

FLÁVIO AUGUSTO CLARO

**ESTUDO DO PROCESSO DE REPARAÇÃO ÓSSEA APÓS
IMPLANTAÇÃO DO POLIETILENO POROSO EM DEFEITOS
CIRÚRGICOS NO OSSO PARIETAL DE RATAS
DIABÉTICAS TRATADAS COM CALCITONINA.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, Área de Concentração em PRÓTESE BUCO-MAXILO-FACIAL.

FLÁVIO AUGUSTO CLARO

**ESTUDO DO PROCESSO DE REPARAÇÃO ÓSSEA APÓS
IMPLANTAÇÃO DO POLIETILENO POROSO EM DEFEITOS
CIRÚRGICOS NO OSSO PARIETAL DE RATAS
DIABÉTICAS TRATADAS COM CALCITONINA.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, Área de Concentração em PRÓTESE BUCO-MAXILO-FACIAL

Orientador: Prof. Titular José Roberto Sá Lima

São José dos Campos

2002

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:

BELLINI, A. B.; SILVA, E. A. **Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico.** São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2000. 81p.

Claro, F. A. **Estudo do processo de reparação óssea após implantação do polietileno poroso em defeitos cirúrgicos no osso parietal de ratas diabéticas tratadas com calcitonina.** 2002. 89f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Concentração em Prótese Buco-Maxilo-Facial)- Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

DEDICATÓRIA

*A **MEUS PAIS**, pela compreensão e colaboração incondicional em todas as fases de minha formação pessoal, profissional e acadêmica, sempre acreditando e me dando exemplos de força, determinação e retidão de conduta.*

*À minha esposa **ROBERTA** e a meu filho **VINÍCIUS**, pelo amor, paciência, amizade, cumplicidade e compreensão nos vários momentos de alegria, ausência e dificuldades.*

*A **DEUS**, luz maior que nos guia e nos conforta, pela oportunidade ímpar dessa passagem, por todas as emoções e pelo constante aprimoramento espiritual.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, representada pela **Direção da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP**, pela possibilidade de crescimento pessoal, científico e profissional.

Ao meu orientador, **Prof. Titular José Roberto Sá Lima**, por toda a confiança e apoio incondicional nesses anos de trabalho.

À **Prof^a. Dr^a. Mônica Fernandes Gomes** pelas orientações, pela dedicação e auxílio na leitura dos resultados, e pelo maior brilho concedido a essa pesquisa, com seu vasto conhecimento e rigor científico.

Ao **Prof. Dr. Miguel Angel Castillo Salgado**, pelo interesse, desde meu projeto inicial de pesquisa, e pelas preciosas orientações na confecção do material histológico, na elaboração e interpretação dos resultados do trabalho.

Ao **Prof. Dr. Renato Paulo Chopard**, pela confiança depositada em meu interesse científico, me acolhendo como estagiário do Departamento de Anatomia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, após anos de ausência.

Aos queridos colegas de turma, **Alexandre Luiz Souto Borges, Antonio Carlos da Silva Tavares, Bruno das Neves Cavalcanti, Indira Moliterno Rojo de Almeida, e Maria Conceição**

Aparecida Pinto Alves pelo compartilhamento de todos os momentos de alegria e tensão.

Aos colegas do curso de **Doutorado em Prótese Buco-Maxilo-Facial**, por nos ajudarem a perceber quais os momentos exatos para manter ou perder a calma.

Aos professores e funcionários do **Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese**, pelos ensinamentos iniciais, e pela dedicação em nossos primeiros passos no curso.

Aos **pacientes** do ambulatório de Prótese Buco-Maxilo-Facial, por depositarem em nós tanta confiança na resolução de suas aflições e angústias. Espero, do fundo do coração, que tenhamos retribuído à altura.

Aos colegas da equipe de **Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial de Taubaté**, pelo apoio e pela cobertura de plantões e cirurgias hospitalares durante meus períodos de ausência.

Aos colegas **Fernando Mendonça Ornellas** e **Luis Valério de Souza Lago**, por todos os ensinamentos no início de minha formação em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, e pela amizade, respeito e confiança que sempre dedicaram a mim.

Ao colega **Daniel de Abreu Matias Bueno**, pela confiança e liberdade concedida para minha dedicação quase integral ao trabalho.

Aos professores da **Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial** da Faculdade de Odontologia de

São José dos Campos- UNESP, pela colaboração e assistência durante o meu período de Estágio-Docência.

Aos Professores:

José Benedito Oliveira Amorim e Maria Nadir

Gasparoto Mancini, pelo constante interesse e pela orientação na diluição e preparação das substâncias.

Adriana Aigotti H. Brandão, pelos animais cedidos, em um momento tão crucial da pesquisa.

Rosilene Fernandes da Rocha pelo livre acesso ao biotério para acompanhamento dos trabalhos.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, em especial:

Maria Inês Moreira dos Santos (Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese) pela enorme colaboração em nosso período de atividades na clínica de Prótese Buco-Maxilo-Facial.

Denize Lourenço Cardoso, Maria Stella de M. M. Campoy e Márcia Cristina Lopes Garcia (Departamento de Cirurgia, Periodontia e Radiologia) pelo sorriso sempre estampado no rosto e pelo carinho dispensado durante estes anos de convivência.

Lourival Jacob e Antonio Domingos Sávio Barbosa Maia Vasconcelos (Biotério) pela cooperação e paciência durante a fase experimental, na manipulação e trato dos animais.

Walter Cruz (Departamento de Morfologia) pela dedicação e cuidado na confecção das lâminas histológicas.

Rosemary de Fátima Salgado, Erena Michie Hasegawa
e **Maria Aparecida Consiglio da Silva** (Secretaria de Pós-Graduação)
pela orientação nos diversos aspectos administrativos do curso.

Ângela de Brito Bellini (Biblioteca), pela disponibilidade
e atenção na correção da dissertação.

A todos os meus **amigos pessoais**, que a exemplo de
meus familiares, compreenderam que minha ausência foi necessária e
seria recompensada.

À memória da **Sra. Delma Martins Tiba**, então
proprietária da Cantina do Diretório Acadêmico da Faculdade, por eu não
ter sabido interpretar, ingenuamente, seu apelo quando me pediu pela
última vez em dezembro de 2001: “- Flávio, não vá embora sem se
despedir de mim....”.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São
Paulo-FAPESP**, pelo auxílio concedido para a realização desse
experimento.

Aos **animais**, meu profundo agradecimento e respeito
pelo auxílio prestado à comunidade científica, em seus mais diversos
questionamentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE QUADROS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
RESUMO.....	13
1.INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Polietileno Poroso.....	17
2.2 Metabolismo ósseo na presença do diabetes melito.....	29
2.3 Calcitonina.....	35
3. PROPOSIÇÃO.....	44
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1 Material.....	45
4.1.1 Animais.....	45
4.1.2 Estreptozotocina.....	45
4.1.3 Polietileno poroso.....	46
4.1.4 Calcitonina sintética de salmão.....	47
4.1.5 Reagentes e soluções.....	47
4.1.6 Material cirúrgico.....	47
4.2 Métodos.....	49
4.2.1 Indução do diabetes melito nos animais.....	49
4.2.2 Preparação dos animais, confecção dos defeitos ósseos e implantação do polietileno poroso.....	50
4.2.3 Aplicação da calcitonina.....	51
4.2.4 Avaliação da estreptozotocina na indução experimental do diabetes melito.....	53

4.2.5 Períodos de observação.....	53
4.2.6 Preparação dos espécimes para a microscopia de luz.....	54
5. RESULTADOS.....	55
5.1 Período de 15 dias.....	55
5.2 Período de trinta dias.....	59
5.3 Período de sessenta dias.....	63
5.4 Eficiência da estreptozotocina na indução experimental do diabete melito.....	66
5.4.1 Avaliação da glicemia pré-operatória e no sacrifício.....	66
5.4.2 Aspectos clínicos dos animais diabéticos.....	67
6. DISCUSSÃO.....	68
7. CONCLUSÃO.....	76
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
ANEXOS.....	88
ABSTRACT.....	89

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Estreptozotocina: substância utilizada para induzir o diabetes melito nos animais.....	48
FIGURA 2-	Implante de polietileno poroso utilizado no estudo....	49
FIGURA 3-	Glicosímetro digital e fita para glicosímetro.....	51
FIGURA 4-	Aspecto trans-operatório do defeito cirúrgico confeccionado no osso parietal dos animais.....	52
FIGURA 5-	Aspecto trans-operatório do implante de polietileno poroso aplicado no defeito ósseo.....	52
FIGURA 6-	Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo C. Cavidades formadas pelas imagens negativas das partículas do polietileno, com a presença de septos constituídos por tecido de granulação organizado. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	58
FIGURA 7-	Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo D. Área de reabsorção óssea na margem do defeito cirúrgico, presença de células gigantes e granulomas epitelióides próximo às cavidades. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	58
FIGURA 8-	Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo DCa. Margem do defeito, com formação de tecido ósseo próximo a uma cavidade. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	59

FIGURA 9-	Fotomicrografia do período de 30 dias. Grupo C. Margem do defeito, mostrando neoformação óssea e presença de osteoblastos. Área de calcificação distrófica próximo à cavidade. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	61
FIGURA 10-	Fotomicrografia do período de 30 dias. Grupo D. Seqüestro ósseo circundado por intenso infiltrado de polimorfonucleares próximo às cavidades. Fibras colágenas formadas no interior dos poros do implante. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	62
FIGURA 11-	Fotomicrografia do período de 30 dias. Grupo DCa. Discreta neoformação óssea na margem do defeito. Ninho de tecido ósseo formado próximo a uma cavidade, e células gigantes ao redor de sua cápsula. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	62
FIGURA 12-	Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo C. Tecido ósseo neoformado na margem do defeito cirúrgico, próximo a uma cavidade, circundada por tecido conjuntivo organizado. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	65
FIGURA 13-	Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo D. Margem do defeito cirúrgico mostrando áreas de neoformação óssea intercaladas com áreas de reabsorção. Tecido conjuntivo desorganizado próximo à margem óssea. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	65
FIGURA 14-	Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo DCa. Margem do defeito mostrando tecido ósseo neoformado. Granuloma epitelióide com partículas refratárias de polietileno em seu interior. Aumento original 100x. Coloração H.E.....	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Média da glicemia pré-operatória e previamente ao sacrifício dos animais utilizados nos estudo, obtidas através de glicosímetro digital.....	67
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

μm- micrometros

μg- microgramas

mU/mL- miliunidades por mililitro

H.E.- Hematoxilina Eosina

UI/mL- Unidades Internacionais por mililitro

UI/Kg- Unidades Internacionais por quilograma de peso

mg/Kg- miligramas por quilograma de peso

mg/dL- miligramas por decilitro

CLARO, F. A. **Estudo do processo de reparação óssea após implantação do polietileno poroso em defeitos cirúrgicos no osso parietal de ratas diabéticas tratadas com calcitonina.** 2002. 89f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Concentração em Prótese Buco-Maxilo-Facial)- Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

RESUMO

O propósito deste trabalho foi estudar a reação do tecido ósseo após a implantação de polietileno poroso em defeitos cirúrgicos confeccionados no osso parietal de ratas diabéticas tratadas com calcitonina, mediante análise microscópica. Avaliou-se também a eficiência da aplicação da estreptozotocina na indução do diabetes melito em ratos, em dose única de 45mg/Kg, através da utilização de um glicosímetro digital e do exame clínico. Foram utilizadas 27 ratas adultas, divididas em grupo não diabético-controle (C), grupo diabético (D) e grupo diabético tratado com calcitonina (DCa). Os animais do grupo DCa receberam aplicações subcutâneas do hormônio em doses de 16UI/Kg, em dias alternados, desde o pós-operatório imediato até o sacrifício e foram sacrificados após 15, trinta e sessenta dias. Diante dos resultados observados, pode-se concluir que o polietileno poroso foi tolerado pelos tecidos hospedeiros nos animais do grupo C e grupo DCa, provocando reações inflamatórias mais intensas nesse segundo grupo, em todos os períodos de observação. O polietileno poroso não foi tolerado pelos tecidos hospedeiros dos animais do grupo D. Os poros do implante foram preenchidos por um tecido conjuntivo bem vascularizado, conferindo estabilidade ao material no leito receptor, não ocorrendo osteointegração. A calcitonina utilizada nos animais do grupo DCa foi eficaz no tratamento pós-operatório dos animais diabéticos que receberam o polietileno poroso, inibindo o processo de reabsorção e/ou estimulando a neoformação óssea. A estreptozotocina, administrada em dose única de 45 mg/Kg, foi um método eficaz na indução do diabetes melito nas ratas, permitindo boas condições de sobrevivência.

Palavras-chave: Polietileno Poroso; diabetes melito, estreptozotocina; reparação óssea; calcitonina.

CLARO, F. A. Study of bone repair process after implantation of porous polyethylene in surgical defects in the parietal bone of diabetic rats treated with calcitonin. 2002. 89f. **Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Concentração em Prótese Buco-Maxilo-Facial)- Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.**

ABSTRACT

The purpose of this work was to study the reaction of the bone tissue after the porous polyethylene implantation in confectioned surgical defects in the parietal bone of diabetic rats treated with calcitonin, by means of microscopical analysis. The efficiency of a single dose of streptozotocin, 45mg/Kg, in the induction of diabetes mellitus in rats was also evaluated through the use of a digital glicosimeter and the clinical examination. Twenty-seven adult female rats had been used, divided in not diabetic-control (C), diabetic (D) and diabetic treated with calcitonin (DCa) groups. The animals of group DCa had received subcutaneous applications from the hormone in doses of 16U/Kg, in alternated days, since immediate postoperative until the sacrifice, and all the animals had been sacrificed after 15, 30 and 60 days. Ahead of the results, it can be concluded that the porous polyethylene was tolerated by the host tissue in groups C and DCa, disclosing more intense inflammatory response in group Dca. The pores of the implants had been filled with well vascularized connective tissue, conferring stability to the material in the receiving site, not occurring osteointegration. Calcitonin used in the animals of group DCa was efficient in the postoperative treatment of the diabetic animals that had received the porous polyethylene implants, inhibiting the bone resorption and/or stimulating the bone formation. Streptozotocin, managed in a single dose of 45 mg/Kg, was an efficient method in the induction of the diabetes mellitus in the rats, allowing good conditions of survival.

Key Words: Porous polyethylene, diabetes mellitus, streptozotocin, bone repair; calcitonin

1 INTRODUÇÃO

A reabilitação estética e funcional de pacientes portadores de deformidades congênitas, patológicas ou traumáticas tem sido alvo de estudo em diversos trabalhos clínicos e experimentais realizados por profissionais que atuam na região crânio-maxilo-facial, dentre os quais aqueles que se dedicam à Cirurgia e Prótese Buco-Maxilo-Facial.

Uma vez reabilitados, através de técnicas cirúrgicas ou não, esses pacientes podem se reintegrar psico-socialmente, recuperando dessa forma a sua qualidade de vida e a sua auto-estima.

Nas últimas décadas, inúmeros materiais têm sido utilizados para a reconstrução dessas deformidades, como os enxertos autólogos, homólogos e heterólogos, dos mais diversos tipos de tecidos, além de materiais sintéticos e implantes aloplásticos. Dentre os materiais sintéticos, os mais amplamente utilizados são o silicone, o teflon, o metilmetacrilato, a hidroxiapatita, o politetrafluoretileno e o polietileno poroso, sendo, esse último, o objeto de estudo desta pesquisa.

A crescente utilização dos enxertos heterólogos e dos materiais aloplásticos para reconstruções das deformidades crânio-maxilo-faciais, têm relegado a um plano secundário a utilização dos enxertos autólogos, proporcionando maior conforto a profissionais e pacientes, em relação a sua obtenção. A opção dos cirurgiões por tecidos não oriundos do próprio paciente reduz a morbidade do ato cirúrgico, eliminando a necessidade de obtenção de tecidos de outras áreas doadoras, e conseqüentemente, reduzindo riscos potenciais de infecções e seqüelas.

O material aloplástico ideal para implantes deve ser inerte, não-carcinogênico, não provocar resposta inflamatória, não ser alergênico, ser resistente a traumas e forças mecânicas, e ser de fácil manuseio durante o ato cirúrgico (Frodel & Lee²⁰, 1998). Outras propriedades desejáveis são a capacidade de mimetizar a coloração e a consistência dos tecidos, ser resistente a infecções e extrusões, permitir a invasão de tecidos hospedeiros para o interior do material de implante e estar prontamente disponível sem morbidade adicional ao paciente (Romo et al.⁶⁸, 1998).

Nos últimos anos, o polietileno poroso vem sendo aplicado em reconstruções ortopédicas, auriculares, orbitárias, cranianas e maxilo-faciais, devido à sua biocompatibilidade e boa estabilidade na intimidade dos tecidos. Esse material, flexível e de cor esbranquiçada, é constituído por cristais ortorrômbicos agrupados, com poros em sua estrutura, que permitem o crescimento dos tecidos hospedeiros em seu interior, promovendo melhor ancoragem do polímero ao seu local de implantação.

Numa revisão de literatura apurada, nenhum estudo foi ainda encontrado relacionando a utilização do polietileno poroso no tecido ósseo de pacientes diabéticos. O diabetes melito é uma síndrome sistêmica crônica e evolutiva, que se caracteriza por alterações dos metabolismos de carboidratos, gorduras e proteínas, devido à falta de insulina ou à sua incapacidade de agir na transferência de glicose do plasma para o citoplasma das células.

Os pacientes diabéticos geralmente apresentam diversos tipos de complicações crônicas secundárias, tais como: neuropatias diabéticas, lesões de extremidades ("Síndrome do Pé Diabético"), retinopatias que geralmente conduzem à cegueira total ou parcial, nefropatias e doenças vasculares que podem conduzir à arteriosclerose, hipertensão arterial, isquemia e infarto, devido ao acúmulo de lipídeos nos vasos. Além disso, os diabéticos podem sofrer alterações nos processos

de formação e mineralização óssea, que resultam em retardo na reparação desses tecidos durante o período pós-operatório. Tais alterações ocorreriam devido a uma função deficiente dos osteoblastos (Rico et al.⁶⁵, 1989), a uma diminuição na produção de colágeno (Spanheimer et al.⁷⁷, 1988) e/ou às alterações no metabolismo mineral, com conseqüente osteopenia (Hough³⁷, 1987).

Devido a sua reconhecida capacidade em inibir a reabsorção óssea, a calcitonina tem sido amplamente utilizada em indivíduos portadores de patologias que afetam o metabolismo ósseo, como a osteoporose, a osteogênese imperfeita e a Doença de Paget.

Nos mamíferos, esse hormônio é liberado pelas células parafoliculares da tireóide, remanescentes das glândulas ultimobranquiais dos animais inferiores, em resposta ao aumento dos níveis séricos de cálcio (Guyton & Hall³³, 1997). Trabalhos encontrados na literatura demonstram que a calcitonina favorece a neoformação óssea *in vivo* (Arisawa³, 2000) e *in vitro* (Yamaguchi et al.⁹⁰, 1989), inibe a atividade osteoclástica (Holtrop et al.³⁶, 1974; Nicholson et al.⁵⁵, 1986) e previne o desenvolvimento de osteopenia (Wronski et al.⁸⁹, 1991; Ichikawa et al.³⁸, 1994).

Diante das necessidades de maiores esclarecimentos sobre a utilização de materiais aloplásticos, das alterações metabólicas do tecido ósseo observadas em pacientes diabéticos e da aplicação da calcitonina para tratamento terapêutico de algumas patologias ósseas, despertou-nos o interesse em verificar as reações do tecido ósseo após a implantação de polietileno poroso em defeitos cirúrgicos confeccionados em ratos diabéticos tratados com calcitonina.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Polietileno poroso

Alguns dos primeiros pesquisadores a tentarem delinear o processo pelo qual os tecidos hospedeiros crescem no interior dos implantes foram Spector et al.⁷⁹ (1975), aplicando palhetas desse material, com poros de 250 μ m, em fêmures de cães. Observações realizadas através de microscopia eletrônica de varredura, três dias após a implantação, mostraram uma camada de material acelular recobrando a superfície dos poros, enquanto células do sangue e material fibroso ocupavam o interior dos mesmos. Em análises realizadas 14 dias após a implantação, foram observadas espículas ósseas, além de coágulos sangüíneos e vasos arteriais neoformados. As espículas ósseas pareciam resultar de crescimento ósseo do tipo aposicional.

Klawitter et al.⁴⁸ (1976) demonstraram a relação entre o diâmetro dos poros do polietileno com o crescimento dos tecidos hospedeiros em seu interior, implantando fragmentos do polímero com tamanhos variados de poros, em fêmures de cães. Os resultados mostraram crescimento de tecido ósseo no interior de poros com diâmetro de até 40 μ m, e que esse crescimento era ainda maior em implantes com poros de 100 μ m até 135 μ m. Os autores não reportaram aumento do crescimento de tecido ósseo em implantes com poros maiores. Foram também evidenciadas células mesenquimais com morfologia atípica, características de tecidos isquêmicos, nos implantes com poros menores que 40 μ m, e tal foi atribuído à pobre invasão vascular no interior dos

implantes com poros menores. Respostas tissulares adversas não foram observadas em nenhum dos espécimes.

Em outro estudo, Spector et al.⁷⁸ (1976) implantaram palhetas de polietileno poroso com poros de 450µm em fêmures de cães, e realizaram biópsias em períodos que variavam de três dias até oito semanas. Os espécimes obtidos foram então avaliados através de micro-radiografias, microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Nos exames das micro-radiografias observaram a presença de pequenas espículas ósseas no interior dos implantes, no período de sete dias. Com três semanas essas espículas foram vistas através dos implantes, e com cinco semanas a remodelação dessas estruturas já se encontrava em estágio avançado. A microscopia de luz mostrou a presença de tecido conjuntivo frouxo nos poros dos implantes logo após a implantação, enquanto o mesênquima osteoprogenitor era gradativamente substituído por osso trabeculado, que logo se remodelava em estrutura lamelar. Após cinco semanas, nada do mesênquima osteoprogenitor inicial foi visto no interior dos implantes, e espículas de osso lamelar bem desenvolvidas, medula hematopoiética saudável, interespaçada com glóbulos de gordura, estavam presentes. A microscopia eletrônica de varredura revelou camadas de osteoblastos pleomórficos na superfície das espículas ósseas que sofriam remodelação.

Em 1979, Brown et al.⁵ avaliaram as reações teciduais após implantação de quatro diferentes biomateriais em orelhas de coelhos. Os materiais escolhidos foram a malha de poliamida, o politetrafluoretileno com fibras de carbono, o polietileno poroso e a borracha de silicone, e os períodos de observação foram de seis semanas, seis meses e um ano. Alguns implantes de malha de poliamida sofreram extrusões, e em vários espécimes foram vistas partículas negras, provavelmente originadas das fibras dos implantes. Os implantes

de politetrafluoretileno estavam visíveis sob a pele da orelha dos animais mesmo após um ano da implantação, devido à cor escura do material, além de demonstrarem, microscopicamente, a presença de processo inflamatório crônico. Os implantes de polietileno poroso estavam firmemente ancorados aos seus locais de implantação, mesmo após alguns casos de extrusão que foram atribuídos à rigidez do material por eles utilizado, com poros de apenas 20 a 30 μ m. Com os implantes de borracha de silicone os autores puderam observar seromas persistentes ao redor dos fragmentos, além de episódios de necroses, rejeições e deslocamentos.

Handrock et al.³⁴ (1979) procuraram estudar a utilização do polietileno poroso em timpanoplastias, removendo a parede posterior do conduto auditivo de porcos da Guiné, e substituindo por lâminas desse material. Avaliações histológicas realizadas em até 24 meses após a implantação mostraram 80% de sucesso nos procedimentos, mesmo em animais que apresentavam otite média infecciosa previamente à cirurgia. Substância osteóide neoformada foi vista firmemente aderida ao osso da região apenas quatro semanas após a aplicação do material no conduto auditivo dos animais.

Frootko²¹ (1984) reportou elevado índice de insucessos com a implantação de próteses parciais e totais de polietileno poroso, para substituição dos ossículos do ouvido médio. Das 78 próteses para substituição parcial implantadas, trinta sofreram extrusão até o quinto ano pós-operatório, enquanto que 11 das 41 próteses para substituição total extruíram entre um e dois anos após a implantação. O autor relacionou tais extrusões à não colocação de tecidos de interposição, como dura mater alogênica ou fásia temporal, entre a cabeça da prótese e a membrana do tímpano, o que poderia ter evitado a reação do tipo corpo estranho observada nos implantes removidos.

Maas et al.⁵² (1990) realizaram aumentos em diversas regiões faciais de 12 cães, utilizando cinco diferentes materiais de implantes. Os materiais comparados foram o politetrafluoretileno expandido, o polietileno poroso de alta densidade, o silicone sólido, a malha de poliamida e costela autóloga. Na região malar, após três meses da implantação, o polietileno poroso mostrou os melhores resultados, com boa estabilidade sobre o osso, enquanto que todos os enxertos de costela autóloga sequer foram encontradas na autópsia, devido à reabsorção. Na região mentoniana, os implantes de silicone e de politetrafluoretileno mostraram-se extremamente instáveis, com grande mobilidade, enquanto que no dorso nasal, os melhores resultados foram obtidos com os enxertos de costela.

Em 1990, Shanbhag et al.⁷⁴ compararam os resultados obtidos com discos de polietileno poroso e de silicone, com espessuras de 1,5mm e 3,0mm, implantados no leito cartilaginoso do pavilhão auricular de macacos. Após nove semanas de observação, todos os implantes de polietileno com 1,5mm de espessura permaneceram no local, enquanto que um implante de silicone foi extruído no vigésimo terceiro dia de observação. Metade dos implantes de silicone de 3,0mm sofreu extrusão total, enquanto os remanescentes estavam quase que totalmente extruídos. As regiões que receberam os implantes de polietileno de 3,0mm apresentavam erosão, com exposição parcial dos implantes, mas nenhum deles havia extruído completamente. As avaliações histológicas dos implantes de 1,5mm de silicone mostraram uma cápsula de tecido frouxo, moderadamente celular, circundada por muitos neutrófilos e fibroblastos. Um infiltrado linfocitário também estava presente ao redor daquela cápsula, e, adjacente à superfície do material, foram vistos macrófagos e células gigantes. Os tecidos ao redor dos implantes de polietileno da mesma espessura mostravam-se bem cicatrizados, com a presença de uma fina cápsula com fibras colágenas maduras,

quantidades mínimas de células inflamatórias, e vasos sangüíneos calibrosos. A referida cápsula consistia principalmente de fibroblastos alongados e orientados com o longo eixo dos implantes. Dentre as células inflamatórias, macrófagos e fibroblastos pareciam ser predominantes, e na interface da cápsula com o implante foram evidenciadas mínimas reações tipo corpo estranho. No interior dos poros mais periféricos dos implantes havia componentes de tecido conjuntivo com alta densidade de colágeno, vasos largos, e ausência de células inflamatórias, enquanto que nos poros mais centrais, foram vistas predominantemente células inflamatórias e espaços vazios preenchidos com material seroso, além de poucas células gigantes. As estruturas que circundavam os implantes de 3,0mm de ambos os materiais, mostraram-se comprimidos pela pouca espessura dos tecidos que recobriam os implantes. Os implantes de polietileno poroso desse grupo mostravam tecidos hospedeiros no interior dos poros mais periféricos, e invasão parcial nos poros centrais, com presença de materiais proteináceos e leucócitos.

Kinoshita et al.⁴⁷ (1993) implantaram polietileno poroso impregnado com colágeno de pele de porco e polietileno puro no tecido subcutâneo de ratos, e compararam os resultados em períodos que variaram de uma a vinte semanas pós-operatórias. Observaram que o crescimento de tecido conjuntivo dentro dos poros dos implantes impregnados com o colágeno era mais rico, e que continha uma quantidade menor de infiltrado celular inflamatório, quando comparado ao polietileno puro. Relataram ainda que, na interface entre o implante e os tecidos circunjacentes, as fibras colágenas dos tecidos hospedeiros estavam firmemente ancoradas dentro da camada de colágeno do polietileno, concluindo que a impregnação da superfície do material com colágeno é um recurso utilizável na promoção do crescimento dos tecidos moles e na adesão tissular.

Em 1993, Romano et al.⁶⁷ relataram a necessidade de remoção, devido à infecção, de apenas um dentre 140 implantes de polietileno poroso aplicados em pacientes vítimas de fraturas, recentes ou tardias, da região maxilo-facial. As demais complicações relatadas, tais como vermelhidão e pequenas deficiências na restauração do contorno facial não necessitaram de um segundo ato cirúrgico para correção.

Wellisz⁸³ (1993) aplicou 116 implantes de polietileno poroso, nas regiões mentoniana, malar, em reconstruções nasais, orbitárias e para correções do contorno em diversas deformidades craniofaciais de setenta pacientes. Nove complicações foram relatadas, tais como exposições dos implantes em áreas com fina cobertura por tecidos moles, presença de grandes cicatrizes e severas queimaduras faciais, sendo que, desses, somente dois necessitaram remoção completa e substituição.

Karesh & Dresner⁴⁴ (1994) preencheram cavidades orbitárias anoftálmicas com esferas de polietileno poroso em 21 pacientes, vítimas de traumas e tumores. Um desses implantes necessitou ser removido quatro meses após a sua implantação e foi submetido à análise histológica, que mostrou extensa invasão pelos tecidos hospedeiros ao redor do implante. Uma mínima cápsula fibrosa circundava o material, que apresentava também formação de canais vasculares com eritrócitos em seu interior. Os autores observaram a presença de poucas células inflamatórias e macrófagos, além da ausência de células gigantes.

Avaliações histológicas do grau e da extensão do crescimento de tecidos hospedeiros, em implantes orbitais de polietileno poroso e de hidroxiapatita, realizadas em coelhos por Rubin et al.⁷⁰ (1994) mostraram que ambos os materiais são capazes de se tornar

completamente vascularizados após 12 semanas de implantação. Os implantes de hidroxiapatita se tornaram vascularizados mais rapidamente do que implantes de polietileno poroso com poros de até 150µm. Quando implantes de polietileno com poros de 400µm foram utilizados, os resultados foram similares para os dois materiais. Segundo os autores, tais resultados sugerem que a presença de poros maiores favorece a invasão dos implantes pelos tecidos hospedeiros.

Cenzi & Guarda-Nardini⁷ (1995) utilizaram o polietileno poroso para realizar reconstruções faciais em pacientes portadores de deformidades faciais, tais como microsomia hemifacial, fendas lábio-palatinas unilaterais e microgenia, e em pacientes afetados por traumas prévios entre 1991 e 1993. Dos vinte casos operados apenas três apresentaram complicações pós-operatórias como exposições e sobre-saliências dos implantes, que foram tratados com sucesso através de remodelação dos implantes.

Wellisz et al.⁸⁶ (1995) avaliaram a erosão óssea causada por três diferentes materiais aloplásticos, aplicados sem fixação sob o perióstio do corpo e do ramo de mandíbulas de coelhos. Discos com espessuras de 1,5mm e de 6,0mm de silicone sólido, de metilmetacrilato e de polietileno poroso foram utilizados e analisados após 12 e 24 semanas de implantação. Todos os implantes de silicone de 1,5mm provocaram erosões no osso, e um deles chegou até a atravessar completamente o osso mandibular. Dentre os 17 implantes de 6,0mm, 88% causaram erosão óssea em graus variáveis, e nos demais foi observada erosão completa do osso. No grupo de metilmetacrilato de 1,5mm foram observadas erosões em apenas dois casos (18%), enquanto que no grupo de 6,0mm, erosões ocorreram em dez casos (56%). Apenas 15% dos implantes de polietileno poroso de 1,5mm provocaram erosão na mandíbula dos animais, e nenhum dos implantes de 6,0mm provocou a

ocorrência do fenômeno. Curiosamente, em três casos, foi observado espessamento do osso subjacente. Segundo os autores, o crescimento de tecido ósseo no interior dos poros do polietileno poroso e a subsequente aderência dos implantes poderiam explicar o baixíssimo grau de reabsorção e a neoformação óssea observada.

Sclafani et al.⁷¹ (1997) compararam as respostas a infecções, imediatas e tardias, de implantes de politetrafluoretileno expandido e de polietileno poroso de alta densidade. Ambos os materiais foram introduzidos no tecido celular subcutâneo do dorso de ratos, e inoculados com culturas de *Staphylococcus aureus*, no dia da cirurgia e 14 dias após a implantação. Todos os animais foram sacrificados após sete dias, e os espécimes obtidos foram submetidos a avaliações sob a microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Nos implantes inoculados imediatamente após a cirurgia, os autores observaram que os dois materiais aloplásticos se mostraram infectados, com a presença de exsudato purulento circundante, polimorfonucleares neutrófilos e restos celulares. Nos implantes inoculados 14 dias após a cirurgia, observaram que três dos quatro implantes de polietileno poroso não mostravam evidências clínicas de infecção e estavam firmemente aderidos aos tecidos circunjacentes, ao passo que três dos quatro implantes de politetrafluoretileno apresentavam evidências de infecção e total falta de adesão aos tecidos hospedeiros. Histologicamente, os implantes de polietileno não infectados apresentavam cerca de 50% de seus poros preenchidos por tecido conjuntivo maduro, com deposição de colágeno, e ausência de polimorfonucleares neutrófilos. No implante de polietileno infectado não foi observada a presença de exsudato purulento, e, ao redor de sua cápsula havia células gigantes e polimorfonucleares neutrófilos. Os implantes de politetrafluoretileno infectados mostravam-se cercados e infiltrados por polimorfonucleares neutrófilos e restos celulares, e sem nenhuma invasão pelos tecidos hospedeiros. O implante

de politetrafluoretileno que não se apresentava infectado estava parcialmente fixado aos tecidos circundantes, com mínima invasão tissular, e um grande número de células gigantes e histiócitos ao seu redor.

Williams et al.⁸⁷ (1997) avaliaram a capacidade do polietileno poroso em suportar exposições e enxertos de pele, quando usados para reconstrução de defeitos na cartilagem auricular de coelhos. Os implantes foram intencionalmente expostos após quatro, sete e 21 dias de implantação, sendo que alguns receberam uma nova cobertura com enxertos de pele uma semana após a exposição, enquanto os demais foram deixados expostos para cicatrizar por segunda intenção. As análises histológicas revelaram que o material foi extremamente bem tolerado pela cartilagem auricular de coelhos, e que todos os implantes que sofreram exposição se integraram aos tecidos hospedeiros, tanto após a aplicação do enxerto de pele quanto após a cicatrização por segunda intenção.

Frodel & Lee²⁰ (1998) utilizaram quarenta implantes de polietileno poroso em pacientes portadores de defeitos orbitários, da calota craniana e nas regiões temporal, maxilar, zigomática e mentoniana. Um dos implantes, removido após três meses devido à infecção secundária, estava firmemente aderido aos tecidos circundantes. Outros quatro implantes, que sofreram exposição parcial, cicatrizaram adequadamente após remodelação e debridamento com sutura das feridas, sem necessidade de remoção.

Karcioglu et al.⁴³ (1998) implantaram 37 esferas de polietileno poroso em cavidades orbitárias de pacientes que sofreram enucleação oculares, unilaterais ou bilaterais, devido a retinoblastomas. Seis desses implantes foram realizados após radioterapia, enquanto cinco

receberam radioterapia após a implantação. Dentre os oito casos de exposição dos implantes observados, somente um havia se submetido à radioterapia previamente à implantação. Outros três casos de exposição ocorreram em pacientes que se submeteram à radioterapia após a cirurgia. Os autores postularam que, mesmo após tratamento radioterápico, o polietileno favorece o crescimento tissular no interior de seus poros, possibilitando sua melhor fixação aos tecidos circundantes e reduzindo a ocorrência de migrações ou extrusões.

Em 1998, Romo et al.⁶⁸ realizaram rinoplastias reparadoras e estéticas com polietileno poroso em 187 pacientes, muitas das quais utilizando múltiplos implantes. Encontraram apenas 2,6% de complicações nos casos operados, relacionadas ao hábito de fumar, ao consumo de cocaína e também à intervenções cirúrgicas prévias.

Kerr & Riley⁴⁶ (1999) descreveram a deterioração de uma prótese de polietileno poroso para substituição dos ossículos do ouvido médio em uma paciente, 14 anos após sua implantação. Os exames histológicos mostraram tentativas de encapsulação fibrosa da prótese, cobertura parcial por mucosa, além de muitas células gigantes e defeitos na superfície de sua estrutura.

Em 1999, Niechajev⁵⁶ reportou a utilização do polietileno poroso em 23 reconstruções nasais em humanos, com finalidades funcionais e estéticas. Em um dos casos o implante necessitou ser removido seis meses após a cirurgia por desaprovação da família do paciente, que era de origem vietnamita. Esse espécime foi então submetido a exame microscópico que revelou invasão de tecidos cutâneos ocupando todos os espaços disponíveis. O tecido encontrado era altamente viável, rico em colágeno, fibras elásticas, fibrócitos e bem

vascularizado. Células gigantes multinucleadas foram observadas ocasionalmente próximas à superfície do implante.

Em 1999, Rossa⁶⁹ avaliou a reação tecidual após a implantação de polietileno poroso na região subcutânea do dorso de ratos, por períodos que variaram de sete a 210 dias. O autor observou boa aderência do polímero aos tecidos adjacentes, com formação de tecido conjuntivo bem vascularizado no interior das porosidades do material. Notou também que o implante havia sido bem tolerado pelos tecidos hospedeiros, apesar do discreto infiltrado inflamatório crônico evidenciado no último período de observação.

Janecka³⁹ (2000) utilizou 67 implantes de polietileno poroso, 12 dos quais associados a telas de titânio, em correções cirúrgicas da região crânio-maxilo-facial de pacientes portadores de deformidades congênitas ou adquiridas. As poucas complicações pós-operatórias encontradas, tais como pequenas exposições ou sobre-saliências indesejáveis, foram atribuídas pelo autor à pouca espessura dos tecidos que recobriam os implantes, ou a falhas técnicas durante a execução do ato cirúrgico.

Soparkar et al.⁷⁶ (2000) implantaram cubos de polietileno poroso puro, recobertos com agarose (um carboidrato derivado de plantas), ou com escleras humanas, nos músculos paraespinhais de coelhos. Os três tipos de implantes foram colocados em três diferentes posições em relação ao músculo: inseridos profundamente na massa do músculo, a 1,0mm de profundidade nas fibras do músculo, e sobre o músculo intacto, sem rompimento da cápsula. Dentre os cubos de polietileno poroso puro, os implantados mais profundamente no músculo mostraram o maior grau de invasão tissular após oito semanas de implantação, quando comparados aos cubos implantados

superficialmente e aos cubos implantados sobre o músculo. A cobertura dos cubos com esclera provocou redução da invasão tissular em pelo menos 50%, em qualquer dos locais de implantação, enquanto que a cobertura com agarose não alterou a invasão pelos tecidos hospedeiros. Os cubos que receberam coberturas por esclera ou agarose apresentaram formação de cápsula circundante mais espessa em relação aos cubos de polietileno puro.

Yildirim et al.⁹³ (2000) substituíram fragmentos de traquéias de coelhos da Nova Zelândia por próteses de polietileno poroso, e analisaram os resultados em períodos que variaram de quatro a 10 meses. Nas análises histológicas, os pesquisadores puderam observar que as próteses foram totalmente incorporadas às traquéias dos animais e aderidas aos órgãos circunjacentes, em especial o esôfago. As superfícies internas das próteses, voltadas para o lúmen traqueal, estavam quase que completamente revestidas pelo tecido hospedeiro, que era constituído por epitélio ciliado pseudo-estratificado. Em alguns locais, pequenos e discretos infiltrados de linfócitos, plasmócitos e leucócitos polimorfonucleares foram observados. Exames de tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética, realizados uma semana antes do sacrifício, não mostraram obstruções ou estenoses traqueais.

Núñez Sánchez et al.⁵⁸ (2001) analisaram microscopicamente dois implantes orbitários de polietileno poroso, removidos de pacientes, após três e nove meses de implantação. Os autores observaram a existência de uma cápsula tissular firmemente aderida às esferas do material aloplástico. Notaram também a presença de um tecido conjuntivo bem vascularizado no interior dos poros, que se mostrava mais denso na interface dos tecidos com os implantes, além de infiltrado inflamatório linfocitário. Um pequeno número de células gigantes

multinucleadas tipo corpo estranho também foi observado ao redor do implante, e na região da sutura operatória.

2.2 Metabolismo ósseo na presença do diabetes melito

Diversos trabalhos objetivaram avaliar a relação entre as alterações no metabolismo dos tecidos ósseos e o diabetes melito, como Grandini ²⁹(1978), que observou a cicatrização de alvéolos dentários após exodontias em ratos, com diabetes induzida por pancreatectomia parcial. No vigésimo segundo dia pós-operatório, os alvéolos dos animais diabéticos apresentavam trabéculas bem definidas em seu terço apical, e tecido ósseo imaturo nas demais áreas, ao passo que, em um grupo de animais controle, no mesmo período de observação, os alvéolos já se mostravam completamente preenchidos com trabéculas ósseas bem desenvolvidas. As análises histológicas mostraram ainda que, a organização do coágulo sangüíneo, a maturação do tecido conjuntivo, a proliferação dos fibroblastos e a diferenciação dos osteoblastos foram prejudicadas no grupo de animais diabéticos.

Implantando partículas de matriz óssea desmineralizada, que possui reconhecida capacidade indutora na formação óssea e cartilaginosa, no subcutâneo de ratos portadores de diabetes induzida pela estreptozotocina, Weiss et al.⁸⁴ (1981) observaram alterações na síntese óssea e cartilaginosa de proteoglicanas. Concluíram que parte da redução da formação óssea encontrada em pacientes portadores de diabetes melito, pode ser resultado das alterações encontradas na síntese daquelas macromoléculas.

Em 1984, Goodman & Hori²⁸ procuraram explicar a presença de osteopenia na presença de diabetes melito, utilizando ratos diabéticos. O crescimento ósseo da tíbia foi comparado, através de marcadores ósseos, em animais saudáveis, animais diabéticos e animais diabéticos tratados com insulina. Encontraram decréscimo de 50% na formação e aposição óssea no grupo de animais diabéticos sem tratamento, quando comparados aos demais grupos. Os autores concluíram que a administração de insulina pode restaurar a formação normal de matriz e osso em diabetes experimental.

Yoon & Reddi⁹⁴ (1984) reportaram marcante decréscimo na formação e mineralização óssea de tíbias de ratos com diabetes, induzida através da inoculação de uma variante do vírus causador de encefalomiocardite. Concluíram então que a redução da formação óssea endocondral encontrada nos animais não foi originada pelos danos teciduais provocados pelo vírus, mas sim, pelas alterações metabólicas persistentes geradas pelo diabetes melito.

Hough³⁷ (1987) constatou a presença de osteopenia cortical em 22% de 206 pacientes portadores de diabetes melito insulino-dependente, com idades variando entre sete a vinte anos de idade. O autor relacionou a osteopenia à excreção aumentada de fosfatos observada nesses pacientes, e salientou que o metabolismo do fósforo é importante na mineralização óssea, na síntese da matriz óssea, influenciando também o metabolismo do cálcio no organismo.

Spanheimer et al.⁷⁷ (1988) mensuraram *in vitro* a produção de proteínas colágenas e não-colágenas, no osso parietal e em cartilagem articular de ratos portadores de diabetes, induzida pela aplicação de doses variadas de estreptozotocina. Em um subgrupo de animais com diabetes, considerada pelos autores como moderada,

encontraram redução de mais de 50% na produção óssea e cartilaginosa de proteínas colágenas. Não observaram alterações na produção de proteínas não colágenas nesses animais. Em outro subgrupo, com diabetes considerada severa, além do decréscimo da síntese de proteínas colágenas, observaram decréscimo de até 86% na produção de proteínas não colágenas.

Em 1989, Rico et al.⁶⁵, após constatarem níveis séricos mais baixos de osteocalcina, o maior componente não colágeno da matriz óssea, em pacientes diabéticos quando comparados a pacientes saudáveis, sugeriram que o quadro de osteopenia observado naqueles pacientes é decorrente de atividade deficiente dos osteoblastos, que são as células responsáveis pela síntese daquela proteína.

Devlin et al.¹³ (1996) estudaram a cicatrização de alvéolos, após exodontias de molares, em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina. Um dos grupos de animais diabéticos recebeu aplicações diárias de insulina, enquanto o segundo grupo recebeu apenas aplicações diárias de citrato tamponado. As exodontias foram realizadas duas semanas após a indução da doença. Na análise histológica, foi observado que, no grupo de animais diabéticos não tratados, a formação da rede colágena no alvéolo estava inibida, o que provocou demora na cicatrização e aumento da destruição do osso alveolar.

Após a realização de exames de densitometria óssea da espinha lombar e da região femoral de 23 pacientes com diabetes insulino-dependente em tratamento, 11 dos quais com características de osteopenia, Kayath et al.⁴⁵ (1998) concluíram que o quadro osteopênico causado pela doença, embora seja uma alteração de alta incidência, parece não ser de caráter progressivo na maior parte dos pacientes.

Observaram ainda um aumento da densidade mineral óssea na região da espinha lombar de alguns pacientes, durante o período de observação.

A capacidade de reparação óssea ao redor de implantes de titânio inseridos em fêmures de ratos diabéticos, foi avaliada por Nevins et al.⁵⁴ (1988). A doença foi induzida por aplicação única de estreptozotocina, e as análises foram feitas através da microscopia de luz e da histomorfometria. Os autores observaram diferenças no padrão e na arquitetura do osso neoformado ao redor dos implantes dos animais diabéticos, quando comparados aos animais do grupo controle, após quatro e oito semanas de implantação. As análises histomorfométricas mostraram um maior contato entre o osso e a superfície do implante nos animais normais, além de uma significativa redução na porcentagem da osteointegração nos animais diabéticos.

Em 1999, El-Hakim¹⁷ pesquisou a influência da administração do fator estabilizador de fibrina (fator XIII) na reparação de defeitos ósseos produzidos em mandíbulas de ratos com diabetes melito, induzida pela estreptozotocina. O fator de coagulação foi aplicado em um grupo de animais, enquanto outro grupo recebeu aplicações de solução salina. Avaliações histológicas mostraram que o colágeno depositado nos defeitos ósseos dos animais do grupo tratado estava evidente e parecia mais orientado do que nos animais do segundo subgrupo. Mostraram ainda que a neoformação óssea iniciou-se mais cedo nos animais tratados do que nos animais do grupo controle. A administração da substância em animais não diabéticos não provocou alterações significativas no processo reparativo.

Fiorellini et al.¹⁹ (1999) demonstraram aumento na neoformação óssea ao redor de implantes osteointegrados aplicados em fêmures de ratos diabéticos, que receberam tratamento com insulina.

Entretanto, os parâmetros histométricos utilizados indicaram que, apesar da quantidade total de formação óssea estar aumentada nesses animais, a porcentagem de contato entre o osso e o implante de titânio era significativamente menor do que a encontrada em animais não diabéticos.

Em 2000, Funk et al.²² realizaram análises microscópicas e tensionais em fêmures de ratos que receberam estreptozotocina para indução do diabetes melito, comparando-os a um grupo de animais saudáveis. Os fêmures de todos os animais eram fraturados após receberem uma haste intra-medular para estabilização, e deixados cicatrizar por períodos de três a quatro semanas. Os autores observaram que ocorreu um decréscimo da resistência estrutural e material nos fêmures com fraturas cicatrizadas de ratos diabéticos quando comparados aos fêmures dos animais do grupo controle.

O diabetes melito provocou acentuado retardo na osteointegração ao redor de implantes laminares de titânio, aplicados em tíbias de ratos com diabetes induzida por estreptozotocina, em um estudo realizado por Giglio et al.²⁶ (2000). As análises mostraram ainda decréscimo da extensão da superfície óssea na tíbia dos animais diabéticos, quando comparado ao grupo controle, constituído por animais não diabéticos.

Pesquisando métodos para amenizar ou reverter a perda óssea observada em ratos diabéticos, Tsuchida et al.⁸¹ (2000) testaram a aplicação intermitente de hormônio paratireoidiano humano nos animais. O hormônio começou a ser aplicado quatro, seis e oito semanas após a indução da doença. Análises histomorfométricas realizadas nas tíbias dos animais indicaram que melhoras significativas no volume ósseo ocorreram somente nos animais cujas aplicações tiveram início quatro semanas após a aplicação da estreptozotocina. Nos animais que começaram a

receber aplicações do hormônio seis e oito semanas após a indução do diabetes, não foram observados ganhos ósseos significativos. Segundo os autores, tais resultados indicam que a aplicação do hormônio paratireoidiano humano pode prevenir a perda óssea, característica do quadro diabético agudo, quando utilizado em estágios mais precoces da doença, tendo pouca ou nenhuma eficácia quando utilizado em quadros diabéticos mais avançados.

Shyng et al.⁷⁵ (2001) avaliaram a reparação óssea em defeitos cirúrgicos realizados na calota craniana de ratos diabéticos tratados com insulina, comparando-os a animais diabéticos não tratados. Membranas de politetrafluoretileno foram aplicadas nos aspectos endocraniano e exocraniano dos defeitos. Análises histológicas realizadas três semanas após a confecção dos defeitos mostraram que, no grupo de animais não tratados, o osso neoformado era de aspecto primitivo, contendo gordura e células medulares. Osso necrótico ainda estava presente nas margens do defeito, e osso com trabeculado irregular ou primitivo foi formado diretamente sobre ele, sem evidência de reabsorção prévia. Observaram ainda a presença de pequeno número de osteoblastos achatados na superfície óssea primitiva, sem sinais de atividade remodeladora. Nos animais tratados com insulina, os autores notaram trabéculas regenerativas bem organizadas de osso lamelar e esponjoso. Osteoblastos roliços estavam posicionados nas margens das superfícies ósseas, e a presença de linhas reversas e lacunas de Howship era evidente. O osso necrótico das margens do defeito havia sido reabsorvido, e freqüentemente o defeito estava atravessado por osso remodelador neoformado.

2.3 Calcitonina

A calcitonina, um fator regulador natural no controle dos níveis séricos de cálcio, foi primeiramente descrita em 1962, por Coop et al.¹¹, quando, após perfundirem glândulas tireóide e paratireóide de cães com sangue contendo alta concentração de cálcio, notaram a liberação de uma substância que reduzia a concentração sérica daquele íon.

Em 1969, O'dor et al.⁵⁹ isolaram a calcitonina sintética de salmão a partir das células ultimobranquiais do animal, e identificaram a seqüência de aminoácidos envolvidos em sua composição. Verificaram também, que a atividade específica desse hormônio é cerca de 25 vezes maior do que a calcitonina obtida de porcos. No mesmo ano, Guttmann et al.³² (1969) produziram sinteticamente o hormônio.

Cochran et al.¹⁰ (1970) observaram que a calcitonina de porco é capaz de reduzir os níveis circulantes de cálcio e fósforo, em pacientes portadores de hiperparatireoidismo e de hipercalcemia secundária a carcinomas dos seios, através do aumento da excreção urinária desses íons. Em pacientes portadores de doença de Paget que foram tratados com o mesmo hormônio, a queda dos níveis séricos de cálcio foi atribuída à inibição da reabsorção óssea, característica da doença.

Delling & Glueckselig¹² (1971), estudando a influência da calcitonina na reparação óssea de defeitos cirúrgicos confeccionados em tíbias de ratos tireoidectomizados, observaram que a administração do hormônio aumentou a atividade osteoblástica nos estágios iniciais do processo reparativo, o que foi evidenciado pela regeneração acelerada dos defeitos corticais. Nos períodos finais de observação, os autores não

encontraram diferenças significativas entre os grupos de animais tratados e não tratados utilizados no estudo.

Alterações no aspecto ultra-estrutural de osteoclastos foram observadas *in vitro* por Kallio et al.⁴² (1972), após o contato dessas células com a calcitonina. Nas culturas controle, onde os osteoclastos não foram colocados em contato com o hormônio, a superfície celular que estava justaposta ao osso exibia a presença de uma área caracterizada por inúmeras microvilosidades, com conteúdo granular, descrita então como a região celular responsável pelo processo de reabsorção óssea. Uma hora após o contato com a calcitonina, nenhum dos osteoclastos observados exibia mais a presença daquelas projeções citoplasmáticas, e 24 horas após, além do completo achatamento daquela região, as células apresentavam-se menores, de forma esférica, e separadas da superfície óssea por outras células ósseas. Segundo os autores, os fenômenos observados podem ser atribuídos à interação entre o hormônio e seus receptores específicos, localizados em áreas até então não identificadas do citoplasma.

Examinando os efeitos da calcitonina e de outro inibidor da reabsorção óssea, a colchicina, em culturas de células ósseas de fetos de ratos estimuladas ou não com hormônio paratireoidiano, Holtrop et al.³⁶ (1974) constataram que, enquanto este último hormônio provocava aumento de tamanho e da atividade dos osteoclastos sobre a superfície óssea, as substâncias inibidoras da reabsorção fizeram com que aquelas células voltassem ao seu estado inicial de repouso, com redução de seus tamanhos.

Chambers & Moore⁸ (1983) estudaram *in vitro* a resposta de osteoclastos, obtidos de ossos longos de ratos jovens, ao contato com diversos hormônios, dentre os quais a calcitonina humana e a calcitonina

sintética de salmão. Observaram que, após o contato das células com pequenas concentrações dessas duas substâncias, ocorria redução substancial da mobilidade citoplasmática, interpretada por eles como característica do estado ativo dos osteoclastos no processo de reabsorção óssea.

Gurkan et al.³¹ (1983) avaliaram os efeitos da calcitonina de salmão no desenvolvimento dentário, do osso alveolar, e na cicatrização de alvéolos de ratos. Não encontraram efeitos significativos sobre a concentração de cálcio, sobre a mineralização dos maxilares ou dos dentes. Também não reportaram efeitos significativos do hormônio sobre a cicatrização dos alvéolos.

Os níveis séricos de paratormônio e a calcitonina exercem influência sobre o número de osteoclastos, afirmaram Hedlund et al.³⁵ (1983), após observarem que a administração do primeiro hormônio elevou o número de osteoclastos em costelas de ratos, trinta e sessenta minutos após a sua aplicação, e que a administração do segundo reduziu substancialmente o número visível daquelas células nos mesmos períodos.

Grande número de receptores para a calcitonina em culturas de osteoclastos de fêmur, tíbia e úmero de ratos recém-nascidos foi observado por Nicholson et al.⁵⁵ (1986). Os osteoclastos responderam com cessação rápida da mobilidade e com um marcante decréscimo de tamanho, após contato com o hormônio.

Estudos *in vitro* realizados por Farley et al.¹⁸ (1988), utilizando calcitonina de salmão em doses que variavam de 2mU/mL até 200mU/mL, em culturas de células de calota craniana de galinhas, indicaram que a exposição contínua ao hormônio provoca aumento dose-

dependente da proliferação celular, da síntese e deposição da matriz colágena óssea, e da atividade da fosfatase alcalina, o marcador de formação óssea mais amplamente utilizado.

Palmieri et al.⁶⁰ (1989) realizaram análises morfométricas de fragmentos da crista ilíaca de trinta pacientes portadoras de osteoporose pós-menopausa, tratadas através de uma associação de altas doses de vitamina D, doses moderadas de calcitonina de salmão e suplementação adequada de cálcio, por períodos que variaram de dois a seis anos. Essas análises revelaram aumento de cerca de 43% no volume ósseo, quando comparadas às análises realizadas na fase inicial do tratamento. Efeitos colaterais, tais como hipercalcemia ou hipercalcúria, não foram observados em nenhuma das mulheres que se submeteram ao tratamento.

Em 1989, Rebelo et al.⁶⁴ trataram quatro crianças portadoras de osteogênese imperfeita com calcitonina sintética de salmão, por períodos que variaram de 17,7 a 24 meses. A incidência de fraturas anuais decresceu em três dos quatro pacientes tratados, de forma que eles estavam aptos a exercer atividades físicas. Efeitos colaterais como vômitos persistentes e diarreias transitórias ocorreram em dois pacientes, que receberam tratamentos sintomáticos.

Yamaguchi et al.⁹⁰ (1989) reportaram aumento significativo na síntese protéica, na quantidade de cálcio e no consumo de glicose, em culturas de células ósseas de calotas cranianas de ratos jovens, que foram expostas a quantidades variáveis de calcitonina. Esses achados levaram os autores a concluir que o hormônio pode desempenhar importante papel na estimulação da formação e mineralização óssea *in vitro*.

Tuukkanen et al.⁸² (1991) estudaram os efeitos da calcitonina sintética de salmão sobre as alterações na massa óssea, decorrentes de osteoporose por imobilização de membros traseiros de ratos. As imobilizações foram produzidas através de remoção do nervo ciático ou através de talas gessadas aplicadas na perna dos animais, e as aplicações do hormônio foram feitas desde a véspera da imobilização até o sacrifício, em uma ou duas aplicações diárias. As análises histomorfométricas realizadas nas tíbias dos animais mostraram que a calcitonina foi capaz de inibir a perda de massa óssea, após duas semanas de imobilização. Segundo os autores, os achados sugerem que a calcitonina agiu principalmente na inibição da reabsorção óssea, não exercendo nenhum efeito sobre a neoformação.

Wronski et al.⁸⁹ (1991) utilizaram ratas ovariectomizadas como modelo para estudar os efeitos da calcitonina sobre a perda óssea, decorrente de osteoporose pós-menopausa. Os animais receberam o hormônio durante seis meses após a extirpação cirúrgica de seus ovários, e os resultados obtidos, através de mensurações histomorfométricas das tíbias, mostraram que o tratamento foi bastante eficiente contra o desenvolvimento de osteopenia causada por deficiências de estrógenos.

Ichikawa et al.³⁸ (1994) compararam os efeitos anti-osteopênicos da calcitonina em ratas ovariectomizadas, sob duas diferentes formas de administração: aplicação subcutânea e solução para instilação nasal. O tempo de observação do experimento foi de 27 dias, após os quais os espécimes obtidos foram submetidos a análises dos parâmetros ósseos, tais como peso seco, volume, conteúdo de cálcio e fosfato inorgânico, além de análises histológicas e histomorfométricas. Os resultados obtidos mostraram que o hormônio foi eficientemente absorvido pela mucosa nasal dos animais, prevenindo satisfatoriamente o desenvolvimento de osteopenia.

Em 1994, Zmijewska et al.⁹⁷ utilizaram calcitonina de salmão no tratamento da osteíte e dos tecidos moles adjacentes, após uma amputação devido à “Síndrome do Pé Diabético”, em um paciente com 36 anos de idade. O hormônio produziu aumento ósseo, calcificação maciça ao redor do coto de amputação, além de promover aceleração da cicatrização dos tecidos moles circundantes.

Yamamoto et al.⁹¹ (1995) infundiram hormônio paratireoidiano, considerado antagonista fisiológico da calcitonina, em ratos com deficiência de calcitonina endógena, produzida por tireoidectomia, e compararam aos efeitos da infusão em animais com níveis adequados de calcitonina no organismo. A infusão do hormônio paratireoidiano por três dias resultou em significativa perda óssea nas tíbias e fêmures dos animais com deficiência de calcitonina, quando comparados aos animais com níveis normais. A contagem de osteoclastos, nos dois grupos de animais, apresentou resultados similares, sugerindo que a principal atividade da calcitonina endógena em ratos está na inibição da atividade dessas células, e não em seu recrutamento.

Utilizando fêmeas de cães Beagle submetidas a ovário-histerectomia prévia como modelo, Monier-Faugere et al.⁵³ (1996) observaram redução da perda óssea após duas semanas, um mês e quatro meses de administração de calcitonina humana, quando comparado a animais operados que não receberam aplicações do hormônio. Os autores relataram ainda efeitos negativos do hormônio sobre a atividade osteoblástica, que provocou aumento no tempo de mineralização e decréscimo na taxa de formação óssea nos grupos analisados.

Análises radiográficas realizadas por Pereira et al.⁶¹ (1997) revelaram menor radiotransparência em defeitos cirúrgicos confeccionados em fêmures de coelhos tratados com calcitonina sintética de salmão por períodos que variaram de sete a 28 dias, quando comparados a animais que não receberam tratamento com esse hormônio. Histologicamente, uma maior neoformação óssea foi observada sete dias após o tratamento, enquanto que os resultados observados após 14 e 21 dias eram muito semelhantes entre os dois grupos. Após 28 dias de tratamento, os defeitos ósseos dos animais que receberam tratamento mostravam-se preenchidos por tecido ósseo de aspecto mais maduro, com canais medulares reduzidos, diferindo dos animais do grupo controle, que exibiam pequenas áreas preenchidas com tecido conjuntivo, ainda sem diferenciação óssea.

Nociti Júnior et al.⁵⁷ (1999) avaliaram os efeitos da administração de calcitonina sobre os estágios iniciais da reparação óssea, após a inserção de implantes osteointegrados de titânio em fêmures de coelhos. As avaliações histomorfométricas das superfícies de contato do implante com as superfícies endostal, periostal e cortical, realizadas após sete, 14, 21, 28 e 42 dias de observação revelaram que a administração do hormônio produziu efeitos levemente negativos naquela fase do processo de reparação ao redor dos implantes.

Arisawa³ (2000) pesquisou a influência da utilização de calcitonina sobre a reparação óssea de defeitos cirúrgicos realizados em tíbias de ratas ovariectomizadas. A autora observou nítido aumento na neoformação e na densidade das trabéculas ósseas dos animais, após sete e 14 dias da confecção dos defeitos. Tais alterações foram atribuídas a uma possível inibição da atividade osteoclástica na fase de reabsorção óssea, e uma aceleração simultânea da fase formativa.

Em 2001, Almeida² realizou um estudo comparativo entre os efeitos da calcitonina e do *Plumbum metallicum* 30CH, um composto de uso homeopático a base de chumbo, na reparação óssea em defeitos cirúrgicos confeccionados em mandíbulas de ratos, sobre os quais foram aplicadas membranas de politetrafluoretileno. Apesar de observar que a calcitonina exerceu efeitos benéficos sobre a reparação dos defeitos ósseos quando comparado ao grupo controle, a pesquisadora observou união das bordas do defeito em apenas dois animais, um aos 21 e outro aos 28 dias de observação, ambos tratados com o produto homeopático. Concluiu dessa forma que o composto plumbífero é superior a calcitonina na estimulação da reparação óssea em mandíbula de ratos.

Ratas com osteopenia, induzida por administração prolongada de pequenas doses diárias de glucocorticóides, foram tratadas com calcitonina de salmão por Furuichi et al.²³, em 2000. As análises histomorfométricas da tíbia dos animais revelaram que o hormônio foi capaz não só de inibir a reabsorção, mas também de estimular a formação óssea. A normalização dos níveis séricos de osteocalcina, observada após quatro semanas de administração do hormônio, foi interpretada pelos autores como evidência bioquímica do efeito estimulatório hormonal sobre a formação óssea, uma vez que tais níveis estavam abaixo dos valores paramétricos normais logo após a indução medicamentosa da osteopenia.

Uma forma alternativa de administração de calcitonina foi testada em 2001, por Aldini et al.¹ Os pesquisadores implantaram dispositivos biodegradáveis de liberação lenta, carregadas com 250µg de calcitonina no tecido celular subcutâneo de ratas ovariectomizadas, e compararam os efeitos anti-osteopênicos desta forma de administração com a aplicação subcutânea convencional do hormônio. Após um período de observação de sessenta dias, as análises revelaram melhoras no

volume e arquitetura óssea nos fêmures dos animais de ambos os grupos tratados, quando comparados a um terceiro grupo que não recebeu tratamento com o hormônio.

Dogan et al.¹⁵ (2001) confeccionaram defeitos cirúrgicos em mandíbulas de porcos da Guiné, e em seguida preencheram com calcitonina diluída em uma solução gelatinosa ou em Hidroxipropil Metilcelulose. Após uma semana de observação, as análises histológicas mostraram proeminente atividade osteoblástica nos defeitos cirúrgicos dos animais que receberam o hormônio. Após três e seis semanas, a única alteração observada foi a de que, nos animais tratados, os sistemas de Harvers estavam em estágios mais avançados de maturação do que os dos animais que tiveram os defeitos preenchidos apenas com os veículos utilizados.

Januário et al.⁴⁰ (2001) em um trabalho seqüencial ao realizado por Nociti Júnior et al. em 1999, avaliaram os efeitos da administração de calcitonina sobre estágios tardios da reparação óssea, ao redor de implantes de titânio aplicados em fêmures de coelhos adultos. Observações realizadas em períodos de observação que variaram de seis a 18 semanas mostraram aumentos estatisticamente significantes na extensão das superfícies de contato do implante com as áreas endostal, periostal e cortical dos fêmures dos animais. Os autores concluíram que a utilização do hormônio pode levar a um aumento da massa óssea ao redor dos implantes, quando utilizados em estágios mais avançados da osteointegração.

3 PROPOSIÇÃO

Nesta pesquisa, o objetivo foi estudar a reação do tecido ósseo após a implantação de polietileno poroso em defeitos cirúrgicos confeccionados no osso parietal de ratas diabéticas tratadas com calcitonina, através da microscopia de luz.

Avaliou-se também a eficiência da aplicação da estreptozotocina na indução do diabetes melito em ratos, em dose única de 45mg/Kg, através da utilização de um glicosímetro digital e de exames clínicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Animais

O protocolo de procedimentos para essa pesquisa foi considerado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, tendo sido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-UNESP, sob o protocolo 018/2000-PA/CEP (Anexo A).

Foram utilizadas 27 ratas (Wistar, *Rattus norvegicus-albinus*), com idade variando de três e seis meses e peso corpóreo de 175g a 295g. Esses animais foram divididos em três grupos: ratas não diabéticas-controle (grupo **C**), ratas diabéticas (grupo **D**) e ratas diabéticas tratadas com calcitonina (grupo **DCa**).

Todos os animais foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP, e antes da realização do experimento passaram por um período de observação de um mês, em grupos de três, com dieta de ração balanceada e água *ad libitum*.

4.1.2 Estreptozotocina

A estreptozotocina é um antibiótico originalmente produzido por cepas de *Streptomyces achromogenes*, cuja principal utilização terapêutica é o tratamento de metástases de tumores das células do pâncreas. Essa droga é amplamente utilizada na indução de diabetes experimental em animais de laboratório, em virtude de sua citotoxicidade seletiva sobre as células β das ilhotas pancreáticas.

Essa substância foi produzida e fornecida pela Sigma - Aldrich Chemical (Saint Louis, MO, USA), e preparada no laboratório do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP. (Figura 1)

4.1.3 Polietileno poroso

O polietileno poroso é um composto produzido por polimerização do gás etileno, biologicamente inerte, flexível, e amplamente utilizado em cirurgias reconstrutivas.

Os implantes utilizados nesse trabalho, com nome comercial de POLIPORE (Mackron Biopolímeros Ltda. Mogi das Cruzes, São Paulo, Brasil) foram cortados em fragmentos circulares de aproximadamente 3mm de diâmetro e 0,8mm de espessura (Figura 2), sendo então embalados individualmente e esterilizados por radiação gama a 25K Gy. O fabricante não forneceu informações a respeito do tamanho dos poros dos implantes.

4.1.4 Calcitonina sintética de salmão

A calcitonina sintética de salmão é um polipeptídeo composto por 32 aminoácidos, apresentando uma ponte dissulfídica entre os aminoácidos 1 e 7 na extremidade N-terminal. A droga utilizada nesse trabalho foi o MIACALCIC 100 (SANDOZ AG 8500- Nürnberg, Alemanha).

4.1.5 Reagentes e soluções

Para obtenção, preparação e conservação das peças cirúrgicas e tratamento dos animais, foram utilizados os seguintes produtos: polivinilpirrolidona-Iodo; pré-anestésico Acepran 1,0% (UNIVET S.A.-Indústria Veterinária- São Paulo, Brasil); anestésico Dopalen (AGRIBRANDS DO BRASIL Ltda. Paulínia, São Paulo, Brasil) antimicrobiano Pentabiótico (FORT DODGE Saúde Animal Ltda. Campinas, São Paulo, Brasil); Pentobarbital Sódico; Formol a 10%, descalcificador PLANK-RYCHLO; Hematoxilina-Eosina, razão balanceada.

4.1.6 Material cirúrgico

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos foram utilizados os seguintes materiais e instrumentos cirúrgicos: seringa descartável para insulina com capacidade de 1ml e agulhas 13x4,5; campos cirúrgicos descartáveis; luvas descartáveis estéreis; brocas tipo trefina de 3mm; lâmina de bisturi cirúrgico descartável; solução fisiológica salina estéril a 0,9%; afastadores cirúrgicos; sindesmótomo; espátula 7;

pinças hemostáticas tipo mosquito reta e curva; porta-agulhas; tesoura; gaze estéril; fios de sutura biodegradáveis 6-0 e mononylon 5-0 (Johnson & Johnson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil); aparelho de micromotor 405n Dentec.

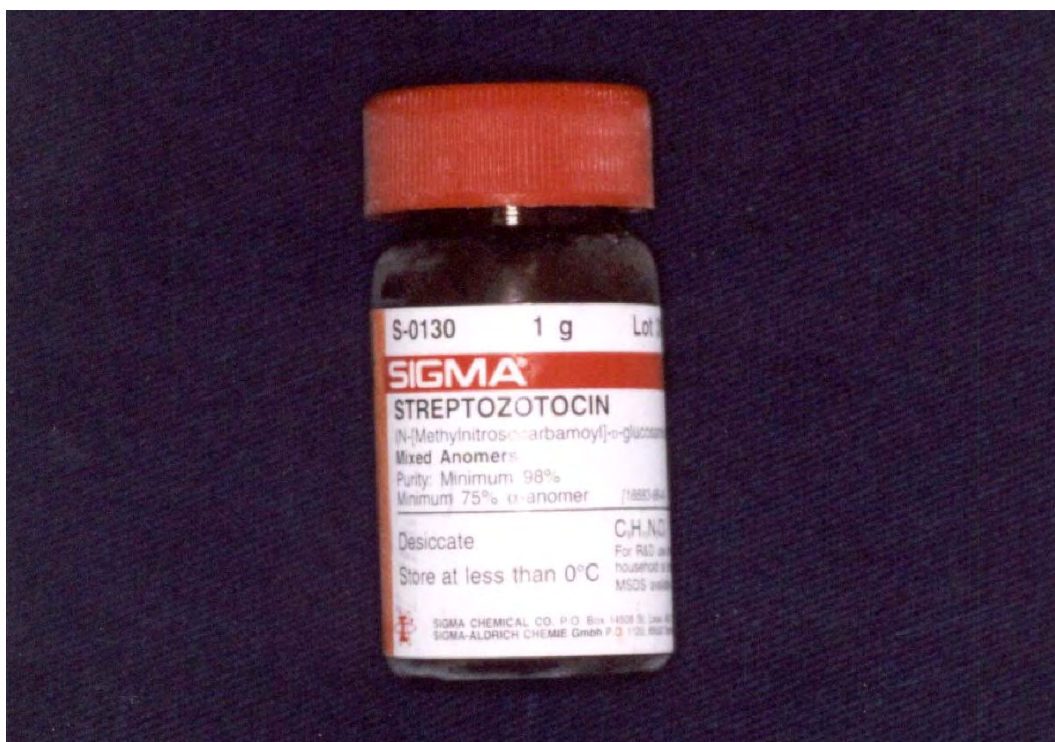


FIGURA 1- Estreptozotocina: substância utilizada para induzir o diabetes melito nos animais.

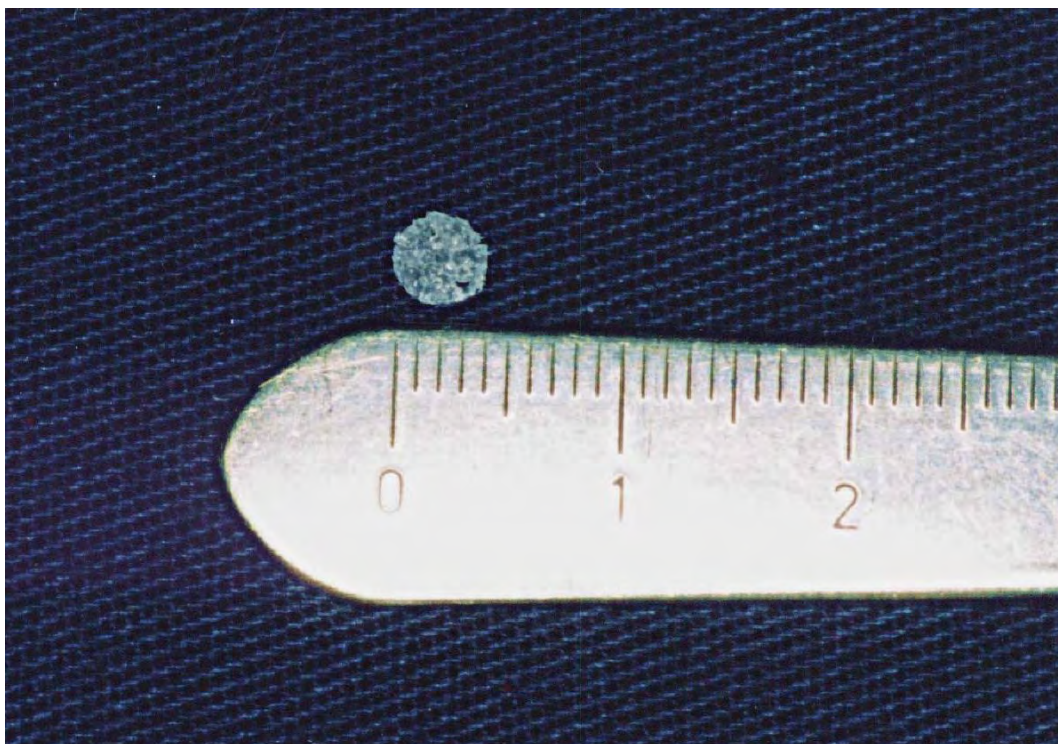


FIGURA 2- Implante de polietileno poroso utilizado no estudo.

4.2 Métodos

4.2.1 Indução do diabetes melito nos animais

Antes da indução do diabetes melito, os 27 animais observados foram submetidos à análise de glicemia, com o auxílio de glicosímetro digital ADVANTAGE (Roche Produtos Químicos e Farmacêuticos S.A. São Paulo, Brasil).(Figura 3)

Dezoito animais escolhidos randomicamente receberam a estreptozotocina, por via intraperitoneal e em dose única de 45mg/kg, para induzir o diabetes melito. Inicialmente, essa droga foi diluída em

solução tampão de citrato com pH 4,5 (Weiss et al.⁸⁴, 1981; Spanheimer et al.⁷⁷, 1988), sendo administrada 14 dias antes da realização dos procedimentos cirúrgicos (Devlin et al.¹³, 1996; Nevins et al.⁵⁴, 1998). Os animais com glicemia superior a 300mg/dL foram considerados diabéticos.

4.2.2 Preparação dos animais, confecção dos defeitos ósseos e implantação do polietileno poroso

Todos os animais foram submetidos à anestesia geral, administrando-se o pré-anestésico acepromazina e o anestésico cloridrato de cetamina. As drogas foram misturadas na proporção de 1:1 e aplicadas por via intramuscular, na dosagem de 0,1mL/100g de peso do animal. Em seguida, os animais foram colocados em decúbito ventral sobre um campo estéril, para assepsia com solução de polivinilpirrolidona e realização da tricotomia da região a ser incisionada.

Inicialmente, foi realizada uma incisão no plano sagital mediano, seguida por divulsão e dissecação dos planos subjacentes, até atingir o periósteo, que foi cuidadosamente descolado do osso. Em seguida, confeccionou-se um defeito cirúrgico no osso parietal (Figura 4) com o auxílio de uma broca trefina de 3mm de diâmetro, acoplada a um motor cirúrgico e sob copiosa irrigação com solução salina 0,9% estéril. Esse defeito apresentava forma circular, com profundidade correspondente a espessura do osso. Após a inserção do polietileno poroso no defeito (Figura 5), a região foi recoberta pelo periósteo e pelas tecidos subcutâneos. Os planos profundos foram suturados com fios reabsorvíveis (Vycril-6-0) e pele com mononylon 5-0.

Imediatamente após, todos os animais foram tratados profilaticamente com antibiótico Pentabiotico de uso veterinário para

animais de pequeno porte, que consiste numa associação de benzilpenicilina benzatina, benzilpenicilina procaína, benzilpenicilina potássica, diidroestreptomicina e sulfato de estreptomicina. Essa droga foi administrada por via intramuscular, na dosagem de 0,1mL/100g de peso corpóreo, após o ato cirúrgico e no quinto dias pós-operatório



FIGURA 3- Glicosímetro digital e fita para glicosímetro.

4.2.3 Aplicação da calcitonina

Cada ampola de calcitonina sintética de salmão, contendo 110UI/mL, foi diluída em 5mL de soro fisiológico, resultando em uma solução de 22UI/mL. Essa solução foi aplicada nos animais do grupo DCa na dosagem de 16UI/kg de peso corpóreo (Wronski et al.⁸⁹, 1991; Li et

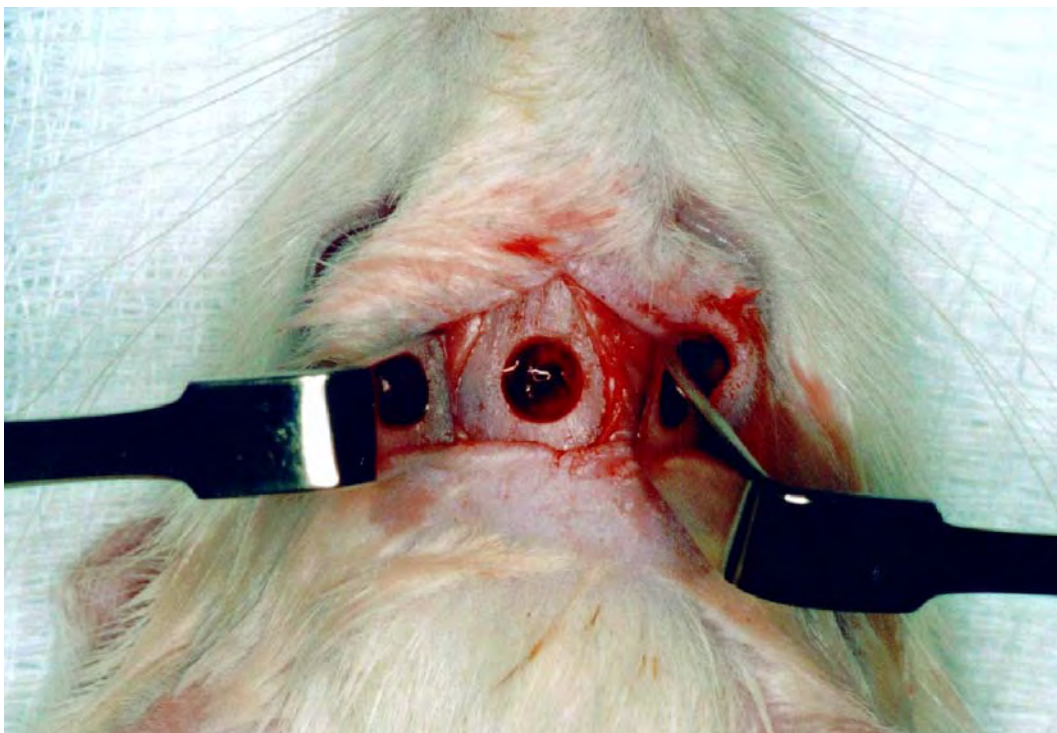


FIGURA 4- Aspecto trans-operatório do defeito cirúrgico confeccionado no osso parietal dos animais.

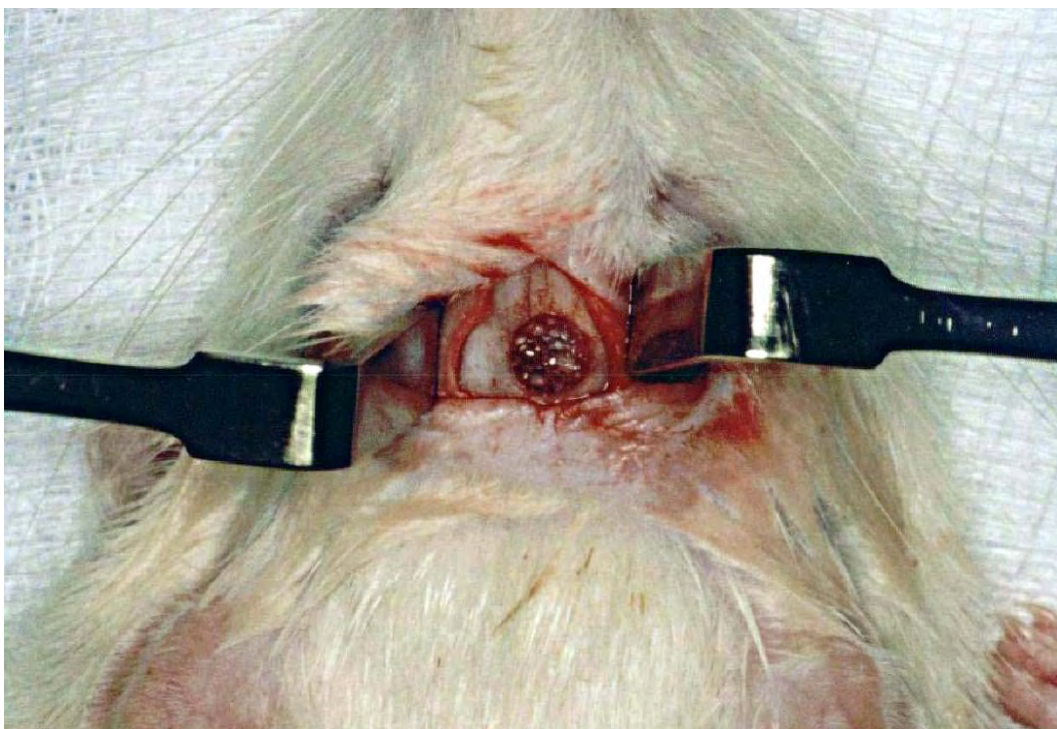


FIGURA 5- Aspecto trans-operatório do implante de polietileno poroso aplicado no defeito ósseo.

al.⁵⁰, 1996) por via subcutânea, sendo administrada a partir do pós-operatório imediato e em dias alternados, até o dia do sacrifício.

4.2.4 Avaliação da estreptozotocina na indução experimental do diabetes melito.

A eficiência da aplicação da estreptozotocina na indução e manutenção do diabetes melito nos animais foi avaliada pela análise da taxa de glicemia no pré-operatório imediato e minutos antes do sacrifício, com o auxílio de um glicosímetro digital. Um período de jejum de seis horas foi instituído antes de cada um desses eventos.

No decorrer da pesquisa, exames clínicos foram realizados periodicamente, avaliando o estado físico dos animais diabéticos.

4.2.5 Períodos de observação

Decorridos 15, trinta e sessenta dias após o procedimento cirúrgico, três animais de cada grupo foram sacrificados por overdose de Pentobarbital sódico, na dosagem de 60mg/Kg de peso corpóreo. Em seguida, a região do defeito cirúrgico foi dissecada, removida, fixada em formol a 10% por 72 horas, e processada no laboratório de Histologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP para posterior análise microscópica.

4.2.6 Preparação dos espécimes para a microscopia de luz

Para o estudo microscópico, a região do defeito ósseo, de cada um dos períodos de observação, foi descalcificada em solução de PLANK-RYCHLO durante 25 dias. As peças foram então incluídas em parafina para a realização dos cortes histológicos coronais semi-seriados, com espessura de 6 μ m. A técnica de coloração utilizada foi a Hematoxilina-Eosina e os cortes histológicos foram analisados pela microscopia de luz.

5 RESULTADOS

Os resultados da análise histomorfológica se referem aos três grupos de estudo, analisados em conjunto dentro de cada período considerado no experimento.

5.1 Período de 15 dias

Nos animais do grupo **C** (ratas não diabéticas-controle), a região do defeito estava preenchida por tecido conjuntivo frouxo, com a presença de delicadas fibras colágenas entremeadas entre si, numerosos fibroblastos e fibrócitos, bem como numerosos vasos sangüíneos congestos, de pequeno e médio calibre. Esse tecido apresentava ainda intenso e difuso infiltrado de células inflamatórias mononucleares com linfócitos, macrófagos e escassos plasmócitos, bem como ausência de polimorfonucleares. Notava-se também a presença de algumas cavidades irregulares, de formas arredondadas e tamanhos variados, circundadas por uma estreita faixa de tecido de granulação organizado, com células inflamatórias mononucleares e algumas células gigantes multinucleares (células gigantes tipo corpo estranho e células Langhans). Essas cavidades estavam distribuídas aleatoriamente no tecido conjuntivo formado (Figura 6), e foram interpretadas como imagens negativas das partículas de polietileno, que foram dissolvidas durante a histotécnica. As células gigantes exibiam citoplasma basofílico e vários núcleos, ora

distribuídos irregularmente no citoplasma, ora organizados na periferia, e localizavam-se principalmente na superfície do implante e nas áreas próximas às cavidades. Em algumas regiões, as paredes das cavidades exibiam projeções de tecido conjuntivo de espessura variada, invadindo o seu lúmen e formando septos, que as separavam de outras cavidades menores, as quais foram chamadas de cavidades satélites. Extensas áreas de edema e de hemorragia intersticial foram também evidenciadas nos espécimes. As margens do defeito mostravam-se lineares, caracterizando a ausência de neoformação óssea nessa região.

No grupo **D** (ratas diabéticas), a região do defeito estava preenchida por tecido conjuntivo frouxo, constituído por feixes de fibras colágenas, com numerosos fibroblastos e fibrócitos, além de vasos sangüíneos congestionados. Esse tecido exibia um maior infiltrado de células inflamatórias mononucleares, com predominância de linfócitos, macrófagos e células gigantes multinucleares (células gigantes tipo corpo estranho e células de Langhans), quando comparados aos espécimes do grupo controle. Em algumas áreas, notávamos também a presença de inflamação granulomatosa, com presença de grande quantidade de granulomas epitelióides (Figura 7). Esses granulomas encontravam-se dispersos no tecido conjuntivo, e eram compostos por células epitelióides (macrófagos ativados, caracterizados por citoplasma espumoso, abundante e pálido, e por partículas de polietileno fagocitadas em seu interior), linfócitos e células gigantes multinucleares. As cavidades, interpretadas como imagens negativas das partículas de polietileno, estavam também distribuídas aleatoriamente no tecido conjuntivo, em quantidades e formas semelhantes àsquelas observadas nos defeitos ósseos do grupo **C**. Nesses espécimes, essas cavidades mostravam-se circundadas por uma faixa estreita de tecido de granulação, com maior quantidade de células gigantes multinucleares, tanto na superfície dos implantes, quanto nas áreas adjacentes. Extensas áreas de edema e

hemorragia intersticial foram também observadas nos espécimes. As margens do defeito ósseo apresentavam-se ainda lineares, porém, em áreas próximas à elas, foram evidenciadas extensas áreas de reabsorções ósseas.

No grupo **DCa** (ratas diabéticas tratadas com calcitonina), o defeito ósseo encontrava-se também preenchido por tecido conjuntivo frouxo, constituído por feixes de fibras colágenas, bem celularizado (fibroblastos e fibrócitos) e com numerosos vasos sangüíneos congestos, de calibres variados. Notávamos que esse grupo apresentava quantidade semelhante de células e de vasos sangüíneos quando comparado com o grupo **C**, e menor quantidade em relação ao grupo **D**. Os feixes de fibras colágenas eram mais densos e mais organizados do que nos demais grupos. O tecido conjuntivo exibia menor quantidade de infiltrado de células inflamatórias mononucleares (linfócitos e macrófagos), quando comparado aos espécimes do grupo **D**. Notávamos ainda que a quantidade de células gigantes multinucleares (células gigantes tipo corpo estranho e células de Langhans) era semelhante àquela observada no grupo **D**. Granulomas de células epitelióides, em quantidades inferiores àquelas observadas no grupo anterior, estavam localizados em áreas próximas às cavidades. As cavidades apresentavam-se mais delineadas e circundadas por uma faixa estreita de tecido de granulação organizado. Áreas de hemorragia intersticial foram também evidenciadas em todos os espécimes. As margens do defeito apresentavam-se moderadamente irregulares, com formação óssea (Figura 8), e em alguns cortes histológicos, verificávamos escassos ninhos arredondados de tecido ósseo adjacentes ao material de implante. Nenhuma área de reabsorção óssea foi evidenciada nas regiões adjacentes ao defeito cirúrgico.

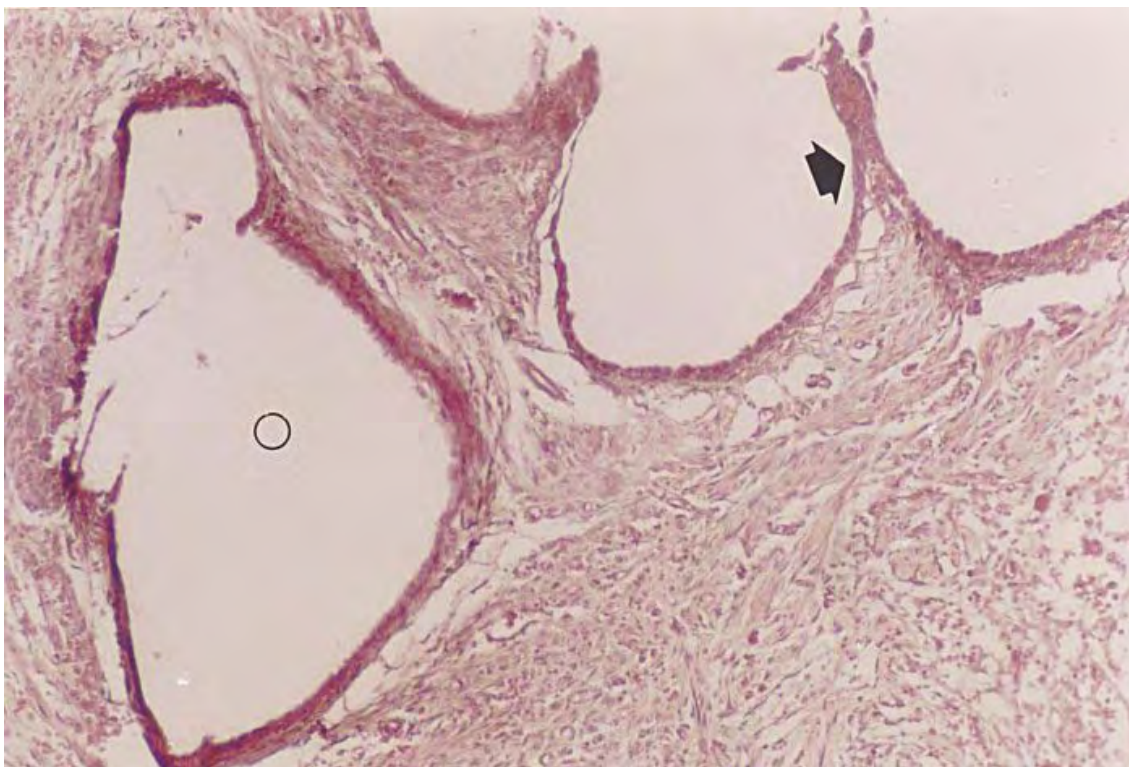


FIGURA 6- Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo C. Cavidades (O) formadas pelas imagens negativas das partículas do polietileno, com a presença de septos constituídos por tecido de granulação organizado (➤). Aumento original 100x. Coloração H.E.

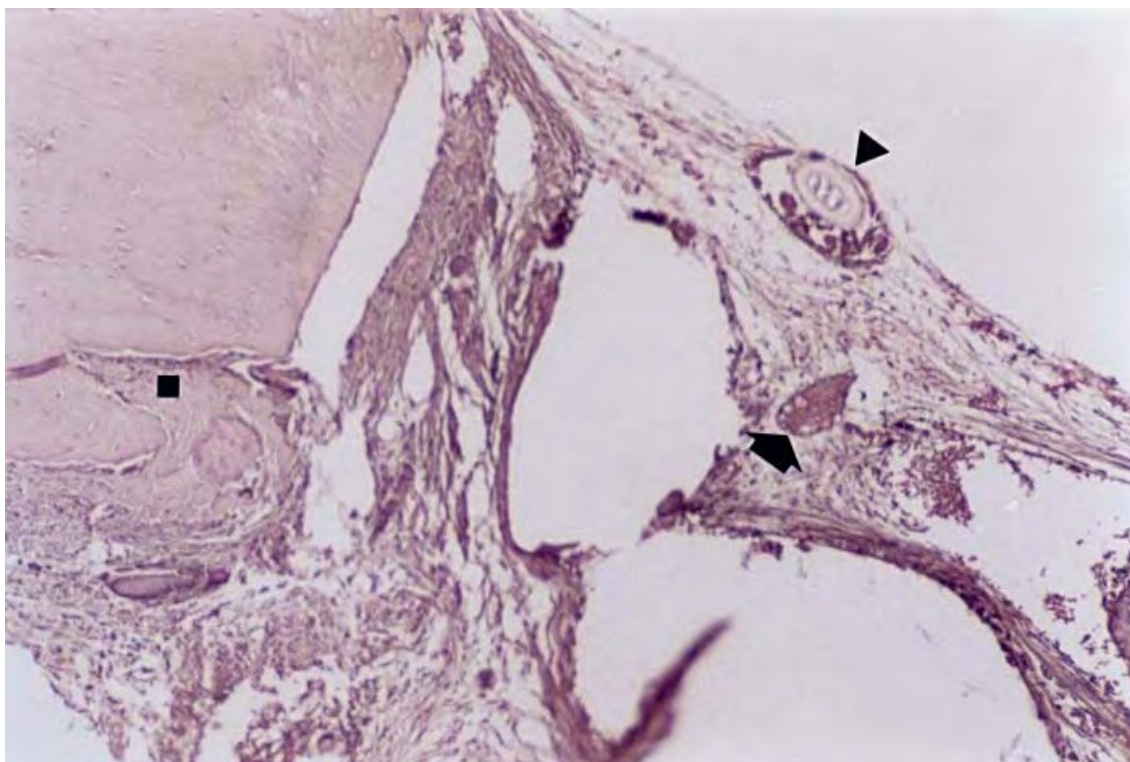


FIGURA 7- Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo D. Area de reabsorção óssea na margem do defeito cirúrgico (■), presença de células gigantes (➤) e granulomas epitelióides (◄) próximo às cavidades. Aumento original 100x. Coloração H.E.

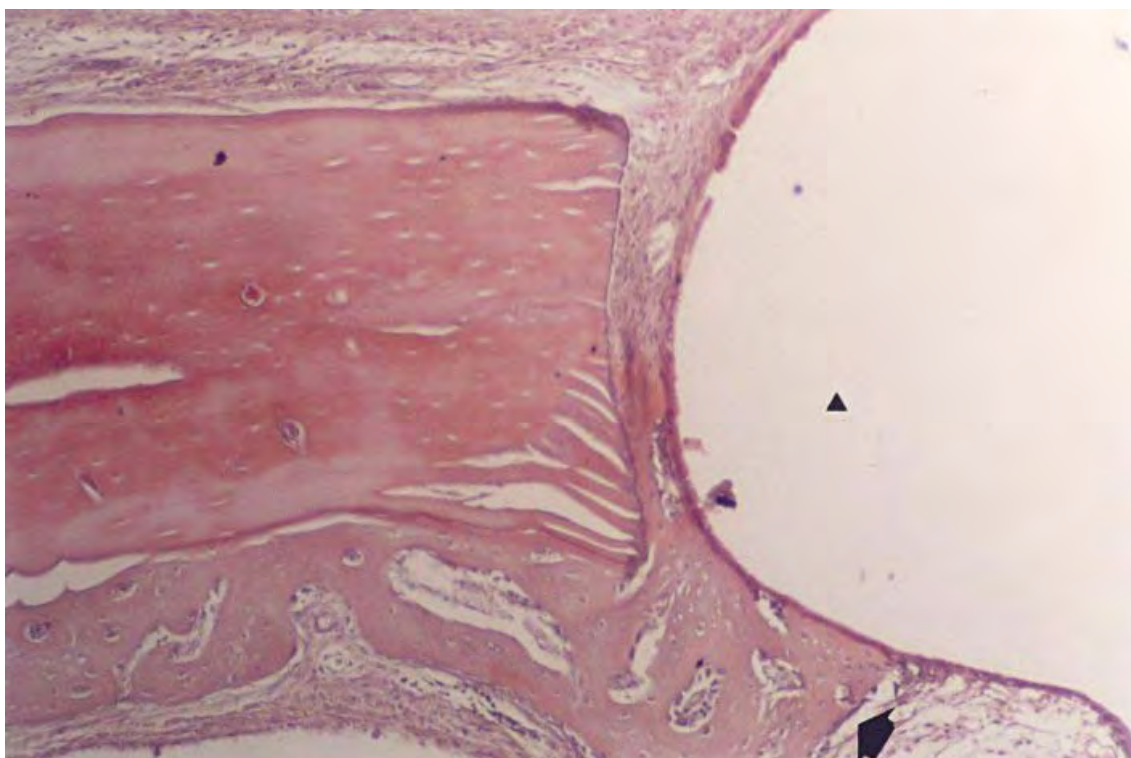


FIGURA 8- Fotomicrografia do período de 15 dias. Grupo DCa. Margem do defeito, com formação de tecido ósseo (➡) próximo a uma cavidade (▲). Aumento original 100x. Coloração H.E.

5.2 Período de trinta dias

No grupo **C**, a região do defeito era preenchida por tecido conjuntivo fibroso, bem celularizado e rico em feixes de fibras colágenas dispostas paralelamente entre si, exibindo vasos sangüíneos de tamanho variado em quantidade menor quando, quando comparado com o período anterior desse grupo. Esse tecido apresentava levemente moderado e difuso infiltrado de células inflamatórias mononucleares, com predomínio de linfócitos e macrófagos. Notava-se a presença de massas de calcificação distrófica, localizadas principalmente em áreas próximas às margens do defeito (Figura 9). Algumas cavidades estavam distribuídas

aleatoriamente pelo tecido e encontravam-se circundadas por uma estreita faixa de tecido conjuntivo frouxo com presença de infiltrado de células inflamatórias mononucleares e por células gigantes multinucleares (células gigantes tipo corpo estranho e células de Langhans). As margens do defeito apresentavam formação de tecido ósseo imaturo de crescimento centrípeto. Algumas áreas de hemorragia intersticial eram ainda observadas nos espécimes.

No grupo **D**, o defeito ósseo foi preenchido por tecido conjuntivo frouxo, bem celularizado e com numerosos vasos sangüíneos congestos de pequeno e médio calibre. Notava-se a presença de intenso e difuso infiltrado de células inflamatórias mononucleares e, em alguns espécimes, verificávamos áreas focais de polimorfonucleares, formando áreas de abscedação. Além disso, observava-se a presença de cavidades circundadas por uma estreita faixa de tecido conjuntivo fibroso com intenso infiltrado de células inflamatórias mononucleares e células gigantes multinucleares. Extensas áreas de hemorragia intersticial e edema eram também evidenciadas. Raros ninhos de tecido ósseo foram visualizados em alguns cortes histológicos, e em outros as margens do defeito mostravam extensas áreas de reabsorção e/ou de necrose óssea, bem como formação de seqüestros ósseos (Figura 10).

No grupo **DCa**, o defeito mostrava-se preenchido por tecido conjuntivo fibroso, rico em feixes de fibras colágenas, ora orientadas, ora não orientadas, e vasos sangüíneos congestos de tamanho variado. Notava-se a presença de moderado e difuso infiltrado de células inflamatórias mononucleares e poucos granulomas de células epitelióides, localizados próximo às margens do defeito e nas adjacências do material de implante. Micropartículas de polietileno refratárias encontravam-se no interior desses granulomas, circundadas por

macrófagos e por células gigantes tipo corpo estranho. Além disso, verificávamos a presença de formação de tecido ósseo imaturo próximo as cavidades, caracterizadas pelas imagens negativas das partículas do polietileno. Essas cavidades encontravam-se bem delimitadas por uma estreita faixa de cápsula fibrosa, com a presença de células gigantes multinucleares, localizadas principalmente em sua superfície (Figura 11). As margens do defeito apresentavam formação de tecido ósseo de crescimento centrípeto e, em alguns espécimes, discretas reabsorções.

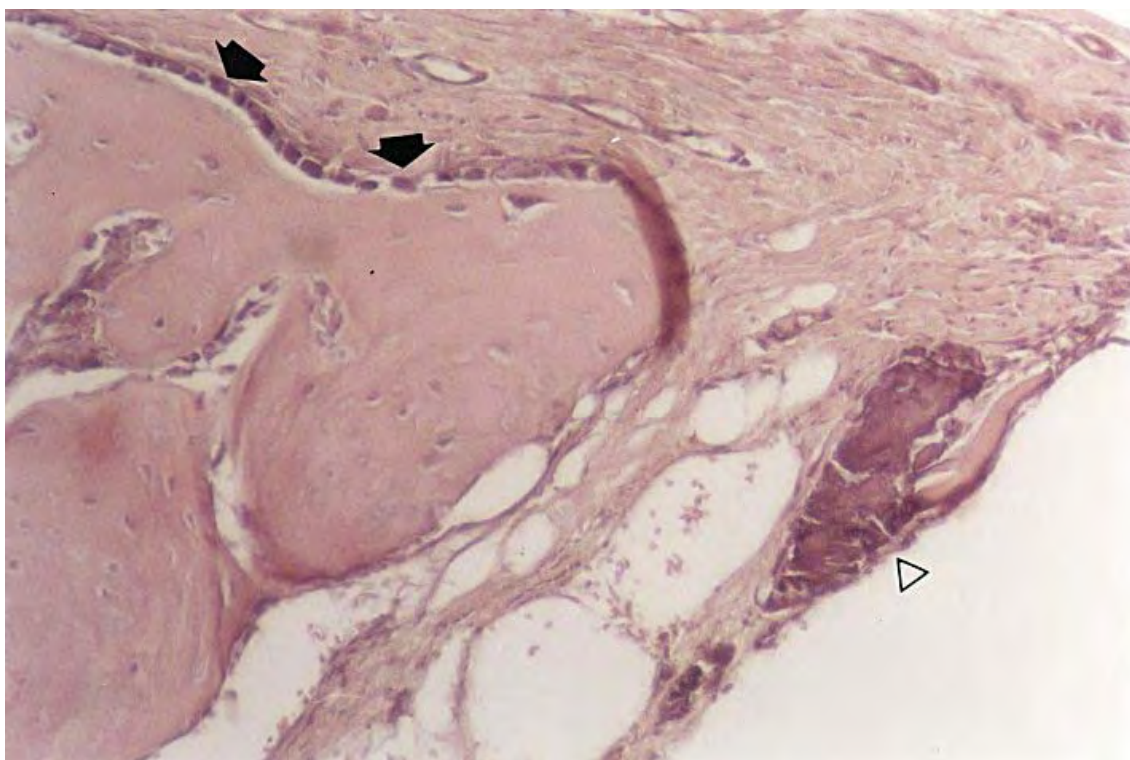


FIGURA 9- Fotomicrografia do período de 30 dias. Grupo C. Margem do defeito, mostrando neoformação óssea e presença de osteoblastos (➡). Área de calcificação distrófica (△) próximo à cavidade. Aumento original 100x. Coloração H.E.

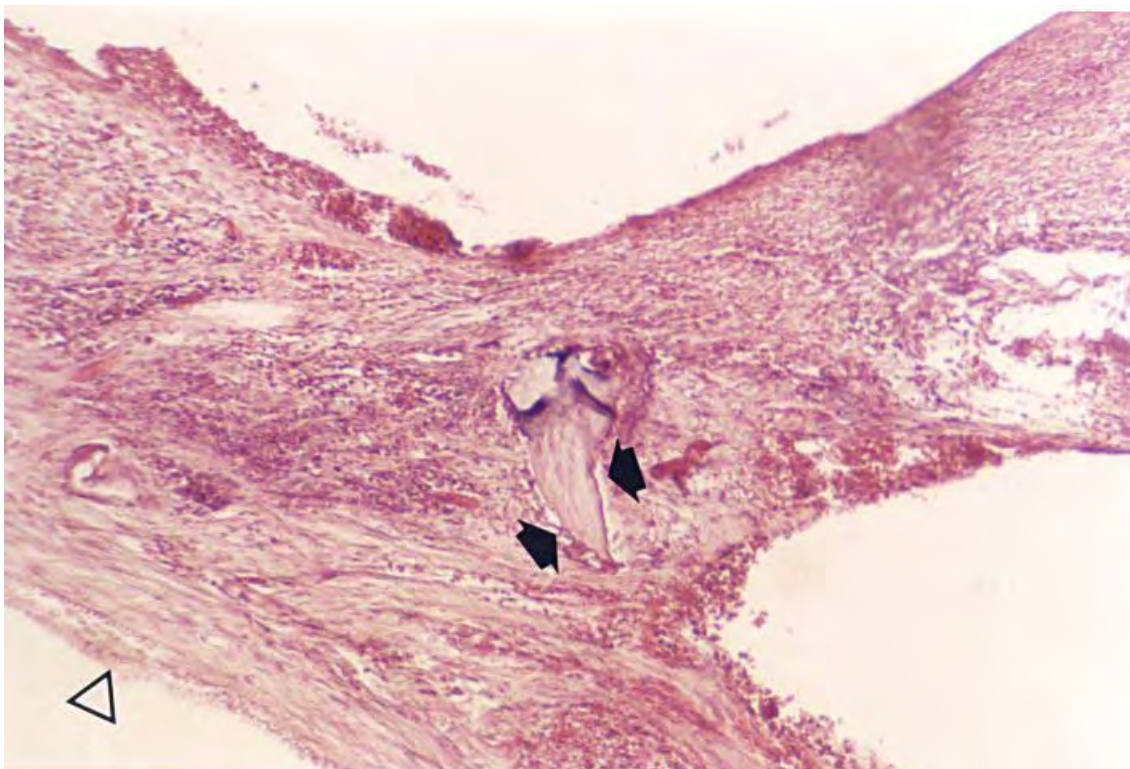


FIGURA 10- Fotomicrografia do período de 30 dias.Grupo D. Seqüestro ósseo (➡) circundado por intenso infiltrado de polimorfonucleares próximo às cavidades. Fibras colágenas (△) formadas no interior dos poros do implante. Aumento original 100x. Coloração H.E.

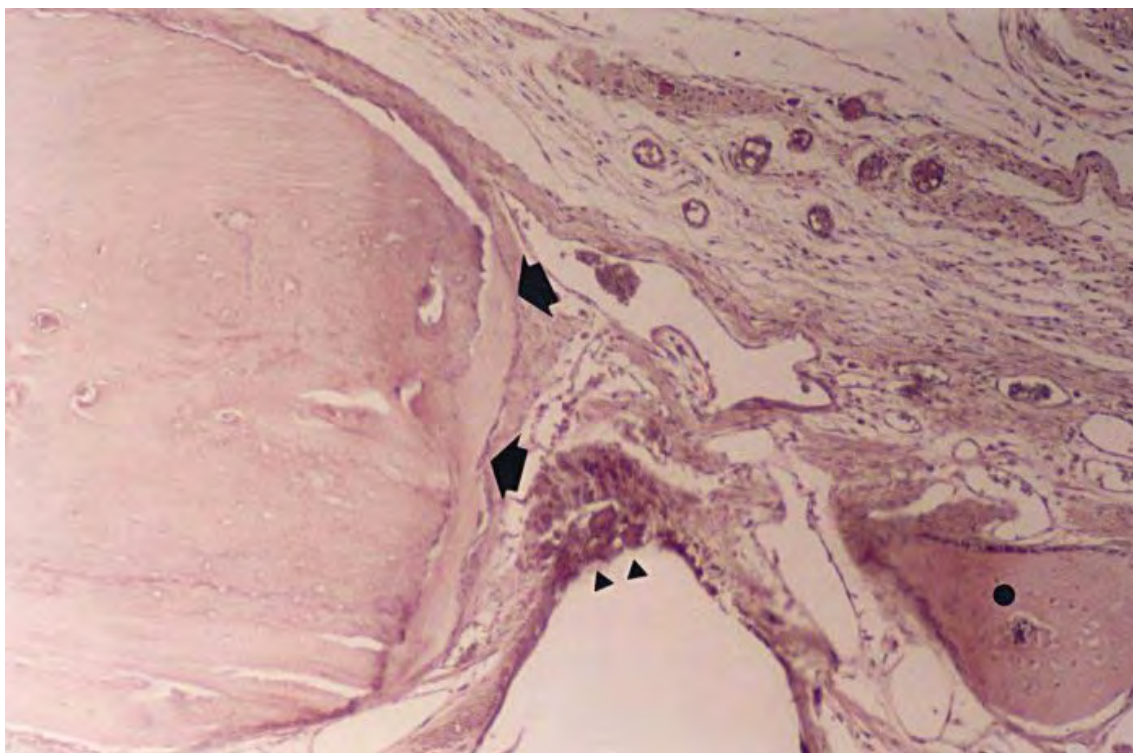


FIGURA 11- Fotomicrografia do período de 30 dias.Grupo DCa. Discreta neoformação óssea na margem do defeito (➡). Ninho de tecido ósseo (●) formado próximo a uma cavidade, e células gigantes ao redor de sua cápsula (▲). Aumento original 100x. Coloração H.E.

5.3 Período de sessenta dias

No grupo **C**, a região do defeito ósseo mostrava-se preenchida por tecido conjuntivo fibroso denso, pouco celularizado, com feixes de fibras colágenas paralelamente orientadas, e escasso infiltrado de células inflamatórias do tipo mononuclear, predominantemente linfocitário. Nas áreas próximas às cavidades, observávamos a presença de maior quantidade de vasos sangüíneos congestos do que nas demais regiões do defeito. Em alguns espécimes, notávamos também a presença de discreta hemorragia intersticial. As cavidades eram mais delineadas e estavam envoltas por uma estreita faixa de cápsula fibrosa, com presença de algumas células gigantes multinucleadas, predominantemente do tipo corpo estranho, em quantidade inferior quando comparada com os períodos anteriores deste mesmo grupo. Notávamos ainda a presença de formação de tecido ósseo, estendendo-se ao longo das margens do defeito (Figura 12). Em áreas próximas a região do implante, foi evidenciada ainda a presença de calcificações distróficas lineares.

No grupo **D**, a região do defeito ósseo foi preenchida por tecido conjuntivo fibroso, constituído por feixes de fibras colágenas, ora orientadas, ora não orientadas, e intenso infiltrado de células inflamatórias mononucleares, com predominância de linfócitos, e ausência de polimorfonucleares, quando comparado com o grupo controle nesse mesmo período de observação. Observou-se também maior quantidade de vasos sangüíneos congestos quando comparados com o grupo controle. Em algumas áreas, a cápsula fibrosa que envolvia as cavidades, mostrava-se mais espessa e com maior quantidade de infiltrado de células inflamatórias mononucleares e de células gigantes do tipo corpo estranho do que os demais grupos de estudo. Intensas áreas de

hemorragia intersticial foram observadas. As margens do defeito apresentavam-se irregulares, com extensas áreas de reabsorção óssea em alguns espécimes (Figura 13), enquanto que em outros, havia crescimento centrípeto de tecido ósseo imaturo. Pequenos ninhos de tecido ósseo estavam presentes em algumas áreas da região do implante.

Nas análises histológicas dos espécimes do grupo **DCa**, a região do defeito estava preenchida por tecido conjuntivo fibroso denso na periferia, e frouxo em sua porção mais central. Esse tecido era constituído por feixes de fibras colágenas orientadas, pouco celularizado (fibroblastos e fibrócitos) e apresentava numerosos vasos sangüíneos de calibre variado. Notava-se a presença de moderado e difuso infiltrado de células inflamatórias mononucleares, predominantemente linfocitário, e de alguns granulomas de células epitelióides (Figura 14). As cavidades encontravam-se delineadas e circundadas por uma cápsula fibrosa, com presença de maior quantidade de células gigantes tipo corpo estranho em sua superfície, quando comparadas com os espécimes do grupo controle, no mesmo período de observação. Havia ainda a presença de formação de tecido ósseo ao longo das margens do defeito, e escassos ninhos irregulares de tecido ósseo dispersos no tecido conjuntivo formado. Nenhuma área de calcificação distrófica e poucas áreas de hemorragia intersticial foram evidenciadas nesses espécimes.

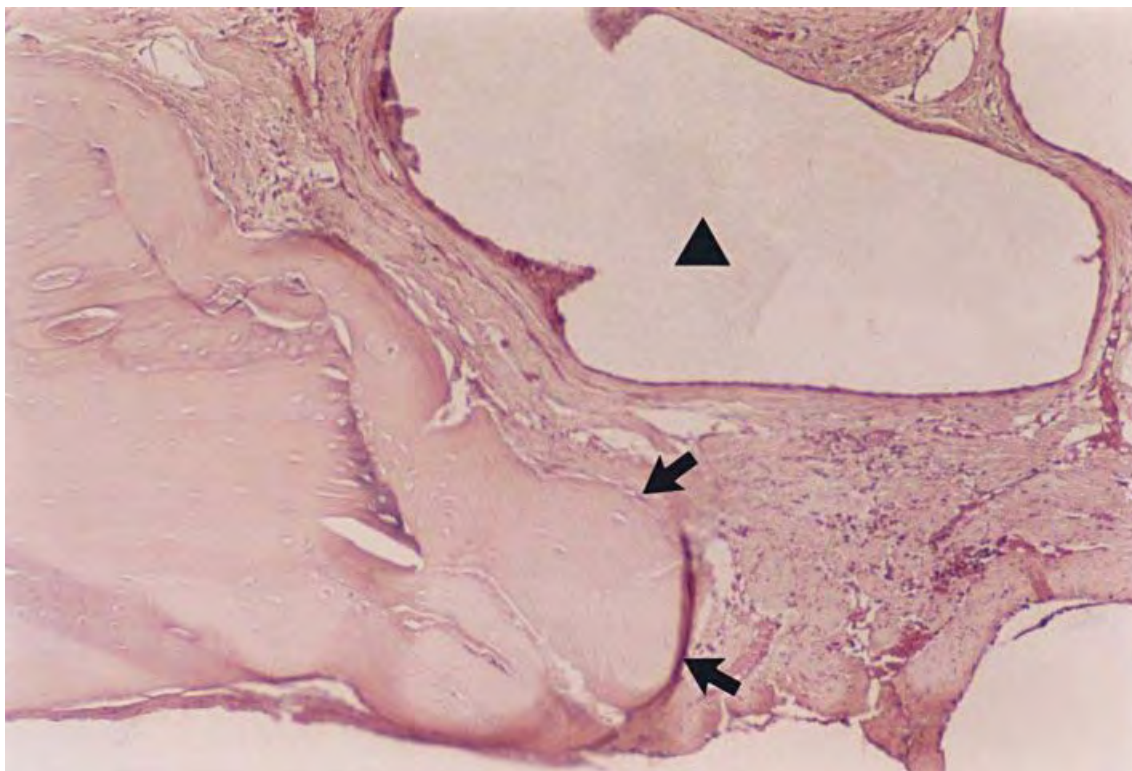


FIGURA 12- Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo C. Tecido ósseo neoformado na margem do defeito cirúrgico (➡), próximo a uma cavidade (▲), circundada por tecido conjuntivo organizado. Aumento original 100x. Coloração H.E.

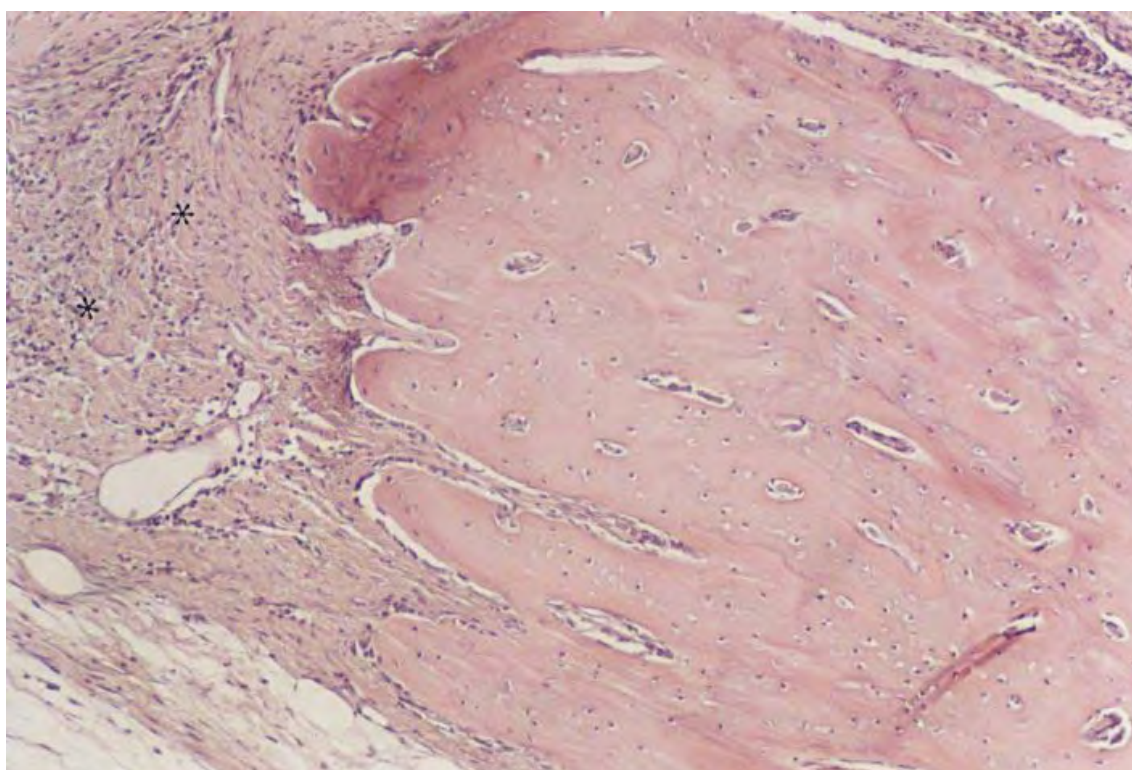


FIGURA 13- Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo D. Margem do defeito cirúrgico mostrando áreas de neoformação óssea intercaladas com áreas de reabsorção. Tecido conjuntivo desorganizado (*) próximo à margem óssea. Aumento original 100x. Coloração H.E.

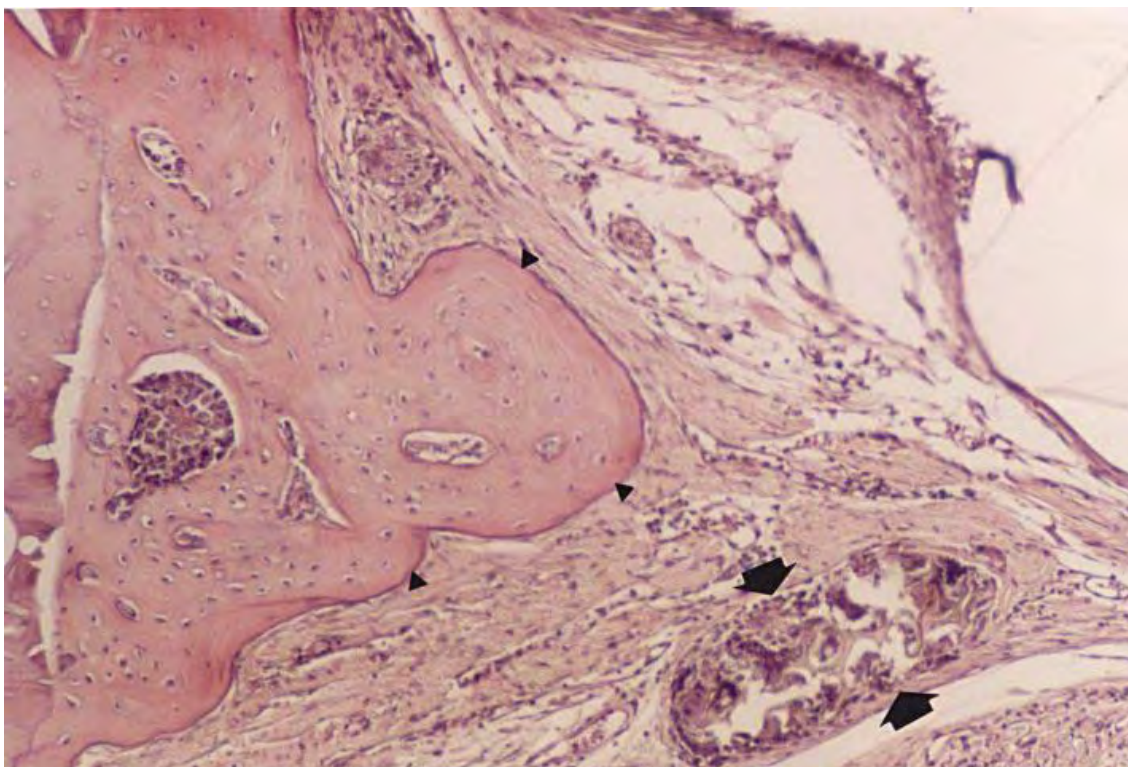


FIGURA 14- Fotomicrografia do período de 60 dias. Grupo DCa. Margem do defeito mostrando tecido ósseo neoformado (▲). Granuloma epitelióide (➡) com partículas refratárias de polietileno em seu interior. Aumento original 100x. Coloração H.E.

5.4 Eficiência da estreptozotocina na indução experimental do diabetes melito

5.4.1 Avaliação da glicemia pré-operatória e no sacrifício

A aplicação intraperitoneal única de estreptozotocina, na dose de 45mg/Kg de peso, mostrou-se um método bastante eficaz na indução experimental do diabetes melito, nos animais utilizados no estudo.

A glicemia média pré e pós-operatória dos animais foi calculada segundo a fórmula descrita por VIEIRA (1980). (Quadro 1)

Quadro 1- Média da glicemia pré-operatória e previamente ao sacrifício dos animais utilizados nos estudo, obtidas através de glicosímetro digital

Grupos de animais	Glicemia Média	
	Pré-operatória	Sacrifício
C	132,91 mg/dL	152,41mg/dL
D	454,33mg/dL*	451,83mg/dL
DCa	461,75mg/dL*	435,16mg/dL

* Valores obtidos 14 dias após a aplicação única de estreptozotocina

5.4.2 Aspectos clínicos dos animais diabéticos

Após 48 horas de aplicação da estreptozotocina, os animais apresentavam-se prostrados, poliúricos, polifágicos, polidepseicos e com aparente distensão abdominal. Perda de elasticidade da pele, mudança da textura dos pêlos e intensa evacuação foram também observadas. Após a administração da estreptozotocina, dois animais (11%) morreram nos períodos de 15 e 45 dias.

6 DISCUSSÃO

Os recentes avanços das pesquisas, no campo da biotecnologia, têm ampliado as opções no campo das cirurgias reconstrutivas. Um número cada vez maior de profissionais tem optado pela utilização de materiais aloplásticos, uma vez que os enxertos biológicos, como os tecidos humanos ou de animais experimentais, quase sempre estão sujeitos a rejeições e/ou reabsorções. Os enxertos biológicos autólogos, além dos riscos de infecções e seqüelas no local doador, apresentam limitações no que diz respeito à sua disponibilidade e conformação tridimensional. Os materiais aloplásticos podem ser adquiridos nos mais diversos formatos ou podem ser facilmente esculpidos e inseridos no leito receptor.

Dentre os diversos tipos de materiais aloplásticos disponíveis, o polietileno poroso vem sendo utilizado há décadas na substituição total ou parcial dos ossículos do ouvido (Frootko²¹, 1984; Kerr & Riley⁴⁶, 1999), em rinoplastias reparadoras e estéticas (Romo et al.⁶⁸, 1998; Niechajev⁵⁶, 1999), em implantes orbitários (Karesh & Dresner⁴⁴, 1994; Karcioğlu et al.⁴³, 1998; Núñez Sánchez et al.⁵⁸, 2001), nas reconstruções auriculares, da cavidade orbitária, das deformidades da base do crânio e das regiões frontal, temporal, zigomática e mandibular (Wellisz⁸⁵, 1993; Cenzi & Guarda-Nardini⁷, 1995; Frodel & Lee²⁰, 1998; Robiony et al.⁶⁶, 1998; Choi et al.⁹, 1999; Duman et al.¹⁶, 1999; Janecka³⁹, 2000; Sevin et al.⁷², 2000; Yaremchuk⁹², 2000).

A característica porosa do polietileno confere a esse polímero diversas vantagens sobre materiais aloplásticos densos, como por exemplo, o silicone. Trabalhos clínicos e experimentais encontrados na literatura têm demonstrado que a presença desses poros favorece a

invasão dos tecidos para o interior do material de implante (Spector et al.⁷⁹, 1975; Rubin et al.⁷⁰, 1994; Rossa⁶⁹, 1999), favorecendo a sua aderência e permitindo a sua melhor estabilidade na região (Maas et al.⁵², 1990; Shanbhag et al.⁷⁴, 1990; Kinoshita et al.⁴⁷, 1993; Williams et al.⁸⁷, 1997; Yildirim et al.⁹³, 2000).

Nas observações histológicas do grupo **C**, pudemos constatar que o implante de polietileno foi bem tolerado pelos tecidos hospedeiros, com rápida invasão de seus poros por tecido conjuntivo bem vascularizado, sem a ocorrência de extrusões dos implantes. Esses resultados foram concordantes com os estudos clínicos e experimentais de Spector et al.⁷⁸ (1976), Handrock et al.³⁴. (1979), Rubin et al.⁷⁰ (1994), Rossa⁶⁹ (1999) e Yildirim et al.⁹³ (2000). As reações inflamatórias crônicas e células gigantes multinucleares tipo corpo estranho, observadas em todos os períodos, parecem não ter interferido no processo de reparo. Essas células gigantes também foram encontradas em outros experimentos (Spector et al.⁷⁸, 1976; Shanbhag et al.⁷⁴, 1990; Kinoshita et al.⁴⁷, 1993; Niechajev⁵⁶, 1999; Núñez Sánchez et al.⁵⁸, 2001), e foram relacionadas ao tamanho e/ou às formas das partículas do polietileno (Maas et al.⁵², 1990; Rubin et al.⁷⁰, 1994; Rossa⁶⁹, 1999). Nesse grupo, notávamos também ausência de infecção, e atribuímos tal fato à normalidade do sistema imunológico desses animais. Outros autores afirmaram que a invasão precoce dos poros do polietileno pelos tecidos hospedeiros poderia reduzir os espaços disponíveis para adesão bacteriana, diminuindo o risco de infecções (Brown et al.⁵, 1979; Sclafani et al.⁷¹, 1997). Áreas de calcificações distróficas, presentes nos dois últimos períodos de observação, poderiam ser justificadas pela ocorrência de necroses teciduais provocadas pelo processo inflamatório crônico constante na área receptora.

Na literatura pesquisada, não foram encontrados trabalhos utilizando materiais aloplásticos em diabéticos. Entretanto, sabe-se que muitas das complicações crônicas dos indivíduos portadores

do diabetes melito estão relacionadas à alterações do tecido conjuntivo, o que prejudicaria o processo de reparação. A diminuição na produção de colágeno afeta diversos mecanismos essenciais ao processo de reparação, uma vez que essa proteína, a mais abundante no corpo humano, é responsável pela arquitetura e integridade do tecido conjuntivo (Spanheimer et al.⁷⁷, 1988; Devlin et al.¹³, 1996).

O diabetes melito caracteriza-se por diversas alterações dos metabolismos de carboidratos, gorduras e proteínas, devido à falta de insulina ou à sua incapacidade de agir na transferência de glicose do plasma para o citoplasma das células. A insulina exerce efeitos nos tecidos adiposo, muscular e ósseo, provocando alterações nas características da membrana celular, na permeabilidade a glicose, no transporte de aminoácidos e no fluxo de potássio (Levy et al.⁴⁹, 1985). O seu mecanismo de ação consiste em facilitar o transporte dos monossacarídeos e aminoácidos através da membrana celular dos tecidos sensíveis a essa proteína (Di Palma¹⁴, 1980). A ausência ou deficiência de insulina no organismo altera a modulação do crescimento esquelético normal, uma vez que ela exerce efeitos diretos e indiretos sobre o metabolismo ósseo, regulando a reabsorção e estimulando a síntese de matriz e a mineralização óssea (Canalis⁶, 1983; Nevins et al.⁵⁴, 1998). Dentre os diversos distúrbios causados pelo diabetes sobre o metabolismo do tecido ósseo estão as alterações da síntese de proteoglicanas (Weiss⁸⁴, 1981), o prejuízo da atividade osteoblástica (Rico et al.⁶⁵, 1989), retardos na formação dos tecidos ósseo e osteóide (Goodman & Hori²⁸, 1984; Yoon & Reddi⁹⁴, 1984) e desequilíbrio na homeostase mineral, reduzindo a resistência estrutural óssea (Funk et al.²², 2000). O descontrole dessas alterações provoca ainda quadros agudos de osteopenia (Goodman & Hori²⁸, 1984; Hough³⁷, 1987; Kayath et al.⁴⁵, 1998) e conseqüente osteoporose (Weiss et al.⁸⁴, 1981; Jovanovic-Peterson⁴¹, 1996; Tsuchida et al.⁸¹, 2000; Gunczler et al.³⁰, 2001).

Diversas formas de indução experimental do diabetes melito em animais foram descritas na literatura como pancreatectomia parcial (Grandini²⁹, 1978), infecções virais (Yoon & Reddi⁹⁴, 1984), administração de aloxana (Gerritsen et al.²⁵, 2000) ou de estreptozotocina (Weiss et al.⁸⁴, 1981; Goodman & Hori²⁸, 1984; Levy et al.⁴⁹, 1985; Spanheimer et al.⁷⁷, 1988; Devlin et al.¹³, 1996; Nevins et al.⁵⁴, 1998; El-Hakim¹⁷, 1999; Fiorellini et al.¹⁹, 1999; Funk²², 2000; Tsuchida et al.⁸¹, 2000; Giglio et al.²⁶, 2000; Shyng et al.⁷⁵, 2001). Em nossos estudos, optamos pela estreptozotocina em virtude da sua eficiente ação citotóxica seletiva sobre as células β das ilhotas do pâncreas, descrita pelos autores.

Nos diversos trabalhos de pesquisa encontrados na literatura, as doses de estreptozotocina utilizadas variavam de 30mg/Kg até 90mg/Kg (Goodman & Hori²⁸, 1984; Levy et al.⁴⁹, 1985; Spanheimer et al.⁷⁷, 1988; Devlin et al.¹³, 1996; Tsuchida et al.⁸¹, 2000; Shyng et al.⁷⁵, 2001). Com base nesses dados, procuramos utilizar uma dose moderada, que pudesse garantir a indução e a manutenção do quadro diabético pelo período desejado, sem provocar sofrimento e/ou morte dos animais. Mesmo assim dois animais não resistiram às complicações da doença e morreram após 15 e 45 dias da aplicação da droga.

As médias glicêmicas, em diferentes linhagens de ratos, relatadas nos diversos experimentos utilizando-se a estreptozotocina variavam de 235 mg/dL a 675 mg/dL (Goodman & Hori²⁸, 1984; Giglio et al.²⁶, 2000). Na presente pesquisa, verificamos que a glicemia média no grupo controle foi de 132,91 mg/dL e 152,41 mg/dL no pré-operatório imediato e no dia do sacrifício, respectivamente. Nos animais do grupo **D**, essas médias foram de 454,33 mg/dL e 451,83 mg/dL, enquanto que, no grupo **DCa**, foram de 461,75 mg/dL e 435,16 mg/dL. Portanto, em nossos estudos, a aplicação intra-peritoneal de estreptozotocina em dose única de 45 mg/Kg foi um método eficaz na indução do diabetes melito, permitindo boas condições de sobrevivência aos animais. O quadro clínico

apresentado caracterizava-se por fraqueza, prostração, poliúria, polifagia, polidepsia, evacuação freqüente, perda de elasticidade da pele, alteração na textura da pelagem e distensão abdominal. De acordo com Barbosa* et al. (s.d.), essa distensão seria decorrente da retenção de fluídos no estômago do animal, independente da ingestão de água

Nas observações histológicas dos espécimes do grupo **D**, notávamos a presença de um tecido conjuntivo menos organizado, uma maior quantidade de vasos sangüíneos e maiores infiltrados difusos de células inflamatórias quando comparado com o grupo controle. Além disso, verificávamos que havia maior quantidade de células gigantes multinucleares tipo corpo estranho nas cápsulas fibrosas que circundavam as imagens negativas das partículas de polietileno, em todos os períodos de observação. Inflamações crônicas granulomatosas, com presença de granulomas epitelióides, foram evidenciadas apenas nos espécimes do primeiro período de observação. Reabsorções ósseas eram evidentes em todos os períodos, bem como seqüestros ósseos e áreas de abscedação em alguns espécimes após trinta dias da implantação do polietileno poroso.

Segundo Boyko & Lipsky⁴ (1995), as alterações nos mecanismos de defesa imune em diabéticos, como inibição da capacidade fagocitária dos neutrófilos, e alterações vasculares, comprometem a microcirculação local, provocam retardo nas respostas imunológicas às infecções e no processo de reparação. Acreditamos que esses fenômenos poderiam explicar a presença das áreas de abscedação e seqüestros ósseos em alguns espécimes do grupo **D**, no período de trinta dias. Por outro lado, os resultados dos achados histológicos no período de sessenta dias mostraram que as reações observadas anteriormente foram transitórias. Diante disso, acreditamos que as

* BARBOSA et al. **Experimental passo a passo. Modelo animal de diabete melito.** Faculdade Evangélica do Paraná-Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, s.d.. Disponível em <http://www.endocrino.com/revista/rev2arq/artigo5.htm>. Acesso em 23 de janeiro de 2002.

referidas reações poderiam não estar diretamente relacionadas à presença do material de implante, mas, sim, às complicações pós-operatórias presentes nos animais diabéticos. Ainda nesse período, as áreas de reabsorção óssea eram mais discretas e havia presença de tecido ósseo neoformado nas margens do defeito e ausência de áreas de abscedação e seqüestros ósseos, quando comparadas com o período de trinta dias. Verificando os resultados obtidos por Shyng et al.⁷⁵ (2001) que utilizaram membranas de politetrafluoretileno em defeitos cirúrgicos confeccionados na calota craniana de ratos diabéticos, observamos que o comportamento do tecido ósseo foi bastante similar àqueles encontrados em nossos achados histológicos.

Ainda nesse grupo, observamos que os tecidos hospedeiros invadiram os poros do polietileno e não houve episódio de extrusão ou exposição dos implantes, demonstrando, desta forma, a boa estabilidade do material, mesmo diante das condições adversas.

Desde sua descoberta, há cerca de quatro décadas a calcitonina vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias ósseas, devido a sua reconhecida capacidade em reduzir a atividade osteoclástica (Cochran et al.¹⁰, 1970; Holtrop et al.³⁶, 1974; Arisawa³, 2000), inibir a síntese e liberação de enzimas promotoras de reabsorção da matriz óssea (Raisz⁶³, 1970), aumentar a atividade osteoblástica (Delling & Glueckselig¹², 1971; Woodbury⁸⁸, 1978; Yamaguchi et al.⁹⁰, 1989) e impedir a diferenciação de células mesenquitomatosas primitivas em novos osteoclastos (Hedlund et al.³⁵, 1983; Guyton & Hall³³, 1997). A sua ação na inibição da reabsorção óssea parece estar ligada à presença de receptores específicos no citoplasma dos osteoclastos (Kallio et al.⁴², 1972; Nicholson et al.⁵⁵, 1986). Quando o hormônio se liga a esses receptores, essas células sofrem alterações em suas formas, diminuindo seu tamanho, a quantidade de microvilosidades e a mobilidade citoplasmática, que são características do estado ativo dessas células

durante o processo de reabsorção óssea (Kallio et al.⁴², 1972; Chambers & Moore⁸, 1983).

A calcitonina, utilizada no grupo **DCa**, foi eficaz na inibição da reabsorção óssea e/ou na estimulação precoce da formação de tecido ósseo, quando comparado aos demais grupos. Alguns estudiosos verificaram também a aceleração do processo de reparação óssea em animais experimentais não diabéticos, quando tratados com esse hormônio (Delling & Glueckselig¹², 1971; Ziegler & Delling⁹⁶, 1972; Pereira et al.⁶¹, 1997; Arisawa³, 2000; Dogan et al.¹⁵, 2001).

Nesse grupo, a formação de tecido ósseo foi evidenciada nas margens do defeito em alguns espécimes do período de 15 dias, e discretas áreas de reabsorção óssea foram observadas apenas em animais do período de trinta dias. Não foram evidenciadas áreas de abscedação ou seqüestros ósseos em nenhum dos períodos estudados. Em relação ao tecido conjuntivo observado no interior dos poros, verificamos que o seu aspecto era mais denso e mais organizado quando comparado com os demais grupos de estudo.

Em relação à implantação do polietileno poroso no tecido ósseo, Spector et al.^{78,79} (1975; 1976) e Wellisz et al.⁸⁶. (1995) observaram a presença de espículas ósseas no interior dos poros do material de implante, o que não foi claramente evidenciado em nossos estudos. Acreditamos que esse fato estaria relacionado ao pequeno diâmetro dos poros do material utilizado, o que dificultaria o crescimento de tecido conjuntivo osteogênico para o interior do implante e, posteriormente, a formação de tecido ósseo. Entretanto, escassos ninhos isolados de matriz óssea, circundando o material de implante, puderam ser evidenciados em alguns espécimes dos grupos **D** e **DCa**.

A menor intensidade das reações teciduais frente ao uso da calcitonina poderia estar associada às propriedades analgésicas e anti-inflamatórias que têm sido atribuídas a esse hormônio. Tais propriedades foram observadas por Quatraro et al.⁶² (1992), Zmijewska et

al.⁹⁷ (1994) e Lyritis et al.⁵¹ (1999) em tratamentos de fraturas vertebrais causadas por osteoporose, em dores neuropáticas periféricas de pacientes diabéticos e em osteítes do coto de amputações em pacientes diabéticos.

A utilização da calcitonina em pacientes diabéticos tem sido tema de grande controvérsia nesses últimos anos. Alguns estudiosos relataram que o tratamento com calcitonina promove elevação da concentração sérica de glicose (Thomas⁸⁰, 1979; Zofková⁹⁸, 1986; Young et al.⁹⁵ 1995), enquanto outros afirmam que o tratamento prolongado com o hormônio não provoca alterações significativas no controle glicêmico (Gattereau et al.²⁴, 1980; Sgambato et al.⁷³, 1981; Giustina et al.²⁷, 1985). Em nossos resultados, observamos que a média glicêmica do grupo **D** era discretamente mais alta do que a do grupo **DCa** minutos antes do sacrifício, estando em concordância com esses últimos achados.

Pelo conjunto de resultados observados podemos considerar que o polietileno poroso é um material biocompatível, mesmo diante de distúrbios dos processos reparativos. Consideramos também que a utilização de calcitonina foi eficaz na modulação de alguns dos distúrbios observados nos animais diabéticos, favorecendo a reparação óssea. Entretanto, pesquisas suplementares precisam ser realizadas, visando uma melhor elucidação sobre as conseqüências da combinação entre o diabetes melito e a administração do hormônio, para uma utilização mais segura e racional de materiais aloplásticos em pacientes portadores da doença.

7 CONCLUSÃO

Fundamentados nos resultados obtidos na presente pesquisa, através da metodologia empregada, podemos concluir que:

- O polietileno poroso foi tolerado pelos tecidos hospedeiros nos animais do grupo controle (grupo **C**) e grupo diabético tratado com calcitonina (grupo **DCa**), provocando reações inflamatórias mais intensas nesse segundo grupo, em todos os períodos de observação;
- O polietileno poroso não foi tolerado pelos tecidos hospedeiros dos animais do grupo de ratas diabéticas (grupo **D**);
- Os poros do implante foram preenchidos por um tecido conjuntivo bem vascularizado, conferindo estabilidade ao material no leito receptor, não ocorrendo osteointegração;
- A calcitonina, utilizada nos animais do grupo diabético tratado com o hormônio (grupo **DCa**), foi eficaz no tratamento pós-operatório dos animais diabéticos que receberam o polietileno poroso, inibindo o processo de reabsorção e/ou estimulando a neoformação óssea;
- A estreptozotocina, administrada em dose única de 45 mg/Kg, foi um método eficaz na indução do diabetes melito nas ratas, permitindo boas condições de sobrevivência;

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*:

1. ALDINI, N. N. et al. Calcitonin release system in the treatment of experimental osteoporosis. Histomorphometric evaluation. **J Orthop Res**, v. 19, n. 5, p. 955-61, 2001.
2. ALMEIDA, J. D. **Estudo comparativo dos efeitos da calcitonina e do *Plumbum metallicum* 30CH na reparação óssea em mandíbula de ratos.** 2001, 129f. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Biopatologia Bucal)- Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.
3. ARISAWA, E. A. L. **Influência da calcitonina na regeneração óssea em mandíbulas de ratas ovariectomizadas.** 2000. 109f. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Biopatologia Bucal)- Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos.
4. BOYKO, E. J.; LIPSKY, B. Infection and diabetes. In: HARRIS, M. I. (Coord.). **Diabetes in América.** 2 Ed. National NIH Publication, 1995. Cap. 22, p. 485-99.
Disponível em <http://www.niddk.nih.gov/health/diabetes/contents.html>.
Acessado em 21 de abril de 2002.
5. BROWN, B. L.; NEEL, H. B.; KERN, E. B. Implants of Supramid, Proplast, Plasti-pore and Silastic. **Arch Otolaryngol**, v. 105, n. 10, p. 605-9, 1979.
6. CANALIS, E. The hormonal and local regulation of bone formation. **Endocr Rev**, v. 4, n. 1, p. 62-77, 1983.

* Baseado em:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. **Informação e documentação**: referências, elaboração. NBR 6023. Rio de Janeiro, 2000. 22p.

7. CENZI, R.; GUARDA-NARDINI, L. Lútilizzo del polietilene poroso (Medpor) in chirurgia maxillo-facciale. **Minerva Stomatol**, v. 44, n. 12, p. 559-82, 1995.
8. CHAMBERS , T. J.; MOORE, A. The sensitivity of isolated osteoclasts to morphological transformation by calcitonin. **J Clin Endocrinol**, v. 57, n. 4, p. 19-24, 1983.
9. CHOI, J. C. et al. Porous polyethylene channel implants: a modified porous polyethylene sheet implant designed for repairs of large and complex orbital wall fractures. **Ophthal Plast Reconstr Surg**, v. 15, n. 1, p. 55-6, 1999.
10. COCHRAN M. et al. Renal effects of calcitonin. **Br Med J**, v. 1, n. 689, p. 135-37, 1970.
11. COOP D. H. et al. Evidence for calcitonin- a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. **Endocrinology**, v. 70, n. 6, p. 638-49, 1962.
12. DELLING , G.; GLUECKSELIG, W. The effect of calcitonin on the regeneration of circumscribed tibia defects and on mineral content of bone in the rat. **Israel J Med Sci**, v. 7, n. 3, p. 367-8, 1971.
13. DEVLIN, H; GARLAND, H; SLOAN, P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 54, n. 9, p. 1087- 91, 1996.
14. DI PALMA, J. R. (Ed.). Insulina e Hipoglicemiantes Orais. In: _____ **Farmacologia básica em medicina**. Trad. R. Santos (Coord.). Rio de Janeiro: Interamericana, 1980. Cap. 30, p. 253-61
15. DOGAN, H. et al. The effect of calcitonin on osseous healing in Guinea pig mandible. **J Endodontics**, v. 27, n. 3, p. 160-3, 2001.
16. DUMAN, H. et al. Reconstruction of contour and anterior wall defects of frontal bone with a porous polyethylene implant. **J Craniomaxillofac Surg**, v. 27, n. 5, p. 298-301, 1999.

17. EL-HAKIM, I, E. The effect of fibrin stabilizing factor (F. XIII) on healing of bone defects in normal and uncontrolled diabetic rats. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 28, n. 4, p. 304-8, 1999.
18. FARLEY, J. R.; et al. The anti-bone resorptive agent calcitonin also acts *in vitro* to directly increase bone formation and bone cell proliferation. **Endocrinology**, v. 123, n. 1, p. 159-67, 1988.
19. FIORELLINI, J. P. et al. The effect of insulin therapy on osseointegration in a diabetic rat model. **Clin Oral Implants Res**, v. 10, n. 5, p. 362-8, 1999.
20. FRODEL, J. L.; LEE, S. The use of high-density polyethylene implants in facial deformities. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 124, n. 11, p. 1219-23, 1998.
21. FROOTKO, N. J. Failed ossiculoplasty using porous polyethylene (Plasti-Pore) prostheses. **J Laryngol Otol**, v. 98, n. 2, p. 121-6, 1984.
22. FUNK, J. R. et al. Biomechanical evaluation of early fracture healing in normal and diabetic rats. **J Orthop Res**, v. 18, n. 1, p. 126-32, 2000.
23. FURUICHI, H. et al. Bone-anabolic effect of salmon calcitonin on glucocorticoid-induced osteopenia in rats. **Biol Pharm Bull**, v. 23, n. 8, p. 946-51, 2000.
24. GATTEREAU, A. et al. Effect of acute and chronic administration of calcitonin on serum glucose in patients with Paget's disease on bone. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 51, n. 2, p. 354-7, 1980.
25. GERRITSEN, M; LUTTERMAN, J. A.; JANSEN, J. A. Wound healing around bone-anchored percutaneous devices in experimental diabetes mellitus. **J Biomed Mater Res**, v. 53, n. 6, p. 702-9, 2000.
26. GIGLIO, M. J. et al. Histomorphometric study of bone healing around laminar implants in experimental diabetes. **Implant Dent**, v. 9, n. 2, p. 143-9, 2000.

27. GIUSTINA, G. et al. Synthetic salmon calcitonin is not diabetogenic in patients with normal or impaired glucose metabolism. **J Endocrinol Invest**, v. 8, n. 1, p. 19-23, 1985.
28. GOODMAN, W. G.; HORI, M. T. Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization. **Diabetes**, v. 33, n. 9, p. 825-31, 1984.
29. GRANDINI, S. A. The effect of partial-pancreatectomy-induced diabetes on wound healing subsequent to tooth extraction. Histologic study in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 45, n. 2, p. 190-9, 1978.
30. GUNCZLER, P. et al. Decreased bone mineral density and bone formation markers shortly after diagnosis of clinical type 1 diabetes mellitus. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 14, n. 5, p. 525-8, 2001.
31. GURKAN, L. et al. Effects of salmon calcitonin on growth of teeth and on extraction socket healing in young rats. **Scand J Dent Res**, v. 91, n. 6, p. 425-30, 1983.
32. GUTTMAN S. et al. Synthese von salm-calcitonin, einem hochaktiven hypocalcämischen hormon. *Helv Chim Acta*, v. 53, p. 1789-95, 1969 *apud* AZRIA, M.; COOP, D. H.; ZANELLI, J. M. 25 years of salmon calcitonin: from synthesis to therapeutic use. **Calcif Tissue Int.**, v. 57, n. 6, p. 405-8, 1995.
33. GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Hormônio paratireoideo, calcitonina, metabolismo do cálcio e do fosfato, vitamina D, ossos e dentes. In: _____. **Tratado de fisiologia médica**. Trad. A. G. Silva (Coord.). 9 e. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. Cap. 79, p. 895-904.
34. HANDROCK, M.; MULCH, G.; HANDROCK, C. The applicability of porous polyethylene for tympanoplasty: an animal experimental study. **Arch Otolaryngol**, v. 224, n. 3/4, p. 193-206, 1979.

35. HEDLUND, T.; HULTH, A.; JOHNELL, O. Early effects of parathormone and calcitonin on the number of osteoclasts and on serum-calcium in rats. **Acta Orthop Scand**, v. 54, n. 6, p. 802-4, 1983.
36. HOLTROP, M. E.; RAISZ, L. G.; SIMMONS, H. A. The effects of parathyroid colchicine, and calcitonin on the ultrastructure and the activity of osteoclasts in organ culture. **J Cell Biol**, v. 60, n. 2, p. 346-55, 1974.
37. HOUGH, F. S. Alterations of bone and mineral metabolism in diabetes mellitus. Part II. Clinical studies in 206 patients with type I diabetes mellitus. **S Afr Med J**, v. 72, n. 2, p. 120-6, 1987.
38. ICHIKAWA, M. et al. Anti-osteopenic effect of nasal salmon calcitonin in type 1 osteoporotic rats: comparison with subcutaneous dosing. **Biol Pharm Bull**, v. 17, n. 7, p. 911-3, 1994.
39. JANECKA, I. New reconstructive technologies in skull base surgery: role of titanium mesh and porous polyethylene. **Arch Otolaringol Head Neck Surg**, v. 126, n. 3, p. 396-401, 2000.
40. JANUÁRIO, A. L. et al. Effect of calcitonin on bone formation around titanium implant. A histometric study in rabbits. **Braz Dent J**, v. 12, n. 3, p. 158-62, 2001.
41. JOVANOVIĆ-PETERSON, L. Hormone replacement therapy and diabetes. **Clin Diabetes**, v. 14, n. 6, p. 142-7, 1996.
42. KALLIO, D. M.; GARANT, P. R.; MINKIN, C. Ultrastructural effects of calcitonin on osteoclasts in tissue culture. **J Ultrastr Res**, v. 39, n. 3, p. 205-16, 1972.
43. KARCIOGLU, Z. A.; AL-MESFER, S. A.; MULLANEY, P. B. Porous polyethylene orbital implants in patients with retinoblastoma. **Ophthalmology**, v. 105, n. 7, p. 1311-6, 1998.

44. KARESH, J. W., DRESNER, S. C. High-density porous polyethylene (Medpor) as a successful anophthalmic socket implant. **Ophthalmology**, v. 101, n. 10, p. 1688-95, 1994.
45. KAYATH, M. J. et al. Prospective bone mineral density evaluation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, v. 12, n. 3, p. 133-9, 1998.
46. KERR, A. G.; RILEY, D. N. Disintegration of porous polyethylene prostheses. **Clin Otolaryngol**, v. 24, n. 3, p. 168-70, 1999.
47. KINOSHITA, Y. et al. Soft tissue reaction to collagen-immobilized porous polyethylene: subcutaneous implantation in rats for 20 wk. **Biomaterials**, v. 14, n. 3, p. 209-15, 1993.
48. KLAWITTER et al. An evaluation of bone growth into porous high density polyethylene **J Biomed Mater Res**, v. 10, n. 2, p. 311-23, 1976.
49. LEVY, J. et al. Bone calcification and calcium homeostasis in rats with non-insulin-dependent diabetes induced by streptozotocin. **Diabetes**, v. 34, n. 4, p. 365-72, 1985.
50. LI, M. et al. A comparison of the skeletal effects of intermittent and continuous administration of calcitonin in ovariectomized rats. **Bone**, v. 18, n. 4, p. 375-80, 1996.
51. LYRITIS, G. P. et al. Analgesic effect of salmon calcitonin suppositories in patients with acute pain due to recent osteoporotic vertebral crush fractures: a prospective double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study. **Clin J Pain**, v. 15, n. 4, p. 284-9, 1999.
52. MAAS, C. S. et al.. Comparison of biomaterials for facial bone augmentation. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 116, n. 5, p. 551-6, 1990.

53. MONIER-FAUGERE, M. C. et al. Calcitonin prevents bone loss but decreases osteoblastic activity in ovariectomized beagle dogs. **J Bone Min Res**, v. 11, n. 4, p. 446-55, 1996.
54. NEVINS, M. L. et al. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 13, n. 5, p. 620-9, 1998.
55. NICHOLSON, G. C. et al. Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts- Biochemical and autoradiographic characterization. **J Clin Invest**, v. 78, n. 2, p. 355-60, 1986.
56. NIECHAJEV, I. Porous polyethylene implants for nasal reconstruction: clinical and histologic studies. **Aesth Plast Surg**, v. 23, n. 6, p. 395-402, 1999.
57. NOCITI JÚNIOR, F. H. et al. Effect of calcitonin on bone healing following titanium implant insertion. **J Oral Sci** v. 41, n. 2, p. 77-80, 1999.
58. NÚÑEZ SÁNCHEZ, A. et al. Integración de los implantes orbitarios de polietileno (Medpor). Estudio histológico. **Arch Soc Esp Oftalmol**, v. 76, n. 1, p. 25-9, 2001.
59. O'DOR, R. K.; PARKES, C. O.; COOP, D.H. Amino acid composition of salmon calcitonin. **Can J Biochem**, v. 47, n. 8, p. 823-5, 1969.
60. PALMIERI, G. M. A. et al. Effect of calcitonin and vitamin D in osteoporosis. **Calcif Tissue Int**, v. 45, n. 3, p. 137-41, 1989.
61. PEREIRA, S. L. S. et al. Efeito da calcitonina de salmão sobre a cicatrização de defeitos ósseos. Estudo radiográfico e histológico em coelhos. **Rev Odontol UNESP**, v. 26, n. 2, p. 471-88, 1997.
62. QUATRARO, A. et al. Calcitonin in painful diabetic neuropathy. **Lancet**, v. 339, n. 8795, p. 746-7, 1992. (comment)
63. RAISZ, L. G. Physiologic and pharmacologic regulation of bone resorption. **N Engl J Med**, v. 282, n. 16, p. 909-16, 1970.

64. REBELO-I, L. et al. Effects of synthetic salmon calcitonin therapy in children with osteogenesis imperfecta. **J Int Med Res**, v. 17, n. 4, p. 401-5, 1989.
65. RICO, H. et al. Suggestion of a deficient osteoblastic function in diabetes mellitus: the possible cause of osteopenia in diabetics. **Calcif Tissue Int**, v. 45, n. 2, p. 71-3, 1989.
66. ROBIONY, M. et al. Simultaneous malaroplasty with porous polyethylene implants and orthognathic surgery for correction of malar deficiency. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 56, n. 6, p. 734-42, 1998.
67. ROMANO, J. J.; LLIFF, N. T.; MANSON, P. N. Use of Medpor porous polyethylene implants in 140 patients with facial fractures. **J Craniofac Surg**, v. 4, n. 3, p. 142-7, 1993.
68. ROMO, T. III; SCLAFANI, A. P.; SABINI, P. Use of porous high-density polyethylene in revision rhinoplasty and in platyrrhine nose. **Aesth Plast Surg**, v. 22, n. 3, p. 211-21, 1998.
69. ROSSA, R. **Avaliação das reações teciduais nas inclusões subcutâneas**. 1999, 90 f. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Materiais Dentários) Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. São Paulo
70. RUBIN, P. A. D. et al. Comparison of fibrovascular ingrowth into hidroxiapatite and porous polyethylene orbital implants. **Ophtal Plast Reconstr Surg**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 1994.
71. SCLAFANI, A. P. et al. Clinical and histologic response of subcutaneous expanded polytetrafluorethylene (Gore-Tex) and porous high-density polyethylene (Medpor) implants to acute and early infection. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 123, n. 3, p. 328-36, 1997.
72. SEVIN, K. et al. Exposure of high-density porous polyethylene (Medpor®) used for contour restoration and treatment. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 38, n. 1, p. 44-9, 2000.

73. SGAMBATO, S. et al. Effect of calcitonin on plasma glucose, C-peptide, glucagon and growth hormone responses to arginine in insulin-dependent diabetic subjects. **Acta Diabetol Lat**, v. 18, n. 3, p. 235-41, 1981.
74. SHANBHAG et al. Evaluation of porous polyethylene for external ear reconstruction. **Ann Plast Surg**, v.24, n. 1, p. 32-9, 1990.
75. SHYNG, Y. C.; DEVLIN, H.; SLOAN, P. The effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 30, n. 1, p. 70-4, 2001.
76. SOPARKAR, C. N. et al. Porous polyethylene implant fibrovascularization rate is affected by tissue wrapping, agarose coating, and insertion site. **Ophtal Plast Reconstr Surg**, v. 16, n. 5, p. 330-6, 2000.
77. SPANHEIMER, R. G.; UMPIERREZ, G. E.; STUMPF, V. Decreased collagen production in diabetic rats. **Diabetes**, v. 37, n. 4, p. 371-6, 1988.
78. SPECTOR, M.; FLEMMING, W. R., KREUTNER, A. Bone growth into porous high-density polyethylene, **J Biomed Mater Res**, v.10, n. 4, p. 595-603, 1976.
79. SPECTOR, M.; FLEMMING, W. R.; SAUER, B. W. Early tissue infiltrate in porous polyethylene implants into bone: a scanning electron microscope study. **J Biomed Mater Res**, v. 9, n. 5, p. 537-42, 1975.
80. THOMAS, D. W.; FREWIN, D. B.; JORLEY, P. T. Deterioration in diabetic control during calcitonin therapy. **Med J Aust**, v. 2, n. 13, p. 699-70, 1979. (comment)
81. TSUCHIDA, T. et al. Histomorphometric evaluation of the recovering effect of human parathyroid hormone (1-34) on bone structure and turnover in streptozotocin-induced diabetic rats. **Calcif Tissue Int**, v. 66, n. 3, p. 229-33, 2000.

82. TUUKKANEN, J.; JALOVAARA, P.; VÄÄNÄNEN, K. Calcitonin treatment of immobilization osteoporosis in rats. **Acta Physiol Scand**, v. 141, n. 1, p. 119-24, 1991.
83. VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 3 e. Rio de Janeiro: Ed. Campus, 1980. 196p.
84. WEISS, R. E.; GORN, A. H.; NIMNI, M. E. Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone proteoglycans in experimental diabetes. **Diabetes**, v. 30, n. 8, p. 670-7, 1981.
85. WELLISZ, T. Clinical experience with the Medpor porous polyethylene implant. **Aesth Plast Surg**, v. 17, n. 4, p. 339-44, 1993.
86. WELLISZ, T. et al. The effects of alloplastic implants on bone in the rabbit mandible. **Plast Reconstr Surg**, v. 96, n. 4, p. 957-63, 1995.
87. WILLIAMS, J. D. et al. Porous high-density polyethylene implants in auricular reconstruction. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 123, n. 6, p. 578-83, 1997.
88. WOODBURY, D. M. Paratireóides e Calcitonina. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Trad. L. Sollero (Coord.). 5 e. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. Cap. 72, p. 1363-71.
89. WRONSKI, T. J. et al. Skeletal effects of calcitonin in ovariectomized rats. **Endocrinology**, v. 129, n. 4, p. 2246-50, 1991.
90. YAMAGUCHI, M.; UTO, M.; MATSUI, R. Stimulatory effect of calcitonin on bone formation in tissue culture. **J Pharmacobio-Dyn**, v. 12, n. 1, p. 708-15, 1989.
91. YAMAMOTO, M. et al. Endogenous calcitonin attenuates parathyroid hormone-induced cancellous bone loss in the rat. **Endocrinology**, v. 136, n. 2, p. 788-95, 1995.
92. YAREMCHUK, M. J. Mandibular augmentation. **Plast Reconstr Surg**, v. 106, n. 3, p. 697-706, 2000.

93. YILDIRIM, G. et al. Tracheal reconstruction with porous high-density polyethylene tracheal prosthesis. **Ann Otol Rhinol Laryngol**, v. 109, n. 10, p. 981-7, 2000.
94. YOON, J. W.; REDDI, A. H. Decreased bone formation and mineralization in virus-induced diabetes mellitus. **Am J Physiol**, v. 246, n. 1, p. C177-9, 1984.
95. YOUNG, A. A. et al. Diabetogenic effects of salmon calcitonin are attributable to amylin-like activity. **Metabolism**, v. 44, n. 12, p. 1581-9, 1995.
96. ZIEGLER R.; DELLING, G. Effect of calcitonin on the regeneration of a circumscribed bone defect (bored hole in the rat tibia). **Acta Endocrinol**, v. 69, n. 3, p. 497-506, 1972.
97. ZMIJEWSKA, M., IMIELA, J.; CISZEK, M.- Calcitonin in treatment of diabetic foot syndrome. **Pol Tyg Lek**, v. 49, n. 1/3, p 23-5; 1994.
98. ZOFKOVÁ, I. Diabetogenic action of calcitonin in acute experiment in healthy humans. **Acta Univ Carol (Med)**, v. 32, n. 5-6, p. 319-25, 1986.

Anexo A-Cópia do Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP.



CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 018/2000-PA/CEP, sobre **“Avaliação da reparação óssea após implantação do polietileno poroso em defeitos cirúrgicos no osso parietal de ratos diabéticos tratados com calcitonina”**, sob a responsabilidade de **José Roberto Sá Lima**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 19 de setembro de 2000.

Prof. Dr. Paulo Villela Santos Júnior
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa-Local