea, assim como nos defeitos periimplantares. A partir dos anos 80, vários estudos em animais foram realizados com o objetivo de dar suporte à utilização clínica da regeneração óssea guiada em humanos (HÜRZELER *et al.*, 1998).

DAHLIN *et al.* (1989) estudaram a utilização da regeneração óssea em associação a implantes osseointegrados em coelhos. Implantes do tipo parafuso foram inseridos nas tíbias dos coelhos e defeitos de deiscência foram realizados. A metade dos defeitos periimplantares foi protegida com membrana de politetrafluoretileno expandido e os demais preenchidos por coágulo e protegidos apenas pela reposição do periósteo suprajacente. Os animais foram distribuídos em três grupos e períodos de sacrifício relativos a 6, 9 e 15 semanas. Os materiais foram submetidos a avaliações histológica e histométrica. A análise histológica demonstrou osseointegração na área de osso neoformado no grupo experimental. À análise histométrica o grupo experimental mostrou-se com média de 3,8 mm de ganho ósseo no sentido corono-apical, enquanto que foi obtida

média de 2,2 mm no grupo controle. Diferença estatisticamente significativa foi observada quando comparado o grupo experimental ($x=99,5\%$) ao grupo controle($x=66,4\%$).

O princípio da regeneração óssea guiada como método para tratamento de exposição de roscas de implantes osseointegrados em cães foi estudado por **BECKER *et al.*** em **1990**. Dez implantes foram colocados nas mandíbulas de cães e divididos em grupos (teste e controle). Os implantes do grupo teste foram inseridos de modo a restarem um número variável de roscas expostas, posteriormente protegidas com membrana. Previamente à utilização da membrana, através de sondagem foram registrados o número de roscas expostas, assim como o nível ósseo. Essas mensurações foram realizadas do aspecto coronal do implante à crista óssea no aspecto apical das roscas expostas.

Durante a primeira semana pós-operatória os sítios cirúrgicos foram lavados com clorexidina e após a primeira semana os dentes remanescentes foram raspados e os sítios cirúrgicos novamente lavados até o período de sacrifício de 18 semanas. As mensurações foram novamente realizadas e as peças submetidas a exame histológico. Os autores concluíram que esta forma de tratamento mostrava-se capaz de induzir a uma regeneração sobre as exposições de roscas, e que embora a quantidade de osso a ser neoformada era variável, o método apresentava significância clínica sugerindo a realização de outros estudos.

ZABLOSTKY et al. (1991) realizaram estudo clínico e histológico da utilização de regeneração guiada em defeitos de deiscência periimplantares em cães. Neste trabalho foram utilizados implantes revestidos com hidroxiapatita e implantes de titânio com superfície tratada com jato de areia. Os implantes foram divididos em grupo controle e grupo teste onde os defeitos (3 x 5mm) foram protegidos com membrana de PTFE-e. Como resultados os autores relataram uma maior formação óssea no grupo teste com média de 95,17% para os implantes revestidos com hidroxiapatita e 82,8% sobre implantes de titânio tratados com jato de areia quando comparados ao grupo controle.

Em estudo semelhante, **ARORA et al. (1992)** avaliaram a técnica da regeneração óssea guiada no tratamento de exposição de roscas de implantes osseointegrados em cães. Para este estudo foram utilizados 20 implantes rosqueáveis com superfície de titânio e 10 implantes revestidos com hidroxiapatita. Estes foram inseridos em tíbias de cães deixando cerca de 2 a 3mm de exposição das roscas na região cervical. Os grupos experimentais foram divididos em controle (15 implantes) e grupo teste, no qual as roscas expostas foram protegidas com membranas de politetrafluoretileno expandido. As amostras foram submetidas a exame histológico. Os implantes do grupo teste demonstraram uma formação óssea progressiva sobre as roscas. No grupo controle os implantes revestidos com hidroxiapatita demonstraram formação óssea mesmo na ausência de membrana, situação não observada no grupo controle de superfície de titânio lisa. Foi observado também que a posição da

membrana exerceu efeito sobre a quantidade óssea neoformada, uma vez que no grupo de implantes em que houve colapso da membrana uma menor formação óssea foi observada quando comparada àqueles em que um espaço foi mantido entre membrana e implante. Os autores concluíram que a técnica de regeneração óssea guiada mostrou-se eficaz no tratamento de exposição de roscas nos implantes osseointegrados, e que a quantidade de osso neoformado é influenciada pela dimensão do defeito entre implante e membrana.

Baseado em observações experimentais a regeneração óssea guiada pode ser utilizada em associação aos implantes osseointegrados em defeitos ósseos originados de alvéolos após exodontias, defeitos de deiscências, fenestrações, aumentos de rebordo em espessura e altura, previamente a inserção dos implantes e, ainda em defeitos decorrentes de perimplantites (**BUSER et al., 1993**).

Os resultados clínicos do emprego da regeneração óssea guiada em associação aos implantes em regiões com quantidade óssea deficiente foram relatados por **BUSER et al. (1990)**. Estes autores descreveram a técnica cirúrgica utilizada no tratamento de dez pacientes com espessura óssea insuficiente e dois pacientes com defeitos ósseos na região de inserção dos implantes. Para este estudo foram empregadas membranas de PTFE-e. Após períodos que variaram entre seis e dez meses as áreas foram novamente exploradas e avaliadas clínica e radiograficamente. Os autores observaram que em nove dos pacientes

estudados obteve-se uma neoformação óssea suficiente para a colocação de implantes, e o ganho ósseo variou de 1,5 a 5,5mm.

DAHLIN *et al.* (1991) avaliaram a técnica de regeneração óssea guiada em defeitos periimplantares do tipo fenestração. Neste estudo foram avaliados sete pacientes com um total de quatorze implantes colocados, todos apresentando defeitos do tipo fenestração. De um lado os defeitos eram protegidos com membranas de PTFE-e, e do lado contralateral os defeitos serviam como grupo controle. A quantidade de osso neoformado foi avaliada através de análise fotométrica, depois de cerca de 6 a 7 meses, no momento da cirurgia de reabertura para colocação dos cicatrizadores. Os defeitos protegidos com membrana apresentaram uma quantidade significativa de formação óssea quando comparados com o grupo controle, os quais exibiram pouca e em alguns casos nenhuma formação.

LANG *et al.* (1994) avaliaram a regeneração óssea guiada em defeitos maxilares, previamente à colocação de implantes osseointegrados, através do emprego de membranas de PTFE-e. Neste trabalho foram avaliados dezenove pacientes apresentando defeitos ósseos. Mensurações da dimensão dos defeitos e da espessura da crista óssea foram realizadas durante a primeira cirurgia e após períodos que variaram entre 3 e 8 meses. Em seis pacientes nos quais as membranas foram removidas precocemente em função de exposição, a regeneração óssea variou de 0 a 60% do volume possível para área. Em treze pacientes nos quais as membranas mantiveram-se em posição durante 6 a 8

meses apresentaram uma neoformação óssea em torno de 90 a 100% de volume previsível. Dessa forma, os autores concluíram que a neoformação óssea com sucesso ocorreu nos casos em que a membrana manteve-se sem distúrbios por um período mínimo de seis meses.

No tratamento dos defeitos ósseos periimplantares, as membranas devem manter espaço para formação óssea, não apenas suportando seu próprio peso, mas resistindo à pressão exercida pelos tecidos suprajacentes, assim como pelas forças externas, como a mastigação. Os defeitos podem ser do tipo mantenedores de espaço ou não mantenedores de espaço. O defeito que mantém espaço é capaz de promover um suporte adequado para a barreira física, prevenindo o colapso no seu interior após a realização da sutura. Os defeitos maiores, que não mantêm espaço, apresentam um suporte inadequado das paredes ósseas para prevenir o colapso da barreira, interferindo com a organização do coágulo e diminuindo o espaço disponível para neoformação óssea. Os defeitos dos tipos fenestração e deiscência, quando de grande amplitude, não mantêm espaço e necessitam de materiais de preenchimento com a finalidade de evitar o colapso da membrana **(MELLONIG & NEVINS, 1995)**.

A criação de espaço é de grande importância para promover um isolamento do coágulo melhorando, dessa forma, sua capacidade de divisão celular. A presença da barreira física protege o coágulo das cargas mecânicas que atuam sobre o retalho nos períodos iniciais de reparo. Os micromovimentos influenciam diretamente sobre a diferenciação celular e, quando presentes, são capazes de

induzir a diferenciação de células mesenquimais em fibroblastos. A utilização de diferentes materiais de preenchimento tem sido proposta com o objetivo de evitar o colapso da barreira física, assim como promover neoformação óssea através de suas propriedades osteogênicas, osseocondutivas e/ou osseoindutivas (**SIMION *et al.*,1994**).

O mecanismo de ação dos enxertos ósseos e materiais de preenchimento está relacionado principalmente com sua origem ou composição. A osteogênese refere-se aos materiais orgânicos que são capazes de formar tecido ósseo diretamente dos osteoblastos. O material osseoindutivo é capaz de induzir a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos, favorecendo o crescimento ósseo ou mesmo realizando-o onde freqüentemente não é esperado. A osseocondução caracteriza um material de preenchimento, geralmente inorgânico, que permite a aposição de tecido ósseo através do osso existente, necessitando da presença dos osteoblastos e de células mesenquimais indiferenciadas (**MARX & SAUNDERS, 1986; MASTERS, 1988**).

Para **KENT & BLOCK**, em **1997**, entre os principais critérios para seleção dos enxertos estão a capacidade de permitir estabilidade do implante, poder osteogênico, baixa antigenicidade, fácil disponibilidade, baixo índice de infecção e baixa morbidade.

O enxerto ósseo autógeno, quer isoladamente ou em associação às técnicas de regeneração óssea guiada, tem sido amplamente empregado na Implantodontia. Esta forma de tratamento é descrita como padrão em função das vantagens biológicas que o osso autógeno possui quando comparado aos diversos preenchimentos. Esse tipo de enxerto apresenta uma alta biocompatibilidade, já que o mesmo é retirado do próprio indivíduo. É capaz de manter espaço suficiente para prevenir o colapso da barreira física, sendo facilmente reabsorvido e substituído por tecido ósseo neoformado, em função de suas propriedades de osseocondução, osseoindução e osteogênese, este último pela transferência de células osteoblásticas e fatores de crescimento incorporados à matriz (SIMION *et al.*, 1994; BECKER *et al.*, 1995).

Os enxertos ósseos autógenos formam um arcabouço rígido capaz de suportar dentes e implantes e são compostos por estruturas orgânicas e inorgânicas. A resiliência, resistência e continuidade estão associadas com o colágeno que representa o componente orgânico. Dureza e rigidez são características do aspecto inorgânico representado pela hidroxiapatita, material cristalino semelhante à cerâmica. As regiões de sínfise mandibular, tuberosidade maxilar, área retromolar, as exostoses ou mesmos os debris ósseos, resultantes das perfurações do leito para o implante, compreendem os principais sítios doadores intrabuciais. Nos casos em que um maior volume ósseo se faz necessário, sítios doadores extrabuciais como: crista do íliaco, calvária, costela, tibia e fíbula, têm sido utilizados (MISCH & DIETSCH, 1993).

As técnicas de regeneração óssea guiada e as combinações aos enxertos ósseos autogêneos *onlay*, *inlay*, interposicionais, têm sido preconizadas para a Implantodontia (MISCH, 1996; TRIPLETT & SCHOW, 1996).

O enxerto ósseo pode ser do tipo medular, cortical ou córtico-medular. O tipo medular fornece células com capacidade osteogênica e deve ser colocado em contato com a superfície óssea em função da presença de células vivas e suporte sangüíneo advindos de novos vasos oriundos do leito receptor, que penetram a estrutura óssea a uma velocidade de 0,5mm por dia. Os enxertos do tipo corticais possuem um menor número de células vivas com capacidade osteogênica e apresenta uma capacidade maior de fornecer proteínas morfogenéticas quando comparado ao enxerto medular, estas agindo na fase indutiva da osteogênese. Esse tipo de enxerto apresenta ainda como característica, em função de sua maior resistência, a formação de um arcabouço que age na fase condutiva da osteogênese. Ele atua também como barreira para invasão do tecido mole aumentando o período para neoformação de vasos sangüíneos no enxerto, ação similar as técnicas de regeneração tecidual guiada. Os enxertos ósseos em bloco do tipo córtico-medulares, além das características já descritas, permitem contorno e adaptação anatômica ao leito receptor. (URIST, 1965; MARXS & SAUNDERS, 1986, MISCH & DIETSCH, 1993).

MISCH (1997) realizou estudo comparativo entre dois sítios doadores intrabuciais, a região de sínfise mandibular e área retromolar, no tratamento de defeitos ósseos na região anterior de maxila, previamente à colocação de

implantes osseointegrados. O autor concluiu que um volume ósseo maior que 1cm³ e a obtenção de um bloco córtico-medular foram possíveis quando da utilização de enxertos da região mentoniana, a despeito da presença de distúrbios neurosensoriais presentes em enxertos obtidos de ambas as regiões.

A utilização de enxertos ósseos autógenos está amplamente influenciada por sua capacidade de manter a viabilidade celular, o que depende principalmente da rápida vascularização, e está relacionada à espessura do mesmo. Quanto mais densa a cortical ou mais espesso for o enxerto, menor é a possibilidade de revascularização, e maior a porcentagem de morte celular (KUSIAK, ZINS & WHITAKER, 1985).

SHIROTA et al. (1996) realizaram estudo histológico e microrradiográfico de enxertos córtico-medulares em blocos e particulado, nas reconstruções mandibulares com finalidade de utilização de implantes osseointegrados. Dez pacientes foram avaliados e enxertos córtico-medulares (em bloco e particulado) foram empregados no tratamento de defeitos de descontinuidade e em defeitos marginais mandibulares previamente à inserção dos implantes. Os autores sugeriram que a reconstrução mandibular com enxertos córtico-medulares permite a colocação precoce de implantes, quando comparados aos enxertos em blocos.

Os enxertos ósseos homólogos são obtidos de indivíduos de uma mesma espécie e têm sido utilizados como preenchimento em Implantodontia. Apresentam vantagens quando comparados aos enxertos autógenos em função

da maior disponibilidade, eliminação de uma cirurgia adicional, diminuindo dessa forma o tempo cirúrgico, quantidade de anestesia, perda sangüínea, assim como a morbidade do procedimento. Esses enxertos são obtidos de cadáveres, processados e armazenados em bancos de tecidos, são reabsorvidos e substituídos pelo organismo receptor podendo induzir a neoformação óssea. Entretanto, apresentam desvantagens relacionadas com a antigenicidade e a possibilidade de transmissão de doenças. Uma história médica pregressa deve ser rigorosamente avaliada com o objetivo de eliminar doadores com infecções, neoplasma malignos, doenças ósseas degenerativas, hepatite, doenças sexualmente transmissíveis, deficiências autoimunes e outros problemas que possam afetar a qualidade óssea e a saúde do indivíduo receptor. **(MELLONIG et al., 1976; SANDERS et al., 1983; MELLONIG, 1992)**

A transmissão de Infecções viróticas, bacterianas e fúngicas tem sido descrita através da utilização de enxertos homólogos de uma variedade de tecidos, quer seja osso, pele, córnea, válvulas cardíacas, rins. O desenvolvimento das técnicas laboratoriais e o rigor dos exames são responsáveis pela segurança na utilização destes enxertos, a despeito do risco potencial persistir **(GOTTESDIENER, 1989; EASTLUND, 1991; KAYAIGA, MILLER & GUDINO, 1991).**

De acordo com o processamento recebido, os enxertos ósseos homólogos podem apresentar-se como: osso congelado, congelado seco (liofilizado) e

desmineralizado. A capacidade de formação óssea ocorre pelo efeito do mecanismo de osseoindução sobre as células mesenquimais indiferenciadas dos tecidos adjacentes, a partir do crescimento de novos vasos sangüíneos no interior do enxerto, ou ainda em função da presença das proteínas morfogenéticas. O osso homólogo também pode gerar neoformação óssea a partir do fenômeno de osseocondução, uma vez reabsorvido e remodelado pelo organismo receptor, serve como arcabouço para proliferação celular. O mecanismo de osteogênese geralmente não está envolvido na neoformação óssea nestes tipos de enxerto, no entanto, quando observado, acontece de forma mais lenta e em menor volume quando comparado a enxertos autógenos (HARAKAS, 1984).

O processamento e seleção dos enxertos ósseos homólogos podem variar em função do banco de tecidos. O tipo cortical representa o osso de escolha em função de seu menor potencial de antigenicidade e presença em maior quantidade de matriz óssea, onde estão localizadas as proteínas morfogenéticas. É seccionado em partículas variando de 500µm a 5 mm e submetido a repetidas lavagens para remoção de todo osso medular. O enxerto é imerso em etanol a 99% por uma hora, com a finalidade de remoção da gordura que pode inibir o processo de osteogênese, depois é congelado em nitrogênio líquido por um período de uma a duas semanas e durante este intervalo de tempo os resultados das culturas bacterianas, testes sorológicos, antígenos e anticorpos são analisados. O osso livre de contaminações é então submetido a processo de liofilização, pelo qual a desidratação da peça é obtida através da remoção de

água diretamente do estado de congelação para um estado de vapor. Este processo elimina mais de 95% do componente líquido do osso. O enxerto é novamente particulado em tamanho variando de 250 a 750µm. Se for submetido a descalcificação, ele é imerso em solução de ácido clorídrico e, logo após, lavado repetidamente em solução tampão de fosfato de sódio, com a finalidade de remover resíduos ácidos. Quando o enxerto é do tipo desmineralizado, novo processo de liofilização deve ser realizado e finalmente o material é selado a vácuo, com o objetivo de evitar sua degradação e protegê-lo de contaminantes, permitindo estocagem por certo período de tempo **(RESNICK et al., 1986; ASPENBERG & THOREN, 1990).**

Para **URIST & STRATS (1971)** o processo de desmineralização com ácido clorídrico expõe as proteínas morfogenéticas do osso localizadas na matriz. O osso desmineralizado induz as células do organismo receptor a uma diferenciação em osteoblastos. O potencial osteogênico do osso desmineralizado através deste mecanismo é atualmente questionado **(BECKER, BECKER & CAFFESSE, 1994; BECKER et al., 1995).**

Os enxertos heterógenos, obtidos de espécies diferentes, geralmente de osso bovino, têm sido empregado em Implantodontia. Os principais motivos para seu desenvolvimento e utilização foram o alto custo, a dificuldade de obtenção de osso humano viável e a proibição da comercialização de enxertos de origem humana em certos países. **TAGA et al. (1997)** avaliaram a capacidade de

estimulação de uma matriz de osso bovino desmineralizado e liofilizado no reparo de cavidades ósseas cirúrgicas de 8mm de diâmetro, em calvárias de cobaias. As cavidades preenchidas somente com coágulo sangüíneo demonstraram presença de tecido fibroso sem formação óssea a partir da periferia do defeito. As cavidades preenchidas por matriz óssea bovina demonstraram neoformação óssea em espessura menor que a pré-existente, no grupo com período de sacrifício de seis meses. Os autores concluíram que a matriz orgânica de osso bovino liofilizado é capaz de estimular o reparo ósseo em defeitos críticos no crânio de cobaias.

DE LAVALLE et al. (1998) realizaram estudo sobre a utilização de regeneração óssea guiada em associação a matriz de osso bovino desmineralizado e liofilizado no reparo de cavidades ósseas com 3x2mm de diâmetro em tíbias de rato. Os defeitos eram preenchidos com enxerto ósseo heterógeno e protegidos com membrana biológica reabsorvível de osso bovino liofilizado, sendo comparados com grupo controle, no qual os defeitos eram somente preenchidos por coágulo sangüíneo. O grupo experimental de sete dias apresentou partículas de tecido amorfo semelhante a osso desvitalizado com focos de reabsorção a partir da periferia. No grupo experimental de 10 dias estas partículas demonstravam início de processo de reabsorção. Aos 40 dias foi observado preenchimento completo da cavidade óssea. Os autores concluíram que a matriz de osso bovino apresentava-se útil como preenchimento de defeitos

por ser reabsorvível, biocompatível, ser de fácil manuseio e favorecer o processo de reparo ósseo.

Os materiais aloplásticos se apresentam como substitutos do tecido ósseo e são de origem sintética. São biocompatíveis e desenvolvidos para ampla aplicação clínica em reconstrução óssea e suporte de tecidos moles. Apresentam-se em diversas formas, texturas e dimensões e constituindo-se primariamente das cerâmicas. Esses materiais quando do tipo bioinertes, não aderem aos tecidos receptores, consistindo basicamente de um íntimo contato mecânico que permite a transferência de forças, e raramente são utilizados para aumento ósseo, têm sido empregados no tratamento de superfície dos implantes osseointegrados. As cerâmicas bioativas representam uma grande família dos aloplásticos substitutos do osso, e incluem os materiais cálcio fosfatados como hidroxiapatita ou o trifosfato de cálcio. O mecanismo de formação óssea destes implantes se dá através de osseocondução. Alguns subgrupos das cerâmicas cálcio-fosfatadas bioativas são disponíveis para uso clínico, e representados pelo tricálcio fosfato sintético, pela hidroxiapatita densa e outras de origem natural, obtidas a partir de corais, osso humano ou bovino. Uma união química entre o osso do receptor e o implante pode estimular atividade de formação óssea. Esses materiais apresentam uma boa resistência à compressão e uma pobre resistência a tensão, semelhante ao osso. Sua reabsorção está intimamente relacionada com o tamanho das partículas, a porosidade, a estrutura química e sua composição. São indicadas como material para aumento ósseo. **(MASTERS, 1988)**

A hidroxiapatita é o principal componente inorgânico dos tecidos calcificados humanos, possuindo uma proporção de fósforo e cálcio de 10:6, é cristalograficamente semelhante à apatita mineral óssea e apresenta união com os tecidos duros quando implantada. As principais propriedades físicas deste material estão relacionadas com sua forma (particulada ou em blocos), porosidade (densa, microporosa ou macroporosa) e cristalinidade (cristalina ou amorfa). O tempo de reabsorção do material está relacionado ao tamanho de suas partículas, assim como sua porosidade (LEGEROS, 1988).

TOFE, WATSON & BOWERMAN (1991) avaliaram os fatores relacionados com a reabsorção de hidroxiapatitas do tipo densa, macroporosa e microporosa. Os autores observaram que a hidroxiapatita densa apresenta processo de reabsorção lento, em função de não apresentar poros e a atividade osteoclástica ficar restrita à superfície do material. Relataram ainda, como características da hidroxiapatita macroporosa, a presença de poros com dimensão em torno de 100µm compondo um total de 15% do volume do material. Para hidroxiapatita microporosa encontraram porosidade de aproximadamente 5µm representando 28% do volume total. Quanto maior a porosidade do material, maior foi a reabsorção.

A cristalinidade da hidroxiapatita também exerce influência sobre a reabsorção. Quanto mais cristalina for a estrutura, menor será o processo de reabsorção. Os tecidos moles e duros do organismo humano apresentam

facilidade para quebrar os componentes de materiais amorfos. A forma cristalina da hidroxiapatita em condições de normalidade tem apresentado maior estabilidade a longo prazo quando comparada à forma amorfa, mais susceptível ao processo de reabsorção. **(MISCH & DIETSCH, 1993)**

As propriedades físicas da hidroxiapatita devem ser consideradas quando em função da utilização clínica. O tipo cristalino, denso e de partículas maiores deve ser utilizado quando houver finalidade de suporte de próteses removíveis, sejam estas parciais ou totais. A hidroxiapatita do tipo densa não deve ser utilizada quando for planejada a inserção de implantes osseointegrados, uma vez que essa forma resulta em menos porcentagem de contato entre osso e implante, por não ser reabsorvida e substituída por tecido ósseo, assim como não distribui de forma adequada as forças de compressão e existe uma interface implante-partícula desfavorável para o sucesso a longo prazo da osseointegração. **(JARCHO, 1981)**

O fosfato tricálcio tem sido utilizado em associação a outros tipos de enxerto ou materiais osseoindutivos e osteogênicos com a finalidade de proporcionar consistência para uma melhor manipulação. Esse material apresenta uma proporção de cálcio/fosfato de 3:2, atua como preenchimento que é reabsorvido com o tempo por ação osteoclástica e substituído por células ósseas vivas que crescem diretamente em contato com o material sem haver processo de encapsulação. As características físicas e químicas do fosfato tricálcio estão relacionadas com seu processo de reabsorção e substituição por osso. São

preparados por processo sintético, sensíveis ao calor e esterilização, o que altera suas propriedades físicas e estrutura química e consequentemente sua características de reabsorção.(**REJDA, PEELEN & DE GROOT, 1977**)

Para **BALDOCK et al. (1985)** e **CARRANZA et al. (1987)**, embora as cerâmicas bioativas (hidroxiapatita e fosfatos tricálcio) tenham sido utilizadas como material de preenchimento em defeitos ósseos, algumas das partículas próximas ao osso pré-existente e abaixo do periósteo são incorporadas ao processo de reparo ósseo, e outras são encapsuladas por tecido conjuntivo com mínima ou ausência da formação de tecido ósseo, em função da não consolidação das partículas ou dispersão no interior dos tecidos moles.

O vidro bioativo é um material não poroso composto de dióxido de silicone (45%), óxido de cálcio (24,5%), óxido de sódio (24,5%) e pentóxido de fósforo (6%), primeiramente descrito por **HENCH et al. (1971)**. Quando implantados em organismo vivo, aumenta o pH local, chegando a valores próximos de 10. Uma camada gelatinosa rica em sílica é formada sobre sua superfície, e sobre esta forma-se outra rica em fósforo e cálcio (camada de hidroxiapatita carbonada), provenientes tanto do vidro quanto dos fluídos orgânicos. Essa camada de hidroxiapatita carbonada ativa é quimicamente e estruturalmente semelhante a composição mineral do osso humano, desta maneira sendo reconhecida pelo organismo como natural e não sintética, servindo como superfície de adesão. A formação dessas camadas ocorre dentro de minutos após a implantação, e a superfície do vidro é colonizada por células osteogênicas e fibras colágenas do

organismo receptor, que são incorporadas à camada gelatinosa de sílica e eventualmente produzindo tecido ósseo. Desta forma acredita-se que a formação óssea é originada tanto por um mecanismo de osseoindução quanto por osteogênese, não somente por apresentar uma interface biocompatível para migração óssea, mas por permitir, em função de uma superfície bioativa, a colonização por células osteogênicas livres presentes no sítio cirúrgico. Essa capacidade de aderir-se aos tecidos duro e mole diferencia o vidro bioativo dos demais materiais aloplásticos disponíveis. (OONISHI et al, 1997; WILSON & NOLLETTI, 1990)

REHMAN et al. (1994) realizaram estudo através de espectroscopia da superfície das camadas dos vidros bioativos e concluíram que a camada de hidroxiapatita carbonada desenvolvida sobre o material bioativo é semelhante à apatita humana quando comparada a hidroxiapatita para preenchimento, e muito similar à porção mineral do osso obtida de cortical femural humana.

STANLEY et al. (1987) estudaram a utilização de implantes cônicos de vidro bioativo na manutenção do rebordo alveolar após extração dentária. Neste trabalho avaliaram 242 implantes inseridos em 29 pacientes, sendo que 27 destes, utilizaram prótese total e foram acompanhados por um período que variou de 12 a 32 meses. Os autores relataram a alta biocompatibilidade do material com ausência de infecção, cicatrização normal da mucosa e evidência radiográfica de reparo ósseo ao redor dos implantes, constatado também através de nova

intervenção cirúrgica onde observaram novo osso em contato direto com os implantes.

Um estudo da utilização de vidro bioativo como material para aumento de rebordo, realizado por **SHAOAN et al.**, em **1989**, demonstrou através de exame de microscopia ótica, microscopia eletrônica de varredura e dispersão de energia de raios-x, que as partículas do material estavam firmemente aderidas com os tecidos mole e duro adjacentes, através de uma união da interface implante-tecido ósseo, e através do crescimento interno de tecido conjuntivo nos poros das partículas. Os autores concluíram que o vidro bioativo particulado poroso demonstrou ser um material com excelentes propriedades para aumento de rebordo, em função de sua alta compatibilidade.

As reações *in vivo* do vidro bioativo sobre os tecidos moles e duros foram estudadas por **GATTI, VALDRÈ & ANDERSON**, em **1993**. Esses autores implantaram grânulos de vidro bioativo em músculos e tecido conjuntivo de coelhos, assim como em mandíbulas de carneiro. Após um período de 2 e 3 meses realizaram cortes e estudaram as peças através de microscopia eletrônica de varredura e energia dispersiva de raios-x. A reação ao vidro bioativo foi essencialmente a mesma para todos os tipos de tecidos estudados. Os grânulos eram constituídos de uma camada gelatinosa rica em sílica e outra zona de fosfato de cálcio. Cristais maiores de hidroxiapatita ocasionalmente foram encontrados sobre a camada de fosfato de cálcio dos grânulos implantados nos tecidos moles. Os autores concluíram que uma reação mediada, principalmente,

pelo cálcio eliminado do interior do vidro, foi suficiente para a formação da camada de fosfato de cálcio.

WILSON et al. (1993) avaliaram as respostas dos tecidos sobre implantes de vidro bioativo inseridos no interior de alvéolos de cães após extração, com o objetivo de manutenção da morfologia do rebordo. Concluíram que os implantes cônicos inseridos de forma apropriada são capazes de manter-se em posição por um período de 2 anos em cães, tempo no qual os animais estiveram sob alimentação livre, sugerindo que o vidro bioativo é capaz de resistir às cargas funcionais. Afirmaram também o desenvolvimento de uma adesão aos tecidos mole e duro, e um módulo de elasticidade nestas interfaces semelhante ao encontrado na interface dente-periodonto, são fatores responsáveis pelo sucesso a longo prazo em animais.

SCHEPERS et al., em 1991, estudaram comparativamente a utilização de vidro bioativo e hidroxiapatita como materiais de preenchimento em lesões ósseas experimentalmente produzidas em mandíbulas de cães. As amostras foram avaliadas após períodos de 1, 2, 3, 6 e 12 meses. A análise histológica demonstrou crescimento ósseo por osseointegração em maior quantidade ao redor dos grânulos de vidro bioativo, e na porção central das cavidades ósseas foi observado crescimento de tecido ósseo trabecular. Esse tecido estava associado às partículas do vidro, enquanto que foi observada uma separação por tecido conjuntivo fibroso entre o osso e os grânulos de hidroxiapatita.

PÀVEK et al. (1991) demonstraram o emprego do vidro bioativo como material de preenchimento em defeitos ósseos decorrentes de lesões císticas em humanos. Para este estudo 23 pacientes portadores de cistos mandibulares e maxilares foram avaliados após cirurgia de enucleação com preenchimento da cavidade por vidro bioativo. Através de acompanhamento radiográfico após 3, 6 e 12 meses, observaram que 75,7% dos casos exibiam imagens sugestivas de neoformação óssea, em 13,5% não era visível aposição óssea e em 10,8% notaram a perda dos grânulos da área cirúrgica. Os autores concluíram que o material apresentou excelentes propriedades de reparo e biocompatibilidade no tratamento de cavidades císticas em humanos, e não observaram alterações bioquímicas e hematológicas quando de sua utilização.

O vidro bioativo quando comparado à hidroxiapatita como material de preenchimento ósseo, demonstrou ser de melhor manipulação, facilitando as manobras de inserção e retenção do material no interior do defeito, além de possuir propriedade hemostática. Foi observada ainda uma completa restauração óssea do defeito, em um período de duas semanas, enquanto que a hidroxiapatita particulada alcançou o mesmo resultado somente após 12 semanas. **(OONISHI et al.,1997)**

O vidro bioativo também foi utilizado como material de preenchimento de defeitos ósseos periodontais em humanos. O material demonstrou ser efetivo como adjunto do procedimento cirúrgico convencional, assim como de fácil manipulação e excelente resposta tecidual com resultados estáveis por períodos

de 24 meses (ZAMET et al., 1997; LOVELACE et al., 1998; FROUM, WEINBERG & TARNOW, 1998).

SCHEPERS & DUCHEYNE (1997) avaliaram o vidro bioativo em grânulos de diferentes tamanhos e partículas e compararam com a hidroxiapatita como material de preenchimento de cavidades ósseas em cães. O tamanho das partículas do biovidro estudado variou entre 300-355 μ m e foi comparado com hidroxiapatita com partículas de aproximadamente 400-800 μ m. A análise histológica demonstrou maior propriedade osseocondutiva do vidro bioativo, com neoformação óssea estimulada também por crescimento ósseo internamente às partículas. Os autores concluíram que as reações de corrosão sofridas pelo vidro bioativo levaram à formação de tampão de proteção, sendo observada neoformação óssea no interior deste sem haver tecido ósseo fora destas partículas. Essas ilhas de neoformação óssea funcionam como núcleos para crescimento ósseo posterior e melhoram o processo de reparo do defeito.

O efeito do tamanho das partículas do vidro bioativo sobre o reparo ósseo de defeitos medulares foi estudado por **WHEELER et al. (1998)**. Dois biovidros foram testados com tamanho de partículas variando entre 90-710 μ m e 300-360 μ m de diâmetro. Os defeitos preenchidos com os materiais foram comparados ao grupo controle realizado em fêmures de coelhos com osso medular normal. Histologicamente maior quantidade óssea foi encontrada no período de 4 e 12 semanas para os defeitos preenchidos com partículas de 90-710 μ m e osso

medular quando comparado ao biovidro com partículas de 330-360µm. Biomecanicamente, os defeitos preenchidos com os dois vidros demonstraram valores de compressão semelhantes aos encontrados para o osso normal.

As técnicas de regeneração óssea guiada têm demonstrado ser efetivas no tratamento dos defeitos ósseos periimplantares, assim como na reconstrução previamente à colocação dos mesmos. A criação de um espaço sob a membrana para neoformação óssea é extremamente importante para se alcançar o sucesso no tratamento. Vários materiais e enxertos têm sido propostos com a finalidade de preencher os defeitos prevenindo o colapso da membrana, assim como através de suas propriedades levar a uma neoformação óssea (**SIMION et al., 1994**).

BECKER et al. (1992) avaliaram a regeneração óssea em implantes inseridos após exodontias com a utilização de membranas isoladamente ou em associação a fatores de crescimento, comparando-os com osso liofilizado. Os implantes foram inseridos em alvéolos de cães apresentando defeitos do tipo deiscência na região vestibular. Os resultados demonstraram que clinicamente a membrana isolada ou em combinação aos fatores de crescimento foram igualmente efetivas, havendo neoformação óssea nas áreas de defeitos. Histologicamente os defeitos protegidos com membrana e preenchidos com fatores de crescimento apresentaram maior formação óssea em comparação a utilização de osso liofilizado e membrana. Os autores questionaram o uso de osso liofilizado com a finalidade de preenchimento de defeitos de deiscência periimplantar e sugeriram a utilização de membranas isoladamente ou em

associação a fatores de crescimento como métodos potenciais para obtenção da regeneração óssea.

BECKER et al. em **1995**, realizaram estudo comparativo do uso de membrana isoladamente e em associação a osso liofilizado e enxerto ósseo autógeno, no tratamento de deiscências ósseas periimplantares em cães. Clinicamente os defeitos tratados unicamente com membrana apresentaram preenchimento ósseo de 4,2mm (80%), comparado à valores de 3,8mm (75%) observado com o uso de membrana em associação a osso liofilizado e 5,0mm (90%) para os defeitos preenchidos com osso autógeno. Concluíram que, histologicamente, havia presença de partículas ósseas não viáveis, sem atividade osteoblástica no local preenchido com osso liofilizado. Os autores concluíram que a utilização de membrana isoladamente ou associação a enxerto ósseo autógeno geraram os melhores resultados clínico e histológico, e que o osso liofilizado não era capaz de induzir formação óssea no tipo de defeito avaliado.

O uso de regeneração óssea guiada no tratamento de periimplantite com a utilização de membrana isoladamente ou associadas a enxertos e materiais de preenchimento foi avaliada por **HÜRZELER et al.** em **1995**. A periimplantite foi induzida por ligaduras e os tratamentos através do uso de debridamento em associação a hidroxiapatita reabsorvível, osso liofilizado e uso destes em associação a membrana foram comparados. Todos os grupos em que a técnica de regeneração óssea guiada foi utilizada apresentou melhores resultados com uma melhora na formação óssea do defeito preenchido. Não houve diferença

significante no uso da técnica de regeneração óssea isoladamente em relação à utilização desta em associação a materiais e enxertos como preenchimento. Os autores concluíram que a regeneração óssea guiada representa uma técnica com resultados previsíveis no tratamento de defeitos de periimplantite.

Em outro estudo **HÜRZELER et al. (1997)** reavaliaram a utilização da regeneração óssea guiada em associação a hidroxiapatita ou enxerto ósseo liofilizado no tratamento de periimplantite. Através de análise histológica, demonstraram que, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa no tratamento através do uso isolado de membrana, e deste em associação a materiais e enxertos sobre a regeneração óssea, foi observada uma melhora do resultado de osseointegração quando a técnica de regeneração guiada foi usada em associação. Os autores concluíram que a combinação de membranas com osso liofilizado ou hidroxiapatita absorvível representa o método de escolha no tratamento da periimplantite.

HENRY et al. (1997) estudaram a técnica de regeneração óssea em defeitos periimplantares do tipo deiscência em implantes submetidos a carga imediata pós exodontia em cães. Os defeitos foram protegidos somente com membrana de politetrafluoretileno expandido ou em combinação com preenchimento por enxerto ósseo autógeno. As avaliações clínicas e histológicas demonstraram que todos os implantes obtiveram osseointegração e nenhum implante foi perdido durante o período estudado de 16 semanas. Os defeitos protegidos somente por membrana apresentaram alta incidência de exposição da

mesma, o que tornou a resposta ao tratamento variável, com melhores resultados da neoformação óssea para os defeitos em que foi utilizado o enxerto como preenchimento.

MELLONIG, NEVINS & SANCHEZ (1998) demonstraram melhores resultados quando da utilização de membrana em associação a enxerto de osso liofilizado no tratamento de defeitos periimplantares do tipo deiscência em cães. Essa forma de tratamento obteve maior formação óssea em termos de contato com implante, altura e espessura. Os defeitos tratados somente com membrana absorvível ou sem proteção demonstraram resultados desfavoráveis. Os autores sugeriram que em defeitos do tipo não mantenedores de espaço, se faz necessário a utilização de enxerto como preenchimento, com a finalidade de evitar o colapso da membrana.

JOHNSON et al. (1997) realizaram um estudo piloto em tíbias de coelhos avaliando a utilização de vidro bioativo como material de preenchimento de defeitos periimplantares. Sete coelhos receberam quatro implantes de 3,3mm por 8mm de comprimento, sendo dois implantes em cada tíbia. Em três dos implantes inseridos foram realizados defeitos cirúrgicos do tipo deiscência adjacente ao aspecto coronal dos implantes, sendo que em dois desses implantes o defeito foi preenchido com vidro bioativo, e outro não recebeu material de preenchimento. O último implante foi colocado de maneira convencional, sem realização de defeito, e os animais foram sacrificados em períodos de 1,2,3,6,12 e 24 semanas. A análise histológica demonstrou formação osteóide periférica acompanhada de

deposição óssea no interior do defeito em direção à superfície do implante. Material osteóide e osso formaram-se ao redor das partículas do vidro. O osso neoformado alcançava a superfície do implante e o processo de osseointegração ocorreu com incorporação das partículas do vidro bioativo.

HALL et al., em **1999**, realizaram estudo comparativo do vidro bioativo e enxerto de osso liofilizado no tratamento de defeitos periimplantares em mandíbulas de cães. O objetivo dos autores foi avaliar e comparar o processo de reparo dos diferentes tipos de preenchimento em defeitos do tipo deiscência. Quatro implantes foram colocados sendo dois de cada lado da mandíbula em sete cães. Defeitos de três paredes foram criados na porção mesial dos implantes. Os defeitos foram preenchidos com osso liofilizado, vidro bioativo com partículas maiores, com tamanho variando entre 90-710 μ m, vidro bioativo com partículas menores (300-355 μ m) e um defeito servindo como grupo controle, não recebendo material de preenchimento. Os autores demonstraram estatisticamente, um maior contato entre osso e implante e uma maior porcentagem de ganho ósseo em altura do defeito quando da utilização de osso liofilizado comparado ao de vidro bioativo no tratamento de defeitos periimplantares.

SIMION et al. (1994) utilizaram modelo humano em estudo comparativo do uso de diferentes preenchimentos em defeitos periimplantares. Os autores utilizaram como preenchimento o osso autógeno em associação à membrana de politetrafluoretileno, membrana e osso liofilizado, membrana e matriz óssea de

origem bovina e compararam também com o uso isolado de membrana em implantes inseridos após exodontia. Os resultados histológicos demonstraram que as técnicas de regeneração guiada são capazes de produzir neoformação óssea com osseointegração. Entre os materiais empregados o osso autógeno apresentou maior densidade e quantidade, entretanto os autores concluíram que a utilização de membrana em associação aos enxertos de osso liofilizado e matriz óssea bovina, também demonstraram bons resultados clínicos em relação a utilização da membrana isoladamente.

Uma revisão da literatura a respeito da utilização de regeneração óssea guiada em humanos foi publicada por **MELLONIG & NEVINS**, em **1995**, e os autores concluíram que os defeitos periimplantares de fenestração e deiscência, quando do tipo não mantenedores de espaço, necessitam da utilização de técnicas de regeneração óssea combinados ao uso de preenchimento. Afirmaram que o osso autógeno representa uma terapia de sucesso no tratamento desses defeitos, assim como preconizam também, o uso de matriz óssea de origem animal no tratamento de defeitos periimplantares. Os materiais aloplásticos não apresentaram bons resultados, representando, segundo os autores, aqueles de menor utilização no tratamento destes defeitos.

SIMION, TRISI & PIATTELLI (1996) avaliaram histologicamente e através de análise histoquímica um implante retirado de um indivíduo de 54 anos após quatro anos de carga. Este implante foi colocado inicialmente em alvéolo após remoção de elemento dentário e tratado com membrana e preenchimento com

osso liofilizado. Em função da fratura do parafuso, este foi removido e submetido a análises. Através de estudo histológico foi observado que a maioria das partículas ósseas tinham sido reabsorvidas e substituídas por osso vital. O osso neoformado tinha aparência compacta com largos canais harversianos, entretanto resíduos do osso liofilizado foram observados. Neste estudo os autores concluíram que o osso liofilizado é substituído lentamente e sua reabsorção é incompleta após um período de 4 anos. Do ponto de vista clínico os autores relataram que a capacidade de suportar cargas funcionais do osso neoformado com utilização de técnicas de regeneração óssea e osso liofilizado foi semelhante à do osso normal.

MERAW *et al.* (2000) estudaram o uso de fatores de crescimento em associação às técnicas de regeneração óssea guiada no tratamento de defeitos perimplantares. Uma combinação de proteína óssea morfogenética tipo 2, fator de crescimento beta transformante, fator derivado de plaquetas e fator de crescimento fibroblástico básico usados em associação à veículo de cimento de fosfato de cálcio bioabsorvível, todos usado em associação a membranas de colágeno. Os sítios dos implantes foram confeccionados, e previamente à colocação dos mesmos, foram confeccionados defeitos circulares de 1,5mm. Estes foram preenchidos com os diferentes materiais e comparados com o grupo controle, preenchido somente com coágulo e protegido pela membrana. Os autores concluíram que a associação de proteína morfogenética do osso tipo 2 e

barreira determinaram a maior neoformação óssea e contato osso-implante nos grupos estudados.

3. PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho foi realizar um estudo comparativo de materiais de preenchimento ósseo sobre o processo de regeneração óssea guiada em defeitos perimplantares do tipo fenestração, realizados em fêmur de coelhos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi submetido à Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, e aprovado de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Ética na Experimentação Animal (**APÊNDICE 1**).

4.1. ANIMAIS E ANESTESIA

Para este estudo foram utilizados 20 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, fêmeas, com idade variando entre 7 a 9 meses e peso médio de 3,5 kg. Os animais foram mantidos durante o período experimental com alimentação sólida¹ e água à vontade.

Injeção subcutânea de atropina² 0,50 mg na dose de 0.08 mg/kg, foi realizada cerca de 15 minutos antes da realização da anestesia, com finalidade de prevenir a bradicardia causada pela xilazina. A via intramuscular profunda foi utilizada para indução anestésica, através da injeção de mistura de quetamina³ e solução aquosa a 2% de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4-H-1,3-tiazin⁴ em partes iguais na dosagem de 0,1 ml a cada 200g de peso vivo (**MASSONE, 1994**).

¹ Ração sítios e Quintais – Purina nutrimentos

² Sulfato de atropina - Ariston

³ Francotar – Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda.

⁴ Rompum – Bayer S.A.- Saúde Animal

Durante o procedimento cirúrgico, anestesia local complementar de cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstrictor⁵ foi administrada por infiltração no músculo para os casos em que foram percebidos sinais de dor.

4.2. IMPLANTES

Foram utilizados 40 implantes do tipo cilíndrico de pressão⁶ de superfície usinada, apresentando 6mm de comprimento e diâmetro de 2,6mm. Todos confeccionados em titânio comercialmente puro, grau de pureza de 99,65%, segundo informações do fabricante. Os implantes apresentavam três sulcos regulares transversais em forma de V, semelhantes a roscas de parafuso.

4.3. MEMBRANA NÃO REABSORVÍVEL

Neste estudo foi empregada membrana não reabsorvível⁷, desenvolvida a partir de um produto empregado como pele artificial em pacientes com queimaduras e perdas cutâneas. É uma membrana biológica constituída por camadas. A parte interna do produto é composta por uma rede de microfibrilas de celulose cristalina, composta de camadas de lamelas celulósicas que conferem rigidez e corpo à membrana.

⁵ Cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstrictor® - ASTRA Química e Farmacêutica Ltda.

⁶ INP - Sistemas de Implantes Nacionais e de Próteses Comércio Ltda.

⁷ Gengiflex® -Biofill Produtos Biotecnológicos S.A. - Curitiba - PR

4.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Profilaxia antibiótica foi administrada, cerca de 15 minutos antes do procedimento cirúrgico, através da utilização de Pentabiótico Veterinário⁸ - pequeno porte, em dose única de 1ml, por via intramuscular profunda.

Foi realizada tricotomia da porção interna do fêmur, bilateralmente, e antissepsia com solução alcoólica de polivinilpirrolidona a 10%. O campo operatório foi isolado através da aposição de campos estéreis descartáveis.

Foi realizada incisão de aproximadamente 4cm na face ventral do fêmur com lâmina nº 15⁹ montada em cabo de bisturi tipo Barder-Parker nº 3, seguida de divulsão do plano muscular subjacente até o nível do periósteo que também foi incisado, descolado e mantido afastado com afastadores de Farabeuf.

Para a realização da perfuração do leito implantar utilizou-se de brocas seriadas montadas em contra-ângulo redutor 16:1¹⁰, acoplado a um motor elétrico¹¹ com mostrador digital de torque e velocidade. A velocidade de trabalho utilizada foi de 1500 rotações por minuto, com torque de 36Ncm.

Iniciou-se o preparo da perfuração através de broca tipo lança com 1,8mm de diâmetro e 6mm de comprimento, seguida de broca tipo espada com sulcos de escape para deposição e saída de esquirolas ósseas com 2,6mm de diâmetro e

⁸ Laboratórios Wyeth Ltda.

⁹ Feather Safety Razor C.D., Ltda Medical Division - Japan

¹⁰ NSK E 16R Nakanishi Dental MFG. C.O., Ltda - Japan

¹¹ BLM 500 – VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda.

6mm de comprimento (**Figura 1**). Todas as perfurações foram realizadas sob irrigação externa com solução salina de cloreto de sódio a 0,9%¹².

Após a realização do leito e previamente à inserção do implante, foi confeccionado, com broca espada de 2,6mm de diâmetro (**Figura 2**), na face medial do fêmur um defeito ósseo circular em comunicação com o leito implantar em eixo de aproximadamente 90⁰, simulando desta maneira um defeito do tipo fenestração.

Posteriormente à confecção do defeito, o implante foi removido do seu invólucro e manualmente inserido em seu leito através de dispositivo plástico, permitindo colocação inicial sem o contato com o mesmo. Após estabilização inicial do implante, o dispositivo plástico foi removido e um instrumento do tipo "bate implante" foi adaptado à cabeça do cilindro (**Figura 3**) e com o auxílio de martelo cirúrgico o parafuso foi inserido completamente até a região do colar.

¹² Frasenius Laboratórios Ltda

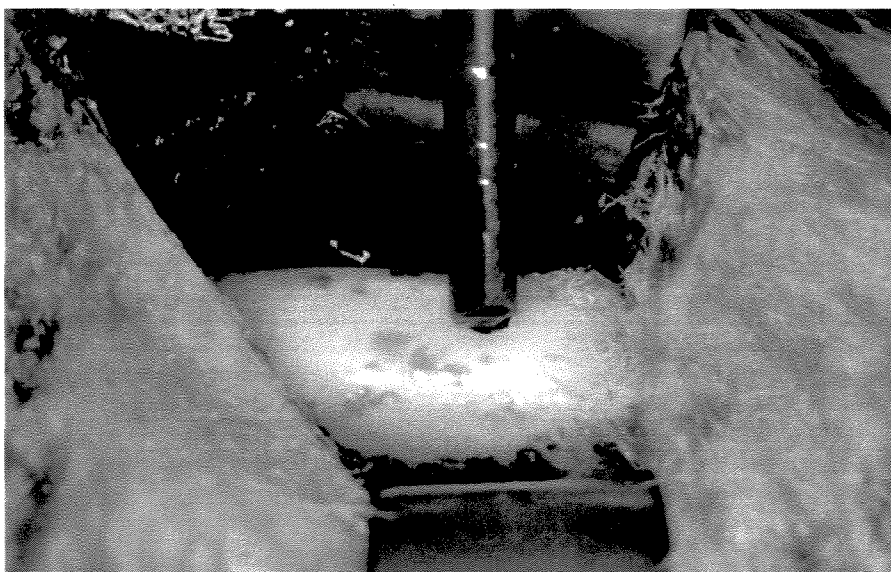


FIGURA 1. Perfuração na porção superior do fêmur para inserção do implante, realizado com a broca de 2,6mm.

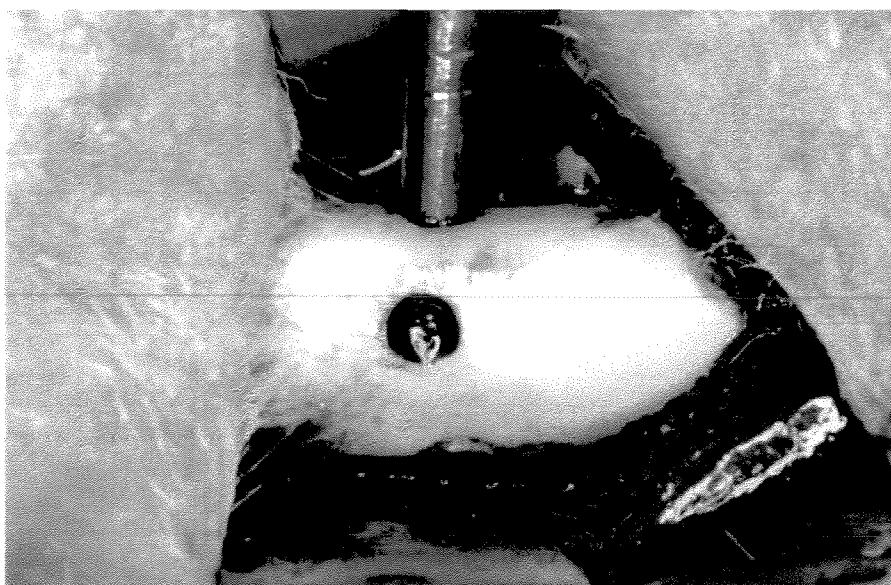


FIGURA 2. Confeção do defeito de fenestração, notar ângulo de 90° com perfuração inicial.

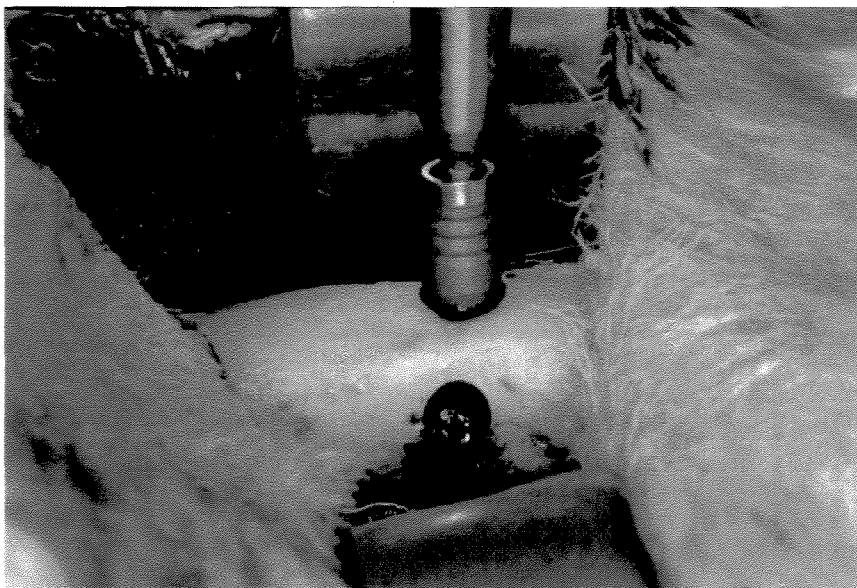


FIGURA 3. Inserção inicial do implante com auxílio de bate implante e martelo cirúrgico.

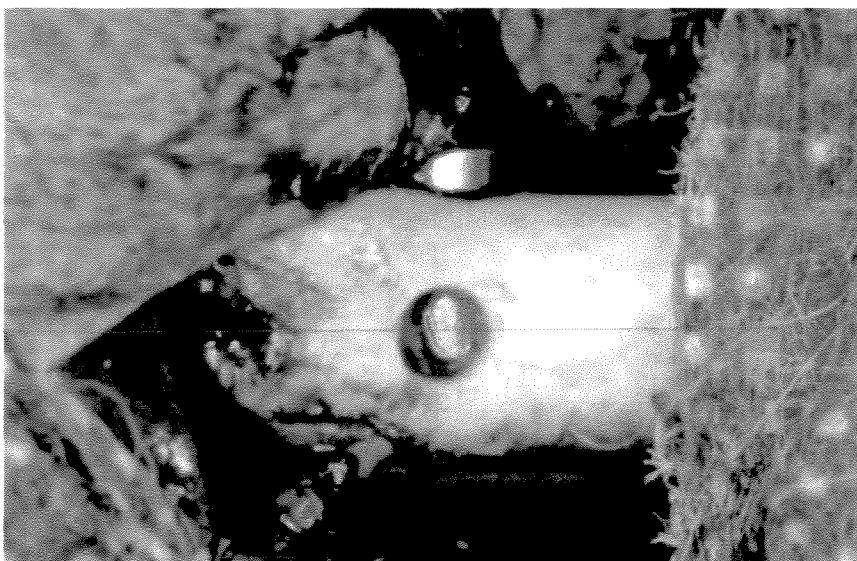


FIGURA 4. Defeito do tipo fenestração, mostrando superfície do implante.

Cada fêmur recebeu um implante, e após sua inserção o defeito foi irrigado com o objetivo de remover esquirolas ósseas, e preenchido de acordo com o grupo estudado (**Figura 4**).

Os grupos osso autógeno de 3 e 6 semanas tiveram os defeitos preenchidos por osso cortical e medular presentes nas brocas e coletor ósseo, provenientes das perfurações para realização do leito implantar.

Os defeitos dos grupos osso liofilizado de 3 e 6 semanas foram preenchidos por matriz óssea desmineralizada, congelada e seca, de origem humana¹³, que foram hidratadas em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% previamente a sua inserção.

Os grupos vidro bioativo de 3 e 6 semanas receberam preenchimento por vidro bioativo¹⁴, composto por sais de cálcio, fósforo, sais de sódio e silício e com tamanho de partículas variando entre 90-710µm. Previamente à inserção, o material foi imerso em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%.

Os grupos coágulo de 3 e 6 semanas serviram como controle do experimento e foram somente preenchidos por coágulo sangüíneo (**Figura 5**).

A etapa seguinte, após preenchimentos dos defeitos, foi a proteção dos mesmos com as membranas, de forma a cobrir toda a área, estendendo-se cerca de 7mm sobre as margens ósseas (**Figura 6**). O perióstio foi delicadamente

¹³ DEMBONE - Pacific Coast Tissue Bank.

¹⁴ Perioglas® - Usbiomaterials Corporation

reposicionado, de forma a permitir cobertura total e estabilização da membrana e os planos superficiais suturados com fio de nylon 4-0 ¹⁵ **(Figura 7)**.



FIGURA 5. Preenchimento do defeito por coágulo.

¹⁵ Mononylon Ethicon - Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda.

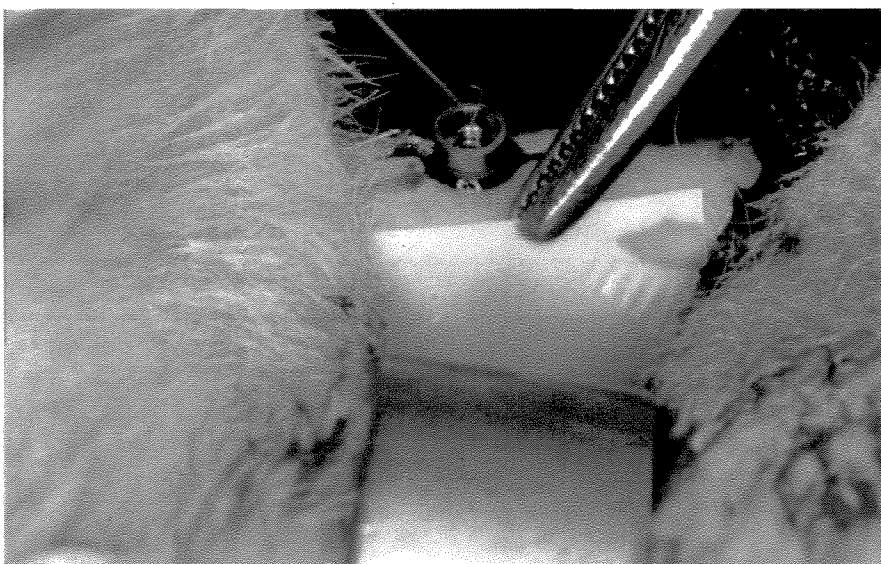


FIGURA 6. Adaptação da membrana estendendo-se além das margens do defeito.



FIGURA 7. Fechamento primário do retalho.

4.5. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS E PREPARO HISTOLÓGICO

Os animais foram sacrificados com overdose endovenosa de pentobarbital sódico¹⁶, nos períodos de 3 e 6 semanas, com um total de 5 animais de cada grupo por período de sacrifício.

Os blocos contendo os implantes foram removidos, através de osteotomia com broca tronco-cônica 701, sob irrigação com solução fisiológica de cloreto de sódio. As osteotomias foram realizadas com margem de 7mm de distância de cada lado da área operada. As amostras foram fixadas em solução de paraformaldeído 4%¹⁷ em tampão fosfato por um período de 24 horas, posteriormente lavadas em água corrente por um período de 24 horas e descalcificadas em solução de citrato de sódio a 20%¹⁸ e ácido fórmico a 50%¹⁹ em partes iguais (**MORSE, 1945**). Trocas das soluções a cada 24 horas foram realizadas durante um período de 52 dias, obtendo consistência para processamento.

Ao final do processo de descalcificação, cada fragmento contendo os implantes foram submetidos a seccionamento longitudinal, com corte passando pelo centro da área do implante, e incluindo também, a área do defeito ósseo circular. Os implantes foram então removidos delicadamente de seus respectivos leitos e submetidos às etapas de processamento laboratorial.

¹⁶ Hypnol 3% Fontoveter. Divisão Veterinária de Cristália – Produtos químicos Farmacêuticos Ltda.

¹⁷ Polycienes, INC. Warrington, P.A.

¹⁸ Citrato de Sódio – Synth, Produtos para Laboratórios Ltda. Diadema – São Paulo.

¹⁹ Ácido Fórmico- Chemco, Indústria e Comércio Ltda. Campinas – São Paulo

As peças foram lavadas em água corrente, durante cinco horas, desidratadas em solução crescente de álcool etílico²⁰, diafanizadas em xilol²¹ e incluídas em parafina²².

Cortes seriados, com 6µm de espessura, foram realizados longitudinalmente à região dos defeitos ósseos, corados com hematoxilina-eosina²³, e analisados em microscópio óptico comum²⁴.

4.6. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Foi avaliada através de análise histológica descritiva a intensidade da reação inflamatória, assim como a seqüência dos eventos que envolveram a regeneração óssea na área do defeito, tais como: necrose, atividade osteoclástica, hemorragia, presença de tecido conjuntivo, infiltrado inflamatório e aposição de tecido ósseo neoformado.

²⁰ Álcool Santa Cruz.Comercial de álcool Santa Cruz Ltda

²¹ Xilo (P.A.) – Chemco Indústria e Comércio Ltda. Campinas - SP

²² Paraplast® plus – Labware – St. Louis - USA

4.7. ANÁLISE HISTOMÉTRICA

Na análise histométrica foi utilizado um microscópio óptico²⁵ com objetiva para aumento de 200 vezes, adaptado à uma câmera de vídeo²⁶. As imagens capturadas foram transferidas para um computador²⁷ e analisadas por meio de programa²⁸ (**Figura 8**).

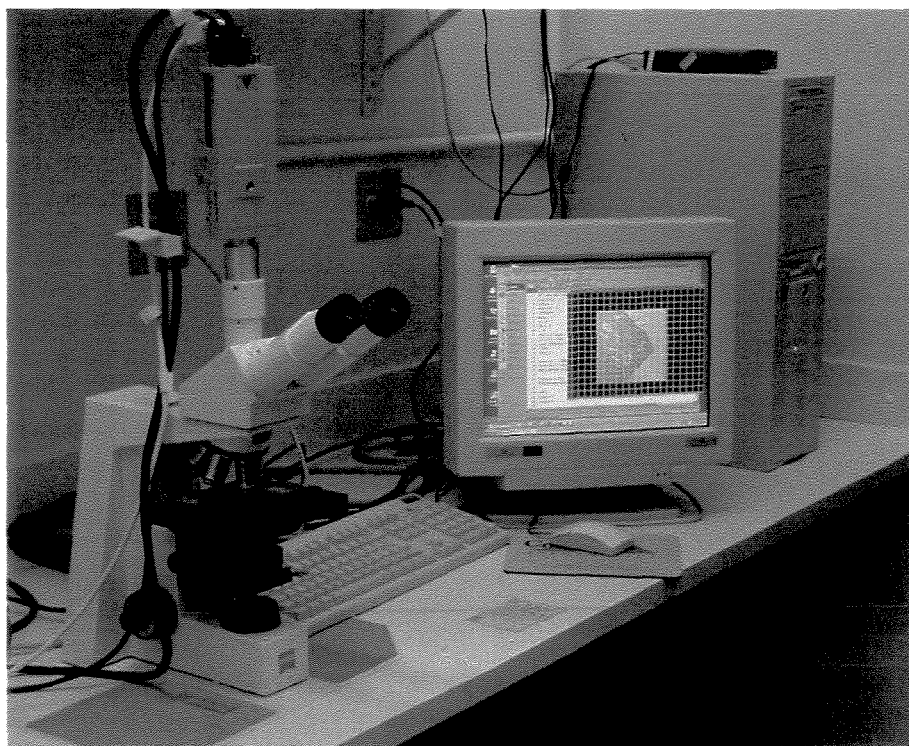


FIGURA 8. Câmera acoplada a microscópio ótico e computador.

²³ E. Merck. Ag. Damarsta dt - Germany

²⁴ Carl Zeiss Products, Germany.

²⁵ Axiolab - ZEISS

²⁶ Sony - Hiper

²⁷ Pentium 166Mhz

²⁸ Kontron Elektronik – Imaging system – KS 400

Foi estabelecido uma “macro”, ou seja, um conjunto de funções que permite executar automaticamente a seleção das imagens, a definição das condições da morfometria e a execução da medida, através do analisador de imagens.

A imagens foram captadas pelo sistema e visualizadas no monitor, que realizou a normalização e congelamento destas. Uma vez seleccionadas, foi sobreposto às mesmas um retículo de 100 pontos de 10 x 10 μ m, denominado de grade de intersecção. Para análise histométrica foi empregado o sistema de contagem de pontos que recaiam sobre o osso neoformado nas áreas de intersecções das linhas horizontais e verticais do retículo (**Figura 9**).

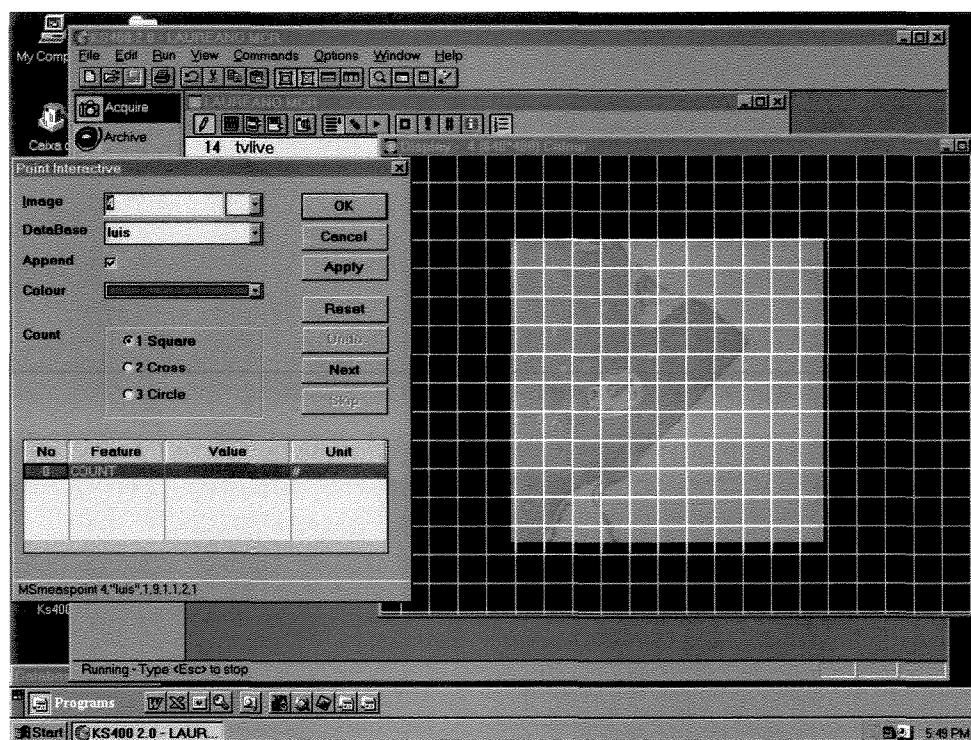


FIGURA 9. Retículo de 100 pontos sobreposto a imagem histológica.

A determinação do número de pontos a serem contados em cada grupo, foi estabelecida através do sistema teste de 100 pontos, por meio da fórmula para erro padrão relativo.

$$EPR = \sqrt{\frac{(1 - V_v)}{N}}$$

EPR = Erro Padrão relativo

V_v = Densidade de volume da estrutura em análise

N = Número de pontos a serem contados

Para nossas condições experimentais a densidade de volume (V_v), ou seja fração de volume ocupada por um objeto numa determinada estrutura foi igual a 100%. Como em bioestatística o índice de significância aceito, α é de 0,05 (probabilidade de 95%), este valor foi atribuído ao EPR. Dessa forma:

$$0,05 = \sqrt{\frac{(1 - 10)}{N}}$$

$$0,0025 = \frac{9}{N} \quad N = 3600$$

Os 3600 pontos são os que deveriam ser contados, utilizando-se do cálculo do número de pontos corrigidos, uma vez que a densidade de volume da estrutura em análise foi de 10, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$N_{\text{corrigido}} = \frac{N_{\text{calculado}}}{V_v}$$

$$N_{\text{corrigido}} = \frac{3600}{10} = 360$$

Escolheu-se aleatoriamente quatro lâminas de cada grupo de preenchimento em cada período pós-operatório. Todas as lâminas selecionadas continham cortes seriados de 6µm de espessura. Foram analisadas as partes centrais dos defeitos, onde 360 pontos de intersecções foram contados para cada grupo nos diferentes períodos de sacrifício, avaliando-se a presença de tecido ósseo.

5. RESULTADOS

5.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA

As avaliações histológicas foram realizadas nas peças processadas após a remoção dos implantes e, seguiram uma seqüência de regiões no sentido súpero-inferior: região periosteal, região do osso cortical, região do endósteo e região medular.

5.1.1 PERÍODO DE 03 SEMANAS PÓS-OPERATÓRIA

5.1.1.1 GRUPO COÁGULO

Região Periosteal

Neste período notamos espessamento na região periosteal, com atividade osteogênica (proliferação e diferenciação), assim como aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical óssea pré-existente e neoformação óssea próxima a interface osso/implante (**Figura 10**).

Em algumas amostras este osso neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de seu trabeculado, observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo à interface com o implante, notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

Região do Osso Cortical

A região cortical junto à interface osso/implante apresentou um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos

em “V” do implante. Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 11**).

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com poucos espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme.

Região de Endósteo

Nesta região observamos a presença de atividade proliferativa e uma neoformação óssea de superfície ondulada, em razão dos sulcos em “V” do implante, com presença de trabéculas ósseas entremeadas por tecido conjuntivo frouxo (**Figura 12**).

Em algumas amostras observamos que entre o osso neoformado e o osso pré-existente havia uma área de tecido com coloração basofílica, o que parece ser área de necrose superficial, entretanto isto não foi um achado histológico constante.

Em toda a extensão da interface ocorreu a presença de vasos sangüíneos e centros de ossificação.

Região Medular

Esta região apresentou uma predominância absoluta de tecido adiposo ricamente celularizado e uma pequena quantidade de células precursoras.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical (**Figura 13**).

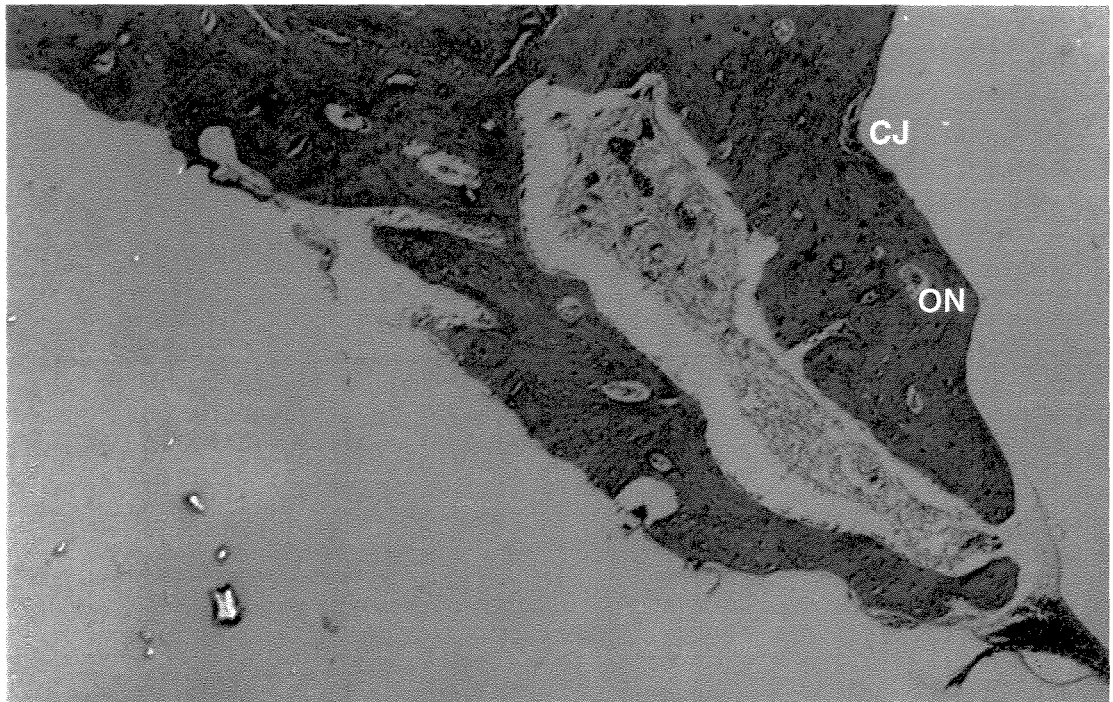


FIGURA 10. Grupo Coágulo – 3 semanas de pós-operatório – Região periosteal- H.E. 125x. Osso neoformado com padrão homogêneo. Notar junto à interface osso neoformado (ON) e tecido conjuntivo (CJ).

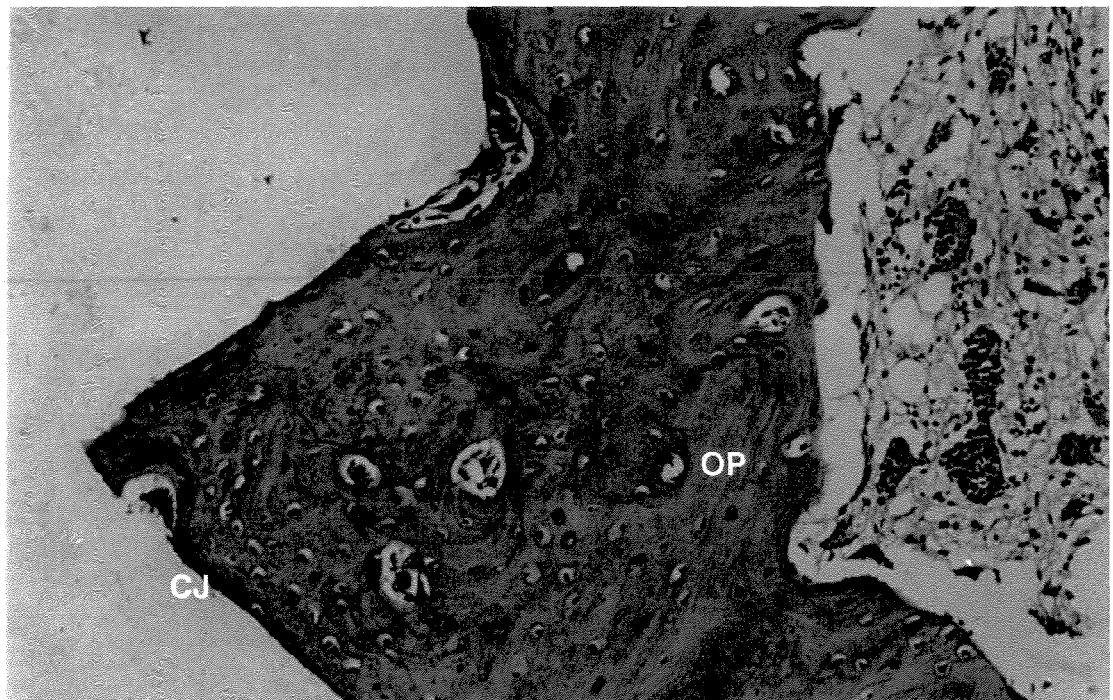


FIGURA 11. Grupo Coágulo – 3 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical. H.E. 200x. Osso cortical pré-existente (OP) com padrão compacto. Notar presença de osso neoformado e fina camada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

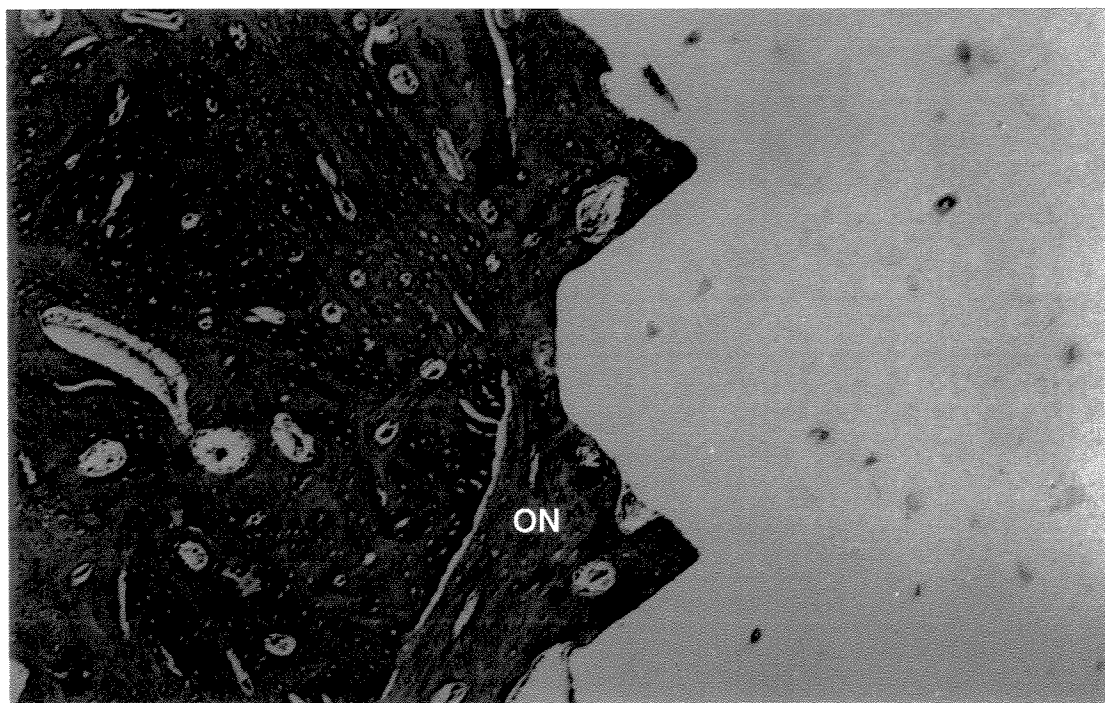


FIGURA 12. Grupo Coágulo - 3 semanas de pós-operatório -Região de endóteo- H.E.125x. Processo de osteogênese bastante estimulado. Notar formação óssea (ON) preenchendo os sulcos em “v” do implante.

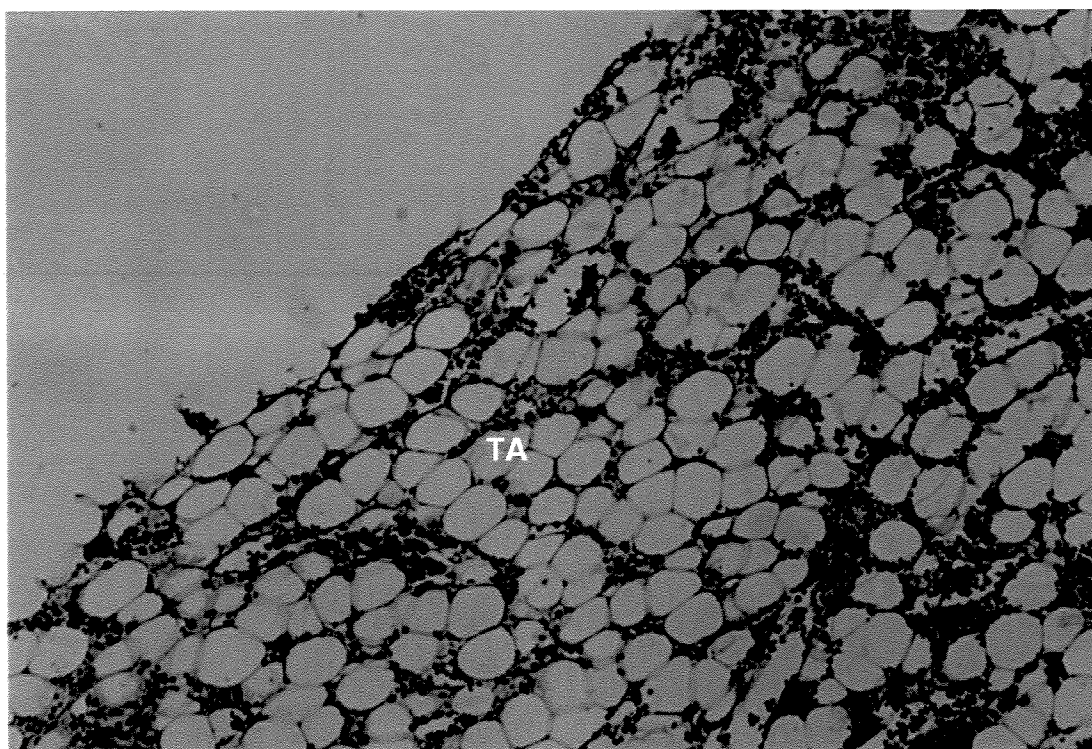


FIGURA 13. Grupo Coágulo – 3 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E.200x. Predomínio de tecido adiposo (TA) ricamente celularizado.

5.1.1.2 GRUPO OSSO AUTÓGENO

Região Periosteal

Neste período ocorreu um espessamento da região periosteal que se encontrou envolvida em atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea.

Em algumas amostras pudemos observar que este osso neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de seu trabeculado tínhamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo a interface com o implante, notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso **(Figura 14)**.

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical era nítido, apresentando diferenças na coloração e no trabeculado de sua matriz óssea.

Região do Osso Cortical

Nesta região ocorreu junto à interface osso/implante um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso **(Figura 15)**.

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com poucos espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme. No interior de algumas trabéculas notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

Em algumas amostras observamos que entre o osso neoformado e o osso pré-existente havia uma área de tecido com coloração basofílica, o que parece ser área de necrose superficial, entretanto isto não foi um achado histológico constante.

Região de Endósteo

Observamos uma neoformação óssea junto aos sulcos em “V” do implante, onde notamos um processo de osteogênese com trabéculas ósseas entremeadas por tecido conjuntivo frouxo. Junto a este trabeculado notamos a presença do material (osso) implantado. O limite entre o osso neoformado e o pré-existente era nítido (**Figura 16**).

Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo fibroso.

Região Medular

Esta região apresentou uma predominância absoluta de tecido adiposo ricamente celularizado e uma pequena quantidade de células precursoras.

Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical (**Figura 17**).

Também nesta região foi possível observar a presença de material (osso) na sua porção mais superior, próximo a região de endósteo.

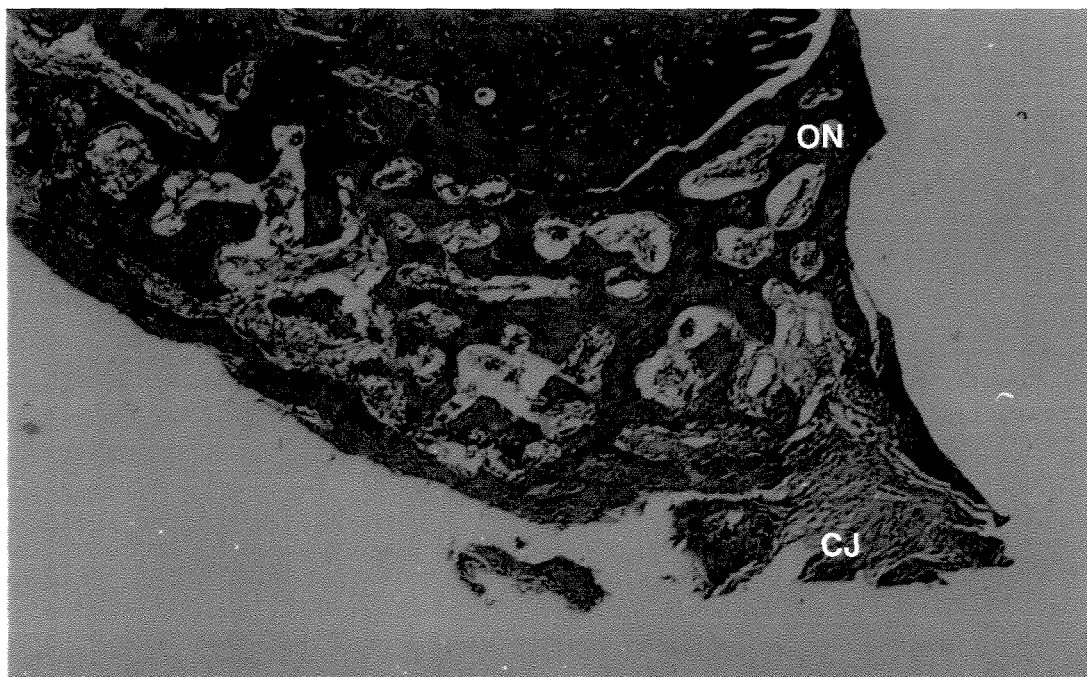


FIGURA 14. Grupo Osso autógeno – 3 semanas de pós-operatório – Região periosteal – H.E. 125x. Presença de tecido conjuntivo (CJ) sobre osso cortical pré-existente (OP) e áreas de neoformação óssea (ON).

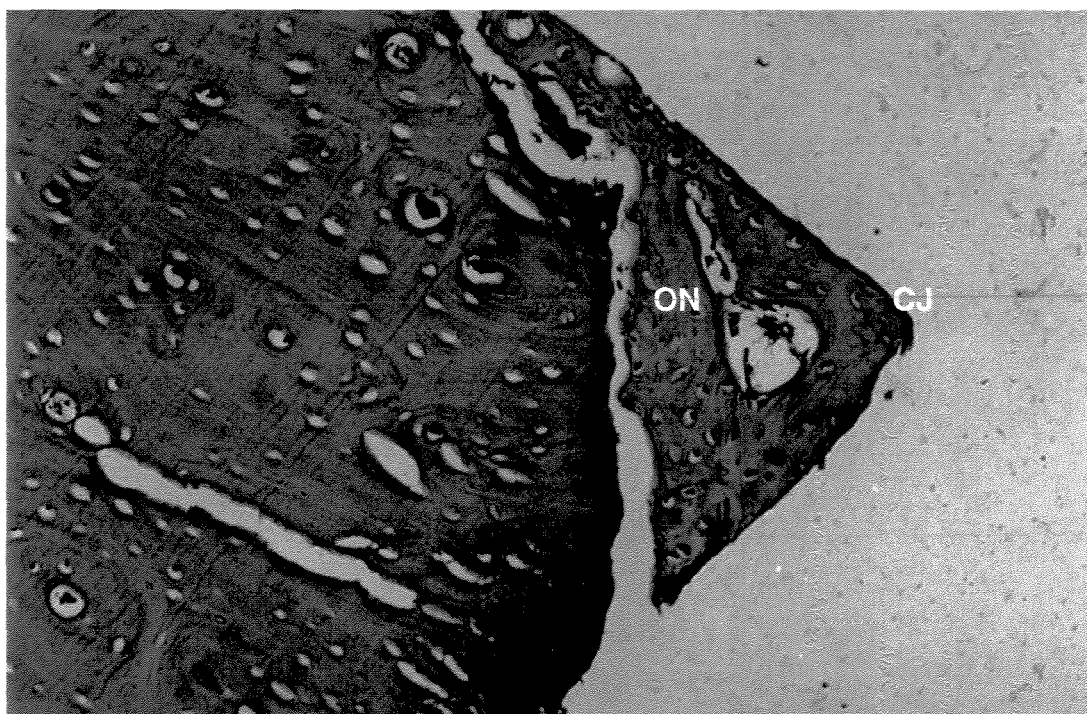


FIGURA 15. Grupo Osso autógeno – 3 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical - H.E. 200x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) de superfície ondulada. Notar camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ) na interface osso/implante.

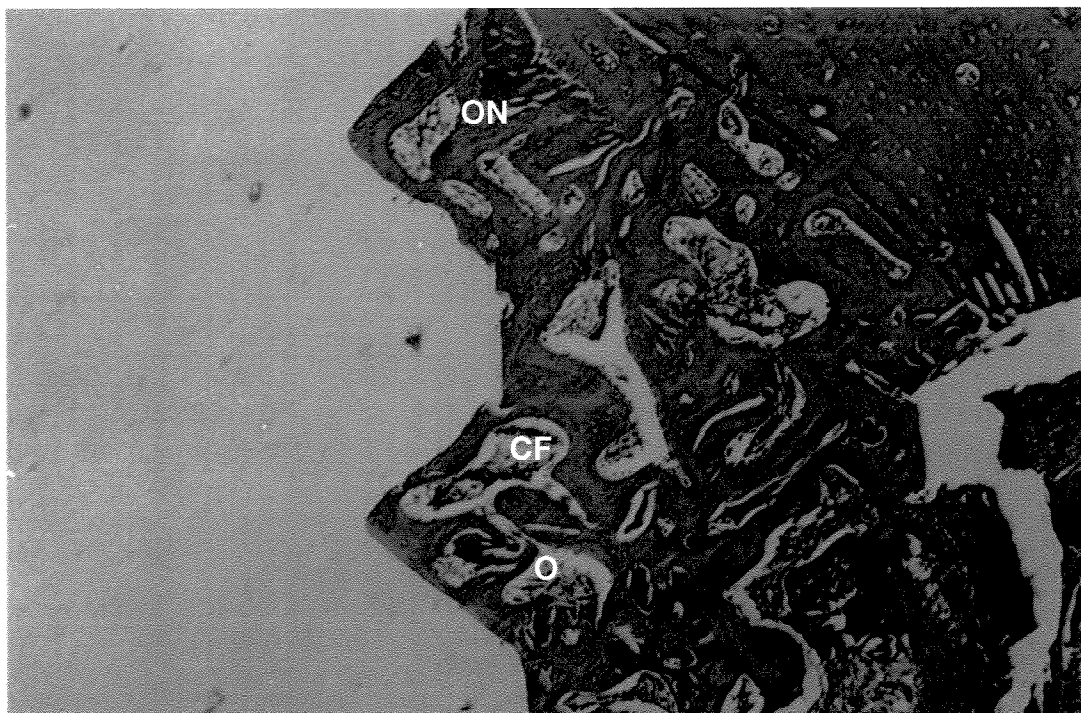


FIGURA 16. Grupo Osso autógeno – 3 semanas de pós-operatório – Região de endósteo – H.E. 125x. Tecido ósseo neoformado (ON) com trabéculas ósseas entremeadas por tecido conjuntivo frouxo (CF). notar presença partículas ósseas (O).

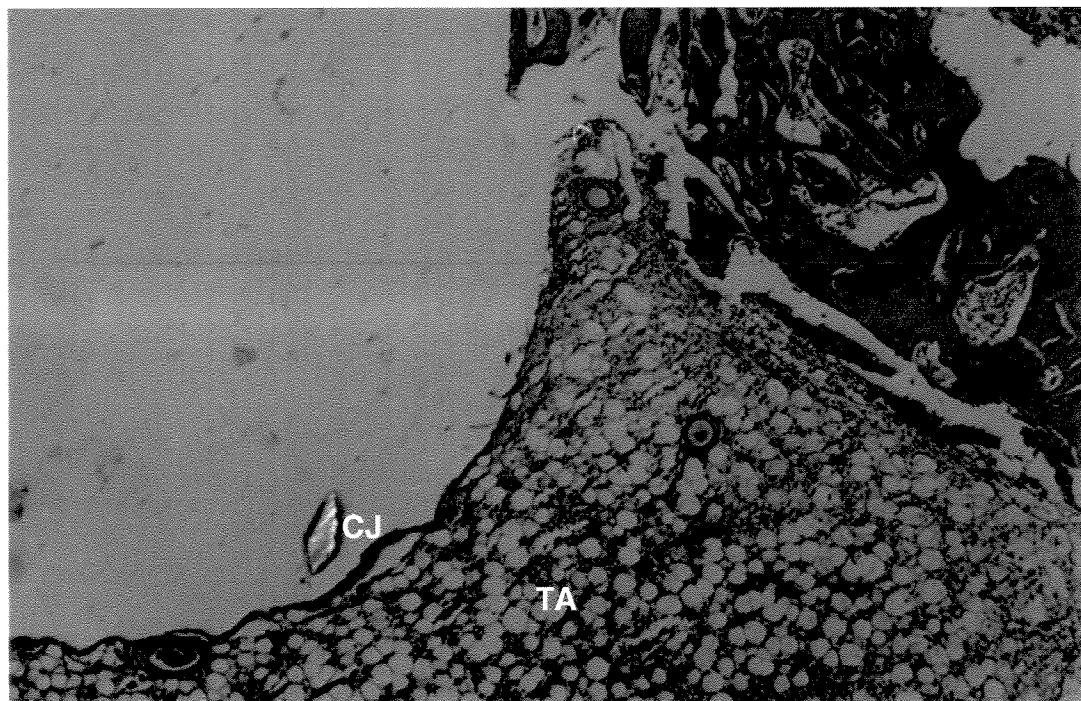


FIGURA 17. Grupo Osso autógeno – 3 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E. 125x. Presença de tecido adiposo ricamente celularizado (TA). Notar tecido conjuntivo fibroso (CJ) próximo à porção apical do implante.

5.1.1.3 GRUPO VIDRO BIOATIVO

Região Periosteal

Os cortes histológicos deste grupo exibiram espessamento na região periosteal, com atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea (**Figura 18**).

O osso neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de seu trabeculado observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo à interface com o implante, notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical era nítida, apresentando diferenças na coloração e no trabeculado de sua matriz óssea.

Região do Osso Cortical

A região cortical junto à interface osso/implante apresentou um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 19**).

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com alguns espaços lacunares envoltos por células osteogênicas, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme.

Região de Endósteeo

Nesta região observamos a presença de atividade proliferativa e uma neoformação óssea de superfície ondulada, em razão dos sulcos em “V” do implante, com presença de trabéculas ósseas entremeadas por tecido conjuntivo frouxo. Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 20**).

O limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado, separados pela linha cimentante, era nítido.

Em toda a extensão da interface ocorreu a presença de vasos sangüíneos e centros de ossificação.

Região Medular

Esta região apresentou uma predominância absoluta de tecido adiposo ricamente celularizado e uma pequena quantidade de células precursoras.

Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical.

Nas porções superior e média desta região observamos a presença de osso neoformado e do material implantado (vidro bioativo) (**Figura 21**).

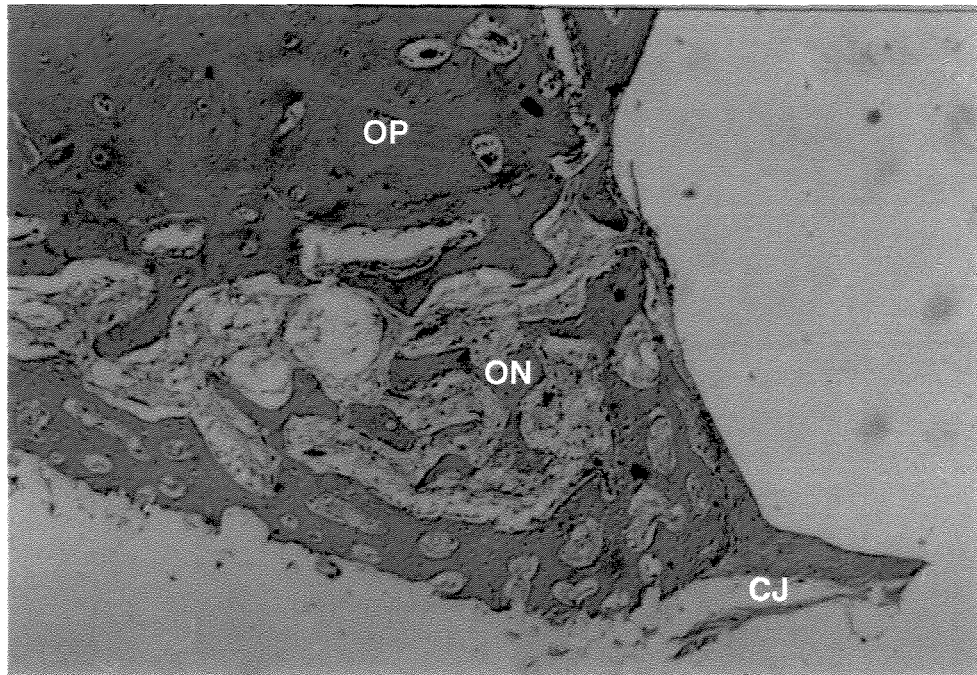


FIGURA 18. Grupo Vidro bioativo – 3 semanas de pós-operatório – Região periosteal – H.E. 125x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON). Notar presença de tecido conjuntivo fibroso (CJ) sobre osso cortical pré-existente (OP)

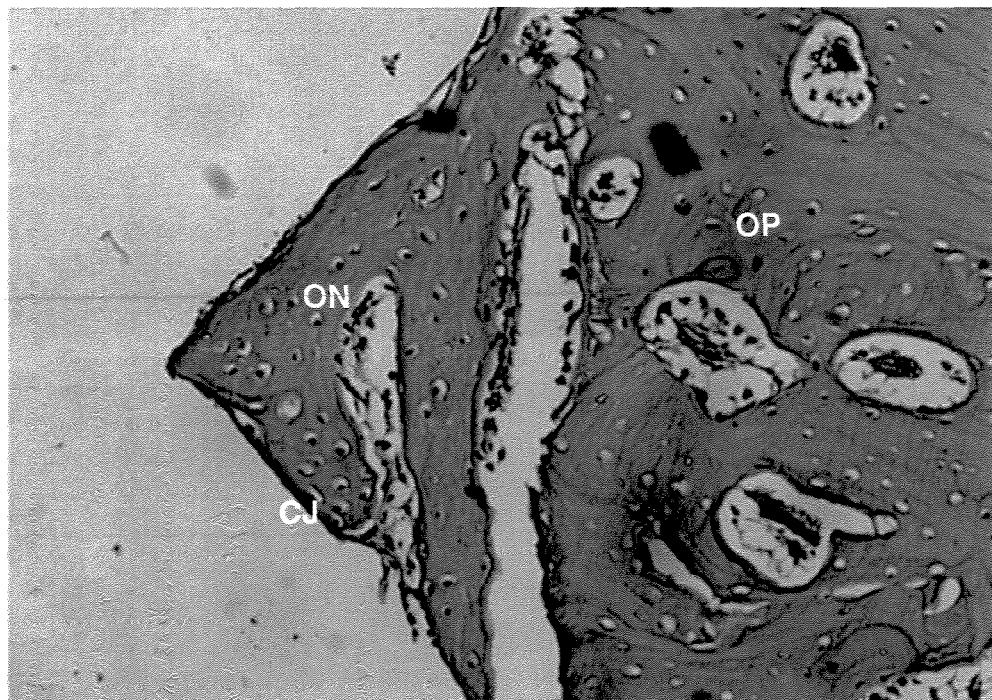


FIGURA 19. Grupo Vidro bioativo – 3 semanas de pós-operatório. Região de osso cortical – H.E. 200x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON). Notar camada de tecido conjuntivo fibroso (CJ) junto a interface osso/implante. Tecido ósseo pré-existente (OP).

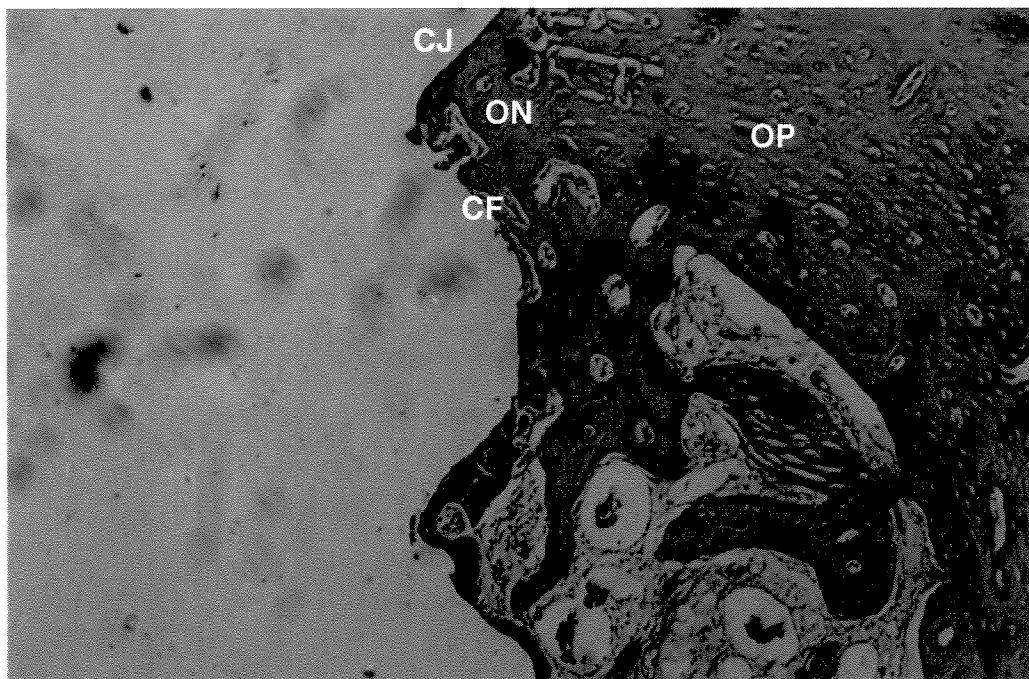


FIGURA 20. Grupo Vidro bioativo – 3 semanas de pós-operatório – Região de endóstio H.E. 125x. Tecido ósseo (ON) de superfície ondulada. Presença de áreas de tecido conjuntivo frouxo (CF) e camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ). Tecido ósseo pré-existente (OP).

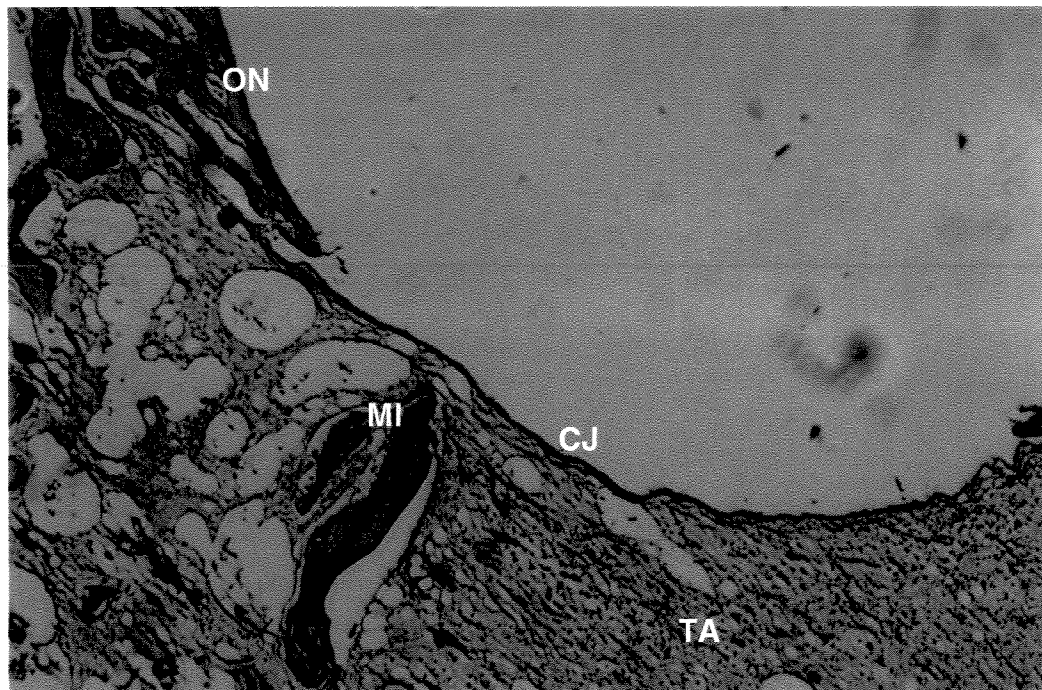


FIGURA 21. Grupo Vidro bioativo – 3 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E. 125x. Presença de tecido adiposo (TA) bastante celularizado. Notar camada de tecido conjuntivo fibroso (CJ). Área de neoformação óssea (ON) e presença do material implantado (MI).

5.1.1.4 GRUPO OSSO LIOFILIZADO

Região Periosteal

Notamos a presença de uma atividade osteogênica promovendo um espessamento desta região que resultou em uma aposição de tecido conjuntivo fibroso e de trabéculas ósseas neoformadas sobre a cortical pré-existente (**Figura 22**).

Este tecido ósseo neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de suas trabéculas tínhamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo à interface osso/implante notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

Embora apresentassem pequena diferença de coloração, o limite entre a região periosteal e o osso cortical era nítido, em razão da diferença de trabeculado, visto que o primeiro apresentava-se com trabeculado mais amplo e o segundo era mais compacto.

Região do Osso Cortical

Nesta região ocorreu um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 23**).

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com alguns espaços lacunares que continham em seu interior tecido conjuntivo frouxo,

sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme.

Região de Endósteo

Observamos um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado espessamento de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo fibroso.

Notamos que essa região encontrava-se preenchida por tecido ósseo neoformado entremeado por tecido conjuntivo frouxo (**Figura 24**).

Observamos o osso neoformado a partir do endósteo com crescimento alcançando até o terceiro sulco do implante, sendo que neste sulco havia a presença de tecido conjuntivo, junto à região da interface osso/implante e algumas áreas de ossificação.

Principalmente na região mais inferior do endósteo e área do terceiro sulco, notamos a presença de partículas do material implantado (osso liofilizado).

Região Medular

Esta região apresentou áreas de neoformação óssea entremeadas por tecido conjuntivo frouxo e células adiposas, com predomínio dessas últimas (**Figura 25**).

As porções superior e média da região medular encontravam-se preenchidas por tecido ósseo neoformado, que nos pareceu proveniente da região do endóstio. Entre estas trabéculas ósseas neoformadas, notamos a presença de tecido conjuntivo e medular.

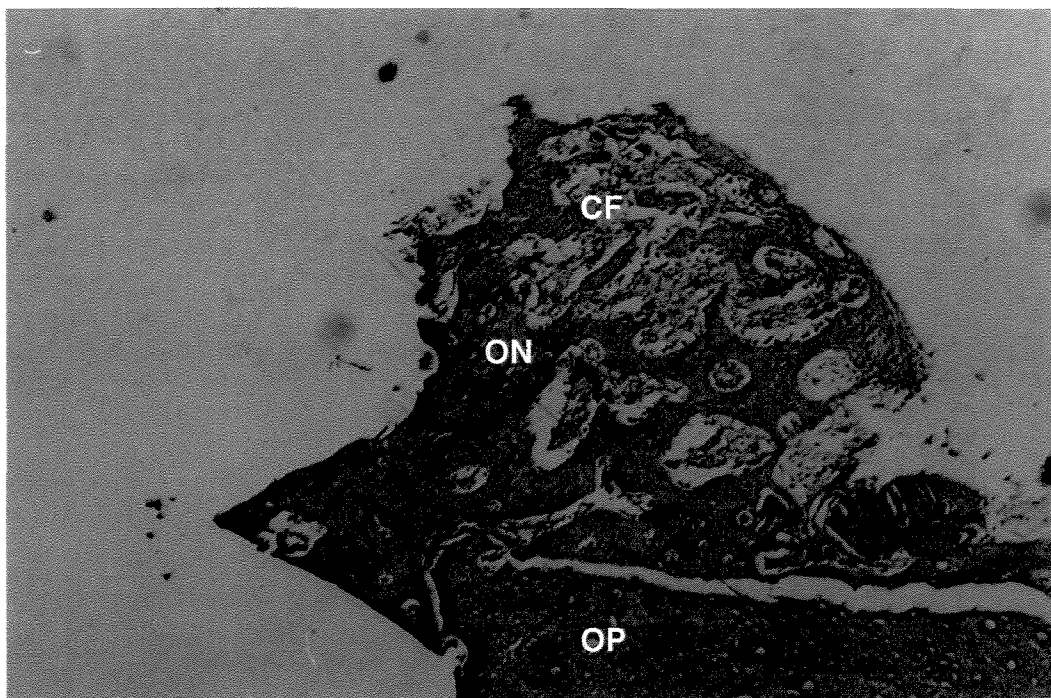


FIGURA 22. Grupo Osso liofilizado – 3 semanas de pós-operatório – região periosteal – H.E. 125x. Trabéculas ósseas neoformadas (ON) com aposição de tecido conjuntivo frouxo. Notar região de tecido ósseo pré-existente.

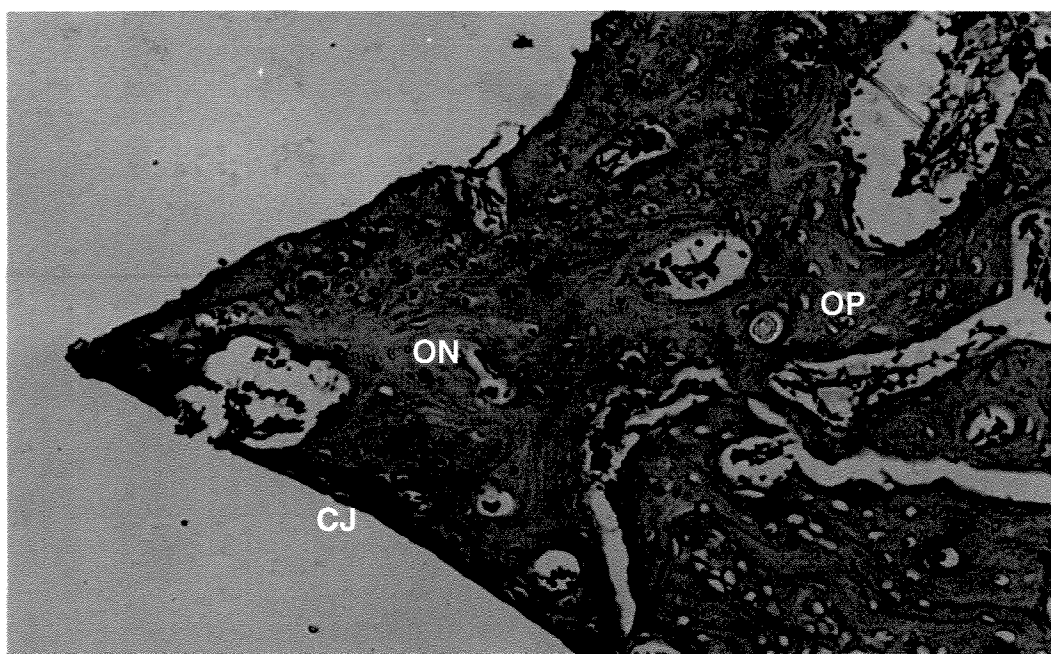


FIGURA 23. Grupo Osso liofilizado - 3 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical – H.E. 200x. Tecido ósseo neoformado de superfície ondulada (ON). Notar camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ) e presença de tecido ósseo pré-existente (OP)

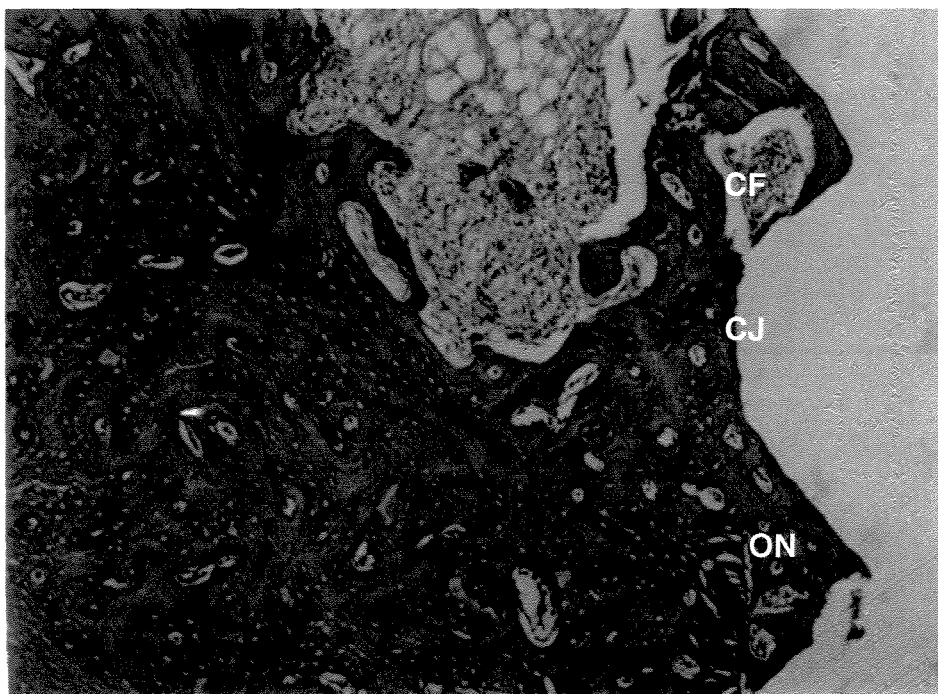


FIGURA 24. Grupo Osso liofilizado – 3 semanas de pós-operatório – Região do endóstio – H.E. 125x. Notar presença de tecido ósseo de superfície ondulada (ON) com presença de tecido conjuntivo frouxo (CF). Camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ). Tecido ósseo pré-existente (OP).

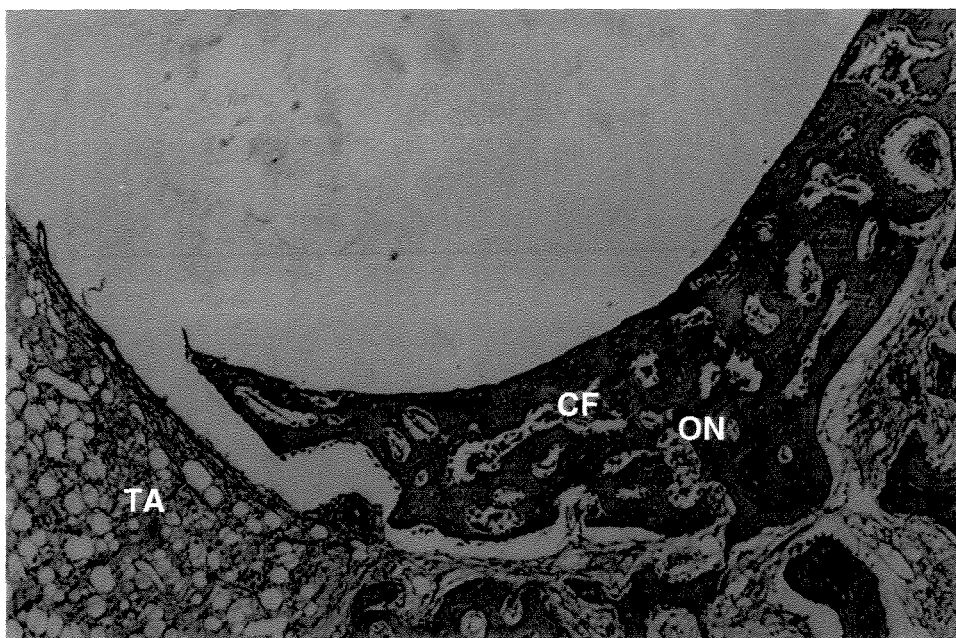


FIGURA 25. Grupo Osso liofilizado - 3 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E. 125x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) entremeado por tecido conjuntivo frouxo (CF). Notar presença de tecido adiposo celularizado (TA).

5.1.2. PERÍODO DE 06 SEMANAS PÓS-OPERATÓRIA

5.1.2.1 GRUPO COÁGULO

Região Periosteal

Os cortes histológicos deste grupo exibiram espessamento na região periosteal, com atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea de característica mais madura em relação ao período anterior, embora não apresentasse uma distribuição homogênea das lacunas dos osteócitos (**Figura 26**).

Em algumas amostras este osso neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de seu trabeculado observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo à interface com o implante, notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical ainda era nítido.

Região do Osso Cortical

A região cortical junto à interface osso/implante apresentou um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto à interface osso/implante observamos presença de fina camada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 27**).

Neste período, observamos uma maior organização na neoformação óssea onde ainda era possível observar a diferença entre o osso neoformado e o osso pré-existente, sendo que o primeiro apresentava espaços trabeculares com presença de tecido conjuntivo frouxo em seu interior.

Junto a interface osso/implante notamos a presença de osso neoformado e de uma camada de tecido conjuntivo adjacente ao metal.

A diferença de coloração da matriz óssea pré-existente em relação a matriz óssea neoformada, já não era tão evidente.

Região de Endósteo

Observamos um espessamento da camada do endósteo próximo aos sulcos em “V” do implante, onde havia presença de um processo de osteogênese bastante estimulado. O tecido ósseo neoformado apresentou uma organização quase total, com aspecto histológico semelhante ao do osso pré-existente. Porém, ainda era possível observar a presença da linha cimentante entre o osso pré-existente e o osso neoformado (**Figura 28**).

Os três sulcos em “V” do implante apresentavam-se preenchidos por tecido ósseo neoformado, porém, havia uma desigualdade na formação óssea nesses sulcos. O terceiro sulco apresentava tecido ósseo com menor compactação do que o dos outros dois primeiros sulcos.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma fina camada de tecido conjuntivo fibroso.

Região Medular

Esta região apresentou uma predominância absoluta de tecido adiposo ricamente celularizado e uma pequena quantidade de células precursoras.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical (**Figura 29**).

Na área próxima ao endóstio (porção mais superior da região medular) notamos a presença de tecido ósseo neoformado e algumas áreas de tecido conjuntivo fibroso.

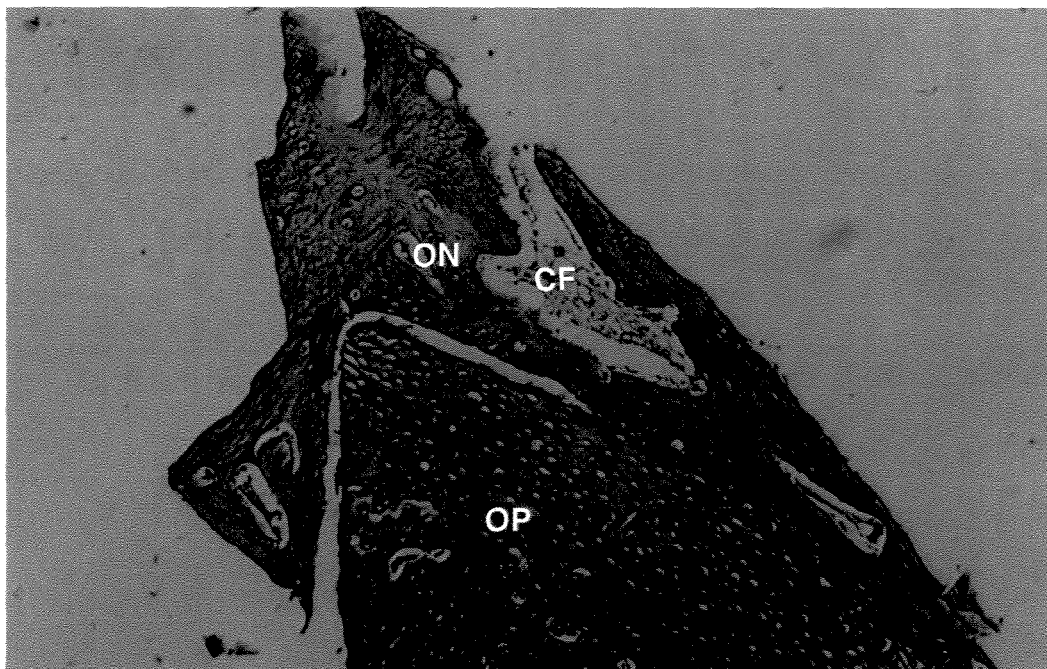


FIGURA 26. Grupo Coágulo – 6 semanas de pós-operatório – Região periosteal – H.E. 125x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) sobre o osso pré-existente (OP) e áreas de tecido conjuntivo frouxo (CF).

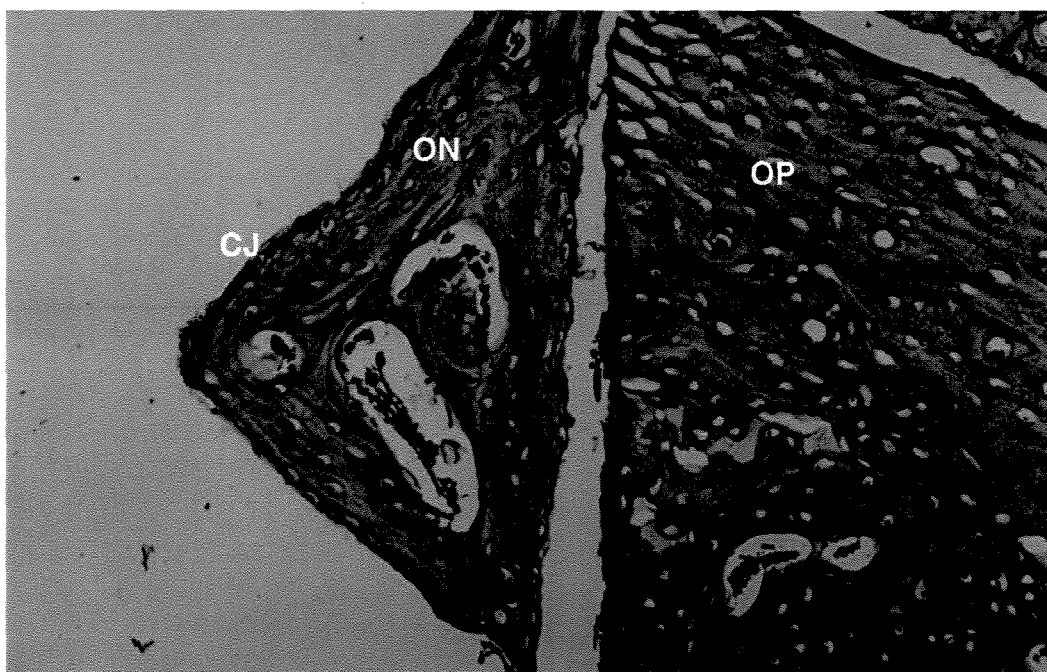


FIGURA 27. Grupo Coágulo – 6 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical – H.E. 200x. Área de tecido ósseo neoformado (ON) com camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ). Notar área de tecido ósseo pré-existente (OP).

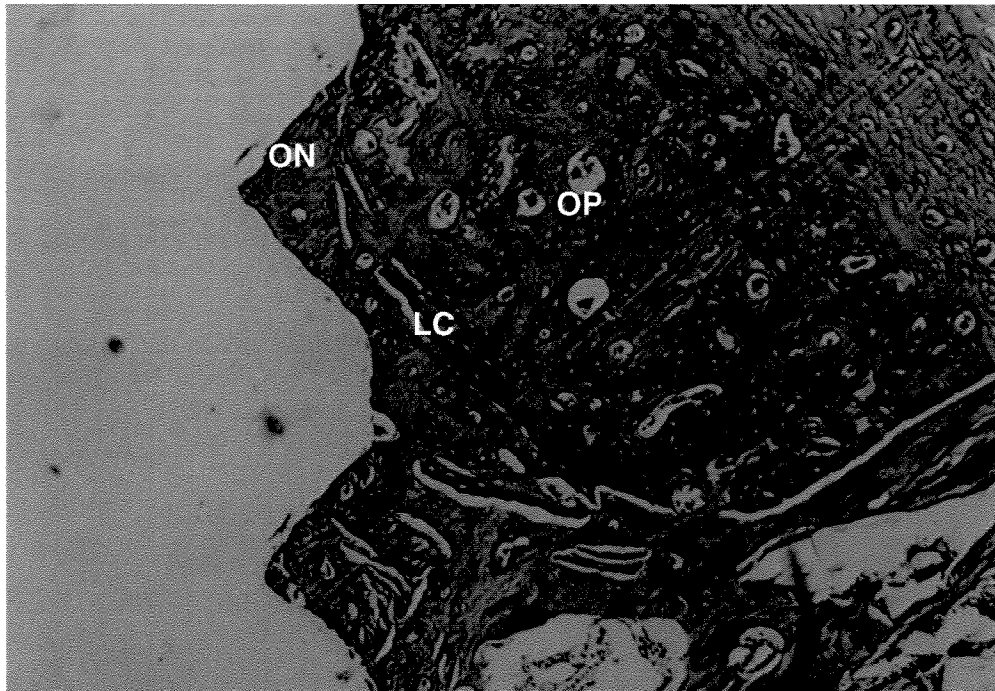


FIGURA 28. Grupo Coágulo – 6 semanas de pós-operatório – Região de endóstio – H.E. 125x. Tecido ósseo neoformado (ON) com semelhança histológica ao osso pré-existente (OP). Linha cimentante (LC) entre tecido ósseo neoformado e pré-existente.

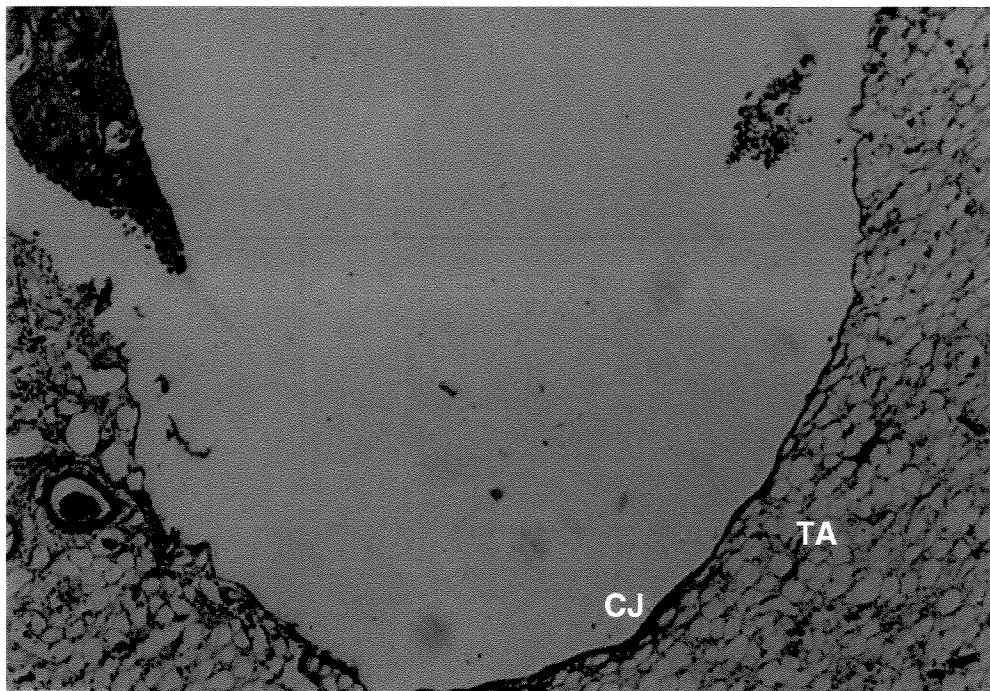


FIGURA 29. Grupo Coágulo – 6 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E.125x. Notar tecido adiposo (TA) ricamente celularizado. Camada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

5.1.2.2 GRUPO OSSO AUTÓGENO

Região Periosteal

Os cortes histológicos deste grupo exibiram espessamento na região periosteal, com atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea de característica mais madura em relação ao período anterior, porém, ainda apresentava lacunas preenchidas por tecido conjuntivo frouxo (**Figura 30**).

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical era nítido, apresentando pequena diferença na coloração e no trabeculado de sua matriz óssea.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso.

Região do Osso Cortical

A região cortical junto a interface osso/implante apresentou um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 31**).

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com poucos espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme, apresentando característica de osso mais maduro do que quando comparado com o período anterior.

A linha cimentante entre o osso pré-existente e o osso neoformado e a diferença de coloração entre ambos já não é nítida.

Região de Endósteo

Nesta região observamos a presença de um processo de osteogênese bastante estimulado onde notamos um tecido ósseo neoformado com características mais maduras quando comparado com o período anterior, apresentando poucos espaços lacunares e coloração homogênea.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo fibroso (**Figura 32**)

Região Medular

Esta região apresentou-se bastante celularizada, vascularizada e com um processo de osteogênese bastante acentuado, onde pudemos observar um predomínio de trabéculas ósseas neoformadas entremeadas por tecido conjuntivo frouxo (**Figura 33**)

A área mais superior da região medular apresentou crescimento de tecido ósseo neoformado mais compacto quando comparado com as regiões média e apical. Quanto maior o afastamento em relação à interface osso/implante menor a quantidade de trabeculado ósseo e suas células precursoras.

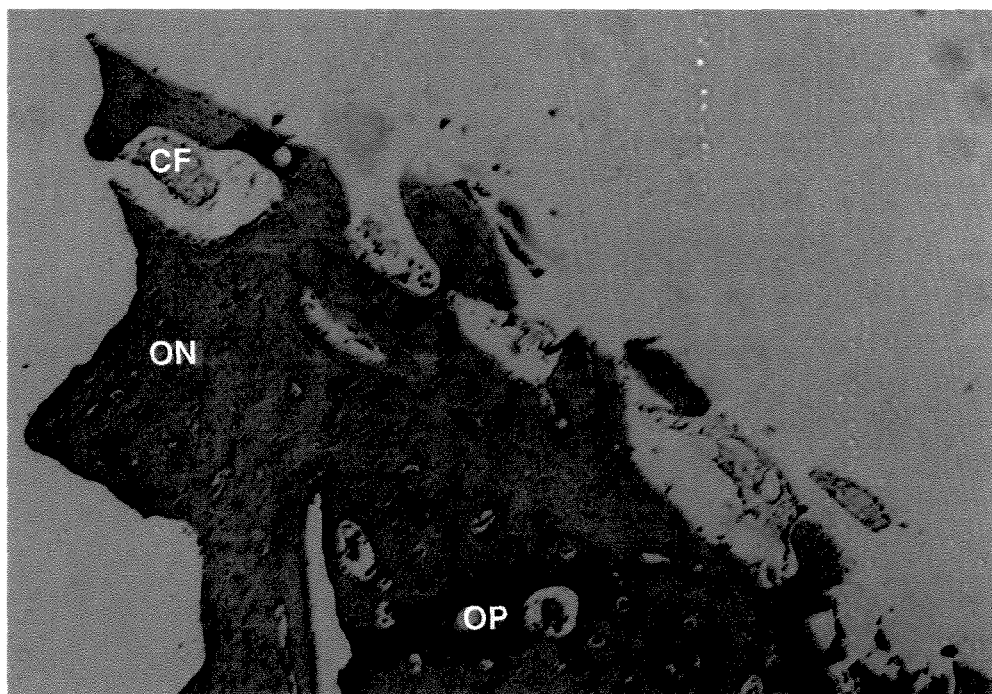


FIGURA 30. Grupo Osso Autógeno - 6 semanas de pós-operatório - Região periosteal - H.E. 125x. Tecido ósseo neoformado (ON) com áreas de tecido conjuntivo frouxo (CF). Tecido ósseo pré-existente (OP).

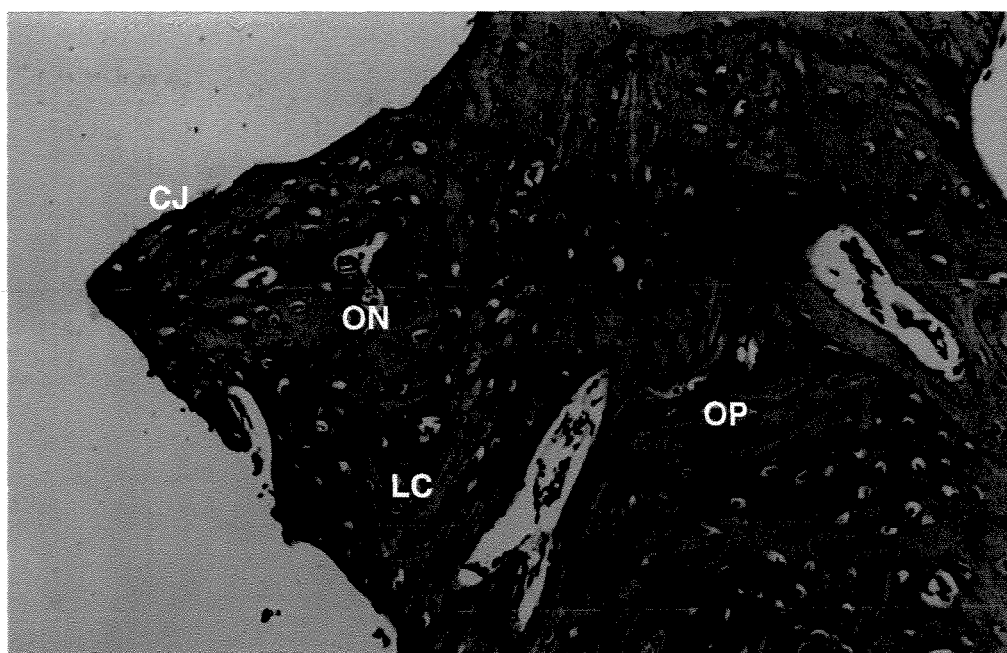


FIGURA 31. Grupo Osso Autógeno - 6 semanas de pós-operatório - Região de osso cortical - H.E. 200x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) de superfície ondulada. Linha cimentante (LC) entre o tecido ósseo neoformado e o pré-existente (OP). Camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

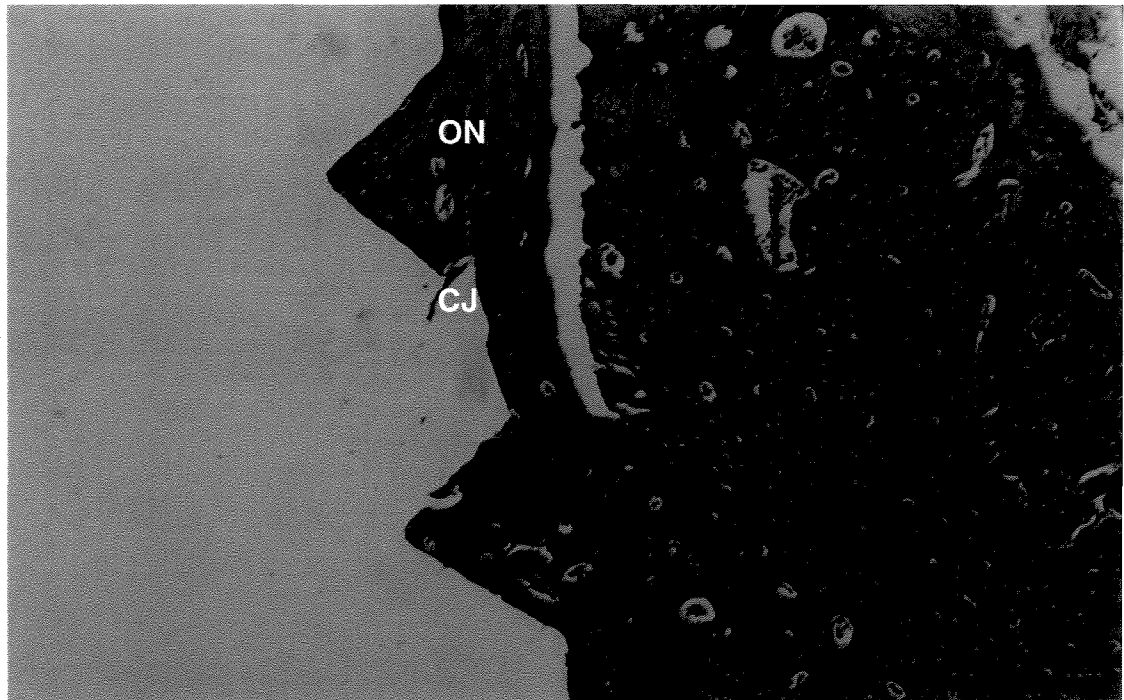


FIGURA 32. Grupo Osso Autógeno - 6 semanas de pós-operatório - Região de endósteo - H.E.125x. Tecido ósseo neoformado (ON) com poucos espaços lacunares. Camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

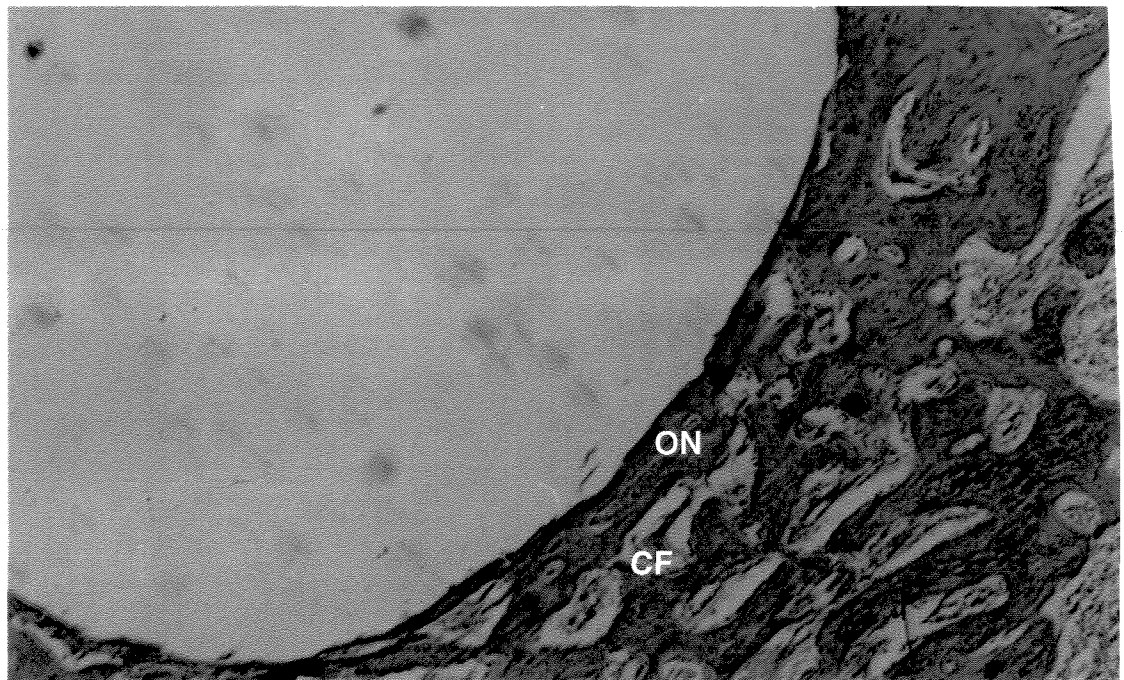


FIGURA 33. Grupo Osso Autógeno - 6 semanas de pós-operatório - Região medular. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) entremeado por tecido conjuntivo frouxo (CF).

5.1.2.3 GRUPO VIDRO BIOATIVO

Região Periosteal

Os cortes histológicos deste grupo exibiram espessamento na região periosteal, com atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea (**Figura 34**).

Em algumas amostras este osso neoformado apresentava-se bem vascularizado e celularizado, sendo que no interior de seu trabeculado observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo e, próximo à interface com o implante, notamos a presença de tecido conjuntivo fibroso.

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical era nítido, apresentando diferenças no trabeculado de sua matriz óssea.

Região do Osso Cortical

A região cortical junto à interface osso/implante apresentou um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso.

Notamos a presença de linha cimentante entre o tecido ósseo neoformado e o osso pré-existente.

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com poucos espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme.

Ainda era possível observar a presença do material implantado (vidro bioativo).

Região de Endósteo

Notamos um espessamento da camada do endósteo próximo aos sulcos do implante onde havia presença de processo de osteogênese bastante estimulado. Observamos uma quase total organização do tecido ósseo neoformado, que apresentou um aspecto histológico semelhante ao do osso pré-existente. Porém, ainda era possível observar a presença da linha cimentante entre ambos (**Figura 36**).

Principalmente na região do terceiro sulco, ainda era possível notar a presença do material implantado (vidro bioativo).

Junto à interface osso/implante observamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso.

Região Medular

Esta região apresentou-se bastante celularizada, vascularizada e com núcleos de ossificação próximos à interface osso/implante.

A área mais superior da região medular apresentou crescimento do tecido ósseo neoformado, com trabéculas ósseas contendo em seus interiores, tecido conjuntivo frouxo (**Figura 37**).

Em algumas amostras, observamos formação óssea junto à região apical do implante. Nesta mesma região, notamos a presença de tecido conjuntivo frouxo, embora quanto maior o afastamento em relação à interface osso/implante, maior era a quantidade de células adiposas e menor a quantidade de tecido conjuntivo frouxo.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical.

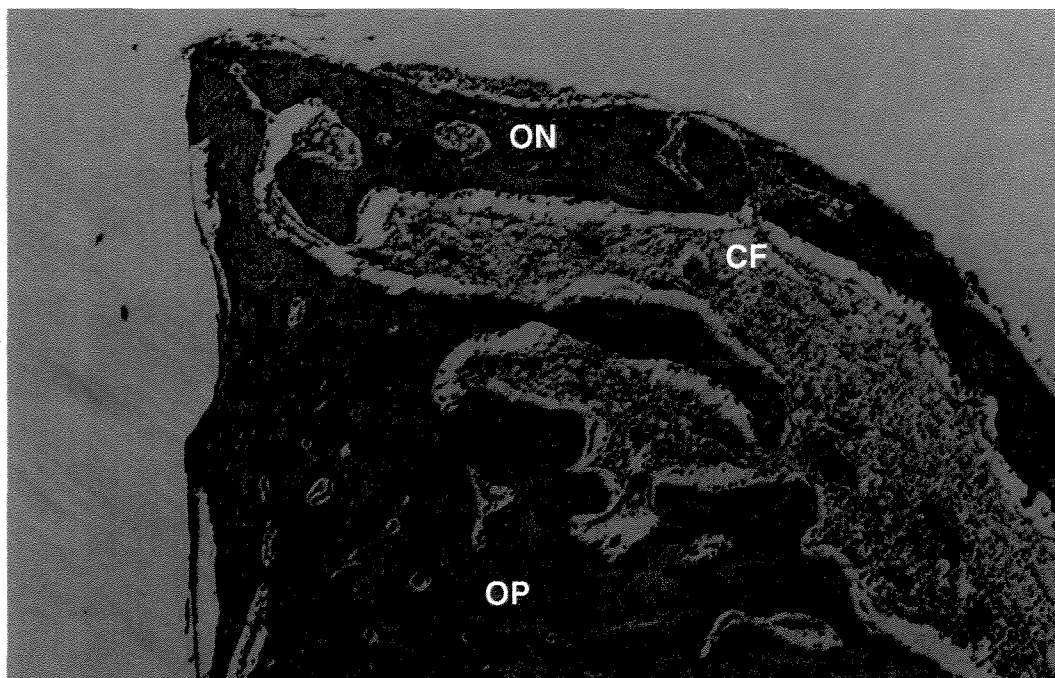


FIGURA 34. Grupo vidro bioativo – 6 semanas de pós-operatório – Região periosteal – H.E. 125x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) com camada de tecido conjuntivo frouxo (CF) sobre o tecido ósseo pré-existente (OP).

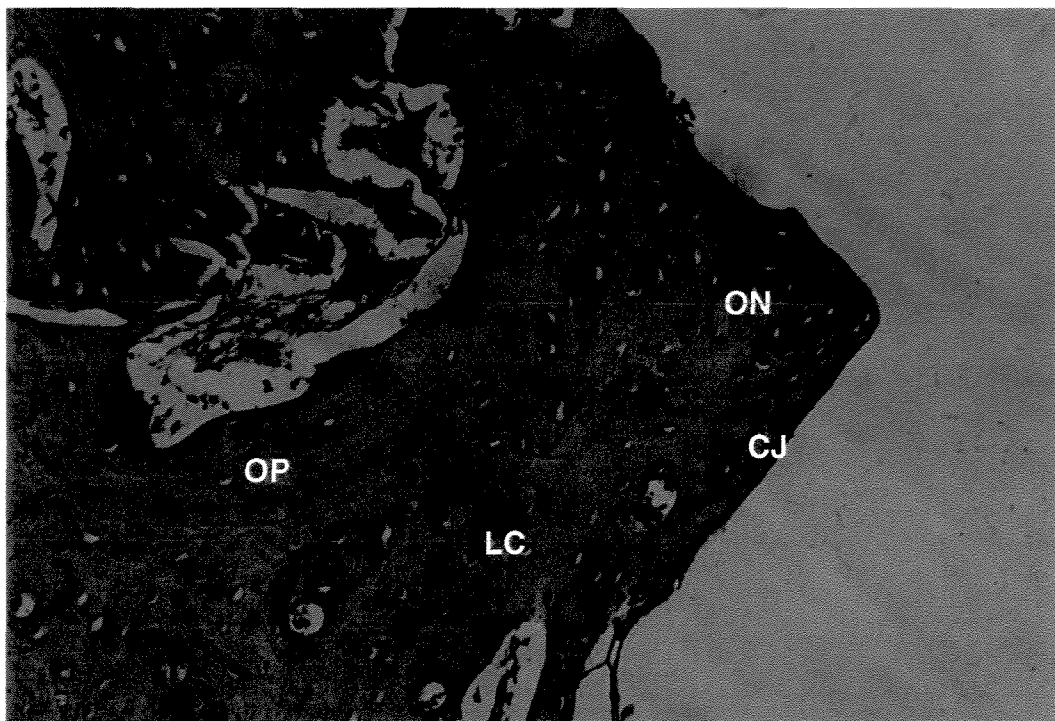


FIGURA 35. Grupo vidro bioativo – 6 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical – H.E. 200x. Linha cimentante (LC) entre tecido ósseo neoformado (ON) e osso pré-existente (OP). Presença de tecido conjuntivo fibroso (CJ) com camada delgada.

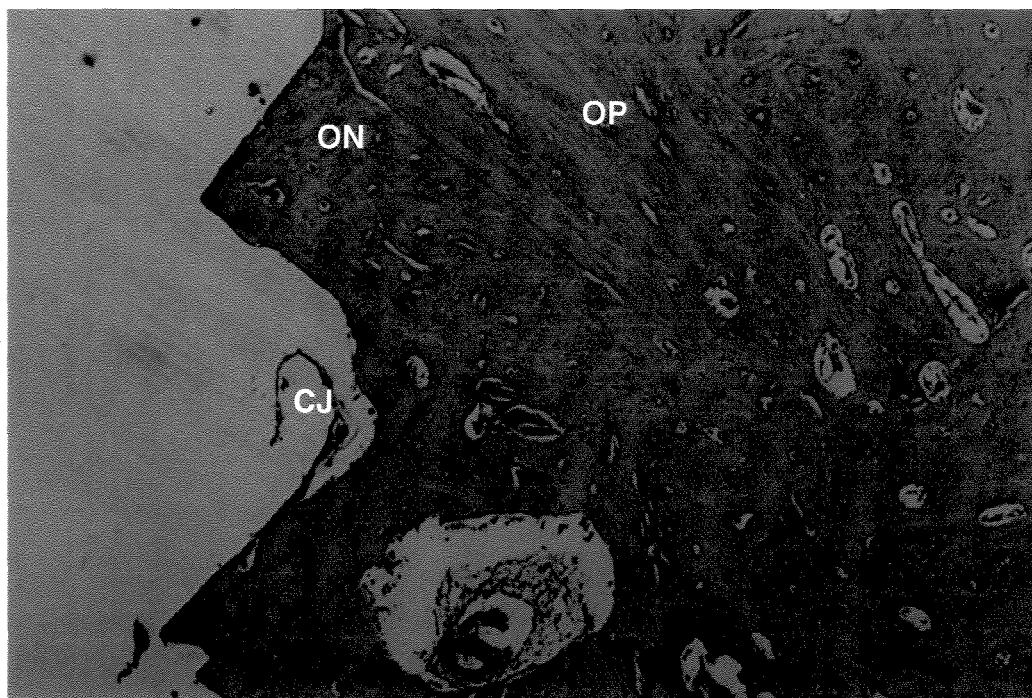


FIGURA 36. Grupo vidro bioativo – 6 semanas de pós-operatório – Região de endóstio – H.E. 125x. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) semelhante ao osso pré-existente (OP). Camada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

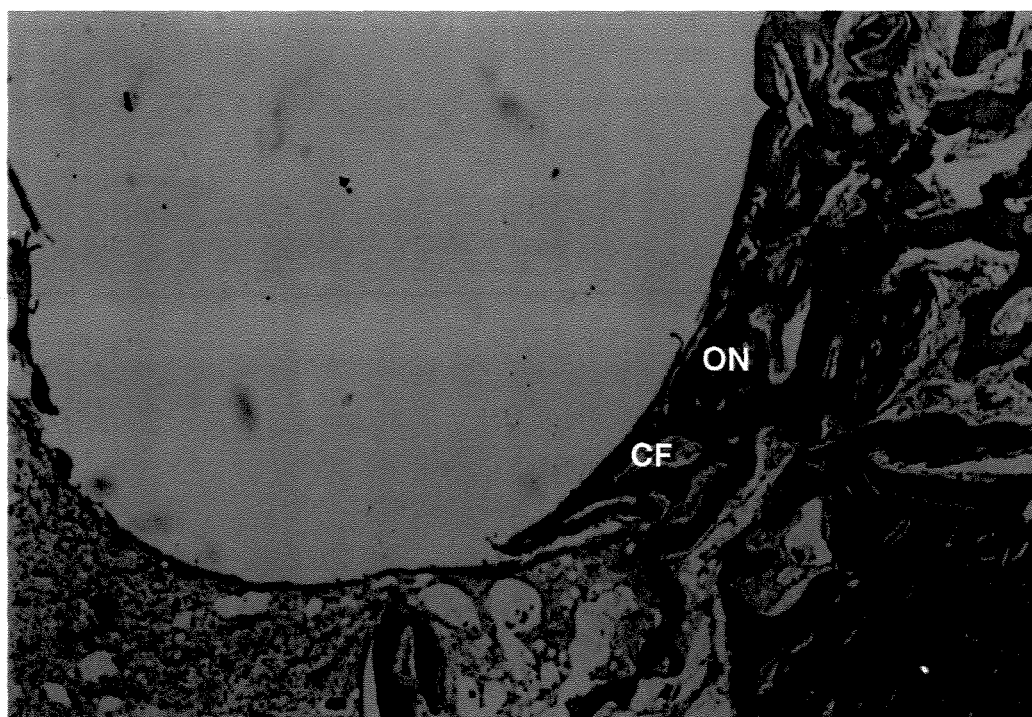


FIGURA 37. Grupo vidro bioativo – 6 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E. 125x. Áreas de tecido ósseo neoformado (ON) com presença de tecido conjuntivo frouxo (CF).

5.1.2.4 GRUPO OSSO LIOFILIZADO

Região Periosteal

Neste período ocorreu um espessamento da região periosteal que se encontrou envolvida em atividade osteogênica, resultando em uma aposição de tecido conjuntivo neoformado sobre a cortical pré-existente e neoformação óssea de característica madura,

O limite entre a região periosteal e a região do osso cortical não era tão nítido, embora apresentasse pequena diferença na coloração.

Região do Osso Cortical

Nesta região ocorreu junto à interface osso/implante um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado de superfície ondulada, devido aos sulcos em “V” do implante. Junto a interface osso/implante notamos a presença de uma camada delgada de tecido conjuntivo fibroso **(Figura 38)**.

O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com alguns espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas e matriz óssea de coloração uniforme. Os espaços lacunares apresentavam-se preenchidos por tecido conjuntivo fibroso.

Região de Endóstio

Observamos um espessamento da camada endosteal próxima a sulcos em “V” do implante, onde foi possível observar um processo de osteogênese bastante

adiantado. O tecido ósseo neoformado apresentou uma organização quase total, com aspecto histológico semelhante ao do osso pré-existente. Porém, ainda era possível observar a presença da linha cimentante entre o osso pré-existente e o osso neoformado (**Figura 39**).

Os três sulcos em “V” do implante apresentavam-se preenchidos por tecido ósseo neoformado, porém, havia uma desigualdade na formação óssea nesses sulcos. O terceiro sulco apresentava tecido ósseo em menor compactação do que o dos outros dois primeiros sulcos.

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo fibroso.

Região Medular

Esta região apresentou-se bastante celularizada, vascularizada e com núcleos de ossificação próximos à interface osso/implante.

Mais próximo do endóstio (porção mais superior da região medular) notamos a presença de tecido ósseo neoformado.

Em algumas amostras, tanto na porção mais superior como na média da região medular, observamos a presença de várias partículas do material implantado (osso liofilizado) (**Figura 40**).

Junto à interface osso/implante notamos a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso que crescia no sentido apical



FIGURA 38. Grupo Osso liofilizado – 6 semanas de pós-operatório – Região de osso cortical – H.E. 200x. Tecido ósseo pré-existente (OP). Presença de tecido ósseo neoformado (ON) com camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

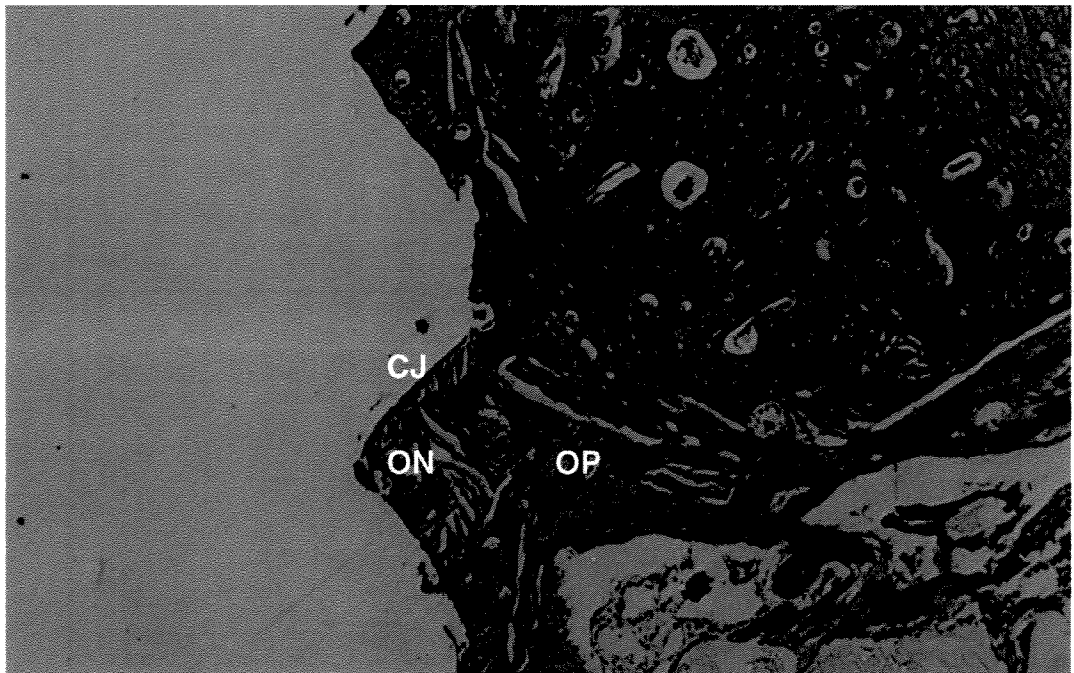


FIGURA 39. Grupo Osso liofilizado – 6 semanas de pós-operatório – Região de endóstio – H.E. 125x. Tecido ósseo neoformado (ON) com aspecto semelhante ao osso pré-existente (OP). Camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

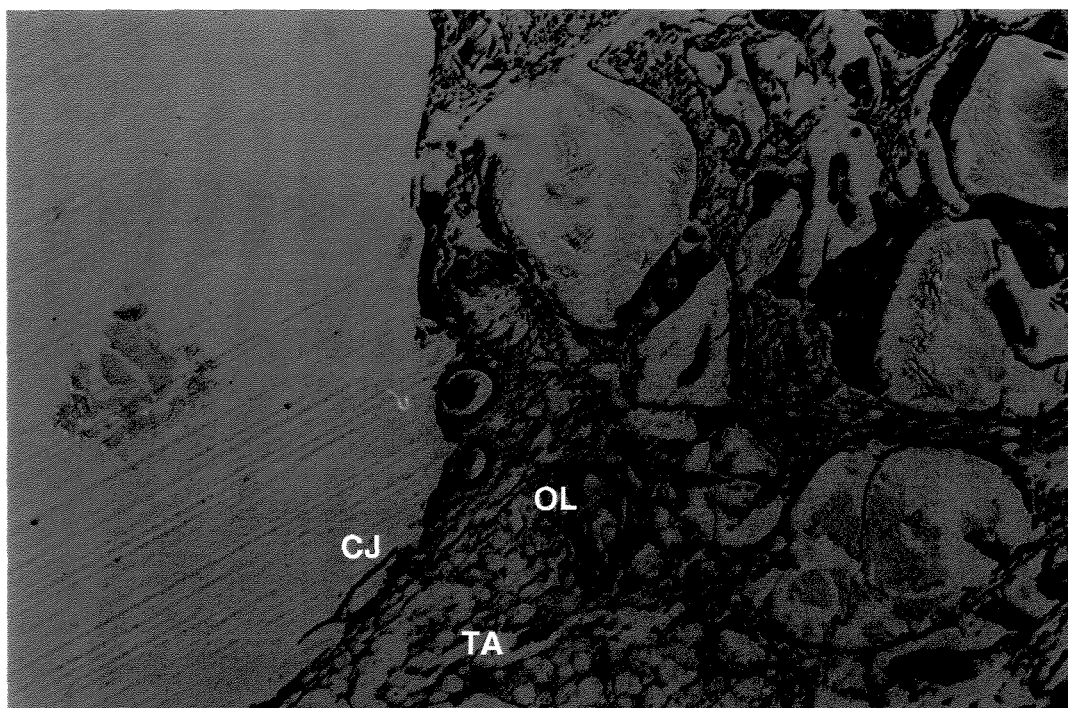


FIGURA 40. Grupo Osso liofilizado – 6 semanas de pós-operatório – Região medular – H.E. 200x. Partículas de osso liofilizado (OL). Presença de tecido adiposo (TA) com camada delgada de tecido conjuntivo fibroso (CJ).

5.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.2.1 DESDOBRAMENTO DO PREENCHIMENTO (TEMPO)

Foi aplicada análise de variância. A variável de resposta avaliou a formação óssea e este efeito foi atribuído, no estudo, à utilização de grupos de preenchimentos diferentes e do tempo de formação óssea. A interação forneceu indícios de que houve efeito significativo dos fatores principais (tempo e preenchimento) sobre a formação óssea.

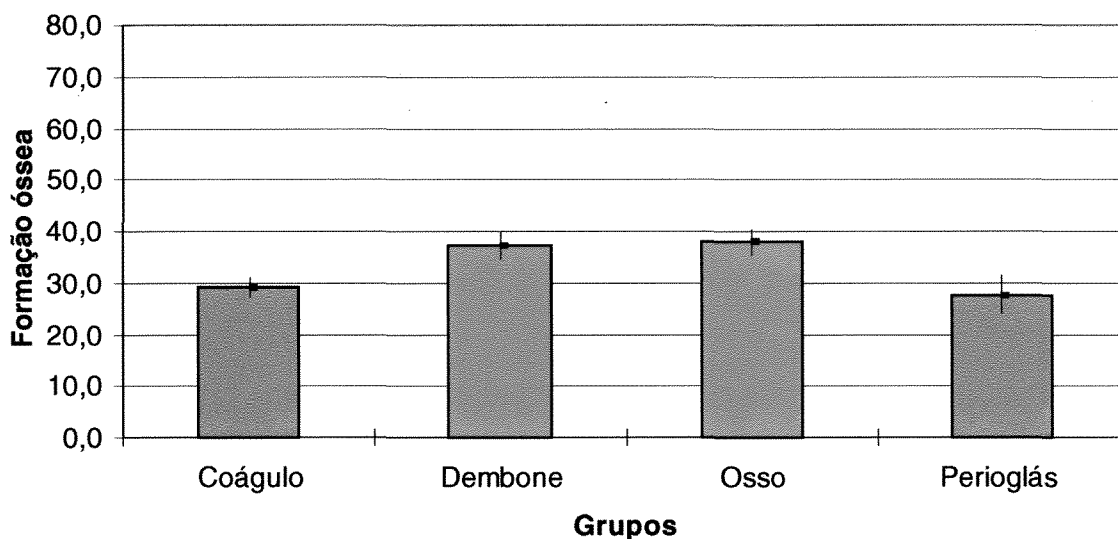
No desdobramento da interação preenchimento (tempo), isto é, preenchimento dentro do tempo, foram comparadas as diferenças observadas entre os grupos dentro de cada um dos tempos de maneira independente. O estudo se baseou no teste de Tukey, uma vez que foram comparados os grupos. A Tabela 2 ilustra o desdobramento de preenchimento.

Tabela 2. Médias e desvios padrão dos dados originais (não transformados) e resultado do teste de Tukey com nível de significância de 5% apresentando letras iguais ao lado de médias de grupos que não diferem significativamente entre si (comparação de grupos dentro do mesmo tempo).

Grupo	N. Observ.	Tempo					
		3 semanas				6 semanas	
		Média		Desvio Padrão	Média		Desvio Padrão
Coágulo	5	29,20	b	1,96	39,86	c	3,60
Dembone	5	37,13	a	2,70	56,53	b	3,52
Osso	5	37,86	a	2,58	64,13	a	2,92
Perioglas	5	27,66	b	3,77	42,86	c	1,747

De acordo com a Tabela 2 o comportamento dos grupos foi bastante diferente ao longo dos tempos estudados. Observou-se que no tempo de 3 semanas houveram dois grupos homogêneos de materiais: osso liofilizado e osso autógeno não diferindo significativamente entre si e diferindo dos demais grupos, coágulo e vidro bioativo, que por sua vez, apresentaram médias não significativamente diferentes entre si. O Gráfico 1 ilustra a comparação entre as médias observadas no tempo de 3 semanas.

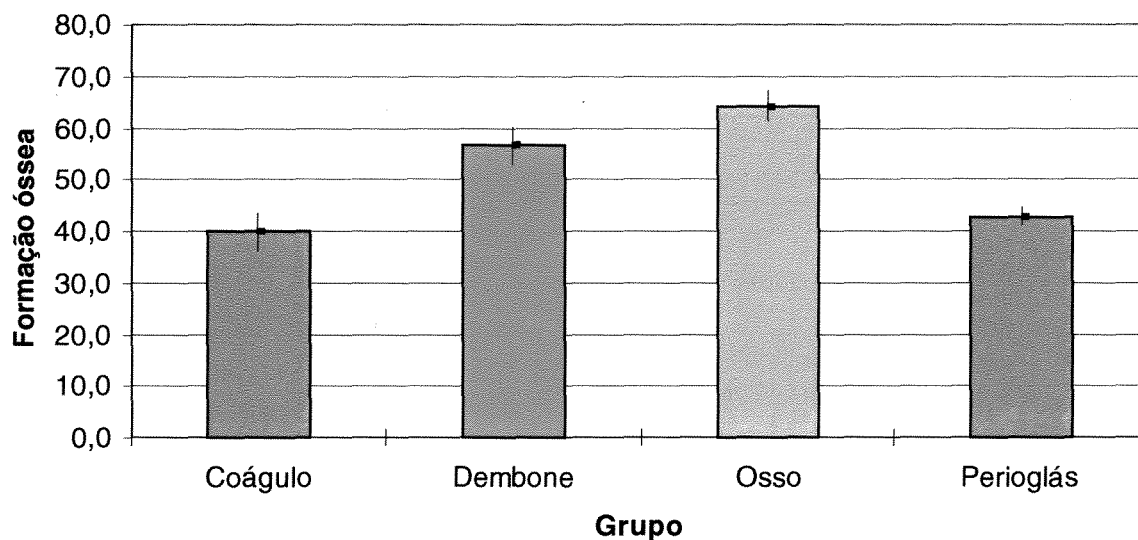
GRÁFICO 1. Comparação de médias de formação óssea após três semanas dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância alfa de 5% ($\alpha=0,05$).



No tempo de 6 semanas, por sua vez, observaram-se indícios de que o grupo osso autógeno apresentou média verdadeira significativamente maior que todos os demais grupos estudados. O grupo osso liofilizado apresentou média significativamente maior que a dos grupos coágulo e vidro bioativo.

Entre os grupos coágulo e vidro bioativo não foram detectados indícios de diferenças entre as médias verdadeiras. O gráfico 2 ilustra a comparação entre as médias observadas no tempo de 6 semanas.

Gráfico 2. Comparação de médias da formação óssea após seis semanas dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância alfa de 5% ($\alpha=0,05$).



6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A presença de defeitos perimplantares está relacionada à diminuição do volume ósseo de suporte com prejuízo para o processo de osseointegração, assim como alterações nos tecidos moles (**BECKER et al., 1990**). O sucesso do tratamento de defeitos perimplantares através da técnica de regeneração óssea guiada necessita do estabelecimento dos princípios de exclusão de tecidos indesejáveis, estabilização do coágulo e manutenção do espaço. A presença de uma barreira física é necessária para exclusão dos tecidos moles indesejáveis no interior do defeito, preservando espaço para proliferação de células osteoprogenitoras, promovendo uma estabilização do coágulo no interior do defeito, permitindo diferenciação em tecido ósseo, e ainda, apresentar resistência suficiente para manutenção do espaço evitando o colapso da membrana durante o período de regeneração (**DAHLIN et al., 1991; LINDHE et al., 1993**).

Os defeitos ósseos apresentam-se como um bom modelo experimental em regeneração guiada, uma vez que são menos propensos a fatores mecânicos e obstruções do suprimento sangüíneo. Para **MELLONIG & NEVINS (1995)**, os defeitos de fenestração e deiscência são os mais freqüentemente associados aos implantes osseointegrados, podendo ser do tipo mantenedor de espaço ou não mantenedor de espaço.

JOHNER (1972) realizou estudos sobre o reparo de orifícios criados com diâmetros entre 0,1 e 1mm em tíbia de coelhos. O autor relatou que a formação

óssea no interior desses defeitos iniciou-se em 2 dias sem a presença de atividade osteoclástica, e que os orifícios pequenos com diâmetros na ordem de 0,2mm foram concentricamente preenchidos por osso lamelar. Para os orifícios maiores é esperada a formação de estrutura de osso embrionário, onde sobre esta é depositado osso lamelar, com índice de crescimento aposicional de 2 microns por dia. Ao término de 4 semanas, o autor relatou que ambos os defeitos, pequeno e grande, foram preenchidos por osso compacto e que o limiar para a rápida extensão de osso embrionário consiste ao redor de 1mm para os orifícios criados no osso cortical do coelho. Isto indica que o osso não é capaz de atravessar espaços com largura maior que 1mm por um único “salto osteogênico à distância”. No caso dos implantes, a situação torna-se ainda mais difícil porque a extensão do defeito inicia-se apenas do lado do osso. Isto não significa que os orifícios ou espaços maiores permanecerão abertos por tempo indefinido, mas o preenchimento será mais demorado, indicando que os defeitos com diâmetro entre 2 e 5 mm persistirão por semanas e alguns meses, até que se dê por completo o processo de regeneração.

Neste estudo, através da utilização de defeitos ósseos circulares simulamos defeitos perimplantares do tipo fenestração. Estes foram confeccionados com diâmetro de 2,6mm, proporcionando exposição da superfície do implante e permitindo o preenchimento do mesmo com enxertos ou substitutos ósseos. A dimensão do defeito tornou possível avaliarmos a capacidade de neoformação óssea de cada preenchimento utilizado no trabalho, sem

interferência do efeito de “salto osteogênico à distância” como descrito por **JOHNER (1972)**.

Durante a cirurgia para colocação da membrana, esta deve estender-se além das margens do defeito apoiando-se em tecido ósseo sadio em todas as direções. A utilização de dispositivo de fixação é necessária para estabelecimento e manutenção de tecido de cobertura, sem prejuízo para o coágulo. A presença de micromovimentos tem sido relacionada a alterações na diferenciação celular, com indução de resposta fibroblástica (**SIMION et al.,1994**).

Para **BUSER et al. (1993)** a utilização de fechamento primário do retalho sem o uso de dispositivo de fixação é possível, desde que o mesmo possua um desenho capaz de garantir suporte da barreira física sem tensão primária, e permitir imobilização da mesma.

FUGAZZOTO et al. (1997) afirmaram que a fixação da membrana após sua adaptação, se possível, é extremamente desejável, para garantir o espaço do defeito e auxiliar na estabilização inicial do coágulo. Por outro lado, neste mesmo trabalho, o autor observou que para os casos em que não utilizou fixação da membrana, conseguiu estabilidade da mesma através de liberação passiva do retalho, colocação da membrana além os limites do defeito, meticuloso reposicionamento e sutura.

Neste trabalho, após o preenchimento dos defeitos, os mesmos foram protegidos com membrana não reabsorvível de celulose. Esta tem sido submetida a estudos para determinação do teor de proteínas, irritabilidade cutânea e

citotoxicidade, sendo considerada um material inerte e biocompatível (**NOVAES Jr & NOVAES, 1992**). Todos os defeitos do trabalho foram protegidos com o mesmo tipo de membrana com o intuito de compararmos o efeito unicamente do preenchimento sobre o processo de regeneração óssea guiada, sem a interferência da natureza da barreira física. Não foram utilizados dispositivos para fixação, e a estabilidade foi alcançada mediante reposicionamento passivo, sutura sem tensão e adaptação da membrana cerca de 7mm além das margens do defeito. Durante segunda cirurgia para remoção do fragmento ósseo da amostra, notamos a manutenção das mesmas sobre a região do defeito, e em nenhuma das amostras foi observada exposição da barreira.

ROBERTS et al. (1984) consideram de extrema importância o conhecimento de fisiologia da reparação óssea. Para estes autores o osso embrionário constitui tecido altamente celular e de formação rápida, em torno de 30 a 50µm/ dia. Quando comparado ao osso maturo este é relativamente pouco mineralizado, apresentando pouca resistência. A sua substituição por osso lamelar ,capaz de suportar cargas funcionais, tem formação relativamente lenta e sua maturação completa requer 6 a 12 meses.

Neste trabalho utilizamos fêmur de coelho em função de sua maior espessura comparada a região de tíbia. A realização de duas perfurações, uma para inserção do implante e outra simulando defeito de fenestração, levariam a uma maior fragilidade óssea. Os períodos de sacrifício utilizados (3 e 6 semanas) estão de acordo com os trabalhos de **ROBERTS et al. (1988)**, que demonstraram

que o ciclo de remodelagem do osso de coelhos segue uma fase de reabsorção, queiscência e formação óssea. Estes autores, relacionando o ciclo de remodelagem em diferentes espécies, encontraram um tempo de seis semanas para coelhos, 12 semanas para cães e 17 para humanos. Eles também observaram que o período necessário para formação de camada embrionária foi de 0 a 2 semanas e para completa compactação lamelar foi de 2 a 6 semanas, em cicatrização óssea perimplantar.

O colapso da membrana resulta na eliminação do espaço necessário para assegurar uma reparação e direcionar a regeneração tecidual e, em função da natureza oclusiva das membranas, a estrutura pode impedir efetivamente este processo. Uma grande variedade de materiais e enxertos tem sido utilizada e desenvolvida para promoção óssea no recobrimento de implantes osseointegrados, em geral funcionando como mantenedores de espaço. Existe uma grande busca do substituto ósseo ideal e desenvolvimento de materiais que satisfaçam plenamente os requisitos deste, evitando assim a necessidade de um segundo sítio cirúrgico, menor possibilidade de disseminação de doenças e diminuindo a morbidade do procedimento.

Enxertos ósseos autógenos têm história extensa de uso em cirurgia ortopédica. **DAHLIN et al. (1991)** afirmam que não existem estudos que confirmem que os enxertos autógenos realmente estimulem o osso adjacente ao implante, entretanto consideram este o preenchimento de escolha para criar ou manter espaço abaixo de uma barreira, por sua capacidade de osseoindução,

osseocondução e osteogênese. Partículas pequenas de osso autógeno podem ser diretamente coletadas das margens ósseas laterais do local do implante, da tuberosidade maxilar ou outros sítios intrabucais. Embora a obtenção de osso em locais distantes da cavidade bucal necessita de procedimento cirúrgico adicional, seu uso tem um potencial muito maior para a manutenção de viabilidade celular quando comparados aos enxertos homogêneos e heterogêneos, assim como aos materiais aloplásticos.

Enxertos de osso liofilizado são utilizados extensivamente em tratamentos de defeitos periodontais com ou sem uso de barreiras de membrana (**BECKER *et al.*, 1988; BECKER *et al.*, 1990; BUSER *et al.*, 1990**). Estes são idealizados para conter proteínas ósseas morfogenéticas (**URIST, 1965**). Entretanto os bancos comerciais de ossos não verificam a presença destas proteínas, não existindo dados convincentes indicando que este possua qualquer potencial osseoindutor quando utilizado para recobrimento de implantes osseointegrados. Além disso, não há evidências de que esses apresentem capacidade de aumentar a resistência óssea. Ao contrário, alguns experimentos têm demonstrado presença de partículas do enxerto diminuindo a quantidade e qualidade do osso formado (**SHIGEYAMA *et al.*, 1995**).

A utilização de materiais aloplásticos no tratamento de defeitos ósseos perimplantares apresentam a vantagens quando comparada aos enxertos, uma vez que não apresentam o risco potencial de disseminação de doenças, não

necessitam de procedimento cirúrgico para obtenção do mesmo e por sua maior disponibilidade (**SANDERS et al., 1983**).

No período de 3 semanas o grupo osso autógeno e osso liofilizado mostraram valores estatisticamente significantes quando comparados aos grupos vidro bioativo e coágulo. Neste período pôde-se observar um efeito positivo sobre a regeneração óssea, nos grupos em que foram utilizados enxertos e materiais de preenchimento, quando comparado ao grupo coágulo (controle). O grupo vidro bioativo apresentou pouca atividade de neoformação óssea com presença de camada de tecido conjuntivo fibroso, predominância absoluta de tecido adiposo ricamente celularizado e uma pequena quantidade de células precursoras, sugerindo que a regeneração ocorreu mais em função do processo de osseocondução. A presença de partículas do material sem a presença de reação de corpo estranho foi observada, estas funcionando como obstáculos para a neoformação óssea, como descrito por **JOHNSON et al** em 1997.

No grupo osso liofilizado observou-se um crescimento aposicional de tecido ósseo neoformado assim como camada delgada de tecido conjuntivo fibroso. A neoformação óssea ocorreu principalmente a partir da região periosteal, das bordas do osso pré-existente, para o centro do defeito, diferente de multifocos de ossificação que é uma característica que ocorre no processo de osseoindução. A matriz óssea desmineralizada parece ter funcionado como arcabouço para neoformação óssea (**URIST, 1965; URIST & STRATES, 1971**). Foi observada a presença de partículas não vitais do enxerto durante a análise histológica

deste período, essas não apresentando indução de neoformação óssea (**BECKER et al. ,1992**).

O grupo preenchido por osso autógeno apresentou crescimento aposicional com presença de tecido conjuntivo fibroso. O osso cortical apresentou-se com um padrão compacto, com poucos espaços lacunares, sistemas de Havers com lamelas concêntricas, o que demonstra uma regeneração por processo de osseoindução e osseocondução. A presença de áreas de necrose superficial, mesmo não sendo um achado histológico constante, pode ser explicado em função da natureza do osso obtido, proveniente das roscas das brocas, o que pode ter sido provocado, por aquecimento durante a perfuração, uma provável desnaturação de fosfatase alcalina. Esse achado está de acordo com o trabalho de **BECKER et al. (1995)** que avaliaram comparativamente osso autógeno e liofilizado na regeneração óssea guiada em implantes colocados imediatamente após extração em cães. Esses autores encontraram um maior preenchimento para o grupo que utilizou osso autógeno, onde foi notada a ausência de reações imunológicas, presença de atividade osteoclástica seguida de neoformação óssea. Descreveram a presença de partículas do enxerto sem vitalidade, mas oferecendo uma ampla superfície para deposição de osso lamelar.

No período de 6 semanas o grupo osso autógeno apresentou os melhores resultados (64% de formação óssea), diferindo estatisticamente dos demais grupos. Histologicamente apresentou processo de osteogênese bastante estimulado onde notamos um tecido ósseo neoformado com características mais

maturas apresentando poucos espaços lacunares, o que sugeriu a presença de atividades de osseointegração, osseointegração e osseointegração. Esses achados estão de acordo com os trabalhos de **SIMION et al. (1994)**, **BECKER et al. (1995)** e **MELLONIG & NEVINS (1995)**.

O grupo osso liofilizado apresentou formação óssea de 56%, o que diferiu estatisticamente dos grupos Coágulo e vidro bioativo. Histologicamente observou-se tecido ósseo neoformado com presença de várias partículas de osso liofilizado. Esses achados confirmam um lento processo de reabsorção do enxerto ósseo liofilizado como observado por **SIMION et al. (1996)**. Esses autores encontraram presença de partículas após 4 anos, sugerindo unicamente a presença de atividade de osseointegração, uma vez que existiram diferenças histológicas do osso cortical normal, com distribuição anormal do osso lamelar e presença de linhas cimentantes, o mesmo observado neste estudo.

A osseointegração está diretamente relacionada com a presença de partículas de osso liofilizado completamente isoladas e envoltas por tecido conjuntivo, sem envolvimento no processo de regeneração óssea, o que exclui o potencial de osseointegração das mesmas. Observamos que o tecido osso neoformou a partir da porção mais profunda do defeito ao redor das partículas, que atuaram como arcabouço para formação óssea.

A porosidade e o tamanho da partícula são aspectos importantes quando comparamos preenchimentos ósseos, uma vez que apresentam efeitos sobre a velocidade de reabsorção e a capacidade de neoformação óssea (**SHAPOFF et**

al, 1980). Neste estudo encontramos uma maior quantidade de partículas para o vidro bioativo em comparação ao osso liofilizado. O tamanho da partícula do vidro bioativo utilizado neste trabalho variou entre 300 e 355 μ m, resultando em uma maior quantidade de material encapsulado por tecido conjuntivo. Uma partícula maior que 100 μ m tem demonstrado ser o tamanho mínimo para proporcionar vascularização adequada e formação óssea, e à medida que aumenta a porosidade é maior o crescimento ósseo (**ZANER, 1984**).

Partículas em torno de 380 μ m de diâmetro promoveram uma dimensão interparticular mínima. Através desse princípio é necessário que exista um contato íntimo entre as partículas para uma melhor formação óssea. **SHAPOFF et al. (1980)** demonstraram, em fêmur de macacos, que partículas com 100 a 300 μ m apresentam melhores resultados de formação óssea, quando comparada a partículas com tamanho entre 1000 e 2000 μ m. Estes autores afirmaram que o tamanho ideal das partículas para enxertos de osso liofilizado, em defeitos periodontais, deve ser em torno de 250 a 750 μ m , uma vez que partículas menores que 125 μ m causaram uma resposta inflamatória.

Em outro estudo **FUCINI et al. (1993)**, avaliando o tamanho de partículas de osso liofilizado, encontraram um melhor preenchimento em defeitos periodontais para o grupo tratado com partículas menores (250-500 μ m), apresentando formação óssea de 38,6% quando comparado ao grupo com tamanho de partículas de 850 a 1000 μ m resultando em preenchimento de 34,9%, no entanto não apresentando diferenças significativas entre os grupos estudados.

WHEELER et al (1998) compararam o efeito do tamanho das partículas de vidros bioativos na regeneração óssea de defeitos em fêmur de coelhos. Os defeitos preenchidos com material com tamanho de partículas de 90-710 μ m (PERIOGLAS®) apresentaram maior formação óssea quando comparado ao grupo tratados com partículas de 300-360 μ m.

Os resultados deste estudo sugeriram uma maior formação óssea quando da utilização de materiais com tamanho maiores de partículas. Quando comparamos enxerto de osso liofilizado com vidro bioativo, observamos melhor preenchimento ósseo dos defeitos tratados com osso liofilizado em combinação a membranas, para os dois períodos de sacrifício. Isso pode ser explicado em função do tamanho das partículas do grupo osso liofilizado (250-500 μ m) comparado ao grupo vidro bioativo (90-710 μ m). O menor tamanho das partículas parece apresentar um efeito negativo sobre o processo de osseocondução do material.

Neste trabalho também foi observado uma maior variação da formação óssea dentro dos períodos de sacrifício para o grupo Osso autógeno. O grupo Coágulo, embora tenha apresentado formação óssea superior ao grupo vidro bioativo no período de 3 semanas, demonstrou uma diminuição na formação óssea dentro do período de 6 semanas, demonstrando atividade de osseocondução do material aloplástico quando utilizado como material de preenchimento em defeitos perimplantares.

7. CONCLUSÕES

Dentro das condições experimentais este trabalho, com base nos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

1. No período de sacrifício de 3 semanas, os grupos osso autógeno e osso liofilizado apresentaram os melhores resultados de formação óssea, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si, mas apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados aos grupos vidro bioativo e coágulo.
2. Os grupos vidro bioativo e coágulo apresentaram diferenças estatísticas significantes entre si, no período de 3 semanas de sacrifício.
3. Ao período de 6 semanas o grupo osso autógeno apresentou os melhores resultados de formação óssea, diferindo estatisticamente dos demais grupos.
4. O grupo osso liofilizado apresentou diferenças significantes quando comparado aos grupos vidro bioativo e coágulo, no período de 6 semanas.
5. Os grupos vidro bioativo e coágulo não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si, no período de 6 semanas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. **Int J Oral Surg.**, v.10, n.6, p.387-416, Dec, 1981.
2. ADELL, R. et al. A longterm follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.5, n.4, p.347-359, winter, 1990.
3. ALBREKTSSON, T. et al. Osseointegrated oral implants: A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobel-Pharma implants. **J Periodontol.**, Chicago, v.59, n.5, p.287-296, May, 1988.
4. ALBREKTSSON, T. *et al.* Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage im man. **Acta Orthop Scand.**, Oslo, v.52, n.2, p.155-70, 1981.
5. ARORA, B.K. et al. Bone formation over partially exposed implants using guided tissue regeneration. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia v.50, n.10, p.1060-1065, Oct, 1992.
6. ASPENBERG, P. & THOREN, K. Lipid extraction enhaces bank bone incorporation. **Acta Orthop Scand.**, Oslo, v.61, n.6, p.546-548, Dec, 1990.
7. BALDOCK, W.T. *et al.* An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal defects of two patients. **J Periodontol.**, Chicago, v.56, n.1, p.1-7, Jan, 1985.
8. BECKER, B. et al. New attachment after treatment with root isolation procedures: Report for treated class III and class II furcations and vertical osseous defects. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.3, n.8, p. 8-23, 1988.
9. BECKER, W. & BECKER, B.E. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implants dehiscences: Surgical techniques and case reports. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.10, n.5, p.376-391, 1990.
10. BECKER, W. et al. Bone formation at dehisced dental implant sites treated with implant augmentation material: a pilot study in dogs. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.10, n.2, p.93-100, Aug, 1990.

* De acordo com a NBR-6023, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989. Abreviaturas dos periódicos de acordo com o "*Index Medicus*".

11. BECKER, W. et al. A comparison of a ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insuline-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promotion bone formation around immediate extraction socket implants. **J Periodontol.**, Chicago, v.63, n.11, p.929-940,nov, 1992.
12. BECKER, W. et al. Human demineralized freeze-dried bone: Inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. **J Periodontol.**, Chicago, v.66, n.9, p.822-828, Sep, 1995.
13. BECKER, W. et al. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: A study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.10, n.2, p.143-154, Mar-Apr, 1995.
14. BECKER, W.; BECKER, B.E.; CAFFESSE, R. A comparison of desmineralized freeze-dried bone and autogenous bone to induce bone formation in human extractions sockets. **J Periodontol.**, Chicago, v.65, n.12, p.1128-1133,Dec, 1994.
15. BERG, A. Contribution to the technique in fusion operations on the spine. **Acta Orthop Scand.**, Oslo, v.17, n.1, p.1-30, 1947.
16. BLOCK, M. & KENT, J. Sinus augmentation for dental implants. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v.55, n.11, p.1281-1286, Nov, 1997.
17. BOYNE, P.J. Regeneration of alveolar bone beneath cellulose acetate filter implants. **J Dent Res.**, Washington, v.43, p.827, 1964.
18. BOYNE, P.J. Restoration of osseous defects in maxillofacial casualties. **J Am Dent Assoc.**, Chicago, v.78, n.4, p.767-776, Apr., 1969.
19. BRÅNEMARK, P. I. et al. **Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw: Experience from a 10-year period.** Stockholm, Almqvist & Wiksell, 1977, p.455.
20. BRÅNEMARK, P-I.; *et al.* Intraosseus anchorage of dental prostheses. I - experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg.**, Stocholm, v.3, n.3, p.81-100, 1969.
21. BUSER, D et al. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. **Int J Periodontics Rest Dent.**, v.13, n.1, p. 29-45, 1993.

22. BUSER, D. et al. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. **Clin Oral Implants Res.**, v.1, n.1, p.22-32, Dec, 1990.
23. CAMPBELL, J.B., BASSET, C.A.L. The surgical application of monomolecular filters (Millipore) to the bridges gaps in peripheral nerves and to prevent neuroma formation. **Surg. Forum.**, v.7, p.570-574, 1956.
24. CARLSSON, L. et al. Osseointegration of titanium implants. **Acta Orthop Scand.**, Oslo, v.57, n.4, p.285-89, Aug, 1986.
25. CARRANZA, F.A. et al. Histologic study of healing of human periodontal defects after placement of porous hydroxyapatite implants. **Journal Periodontol.**, Chicago, v.58, n.10, p.682-688, Oct, 1987.
26. COCHRAN, D.L, et al. Augmentation of osseous tissue around nonsubmerged endosseous dental implants. **Int J Periodont Res Dent.**, v.13, n.6, p.506-519, Dec, 1993.
27. DAHLIN, C. et al. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.4, n.1, p.19-25, Spring, 1989.
28. DAHLIN, C. et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plast Reconstr Surg.**, Baltimore, v.81, n.5, p.672-676, May., 1988.
29. DAHLIN, C.; ANDERSSON, L.; LINDHE, A. Bone augmentation at fenestrated implants by osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study. **Clin Oral Implants Res.**, v.2, n.4, p.159-65, out-dec, 1991.
30. DE LAVALLE, R.L. et al. Avaliação de implantes de osso bovino liofilizado "Osseobond®" e membrana reabsorvível de osso bovino liofilizado. **Revta Bras Implant.**, v.4, p.8, 1998.
31. EASTLUND, T. Infectious disease transmission through tissue transplantation: Reducing the risk through donor selection. **J Transplant Coordination.**, v.1, p.23-30, 1991.
32. ENGQUIST, B. et al. A retrospective multicenter evaluation of osseointegrated implants supporting overdentures. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.3, n.2, p.129-134, Summer, 1988.
33. FREEMAN, E. & TURNBULL, R.S. Histologic evaluation of freeze-dried fine particle bone allografts. Preliminary observations. **J Periodontol.**, Chicago, v.48, n.5, p.288-293, May, 1977.

34. FROUM, S.J., WEINBERG, M. A., TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. **J Periodontol.**, Chicago, v.69, n.6, p.698-709, Jun, 1998.
35. FUCINI, S.E. et al. Small versus large particles of demineralized freeze-dried bone allografts in human intrabony periodontal defects. **J Periodontol.**, Chicago, v.64, p. 844-847, 1993.
36. FUGAZZOTTO, P.A. et al. Guided bone regeneration around titanium implants: Report of treatment of 1,503 sites with clinical reentries. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.17, n.3, p.293-299, 1997.
37. GARCIA, R.R. **Comparação de matrizes ósseas desmineralizadas sobre o processo de regeneração óssea. Estudo histológico em calvária de coelhos.** Piracicaba, 1999. 126p. [Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp]
38. GATTI, A.M., VALDRÈ, G., ANDERSSON, Ö.H. Analysis of the *in vivo* reactions of bioactive glass in soft and hard tissue. **Biomaterials.**, Oxford, v.15, n.3, p.208-211, 1993.
39. GOTTESDIENER, K.M. Transplanted infections: Donor-to-host transmission with the allograft. **Ann Intern Med.**, v.110, n.12, p.1001-1016, Jun, 1989.
40. HALL, E. E. et al. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. **J Periodontol.**, Chicago, v.70, n.5, p.526-535, May, 1999.
41. HARAKAS, N. Demineralized bone matrix induced osteogenesis. **Clin Orthop.**, Philadelphia, n.188, p.239-251, Sep, 1984.
42. HENCH, L. L. & ANDERSSON, O. Bioactive glasses, an introduction to ceramics, advanced series in ceramics. **World Scientific.**, v.1, p.42-45, 1993.
43. HENCH, L. L. et al. Bonding mechanisms at the interface of prosthetic materials. **J Biomed Mater Res.**, New York, v.2, p.117, 1971.
44. HENRY P. J. et al. Tissue regeneration in bony defects adjacent to immediately loaded titanium implants placed into extraction sockets: a study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.12, n.6, p.758-766, Nov-Dec, 1997.

45. HÜRZELER, M. B. et al. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part I: Clinical findings and histologic observations. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.10, n.4, p.474-484, Jul-Aug, 1995.
46. HÜRZELER, M. B. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part II: Histologic findings. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.12, n.2, p.168-175, Mar-Apr, 1995.
47. HÜRZELER, M.B. et al. Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. **Int J Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v.27, n.4, p.315-320, Aug, 1998.
48. JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. **Clin Orthop.**, Philadelphia, n.157 p.259-278, Jun, 1981.
49. JOHNER, R. Zur knochenheilung in abh ngigkeit von der defektg sse. **Helv Chir Acta.**, v.39, p. 409, 1972. *Apud* BUSER, D. et al. **Regenera  o  ssea guiada na implantodontia.** S o Paulo, Quintessence, 1996. p.269.
50. JOHNSON, M. W. et al. Regeneration of peri-implant infrabony defects using perioglas: A pilot study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.12, n.6, p.835-839, Nov-Dec, 1997.
51. KAHNBERG, K.E. Restoration of mandibular jaw defects in the rabbit by subperiosteally implanted Teflon  mantle leaf. **Int J Oral Surg.**, v.8, n.6, p.449-456, Dec, 1979.
52. KAYAIGA, R.; MILLER, W.V.; GUIDINO M.D.L. Tissue transplant transmitted infections. **Transfusion.**, Bethesda, v.31, p.277-284, 1991.
53. KENT, J.N. & ZIDE, M.F. Wound healing: bone and biomaterials. **Otolaryngol Clin North Am.**, Philadelphia, v.17, n.2, p.273-319, May, 1984.
54. KUSIAK, J.; ZINS, J.; WHITAKER, L. The early revascularization of membranous bone. **Plast Reconstr Surg.**, Baltimore, v.76, n.4, p.510-516, Oct, 1985.
55. LANG, N.P. et al. Guided tissue regeneration in jawbone defects prior to implant placement. **Clin Oral Implants Res.**, Munksgaard, v.5, n.2, p.92-96, Jun, 1994.
56. LANGER, B. et al. The wide fixture: A solution for special bone situations and a rescue for the compromised implant. Part I. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.8, n.4, p.400-408, 1993.

57. LEGEROS, R.Z. Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review. **Adv Dent Res.**, v.2, n.1, p.164-180, Aug, 1988.
58. LINDHE, A. et al. Osteopromotion: a soft tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and neogenesis. **J Periodontol.**, Chicago, v.64, n.1, p.1116-1128, 1993.
59. LINKOW LJ: Clinical evaluation of the various designed endosseous implants. **J Oral Implantol.**, v.12, p.35, 1966.
60. LOVELACE, T.B. et al. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. **J Periodontol.**, Chicago, v.69, n.9, p.1027-1035, Sep., 1998.
61. MARX, R.E. & SAUNDERS, T.R. **Reconstruction and rehabilitation of cancer patients.** In : FONSECA, R.J. et al. **Reconstructive preprosthetic oral and maxillofacial surgery.** Philadelphia. WB Saunders, 1986, 347-428.
62. MASTERS, D.H. Impants, bone and bone substitutes. **Calif Dent Assoc J.**, v.16, n.1, p.56-65, Jan, 1988.
63. MATTOUT, P. et al. Clinical evaluation of guided bone regeneration at exposed parts of Brånemark implants with and without bone allograft. **Clin Oral Implant Res.**, Munksgaard, v.6, n.3, p.189-195, Sep, 1995.
64. MELCHER, A. H. & DREYER, C.J. Protection of the blood clot in healing circumscribed bone defects. **J Bone Joint Surg.**, Boston, v.44b, n.2, p.424-430, May, 1962.
65. MELLONIG, J. T. & NEVINS, M. Guided bone regeneration of bone defects associated with implants: an evidence-based outcome assessment. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.15, n.2, p.168-185, Apr, 1995.
66. MELLONIG, J. T. et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allograft in periodontal osseous defects. **J Periodontol.**, Chicago v.47, n.3, p.125-131, Mar, 1976.
67. MELLONIG, J. T.; NEVINS, M., SANCHEZ, R. Evaluation of a bioabsorbable physical barrier for guided bone regeneration. Part II. Material and a bone replacement graft. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.18, n.2, p.139-149, Apr, 1998.
68. MELLONIG, J.T. & TRIPLETT, J. Guided tissue regeneration and endosseous dental implants. **Int J Periodont Res Dent.**, v.13, n.2, p.108-19, 1993.

69. MERAW, S.J. et al. Treatment of peri-implant defects with combination growth factor cement. **J Periodontol.**, Chicago, v.71, n.1, p. 8-13, jan, 2000.
70. MISCH, C.E. & DIETSH F. Bone-grafting materials in implant dentistry. **Implant Dent.**, v.2, n.3, p.158-167, Fall, 1993.
71. MISCH, C.E. Divisions of available bone in implant dentistry. **Int J Oral Implantol.**, v.7, n.1, p.9-17, 1990.
72. MISCH, C.M. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.12, n.6, p.767-776, Nov-Dec, 1997.
73. MISCH, C.M. Ridge augmentation using mandibular ramus bone grafts for placement of dental implants: Presentation of a technique. **Pract Periodontics Aesthet Dent.**, v.8, n.2, p.127-129, Mar, 1996.
74. MURRAY, G., HOLDEN, R., ROSCHLAU, W. Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity. **Am J Surg.**, Belle Mead, v.93, p.385-387, Mar., 1957.
75. NEVINS, M. & MELLONIG, J.T. Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: A combination of allograft and the GoreTex membrane. **Int J Periodont Res Dent.**, v.12, n.2, p.91-111, 1992.
76. NEWMAN, M.& FLEMMIG, P. Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. **J Dent Educ.**, Washington, v.52, n.12, p.737-744, Dec, 1988.
77. NOVAES, A.B. Jr, NOVAES, A.B. IMZ implants placed into extraction sockets in association with membrane therapy (gengiflex) and porous hydroapatite: a case report. . **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.7, n.4, p.536-540, 1992.
78. NYMAN, S. et al. New attachment following surgical treatment of periodontal disease. **J Clin Periodontol.**, Copenhagen, v.9, n.4, p.290-296, July, 1982.
79. OONISHI, H. *et al.* Particulate Bioglass compared with hydroxiapatite as a bone graft substitute. **Clin Orthop.**, Philadelphia, v.334, n.334, p.316-325, Jan, 1997.
80. PÁVEK, V. et al. Clinical application of bioactive glass-ceramic BAS-O for filling cyst cavities in stomatology. **Biomaterials.**, Oxford, v.15, n.5, p.353-358, Apr, 1994.

81. REHMAN, I. et al. Analysis of surface layers on bioactive glasses. **Biomaterials.**, Oxford, v.15, n.10, p.865-870, Aug, 1994.
82. REJDA, B. V., PEELLEN, J. G. J., DE GROOT, K. Tricalcium phosphate as a bone substitute. **J Bioeng.**, v.1, n.2, p.93-97, Jan, 1977.
83. RESNICK, L. et al. Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments. **JAMA.**, v.255, n.14, p.1887-1891, Apr, 1986.
84. ROBERTS, W.E. Bone tissues interface. **J Dent Educ.**, v.52, p.804-809, 1988.
85. ROBERTS, W.E. et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **Am J Orthod.**, v.86, p.95-111, 1984.
86. ROMINGER, J. W. & TRIPLETT, R. G. The use of guided tissue regeneration to improve implant osseointegration. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v.52, n.2, p.106-112, Feb, 1994.
87. SANDERS, J et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allograft in periodontal osseous defects.III. composite freeze-dried bone allografts with and without autogenous bone grafts. **J Periodontol.**, Chicago,v.54, n.1, p.1-8, Jan, 1983.
88. SCHEPERS, E. *et al.* Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. **J Oral Rehabil.**, Oxford, v.18, n.5, p.439-452, Sep, 1991.
89. SCHEPERS, E. J. G. & DUCHEYNE, P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particles sizes and size ranges. **J Oral Rehabil.**, Oxford, v.24, n.3, p.171-181, Mar, 1997.
90. SCHROEDER, A.; VAN DER ZYPEN, E.; STICH, H. The reactions of the bone connective tissue and epithelium to endosteal implants with titanium sprayed surfaces. **J Maxillofac Surg.**, v.9, n.1, p.15-25, Feb, 1981.
91. SCIALOM, J. Die "Nadel-Implantate". **Zahnärztl. Welt**, 1962, 565p *apud* SPIEKERMANN, H. **Implantology**. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1995, 388p.
92. SHAOAN, W. et al. Alveolar ridge augmentation with bioactive glass ceramics:a histological study. **J Oral Rehabil.**, Oxford, v.16, p.229-239, 1989.
93. SHAPOFF, C.A. et al. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogenic freeze-dried bone and autogenous marrow. . **J Periodontol.**, Chicago,v.51, n.4, p.625-630, oct, 1980.

94. SHIGEYAMA, Y. et al. Commercially-prepared allograft material has biological activity in vitro. **J Periodontol.**, Chicago, v.66, n.13, p.478-482, 1995.
95. SHIROTA, T. et al. Histologic and microradiologic comparison of block and particulate cancellous bone and marrow grafts in reconstructed mandibles being considered for dental implants placement. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v.54, n.1, p.15-20, Jan, 1996.
96. SIMION, M. et al. Qualitative and quantitative comparative study on different filling materials used in bone tissue regeneration: A controlled clinical study. **Int Periodont Rest Dent.**, v.14, n.3, p.199-215, jun, 1994.
97. SIMION, M.; BALDONI, M.; ZAFFE, D. Jawbone enlargement using immediate implant placement associated with split-crest technique and guided regeneration. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.12, n.6, p.463-473, 1992.
98. SIMION, M.; TRISI, P.; PIATTELLI, ^a GBR with na e-PTFE membrane associated with DFDBA: Histologic and histochemical analysis in a human implant retrieved after 4 years of loading. **Int J Periodont Rest Dent.**, v.16, n.4, p.339-347, Aug, 1996.
99. SPIEKERMANN, H. **Implantology**. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1995, 388p.
- 100 STANLEY, H. R. et al. Residual alveolar ridge maintenance with a new endosseous implant material. **J Prosthet Dent.**, Saint Louis, v.58, n.5, p.607-613, Nov, 1987.
- 101 STROCK, A.E. Experimental work on a method for the replacement of missing teeth by direct implantation of a metal support into the alveolus. **Amer J Orthodont.**, v.25, p.467, 1939.
- 102 TAGA, R. et al. Reparo de defeito ósseo perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **Revta Bras Implant.**, v.3, p.13, 1997.
- 103 TOFE, A. J., WATSON, B. A., BOWERMAN M. A. Solution and cell mediated resorption of grafting materials. **J Oral Implantol.**, v.17, p.345, 1991.
- 104 TRIPLETT, R. G. & SCHOW, S. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v.54, n.4, p.486-494, Apr, 1996.
- 105 TURUNEN, T. et al. Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. **Clin Oral Implant Res.**, v.8, n.2, p.96-102, Apr, 1997.

- 106 URIST, M. R. & STRATES, B. S. Bone morphogenetic protein. **J Dent Res.**, Washington, v.50, n.6, p.1392-1406, Nov-Dec, 1971.
- 107 URIST, M.R. Bone formation by autoinduction. **Science.**, Washington, v.150, n.698, p.893-99, Nov, 1965.
- 108 WACHTEL, H.C. et al. Guided bone regeneration next to osseointegrated implants in humans. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.6, n.2, p.127-133, 1991.
- 109 WHEELER, D. et al. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. **J Biomed Mater Res.**, New York, v.41, n.4, p.527-533, Sep, 1998.
- 110 WILSON, J. & NOLLETTI, D.: Bonding of soft tissues to Bioglass®. **Handbook of bioactive ceramics.**, v.1, p.283-85. 1990.
- 111 WILSON, J. et al. Tissue response to Bioglass® endosseous ridge maintenance implants. **J Oral Implantol.**, v.19, n.4, p.295-302, 1993.
- 112 WORTHINGTON, P.; LANG, B.R.; LAVELLE, W.E. **Osseointegração na Odontologia.** São Paulo, Quintessence, 1994. p11-18.
- 113 YUKNA, R.A. Synthetic bone grafts in periodontics. **Periodontology 2000.**, v.1, p.92, Feb, 1993.
- 114 ZABLOSTSKY, M. et al. Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehiscent hydroxylapatite-coated and titanium endosseous implants surfaces: a pilot study. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, Lombard, v.6, n.3, p.294-303, 1991.
- 115 ZAMET, J. S. et al. Particulate bioglass® as a grafting material in the treatment of periodontal intrabony defects. **J Clin Periodontol.**, Copenhagen, v.24, n.6, p.410-418, Jun, 1997.
- 116 ZANER, D.J., YUKNA, R.A. Particle size of periodontal bone grafting materials. **J Periodontol.**, Chicago, v.55, n.7, p.406-409, May, 1984.
- 117 ZARB, G.A., SCHMITT A. A longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated implants: The Toronto Study. Part I: Surgical results. **J Prosthet Dent.**, Saint Louis, v.63, n.4, p.451-458, Apr, 1990.

APÊNDICE 1



INSTITUTO DE BIOLOGIA
UNICAMP

CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
Instituto de Biologia
Universidade Estadual de Campinas
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 074-2, sobre "Estudo comparativo de materiais de preenchimento sobre o processo de regeneração óssea..." sob a responsabilidade de Prof. Ricardo de A. Barbosa está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 13/09/00. Este certificado expira em 12/09/01.

Campinas, 13 de setembro de 2000

CERTIFICATE

We certify that the work described in the manuscript ".....", is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the Institute of Biology/UNICAMP Ethics Committee for Animal Research (CEEA) on 13/09/2000, protocol nº 074-2. This certificate expires on 12/09/2001.

Campinas 13/09/2000

Albentino
Prof(a) Dr(a) Alba R. M. Souza Brito
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Luiz Antonio Barreto
Prof(a) Dr(a)
Secretário(a) - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEFERINO VAZ
CEP-13.081-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

TELEPHONE (019) 788.7116
FAX (019) 289.3124