



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



MILTON MANTOVANI JÚNIOR

***ANÁLISE HISTOLÓGICA DE DEFEITOS ÓSSEOS
PREENCHIDOS COM BIOMATERIAIS E
ASSOCIADOS A IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS.
ESTUDO EM CÃES.***

**ARARAQUARA
2006**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



MILTON MANTOVANI JÚNIOR

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DE DEFEITOS ÓSSEOS
PREENCHIDOS COM BIOMATERIAIS E ASSOCIADOS A
IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS. ESTUDO EM CÃES.**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DE ARARAQUARA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
- UNESP, PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PERIODONTIA.

Orientador: *Prof. Dra. Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli*
Co-orientador: *Prof. Dr. Valfrido Pereira Filho*

**ARARAQUARA
2006**

DADOS CURRICULARES

Milton Mantovani Júnior

NASCIMENTO 06 de Setembro de 1977, Londrina - Paraná

FILIAÇÃO Milton Mantovani
Íris de Fátima Verlengia Mantovani

1996-2000 Graduação em Odontologia
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

2000 - 2002 Especialização de implantodontia – APCD – Araraquara -
SP

Pós-graduação em Periodontia – Nível de Mestrado

2004-2006 Faculdade de Odontologia de Araraquara
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Agradecimentos Especiais

À **Deus**, que pelo dom da vida me deu a oportunidade de alcançar mais um objetivo, me dando coragem nos momentos difíceis, acompanhando e guiando meus passos.

...Aos meus pais **Milton e Iris**, que me deram condições para chegar até aqui, além de todo amor, compreensão e apoio durante toda a minha vida. Tenho muito orgulho de vocês!!!

... Aos meus segundos pais **Valdir e Ivani**, por todo carinho que e amor em todos os momentos, longe ou perto. Serei sempre grato!!!.

... Ao meu irmão **Rafael**, por toda amizade e carinho nos melhores e piores momentos de minha vida. Sempre estarei ao seu lado, obrigado!!!

... Ao meu avô **Osvaldo**, por ter me proporcionado uma infância maravilhosa, que eu jamais esquecerei. Você é muito importante para mim!!!

... A minha nova, porém eterna família **Álvaro, Thereza, Juliane e Álvaro Alexandre**, pelo carinho, respeito e amor com que me receberam. Vocês sempre foram muito especiais em minha vida, e fico muito feliz quando lembro que agora farão parte da minha história. Obrigado!!!

... Ao amigo **Rafael Sartori**, que desde o primeiro dia de pós graduação foi com quem dividi meus problemas, minhas conquistas, minhas

realizações. Você foi e sempre será muito importante em minha vida, conte sempre comigo meu irmão!!!

...A minha avó ***Carolina de Lima Verlengia***. Existem pessoas que passam por nossas vidas e que deixam muitas saudades. Estas pessoas mesmo distantes conseguem nos dar força para que possamos concluir nossa missão. Eu sou, e sempre serei muito grato por todos os momentos felizes que vivemos juntos, e esteja você onde estiver sei que estará sempre me protegendo. Saudades !!!

Agradecimentos

A professora **Dra. Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli**, pela confiança e oportunidade de aprendizado que teve desde o início. Agradeço a dedicação como orientadora, estando sempre disposta a me ajudar de maneira compreensiva e paciente. Espero não ter decepcionado suas expectativas e ser merecedor da sua confiança.

Ao **Prof. Dr. Valfrido Pereira filho**, que na qualidade de co-orientador contribuiu para meu crescimento científico. Obrigado pela amizade, convivência, atenção, paciência e ensinamentos.

Ao coordenador do Curso de Pós-Graduação - Área de Periodontia, Prof Dr. Carlos Rossa Junior, e a todos os docentes do Curso de Pós-Graduação, pela formação e exemplo.

À Prof^a. Dr^a. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio, pelo apoio, carinho e atenção.

...Aos meus grandes amigos, Rafael Sartori , Rafael Faeda, e Maurício, que sempre fizeram o papel da minha família em Araraquara, se fazendo presente em todos os bons e maus momentos. Vocês sempre vão estar presentes em minha vida.

Aos meus tutores Elcio Marcantonio e Elcio Marcantonio Junior e Rodolfo, que sempre torcem pelos meus sonhos e conquistas

que vocês mesmos acabam ajudando a se tornar real. Obrigado pelo carinho e confiança!!!Serei eternamente grato.

Ao meu eterno Prof. Dr. Joubert, Magalhães de Pádua que com muita paciência fez com que eu desse meus primeiros passos em cirurgia, e sempre me apoiou em toda minha carreira profissional e pessoal. Você além de um exemplo a ser seguido, sempre será um grande amigo!!! Obrigado.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de sua Diretora, Prof^a. Dr^a. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio, e Vice-Diretor, Prof. Dr. José Cláudio Martins Segala.

Aos amigos e Docentes da Disciplina de Periodontia, Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached, Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, Prof^a Dr^a Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. Carlos Rossa Junior, Prof^a Dr^a Silvana Regina Perez Orrico, pela formação e orientação.

Em especial, aos amigos Patrícia e Cacá, pela sincera amizade e apoio durante minha adaptação. Obrigado!!!

Aos amigos do departamento de Patologia José Antonio e Prof. Dr. Carlos Benatti Neto, pela atenção e profissionalismo.

A todos os funcionários da disciplina de Periodontia, D. Cidinha, Claudia, D. Maria do Rosário, D. Teresinha, Maria José, Marlei, Thelma, Sueli e Toninho, cujo trabalho, dedicação e compreensão possibilitou a realização desse trabalho.

À Regina Lúcia em especial, pela atenção, paciência e cooperação durante a realização do trabalho. Obrigado pelo carinho e pelo ombro amigo em todos os momentos.

Aos demais funcionários e colegas do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia

Aos amigos do curso de Pós-graduação em Periodontia, Dani Spirandeli, Dani Zandin, Débora, Denise, Gabi, Rafaela, Fábio, Maurício, Rafa Sartori. pela amizade sincera e inesquecíveis momentos de convivência.

Aos amigos Romeu e Fernando pela amizade sincera e inesquecíveis momentos de convivência.

A amigo Rubens, pela ajuda na elaboração do projeto. Você foi fundamental em todos os momentos deste trabalho. Muito obrigado!!!

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação pela paciência e admirável interesse em nos ajudar.

As meninas da biblioteca, Maria Helena, Cris, Cidinha, Marlei, Ceres, Adriano, Eliane, Inês.

Ao Dr. Sidival Dias, da Titanium Fix[®], pela simplicidade e atenção que nos atendeu.

À CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro concedido, indispensável para a realização deste trabalho.`

A todos aqueles que de uma forma ou de outra colaboraram para a execução deste trabalho.

Dedico este trabalho

... A minha noiva e futura esposa **Joseane**, pelos momentos de ausência em algumas datas e momentos tão especiais, em que não pude estar presente para te dar a atenção que eu queria e que você merecia, além de todas as vezes que após algum momento ruim, você com muito carinho, amor e amizade me deu forças para seguir em frente.

...Te amo muito, minha eterna companheira!!!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 QUITINA E QUITOZANA	23
2.2 BIOVIDRO	27
3 PROPOSIÇÃO	30
4 MATERIAL E MÉTODO	32
4.1 LOCAL DOS PROCEDIMENTOS.....	32
4.2 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICOS.....	32
4.3 EXODONTIAS	33
4.4 PREPARAÇÃO DOS DEFEITOS ÓSSEOS E INSTALAÇÃO DOS IMPLANTES OSSEINTEGRÁVEIS	34
4.5 OBTENÇÃO DAS BIÓPSIAS ÓSSEAS	39
4.6 OBTENÇÃO DA QUITOSANA EM PÓ PARA PREPARAÇÃO DO GEL	40
4.7 PREPARAÇÃO DO GEL DE QUITOSANA PURA	42
4.8 ILUSTRAÇÕES	43
5 RESULTADO	48
5.1 PERÍODO DE 15 DIAS	48
5.1.1 GRUPO I – TRATADO COM COÁGULO SANGUÍNEO	48
5.1.2 GRUPO II – TRATADO COM OSSO AUTÓGENO	48
5.1.3 GRUPO III – TRATADO COM BIOVIDRO	49
5.1.4 GRUPO IV – TRATADO COM QUITOSANA	49
5.2 PERÍODO DE 90 DIAS	49

5.2.1 GRUPO I – TRATADO COM COÁGULO SANGUÍNEO	49
5.2.2 GRUPO II – TRATADO COM OSSO AUTÓGENO	50
5.2.3 GRUPO III – TRATADO COM BIOVIDRO	50
5.2.4 GRUPO IV – TRTADO COM QUITOSANA	50
5.3 ILUSTRAÇÃO	51
6 DISCUSSÃO	60
7 CONCLUSÃO	73
8 REFERÊNCIAS	75
9 RESUMO	86
10 ABSTRACT	87

Introdução

1 Introdução

As estruturas periodontais são originadas e desenvolvidas em conjunto com o elemento dental, sendo assim, a perda do dente faz com que ocorra um processo de involução destas estruturas, devido a uma remodelação progressiva no processo alveolar, e remanescente ósseo que é acompanhada pelos tecidos moles (PINTO et al., 2004).

Os diferentes defeitos da estrutura óssea têm sido um desafio diante da necessidade da fixação de implantes. A presença de defeitos ósseos, independente de sua natureza, limita as opções de posicionamento dos implantes, fazendo com que, freqüentemente, possamos nos deparar com situações nas quais as fenestrações parciais ou totais da parede vestibular possam acarretar exposições de roscas destes implantes.

Desde a década de sessenta até hoje a implantodontia teve uma grande evolução, visto que no início era contra-indicada a colocação de implantes em áreas que não possuíssem largura e altura adequada. Sendo assim, regiões com rebordos finos, áreas próximas ao seio maxilar e estruturas neurais da cavidade bucal eram desconsideradas para terapia com implantes (Adell et al., 1981). Diante destes problemas, a comunidade científica tem buscado respostas em pesquisas relevantes, no sentido de conseguir induzir adequada formação tecidual em áreas ósseas que devam ser reconstituídas.

Uma das possibilidades para correção de determinados defeitos são os materiais substitutos ósseos. Estes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação: osteogênicos (capacidade do

enxerto de levar consigo células viáveis), osteoindutores liberam proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) como produto do mecanismo de fagocitose dos osteoclastos, que induzem células mesenquimais indiferenciadas a se diferenciarem em osteoblastos e condroblastos iniciando o processo de remodelação óssea e osteocondutores servem de arcabouço para a neoformação óssea, permitindo a migração celular, para o interior do defeito, e a proliferação de vasos sanguíneos, formando uma nova matriz óssea (PERRI e OKAMOTO, 1987).

O osso autógeno é considerado o melhor material para enxerto devido à sua capacidade osteogênica, advinda de células viáveis e por não apresentar riscos de reações imunológicas. Entretanto, nem sempre a sua utilização é possível, pois freqüentemente, requer um segundo sítio cirúrgico para sua obtenção, o que aumenta a morbidade e o desconforto para o paciente (Becker et al., 1998).

A utilização de diversos materiais, sintéticos ou naturais, para reparar ou substituir órgãos ou partes dos sistemas do corpo humano tem crescido muito nos últimos anos, graças ao desenvolvimento de novas tecnologias e materiais e uma melhor compreensão dos mecanismos de interação desses implantes com os tecidos biológicos. Os biomateriais são definidos como aqueles materiais não vivos utilizados na área médica ou biomédica, objetivando a interação com o sistema biológico (WILLIAMS, 1987). Muitos deles são uma alternativa efetiva para a substituição dos tecidos ósseos, pois não possuem riscos de transmissão de doenças ou rejeição imunológica além de apresentarem suprimento ilimitado (HALL. et al., 1999).

A utilização de biomateriais sintéticos ou naturais como substitutos do tecido ósseo em contato com roscas de implantes expostas, assim como para preenchimento de defeitos ósseos, tem demonstrado, histologicamente, resultados satisfatórios (CANCIAN et al., 2004; BLOCK e KENT, 1997).

Mais recentemente, muitos pesquisadores demonstraram interesse na pesquisa de novos materiais que possam substituir osso perdido e permitir função semelhante. Entre estes destacamos especialmente os biopolímeros naturais, em particular a quitosana (PARK et al., 2003).

A quitosana é um polissacarídeo proveniente, principalmente, de carapaças de crustáceos sendo também encontrada em insetos, moluscos e na parede celular de fungos. É um biopolímero hidrofílico com propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, devido a estas características tem sido empregado na área agrícola, industrial, alimentícia e mais recentemente na área médica e odontológica.

Já o biovidro, ou vidro bioativo, é um material composto de sais de Cálcio e de Sódio, fosfato e dióxido de sílica. Em sua forma sólida tem sido usado em ortopedia, otorrinolaringologia e em odontologia após exodontias e para manutenção de rebordo alveolar (DUCHEYNE, 1987; FROUN et al., 1998). A forma particular do vidro bioativo está disponível para uso odontológico e está indicada para tratamento de defeitos intra-ósseos decorrentes da doença periodontal bem como de defeitos resultantes de exodontias ou necessidade de aumento do rebordo alveolar. Suas partículas variam de 90 a 210 micrômetros, sendo seus grânulos irregulares. Quando em contato com fluidos tissulares, o vidro

bioativo desencadeia uma série de reações químicas, resultando na formação de Hidroxicarbonatoapatita (HCA) na superfície das partículas. Proteínas orgânicas como Sulfato de Condroitina e Glicosaminoglicanas incorporam-se à câmaras de Hidroxicarbonatoapatita (HCA), e os osteoblastos e constituintes orgânicos são atraídos por tais câmaras, levando à mineralização do tecido ósseo. A velocidade de crescimento ósseo ao redor do material tem se mostrado rápida, com osso neoformado denso (ANDEREG et al., 1999; WILSON et al., 1981).

Tendo em vista a possibilidade de utilização de biomateriais para correção de defeitos ósseos, achamos oportuno avaliar o desempenho da quitosana e do biovidro para o preenchimento de defeitos ósseos associados à instalação de implantes osseointegrados.

Revisão da literatura

2 Revisão da literatura

O bom desempenho de um biomaterial está associado a um equilíbrio entre a biocompatibilidade, definida como a habilidade que um material tem de induzir no hospedeiro uma resposta adequada a uma aplicação específica (WILLIAMS, 1987), e a capacidade deste material desempenhar a função para a qual foi projetado com a máxima eficiência, isto é, ser biofuncional (PARK e ROBINSON, 1984; WILLIAMS, 1987). Além disso, um biomaterial deve apresentar propriedades mecânicas adequadas, não deve ser tóxico nem carcinogênico, relativamente barato, reprodutível, apresentar densidade, peso e forma adequados de acordo com sua aplicação. (DOILLON et al., 1998; KATO et al 1989).

Com relação à origem, os biomateriais são classificados em sintéticos e naturais. No caso dos materiais sintéticos são utilizados materiais como polímeros, metais, cerâmicas, e mais recentemente materiais compostos. Os de origem natural ainda podem ser classificados como autógenos, quando o tecido utilizado é proveniente do próprio indivíduo; alógenos ou homógenos, quando o doador é da mesma espécie que o receptor; heterógenos ou xenógenos, quando o material utilizado é originário de uma espécie diferente (bovino, crustáceos, etc.) (RAWLINGS, 1993).

Para substituição de tecidos ou órgãos deve-se levar em consideração a natureza da função a ser substituída. A princípio, o melhor material a ser utilizado é o osso autógeno (TRIPLETT e SCHOW, 1996), mas a limitação e disponibilidade em quantidade, muitas vezes, limita seu uso.

Do ponto de vista de resolução de defeitos ósseos provocados ou patológicos, pode seguir, normalmente, dois cursos: poderá haver uma regeneração, quando há a reposição das células e elementos teciduais originais; ou poderá haver uma reparação, com substituição do tecido lesado por outro tecido de preenchimento ou suporte. Tecidos conjuntivos altamente especializados, como ligamentos e tendões, nunca alcançarão o nível original de organização e se restabelecerão como uma cicatriz de força mecânica reduzida. O osso é um dos tecidos que tem um potencial único para restaurar sua estrutura original, dentro de certas limitações, sendo que a reconstrução ao nível original de organização ocorre seqüencialmente e repete exatamente o padrão de desenvolvimento e crescimento ósseo (SCHENK, 1996).

Sendo assim, há um consenso de que o enxerto autógeno é o “padrão ouro” dentre os materiais de enxertos devido às propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas (TRIPLETT e SCHOW, 1996).

Os enxertos autógenos têm sido utilizados com índice de sucesso considerável, sendo que enxertos cortico-medulares apresentam alto potencial osteoindutor. Este tipo de material pode apresentar propriedades osteoindutoras pela presença da BMP (BOYNE et al., 1997). Tais propriedades conferem ao enxerto ósseo autógeno papel fundamental na formação de osso adequado para receber implantes (BOYNE e JAMES, 1980; SMILER et al., 1992; SMILER, 1993; WHEELER et al., 1996).

Embora o osso autógeno tenha uma grande aplicação em procedimentos de regeneração óssea na odontologia, sua utilização

requer uma área doadora intra ou extrabucal, tornando estes procedimentos cirúrgicos mais invasivos e aumentando a morbidade e o desconforto para o paciente (SCHIMITT, et al, 1997).

As vantagens da utilização dos sítios doadores intrabucalis em relação aos extrabucalis incluem a possibilidade das cirurgias para obtenção desses enxertos podem ser realizadas em nível ambulatorial, sob anestesia local e, condições estas que reduzem sobremaneira os custos do procedimento (RAGHOEBAR et al, 1996). Além disso, observa-se menor morbidade relacionada ao procedimento e ausência de cicatrizes cutâneas (GUNGORMUS et al., 2002).

O padrão de reparação do enxerto de acordo com sua origem embrionária já foi amplamente pesquisado, alguns autores descreveram maior manutenção de volume de enxertos de origem intramembranosa (OZAKI e BUCHMAN, 1998), outros atribuíram as possíveis diferenças entre ambos à sua constituição arquitetural (CHEN et al., 1994).

Por outro lado, na ausência de um material para enxertia, ou seja, em uma região onde há apenas o coágulo sangüíneo pós-cirúrgico, o processo de reparação pode ser, histologicamente, dividido em três fases: A primeira fase tem características exudativas, marcada pelo adequado desenvolvimento de uma rede de fibrina. A segunda fase é considerada proliferativa, com destaque a rede de capilares e fibroblastos. Na terceira fase observamos uma característica reparativa, com organização e ossificação do coágulo sangüíneo (PERRI de CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

Durante a primeira fase, é a rede de fibrina formada que permite a progressiva infiltração e adesão de células como fibroblastos, células

endoteliais e macrófagos. Células estas responsáveis diretas pela substituição do coágulo. São as fibras de colágeno produzidas por esses fibroblastos, agregadas à matriz óssea secretada por osteoblastos que também migram ou se formam na região que farão com que ocorra a ossificação (PERRI de CARVALHO e OKAMOTO, 1987). Em qualquer lesão óssea ocorrerá ativação do processo de regeneração óssea local ocasionada pela liberação de fatores de crescimento e fatores indutores. O osso é, de fato, uma das fontes mais ricas de fatores de crescimento, e, quando lesado, libera esses fatores para o coágulo sangüíneo.

A formação óssea no interior de orifícios feitos em tíbias de coelhos inicia-se em dois dias, sendo que orifícios pequenos (do tamanho de osteônios) são concentricamente preenchidos por osso de organização lamelar proveniente diretamente do coágulo, enquanto que, em orifícios maiores (até 1mm) uma estrutura de osso embrionário é formada e depois o osso lamelar é depositado nos espaços intertrabeculares neoformados, processo este que ocorre após quatro semanas. Apesar disso, ambos os tipos de defeitos serão completamente preenchidos por osso cortical (JOHNER, 1972).

Há, entretanto uma dimensão limite para reparação óssea a partir do coágulo: em orifícios criados em coelhos, esse limite é de 1mm (SCHENK e WILLENEGER, 1977), e em cães o resultado é o mesmo (HARRIS et al., 1983).

Muito embora existam controvérsias quanto à origem dos fibroblastos que invadem o coágulo, parece provável que estas células tenham origem dos fibroblastos originados da diferenciação das células mesenquimais perivasculares (SANCHES, et al., 1972).

Visto que muitos fenômenos biológicos ocorrem na presença do coágulo sanguíneo permitindo a formação óssea, é de se esperar que a remoção do coágulo sanguíneo em alvéolos provenientes de extração dentária resulte em grande atraso na reparação e formação óssea (OKAMOTO e RUSSO, 1973).

I – Quitina e Quitosana

O termo quitina é derivado da palavra grega *Khitón*, que significa carapaça, casca ou caixa de revestimento. A quitina é um polissacarídeo abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose em quantidade produzida anualmente (SENEL e MCCLURE, 2004).

Este material é proveniente principalmente de carapaças de crustáceos, sendo também encontrada em insetos, moluscos e na parede celular de fungos. No entanto, toda a quitina comercialmente produzida é obtida dos resíduos das indústrias de processamento de crustáceos enquanto alimento. A quitosana é um polissacarídeo originado a partir da reação de desatilação parcial de quitina, geralmente por tratamento alcalino, podendo ocorrer também naturalmente em alguns fungos (CHEN, et al., 2005).

Características como biocompatibilidade e a biodegradabilidade são suas propriedades fundamentais. Devido a estas características biológicas, foram encontradas diversas aplicações para este biomaterial, dentre elas: Na agricultura, na indústria de alimentos e recentemente, na área médica (SENEL et al., 2000; SINGLA e CHAWLA, 2001), aonde vem sendo empregada como bioadesivo, osseindutor (LEE et al., 2000, 2002),

além de excipiente para indústria farmacêutica (FELT et al., 1998), agente cicatrizador, agente antimicrobiano, material de bandagem, molde para enxerto de pele e agente hemostático (SENEL e MCCLURE, 2004). Além disso, apresenta outras características interessantes como, por exemplo: não toxicidade, podendo ainda ser utilizada de acordo com sua apresentação na forma de filmes, gel ou solução (PARK et al., 2000a, b), na dependência de sua concentração.

Este material foi apresentado na forma de gel em diferentes granulações do pó da quitosana. Gerentes et al, em 2002, avaliaram a possibilidade de utilização deste gel em sites cirúrgicos ou em terapia periodontal não cirúrgica. Nos casos de sítios fechados, bolsas periodontais, defeitos infra-ósseos, o gel pode ser levado com uma seringa sem a necessidade de anestesia e pode ser adicionada solução hidroalcoólica para diminuir sua viscosidade. Já, para preenchimento de defeitos ósseos, essa fluidez deve ser ajustada para que haja um completo preenchimento da cavidade e, portanto, não deve ter um alto grau de escoamento. Os autores também descrevem que a apresentação do gel pode variar de acordo com a relação entre o polímero e o solvente, obtendo-se assim as diferentes consistências que sejam desejadas.

Os polímeros de quitosana vêm sendo testados com sucesso no tratamento de defeitos periodontais (MUZZARELLI et al., 1994; PARK et al., 2003) mostrando-se não promover de fato nenhuma reação alérgica ou inflamatória após sua implantação, injeção, aplicação tópica ou ingestão (CHATELET et al., 2001).

Park et al, em 2003, realizaram um estudo histológico em cães Beagle, para analisar o efeito da quitosana na regeneração de defeitos

intra-ósseos (4 x 4mm), cirurgicamente criados. Os três grupos testados foram: grupo controle cirúrgico, no qual foi realizado apenas o retalho, grupo controle tampão, no qual a solução tampão fosfatada foi adicionada a uma esponja de colágeno, e o último grupo foi tratado com quitosana também em esponja de colágeno. O grupo que melhor manteve a migração apical de um epitélio juncional longo, e que teve maior regeneração de cemento e ainda maior quantidade de regeneração óssea alveolar foi o grupo quitosana. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos quando se avaliou a extensão da adesão dos tecidos do ligamento.

Em geral, os polímeros e os seus componentes são especialmente sensíveis às técnicas de esterilização e manuseio. Quando designados para uso com implantes osseointegráveis, não podem ser esterilizados a vapor ou mesmo com óxido de etileno. Portanto, nos procedimentos que necessitam de materiais estéreis, a utilização da quitosana pode ser um problema, pois este biopolímero, quando exposto a temperaturas superiores à 120°C, sofre alterações em sua solubilidade, aparência e estrutura física. Quando exposto à radiação gama, sofre fissuras e um decréscimo de viscosidade dose-dependente (LIM et al., 1998), o que abre ainda mais campo para pesquisas sobre as propriedades biomecânicas desse tipo de biopolímero.

A quitosana quando analisada em suas propriedades físico-químicas e biológicas, também tem mostrado biocompatibilidade e biodegradabilidade (ILLUM, 1998; SENEL, et al., 2000). Este biomaterial é capaz de aumentar as funções de células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização

celular. Sendo assim, pode contribuir benéficamente para o reparo tecidual (UENO et al., 2001a).

A quitosana é tida como acelerador da reparação tecidual, capaz de aumentar a produção de matriz extracelular através do aumento de produção de fatores de crescimento (UENO et al., 2001b). Também, acelera a infiltração de linfócitos polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização tecidual, aumentando, consideravelmente, a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ferida em cicatrização.

Foi sugerido o compósito de quitina fosfato como substituto ósseo. Pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de avaliar materiais que possam ser utilizados como substitutos ósseos, um exemplo é a combinação de polímeros com minerais que ofereçam a resistência da dureza dos minerais e a flexibilidade dos polímeros. Muitos compósitos poliméricos reforçados com cálcio e hidroxiapatita como material de preenchimento foram preparados para serem usados substituindo tecidos duros. Como vantagem, estes compósitos teriam o potencial osteogênico de, por exemplo, uma hidroxiapatita bioativa associado às propriedades da matriz polimérica que atua como ligante impedindo migrações das partículas do material mineral, inclusive, diminuindo a reação inflamatória que estes materiais, de formas isoladas, possam apresentar (MUZZARELLI e MUZZARELLI, 2002).

Além das propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, este polímero pode atuar como material substituto ósseo que ao longo do tempo vai sendo substituído por osso natural. Polímeros de quitina são constituídos por arranjos paralelos de pontes de

hidrogênio que conferem melhores propriedades mecânicas, com alta resistência a cargas, bem como estabilidade ao enxerto, características extremamente importantes especialmente nos estágios iniciais de formação óssea (MUZZARELLI e MUZZARELLI, 2002).

II – Biovidro

As formas de biovidro disponíveis no mercado e sobre as quais encontra-se maior quantidade de artigos científicos são o Biogran (SiO_2 ;NaO/ P_2O_5 +CaO) e Perioglass. Estes materiais são descritos na literatura como material sintético reabsorvível utilizado para enxerto ósseo, constituído de grânulos de vidro bioativo com diâmetro variando entre 300-355 μm (SCHEPERS et al., 1993) ou 90 a 710 μm , que se transformam em câmaras de Fosfato de Cálcio onde irá ocorrer a formação óssea(WHEELER et al., 1998).

A biocompatibilidade dos vidros bioativos já foi demonstrada pelas características dos tecidos dentro e ao redor dos grânulos do material incorporado ao tecido ósseo, descritos em trabalhos onde os resultados foram também avaliados histologicamente (CANCIAN et al., 1999, FETNER et al., 1994; FURUSAWA e MIZUNUNA, 1997, SCHEPERS et al., 1991, 1993; 1988).

Sendo assim, pode-se dizer que os vidros bioativos apresentam propriedades osteocondutoras, ou seja, servem como arcabouço para as células formadoras de tecido ósseo. Essa característica foi observada por SCHEPERS et al., em 1991, que demonstrou propriedades osteocondutoras e efeito osteoestimulador em defeitos ósseos cirurgicamente criados em Beagles, em períodos longos (6 a 12 meses).

Esses resultados levaram os autores a utilizar vidro bioativo em pacientes, em vários tipos de defeitos como, por exemplo: defeitos ósseos resultantes de ressecção apical, remoção de cistos, exodontias e defeitos de rebordo alveolar devido à cirurgia ou reabsorção; concluindo que o mesmo foi efetivo no tratamento desses defeitos ósseos.

Trabalhos científicos demonstraram que esse material também está bem indicado em cirurgias orais menores, para o preenchimento de rebordo pós-exodontia (YILMAZ et al., 1998), bem como em cirurgia de levantamento de seio maxilar para futura instalação de implantes osseointegráveis (SCHEPERS et al., 1993; FURUZAWA e MIZUNUNA, 1997). Quanto à sua utilização para tratamento de defeitos ósseos ao redor de implantes, a literatura ainda é escassa para afirmar que este material estaria bem indicado ou se materiais como o osso autógeno seria uma melhor opção (HALL et al., 1999).

Proposição

3 Proposição

O presente estudo tem como objetivo analisar, histologicamente o emprego da quitosana, biovidro e osso autógeno no reparo de defeitos ósseos criados em mandíbulas de cães e associados a implantes osseointegráveis.

Material e método

4 Material e Método

4.1 Local dos procedimentos

No presente estudo foram utilizados oito cães, três machos e cinco fêmeas, sem raça definida, adultos jovens com idade média de 2,5 anos variando de 2 a 3 anos, e com peso médio de 21 Kg variando de 17 a 32 kg. Os animais foram avaliados clinicamente pelo Serviço de Ortopedia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal. Estes animais foram então submetidos à vacinação, vermifugação, além de exames laboratoriais de hematologia rotineira, creatinina e alanina aminotransferase (ALT), previamente aos procedimentos cirúrgicos relacionados à pesquisa. Os cães foram mantidos em canis individuais e receberam ração comercial adequada à espécie e água *ad libitum*.

4.2 Procedimentos anestésicos

No dia anterior ao procedimento cirúrgico foi iniciada administração de uma mistura (Stomogil 10® - c LTDA) de espiramicina (75.000 UI/Kg) e Metronidazol (12,5 mg/Kg), por via oral, e mantida por 5 dias no pós-operatório a cada intervalo de 24 horas. Após jejum hídrico e alimentar de doze horas, os animais foram pesados e em seguida submetidos à anestesia geral, um a um, para os procedimentos de exodontia, implantes e biópsias, divididos em três fases cirúrgicas, que

serão descritas adiante. Para tanto, receberam cloridrato de levomepromazina (Neozine®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP) na dose de 1,0 mg/Kg, administrado por via intravenosa, juntamente ao caprofenol (Ketofen® Merial Saúde Animal, LTDA São Paulo) na dose de 1,0 mg/Kg, por via subcutânea. A seguir, cada animal foi induzido à anestesia geral pela administração intravenosa de propofol (Propofol® Cristália Produtos Químicos e farmacêuticos Ltda, Itapira, SP), em doses variando entre 5,0 a 8,0 mg/Kg para a intubação orotraqueal.

A anestesia geral foi mantida pela combinação de anestésico volátil halotano (Halotano® Cristália produtos químicos e farmacêuticos Ltda, Itapira, SP) diluído em oxigênio permitindo fluxo de 30mg/Kg/min, em sistema semi-fechado. No curso dos procedimentos, foram monitorados os parâmetros combinados de saturação parcial de oxigênio (SpO₂), dióxido de carbono (CO₂), eletrocardiograma (ECG), Frequência respiratória (FR), pressão arterial não invasiva (PA) e temperatura (T).

4.3 Exodontias

Antes das exodontias serem realizadas, foram realizados procedimentos de raspagem supragengival em todos os dentes com utilização de Profident (Gnatus, Ribeirão Preto, SP), e em seguida foi realizada a anti-sepsia com solução de gluconato de clorexidina a 0,12%, seguida de irrigação com solução salina de cloreto de sódio a 10% para iniciar o procedimento cirúrgico de exodontia dos terceiros e quartos pré-molares inferiores dos lados direito e esquerdo.

Por meio de um descolador tipo Molt (Schobell Ind. e Com. LTDA, Rio Claro, São Paulo, SP) foi realizada a sindesmotomia. Para evitar fratura das raízes, os dentes foram seccionados, em seu longo eixo, com fresa FG-702SL (SSWhite São Paulo, SP) (Figura 1). Com a utilização de motor de alta rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP) sob irrigação abundante com solução salina de cloreto de sódio a 0,9%. Após a odontosecção, com o uso de fórceps, os elementos citados foram removidos (Figura 2). Os alvéolos foram curetados e irrigados com solução salina de cloreto de sódio a 0,9%, após estes procedimentos, os alvéolos foram suturados com fio Vicryl 4.0 (Ethicon, Jonhson & Jonhson, São Paulo, SP). Após o término da cirurgia, foi ministrado, para cada animal, os seguintes medicamentos: Cetoprofeno 50 mg (Rhodia farma, Ltda. São Paulo, SP), Cloridrato de Ranitidina (Farmasa, Laboratório Americano de Farmacoterapia S/A, São Paulo, SP), e Stomogyl 10 mg (Rhodia farma, Ltda. São Paulo, SP).

4.4 Preparação dos defeitos ósseos e instalação de implantes osseointegráveis

Após doze semanas, tempo necessário para reparação alveolar (PERRI de CARVALHO e OKAMOTO, 1987), os animais foram novamente anestesiados por meio de intubação orotraqueal, usando-se as medicações já citadas.

Após a anestesia geral, o animal foi posicionado em decúbito lateral para iniciar o procedimento cirúrgico.

Foi então realizada anestesia local com o intuito de promover vasoconstrição no local da cirurgia, usando-se Mepivacaína 2% (DFL, São Paulo, SP), através de infiltração submucosa.

Com lâmina de bisturi número 15 (BD, Hualan-China), montada em cabo de bisturi, foi realizada incisão muco-periosteal em fundo de sulco vestibular (área dos dentes extraídos) de aproximadamente dois centímetros no sentido antero-posterior e duas incisões verticais a partir da incisão horizontal até o rebordo alveolar (Figura 3). Assim, com o descolador tipo Molt, o retalho foi descolado e afastado para expor o rebordo alveolar (Figura 4).

Na seqüência, foram confeccionadas duas perfurações para instalação de implantes osseointegráveis, tomando o cuidado de posicionamento dessas perfurações no sentido méso distal de tal forma que, no momento de se realizar a biópsia, fossem respeitados pelo menos 2,0 mm de osso de cada lado dos implantes, descontando a área de osteotomia (Figuras 5,6 e 7). Para tanto, foram utilizadas as brocas para implantes Lança, Helicoidal 2,0mm, broca Piloto e Helicoidal 2,8mm de diametro (Titanium Fix, São José dos Campos, SP), com velocidade de 1500 rotações por minuto (RPM) e sob irrigação com cloreto de sódio a 0,9%, até a profundidade de 11,0 mm. Concluídas as perfurações, uma broca do tipo Trefina de 4,0 mm de diâmetro foi usada para promover defeitos críticos verticais com comprometimento de 4.0 mm de largura e 5,0 mm de profundidade na parede óssea vestibular, as quais tiveram após suas confecções, as dimensões verificadas com o auxílio de uma sonda periodontal tipo Williams (Neumar, São Paulo, SP).

A confecção desses defeitos teve por objetivo induzir, de forma padronizada, a exposição de roscas nas regiões das paredes ósseas citadas no ato da instalação dos implantes osseointegráveis(Figura 8).

Feito isso, implantes de 10,0 mm de altura e 3,75mm de diâmetro, lisos com superfície tratada (Titanium Fix, São José dos Campos, SP) foram inseridos em posição. Com a confecção do defeito ósseo, cerca de quatro roscas permaneceram expostas em seu aspecto coronal, além da plataforma.

Cada animal recebeu um total de quatro implantes, sendo distribuídos aleatoriamente, para os lados direito e esquerdo da mandíbula, na região de pré-molares, já citada anteriormente, conferindo um total de 32 implantes, permitindo 4 repetições para cada grupo, conforme Tabela 1. O espaço de separação respeitado entre dente e implante e entre os implantes foi de 8mm em todos os casos.

Após a confecção dos defeitos ósseos cirúrgicos e da instalação dos implantes (Figura 9), os defeitos foram preenchidos com os materiais propostos para a avaliação neste estudo, tendo como controle negativo o coágulo sanguíneo (Figura 10), e como controle positivo o osso autógeno, coletado da própria confecção dos implantes e da trituração das paredes ósseas trefinadas na confecção dos defeitos ósseos, dividindo os sítios contendo os implantes em grupos distribuídos em dois períodos, assim descritos conforme Quadro 1.

-Grupo I (controle negativo): O defeito ósseo foi mantido apenas com coágulo sanguíneo e membrana.

-Grupo II (controle positivo): O defeito ósseo foi preenchido com osso autógeno.

-Grupo III: O defeito ósseo foi preenchido com biovidro (PerioGlass, Nova Bone Products, Florida, USA)

-Grupo IV: O defeito ósseo foi preenchido com quitosana (Instituto de Física, USP, São Carlos-Grupo de Polímeros)

Preenchidos os defeitos ósseos com os materiais já citados, esses foram recobertos com membrana óssea reabsorvível (Baumer S.A – Divisão Biomateriais – Mogi Mirim – SP.) (Figuras 11 e 12), e em seguida o retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado com fio Vycril 4.0. As medicações pós-operatórias usadas foram as mesmas descritas anteriormente, no procedimento de exodontia.

As biópsias ósseas foram realizadas em dois períodos, cada um composto por quatro animais, sendo que, para o primeiro período, a biópsia dos blocos ósseos contendo os implantes foi realizada transcorridos 15 dias da cirurgia e, para o segundo período, 90 dias.

Quadro 1- Distribuição dos animais de acordo com os grupos experimentais e períodos de retirada da biópsia

Cão	Sítios cirúrgicos e materiais de preenchimento				Período das Biópsias
	I	II	III	IV	
1	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	15 dias
2	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	15 dias
3	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	15 dias
4	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	15 dias
5	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	90 dias
6	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	90 dias
7	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	90 dias
8	Coágulo + M	OA+M	BV+M	QTS+M	90 dias

Grupo I - Coágulo = Coágulo + Membrana - Grupo I

Grupo II -OA+M = Osso autógeno + membrana - Grupo II

Grupo III - BV + M Biovidro + Membrana - Grupo III

Grupo IV - QTS + M = Quitosana + Membrana - Grupo IV

4.5 Obtenção das biópsias ósseas

Após os períodos de 15 e 90 dias, foram obtidas as biópsias ósseas. O processo de anestesia geral, anti-sepsia e de abertura dos retalhos foi feito de acordo com os procedimentos descritos anteriormente. As biópsias foram realizadas por meio do uso de peça reta e discos diamantados, em baixa rotação, para realização das osteotomias, sob irrigação constante com solução salina de cloreto de sódio a 0,9%, para remoção de blocos ósseos (osso e implante). As osteotomias foram realizadas respeitando 2.0 mm de distância ao redor das margens de cada implante, com profundidade de todo o comprimento do implante, e envolvendo a margem vestibular até a lingual facilitando a remoção do bloco ósseo com o implante (Figura 13). As áreas de biópsia foram suturadas com Vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São Paulo) e os animais receberam medicações referentes à dor e antibióticoterapia da mesma forma que para as outras intervenções cirúrgicas.

Após a remoção dos blocos (osso e implante) da região, as peças foram fixadas em solução de formol tamponado 10%, para o seu transporte para o laboratório, onde em média após 12 horas, foram então lavadas em água corrente durante 24 horas e descalcificadas em uma solução de ácido nítrico a 5%, durante 6 dias, para seguirem o processo laboratorial de rotina e coloração padrão de Hematoxilina / Eosina para avaliação. Em algumas peças foi necessária a realização de coloração de Tricrômico de Masson a fim de evidenciar a linha de reversão óssea. Posteriormente, foi realizada a análise histológica.

4.6 Obtenção da Quitosana em pó para preparação do gel

O processo de obtenção da quitosana consiste na desacetilação parcial da quitina, que é inerte e insolúvel, a qual é extraída da carapaça de crustáceos provinda dos restos do processo industrial dos mesmos. Durante a desacetilação, os grupamentos acetamido (NHCOCH_3) da quitina são transformados, em graus variados, em grupo amina ($-\text{NH}_2$), dando origem a quitosana (Quadro 2). Assim, a quitosana é o nome atribuído genericamente ao polímero onde o número de unidades monoméricas contendo o grupamento NH_2 é suficiente para tornar o polímero solúvel em ácidos fracos, é relativa, podendo ser caracterizada como um polieletrólito catiônico, sendo geralmente purificada na forma neutra.

A primeira etapa do processo consiste na redução de tamanho do material e posterior tratamento para remoção de proteínas, realizado com hidróxido de sódio ou mesmo pela digestão do material com enzimas proteolíticas (papaína, pepsina, tripsina). Em seguida, é feita a desmineralização do material com ácido clorídrico para extração do carbonato de cálcio e do fosfato de cálcio presentes em quantidades significativas nos resíduos marinhos (30-50%). O material também pode passar por uma extração com permanganato de potássio 0,02% a 60°C visando remover pigmentos como melaninas e carotenóides. Ao final desse processo obtém-se a quitina. Nesta etapa, a quitina é tratada com hidróxido de sódio concentrado (50%), a altas temperaturas (100°C) por um período que varia de 2 a 5 horas para que ocorra a reação de

desacetilação, dando origem a quitosana. Em alguns casos, a reação de desacetilação é realizada na presença de tiofenol ou borohidreto de sódio ou sob atmosfera de nitrogênio para prevenir a degradação da cadeia do polímero durante a reação sob fortes condições alcalinas.

Quadro 2- Fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitosana

Exoesqueleto de camarão

|

Redução de tamanho

|

Desproteínização

|

Desmineralização

|

Quitina

|

Desacetilização

|

Quitosana

4.7 Preparo do gel de quitosana pura

A preparação do gel de quitosana puro foi realizada sempre imediatamente antes de sua utilização.

Uma correta seqüência na adição dos componentes necessários para a preparação do gel foi sempre respeitada. Seguimos a seqüência: ácido ascórbico, água destilada e por último adicionamos a quitosana purificada em pó. Desta forma,

conseguimos uma boa agregação e fácil manipulação desta mistura, conseqüentemente a obtenção de um gel consistente.

4.8 Ilustrações

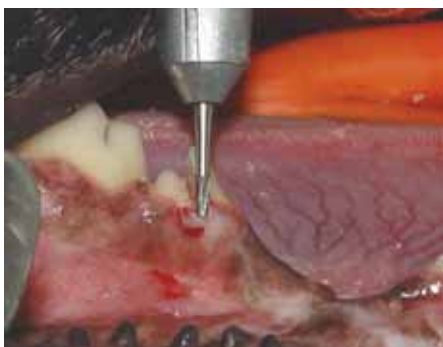


FIGURA 1- Odontosecção no longo eixo do dente para exodontia.



FIGURA 2- Exodontia dos dentes seccionados.



FIGURA 3-Incisão em fundo de sulco e incisões verticais.



FIGURA 4-Descolamento do retalho muco periosteio e exposição do rebordo ósseo.

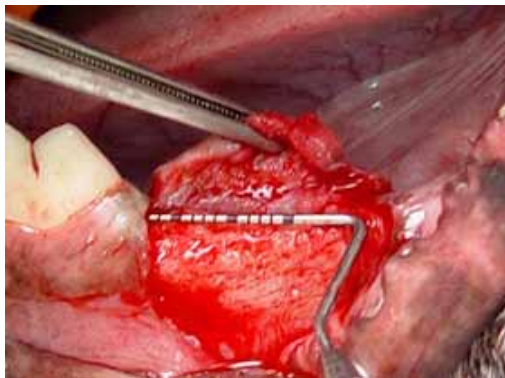


FIGURA 5- Medida entre dente e primeira perfuração.

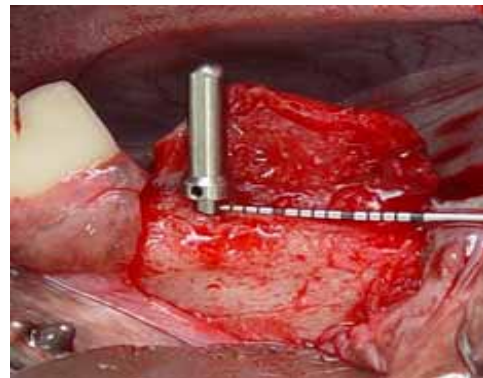


FIGURA 6- Medida entre primeira e segunda perfuração.

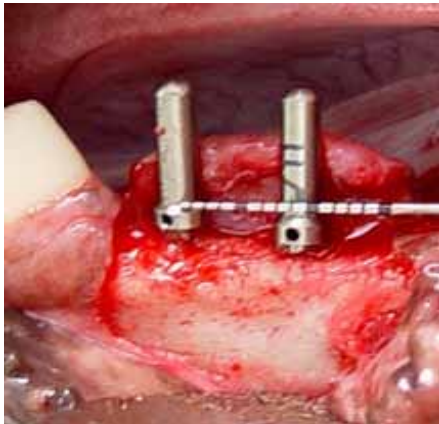


FIGURA 7- Perfurações marcadas e padronizadas.



FIGURA 8-: Confecção dos defeitos vestibulares por meio da utilização de trefina de 4,0 mm de diâmetro.

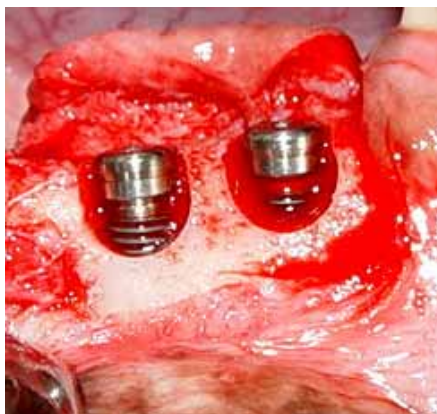


FIGURA 9- Implantes instalados nos alvéolos preparados, com exposição de roscas.

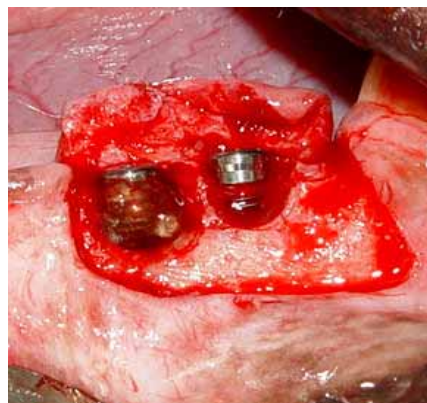


FIGURA 10- Aspecto do defeito preenchido com quitosana (esq.) e defeito mantido com coágulo (dir.).

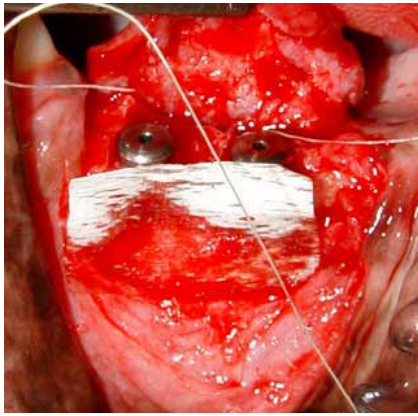


FIGURA 11- Adaptação da membrana óssea reabsorvível.

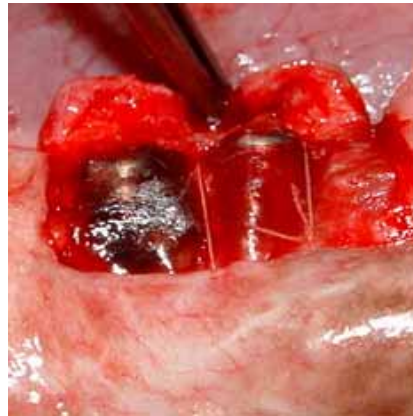


FIGURA 12- Sutura de fixação da membrana.



FIGURA 13- Biópsia óssea de 15 dias, envolvendo implante e osso.

5 Resultado

Pela análise histológica, sob a luz de microscopia óptica, dos cortes transversais seriados de 0,5 mm dos defeitos ósseos criados cirurgicamente, que revelaram os seguintes achados:

5.1 Período de 15 dias.

5.1.1 Grupo I - Tratado com coágulo sanguíneo:

Aos 15 dias, foi observada, em área correspondente ao defeito, pequena área de tecido conjuntivo fibroso denso, e desorganizado envolvendo área com maior predomínio de células e vasos sanguíneos. (Figuras 14a e 14b).

5.1.2 – Grupo II – Tratado com osso autógeno:

Aos 15 dias, observamos presença de tecido conjuntivo com densidade colágena variável preenchendo toda a área do defeito, onde destaca-se, próximo à linha de reversão, pequena área de formação de osso trabecular (Figuras 15a e 15b).

Por raras ocasiões foram encontrados fragmentos de tecido ósseo envoltos por tecido conjuntivo.

5.1.3 – Grupo III – Tratado com Biovidro:

No período de 15 dias, observamos a partir da parede do defeito ósseo, formação trabecular disposta regularmente, com presença de tecido conjuntivo frouxo em íntima relação com tais formações. Junto as bordas do implante observa-se presença de osteoblastos.

Presença de trabéculas ósseas é observada, em formação ao redor de grânulos do biomaterial em decomposição e integrados com o tecido conjuntivo (Figuras 16a e 16b).

5.1.4 – Grupo IV – Tratado com Quitosana:

Aos 15 dias, observamos formações trabeculares regulares, delgadas, entremeadas por tecido conjuntivo celularizado e vascularizadas, preenchendo toda a área do defeito realizado (Figuras 17a e 17b).

Na maioria dos cortes, não foram observados remanescentes do material de preenchimento.

5.2 Período de 90 dias.

5.2.1 Grupo I - Tratado com coágulo sanguíneo:

Aos 90 dias, foi observado, após linha de reversão, a formação de trabéculas óssea em formação. Periféricamente às trabéculas, em superfície, notamos presença de osteoblastos dispostos regularmente (Figuras 18a e 18b). Por vezes, observa-se espessas áreas de matriz colagênicas sem diferenciação óssea.

5.2.2 Grupo II - Tratado com osso autógeno:

No período experimental de 90 dias, observamos áreas com concentração colágena densa, e áreas com matriz colagênica bem celularizada (Figuras 19a e 19b).

5.2.3 Grupo III - Tratado com biovidro

(Perioglass):

Aos 90 dias, a neoformação óssea apresenta-se de forma compacta ocupando praticamente toda a área de defeito ósseo produzido, exibindo em áreas formações haversianas como também osteoblastos vazios e continuidade osteoblástica em superfície (Figuras 20a e 20b). Preseça do biomaterial em fase de degradação porém com formação óssea ao redor dessas partículas em íntimo contato.

5.2.4 Grupo IV – Tratado com Quitosana:

Para o período de 90 dias, neoformação óssea apresentando padrão denso, com espaços medulares de forma e volume variáveis, preenchidas com tecido conjuntivo celularizado podem ser observadas (Figuras 21a e 21b).

As trabéculas ósseas mais compactas exibem formações haversianas, indicando maturação dessas formações ósseas.

5.3 Ilustrações

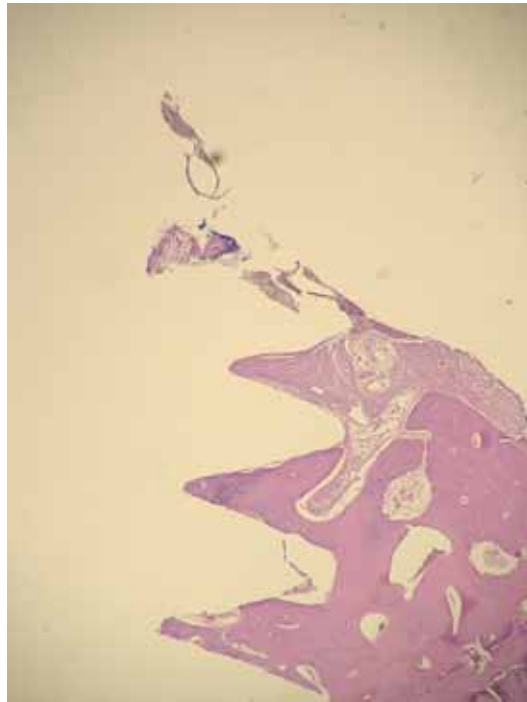


FIGURA 14a – Grupo I, 15 dias (Controle negativo). Aumento de 40x. Tecido conjuntivo neoformado junto ao tecido ósseo do defeito criado e à superfície do implante.

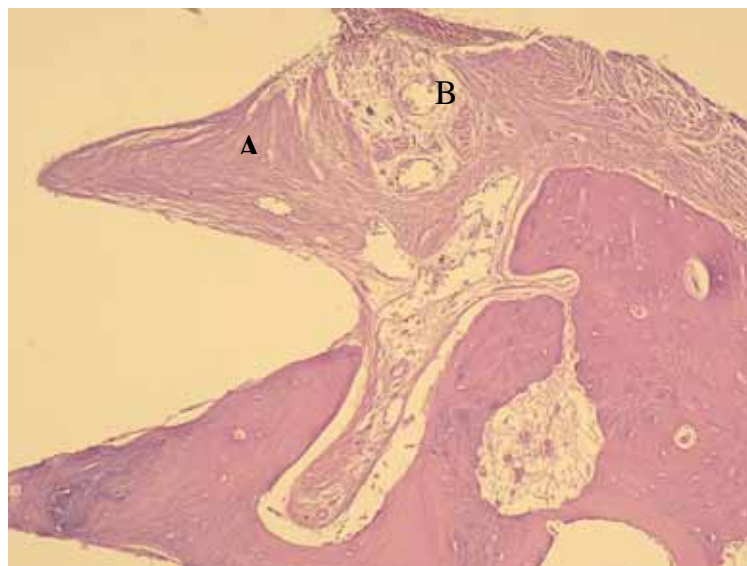


FIGURA 14b – Grupo I, 15 dias (Controle negativo). Aumento de 100x. Presença de tecido conjuntivo rico em fibras colágenas (A), e vasos sanguíneos (B).

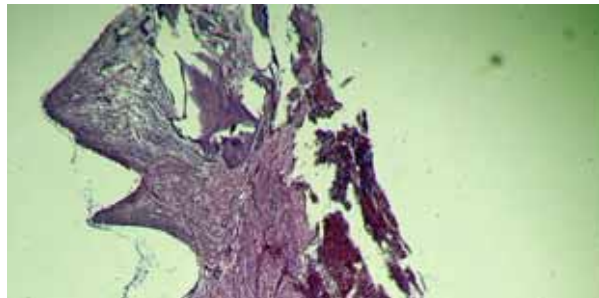


FIGURA 15a – Grupo II, 15 Dias (Controle Positivo). Aumento de 40x. Presença de fibras colágenas dispostas paralelamente (D).

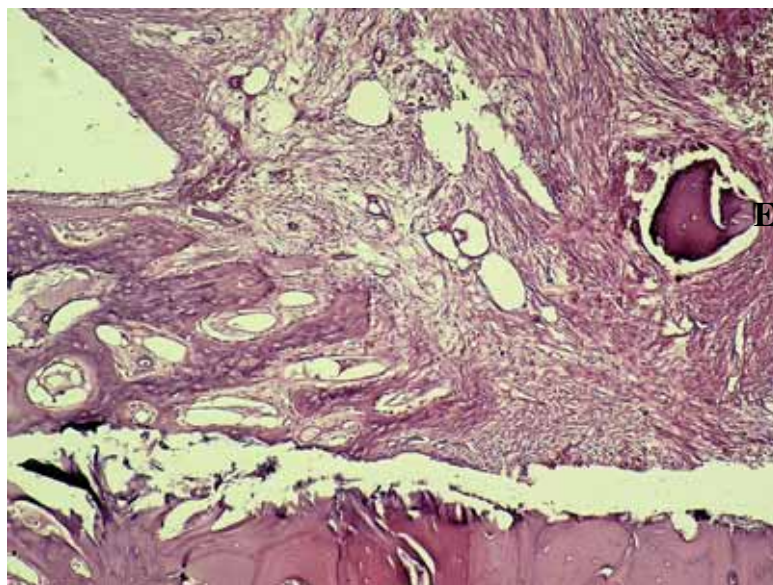


FIGURA 15b – Grupo II, 15 Dias (Controle positivo). Aumento de 100x. Fragmentos ósseos (E), por vezes encontramos no interior das fibras colágenas e presença de inúmeros osteoblastos.

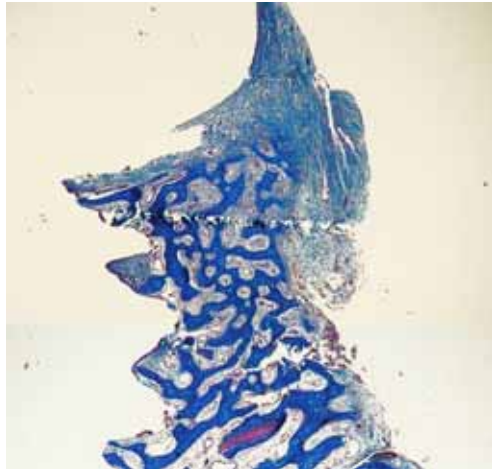


FIGURA 16a – Grupo III, (Biovidro) 15 dias. Aumento de 40x. Presença de trabéculas ósseas em formação, ocupando a área do defeito.

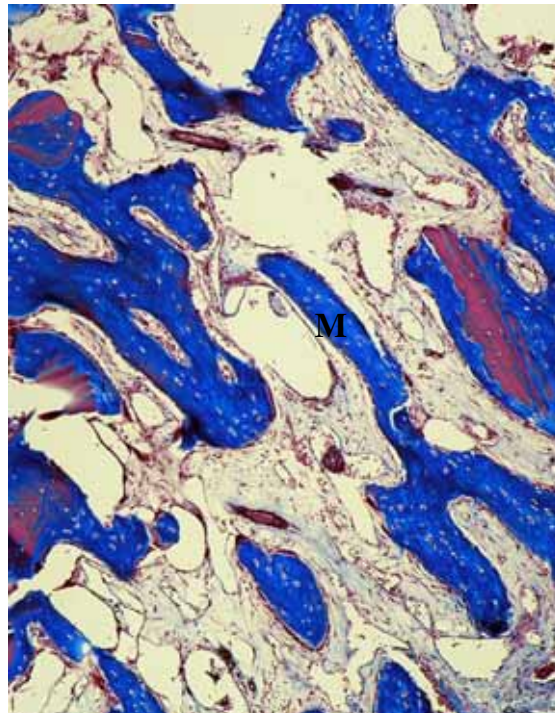


FIGURA 16b – Grupo III,(Biovidro) 15 dias. Aumento de 100x. Presença de espaços deixados pela dissolução dos grânulos de biovidro (M), envolvidos por osso interno e osteoblastos.

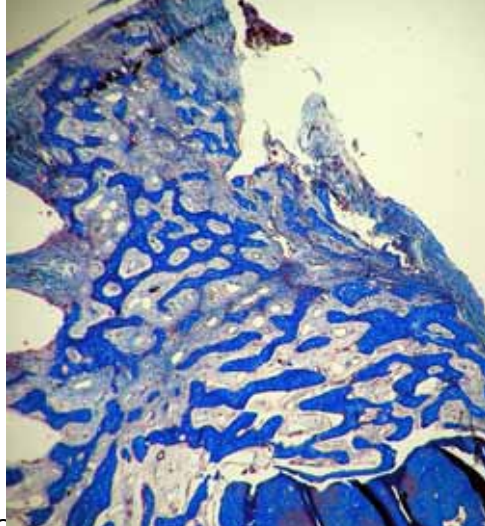


FIGURA 17a – Grupo IV, (Quitosana) 15 dias. Aumento de 40x. Trabéculas ósseas em formação, entremeadas com tecido conjuntivo vascularizado.

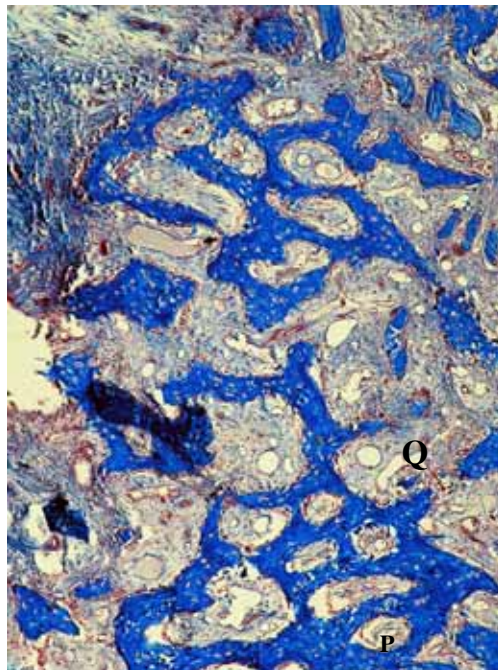


FIGURA 17b – Grupo IV, (Quitosana) 15 dias. Aumento de 100x. Presença de osteócitos (P), osteoblastos (Q)

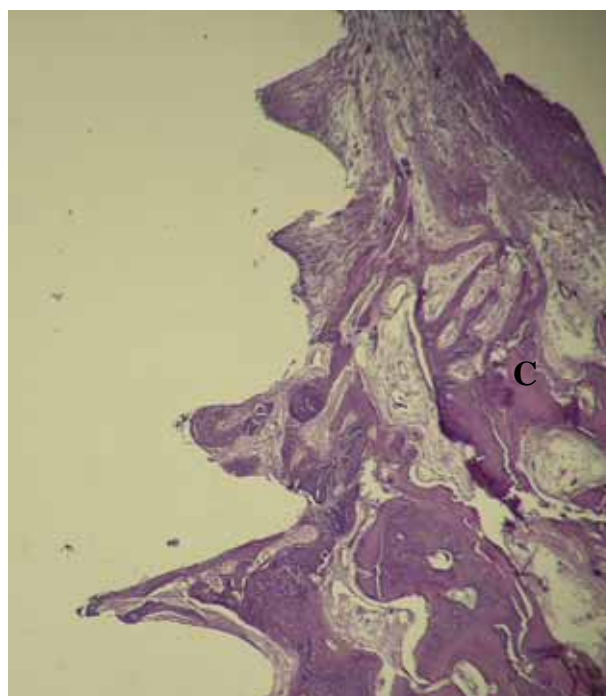


FIGURA 18a – Grupo I, 90 dias (controle negativo). Aumento de 40x. Loja cirúrgica com presença de matriz óssea, próxima da margem inferior do defeito(C).

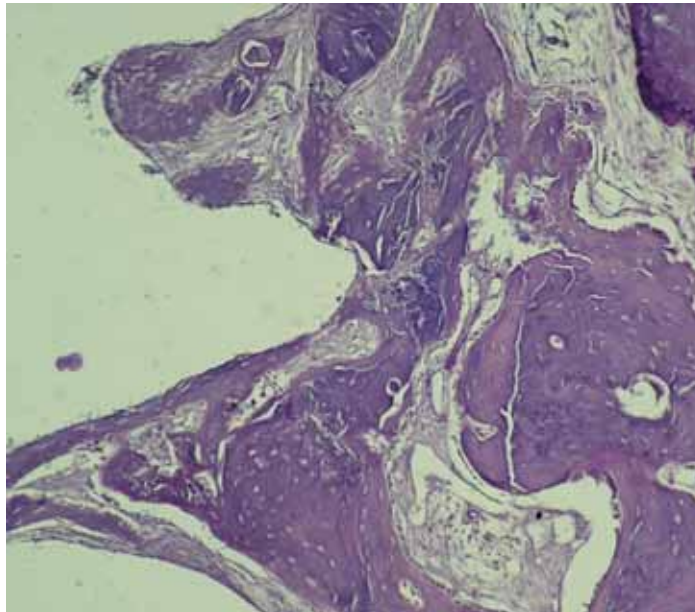


FIGURA 18b – Grupo I, 90 dias. (controle negativo). Aumento de 100x. na linha de reversão, observa-se trabéculas ósseas em formação com presença de osteoblastos e tecido colagenoso acelular na área de superfície do implante osseointegrável.

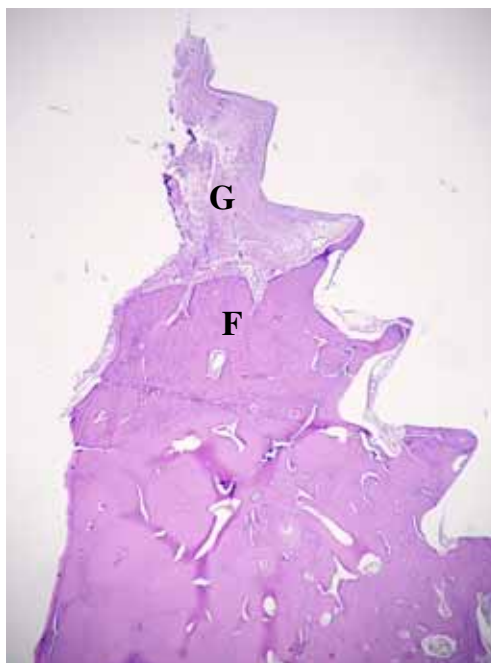


FIGURA 19a – Grupo II, 90 dias. (Controle positivo). Aumento de 40x. Formação de matriz óssea organizada (F) e áreas de fibras colágenas com presença de osteoblastos (G).

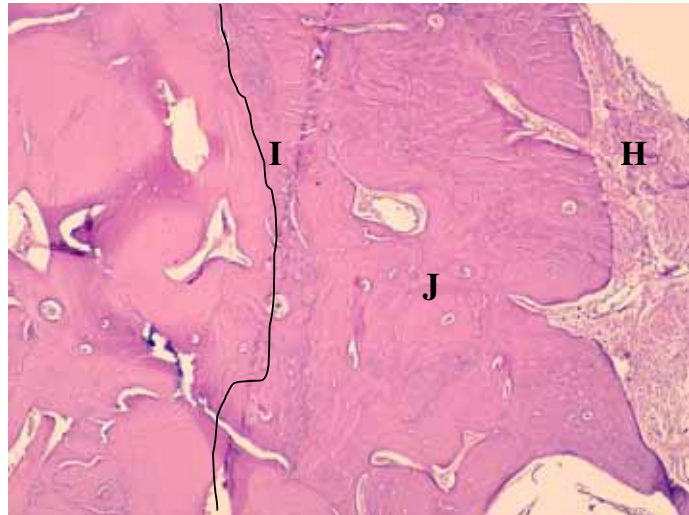


FIGURA 19b – Grupo II, 90 dias. (Controle positivo). Aumento de 100x. Área de tecido colagenoso com tecido conjuntivo denso (H) e presença de linha de reversão (I). Com matriz óssea organizada (J).



FIGURA 20a – Grupo III, (Biovidro) 90 dias. Aumento de 40x. Presença de matriz óssea bem desenvolvida, envolvendo as partículas de biovidro em dissolução (N).



FIGURA 20b – Grupo III, (Biovidro) 90 dias. Aumento de 100x. Trabéculas ósseas bem desenvolvidas em íntimo contato com as partículas do Biomaterial em dissolução (O).



FIGURA 21a – Grupo IV, (Quitosana) 90 dias. Aumento de 40x. Coalecência das trabéculas ósseas.

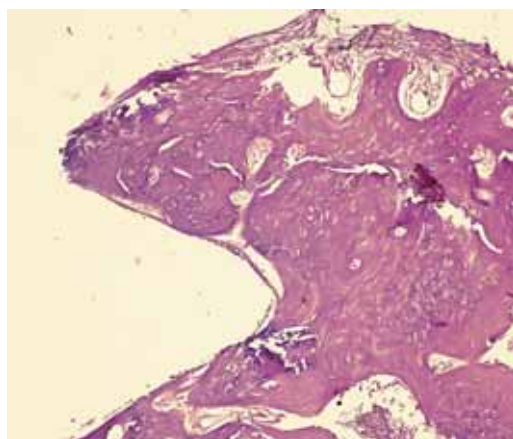


FIGURA 21b – Grupo IV, (Quitosana) 90 dias. Aumento de 100x. Presença de matriz óssea bem definida, apresentando osteócitos (R).

Discussão

6 Discussão

A implantodontia deu um grande salto científico a partir dos estudos do grupo de Bränemark, que vieram a permitir uma acentuada melhora na qualidade da reabilitação bucal de pacientes edêntulos. Devido à ausência de altura e largura óssea, freqüentemente encontradas em pacientes candidatos a esta modalidade de tratamento, várias técnicas foram propostas objetivando-se viabilizar as condições ósseas, permitindo a ampliação das indicações da reabilitação com implantes e sua colocação em posições que favorecessem a estética e a funcionalidade (ADELL et al., 1981).

Este estudo teve como objetivo avaliar histologicamente o reparo ósseo em defeitos críticos na face vestibular de implantes, através da utilização de dois biomateriais, o biovidro e a quitosana, utilizando como comparação o coágulo sangüíneo e osso autógeno.

Há anos, pesquisas têm procurado maneiras para substituir tecidos vivos, utilizando como substitutos, substâncias sintéticas ou naturais. Sabe-se que os biomateriais foram desenvolvidos como substitutos de ossos e estruturas construtoras de tecidos, e podem ser definidos como uma substância ou combinação de duas ou mais substâncias farmacologicamente inertes, de natureza sintética ou natural, que são utilizados para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou integralmente tecidos e órgãos (WILLIAMS, 1987).

Uma das propriedades desejáveis dos materiais de implante é que apresente compatibilidade com os tecidos vivos. Sabemos que a biocompatibilidade de um material é avaliada pela sua capacidade em

produzir uma resposta apropriada no hospedeiro, a qual é influenciada por uma série de fatores que dependem de sua aplicação específica (EDGERTON e LEVINE, 1993).

A presença de mínimo infiltrado inflamatório ou ausência do mesmo, baseados nos resultados de trabalhos da literatura referentes tanto ao biovidro quanto a quitosana, mostram que esses materiais não apresentam toxicidade sistêmica ou local, sendo portanto materiais de excelente compatibilidade (CANCIAN et al., 2004; SENEL et al., 2000; SINGLA e CHAWLA, 2001).

Williams, em 1985, relata que para um biomaterial possa ser utilizado como substituto ósseo deverá ter, “in vivo”, dois objetivos básicos: poder ser utilizado como substituto ósseo permanente, ocupando o lugar do tecido ósseo e desempenhando suas funções protetoras e de suporte situação esta onde não é pré-requisito que o material possua uma estrutura física e química semelhante ao osso, mas sim propriedades mecânicas, físicas e químicas adequadas, como por exemplo estabilidade, fácil utilização clínica e habilidade de se incorporar ao tecido ósseo, além disso, também pode ser utilizado como substituto ósseo, pela sua capacidade de formação de arca-bouço para neoformação tecidual em seu interior, devendo ser reabsorvido ou dissolver-se ao final do processo de remodelamento tecidual.

Entretanto, é sabido também que um material para enxerto ou transplante deve ser capaz de promover osteocondução, osteoindução e osteopromoção, isoladamente ou em conjunto. Conforme relata a literatura, a osteogênese refere-se a um material capaz de formar osso diretamente, a partir de osteoblastos provenientes da área doadora. Já a

osteoindução ocorre em materiais capazes de induzir a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em condroblastos e osteoblastos além de intensificar o crescimento ósseo mesmo onde este não é esperado. Finalizando, a osteocondução refere-se a um material que permita aposição óssea pré-existente e requer presença de tecido ósseo (CANCIAN et al., 2004), ou seja, osteoindução ocorre quando células mesenquimais indiferenciadas invadem materiais implantados ou transplantados, a partir do leito receptor, provocando, posteriormente, neoformação óssea. Este é o tipo de processo que ocorre, por exemplo, na osseificação endocondral. De fato, em ossos longos, o processo de substituição de enxertos ósseos podem apresentar áreas de formação cartilaginosa no interior do enxerto, posteriormente ossificadas. Nos locais de ossificação intramembranasas os enxertos ósseos serão progressivamente absorvidos e invadidos por tecido conjuntivo e vasos sanguíneos, com posterior ossificação (SUMMER, 2002).

Os defeitos ósseos, segundo Schenk et al., 1996 podem se regenerar quando há a reposição das células e elementos teciduais originais, ou podem ser reparados com substituição do tecido lesado por outro tecido de preenchimento ou suporte. O osso é um dos tecidos que tem um potencial único para restaurar sua estrutura original, dentro de certas limitações, sendo que a reconstrução ao nível original de organização ocorre seqüencialmente e repete exatamente o padrão de desenvolvimento e crescimento ósseo, assim o enxerto autógeno é o mais completo dentre os materiais de enxertos devido às suas propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas (TRIPLET e SCHOW, 1996).

Por outro lado, em grupos de defeitos ósseos não implantados, ou seja, preenchidos com apenas coágulo sangüíneo e que foi utilizado como controle negativo no presente estudo, procurando avaliar mais especificamente o efeito de cada biomaterial, do ponto de vista do atraso da reparação óssea.

É bem conhecido o fato de que, em pequenas cavidades ósseas, materiais de implantes ou enxertos, via de regra atrasam a reparação em grau maior ou menor, já que o biomaterial tem que ser substituído, incorporado ou eliminado para que a reparação óssea ocorra.

No presente estudo, aos 15 dias de pós operatório, para o grupo I (coágulo – controle negativo), observamos presença de tecido conjuntivo em pequena proporção com disposição desorganizada, porém com células progenitoras ósseas e alta concentração vascular. De fato, OKAMOTO e RUSSO, 1973, descreve muito bem as três fases histológicas do processo de reparação a partir da organização do coágulo. Dessa forma, parece que neste período nos encontramos na segunda fase que é considerada proliferativa, uma vez que o cão apresenta um metabolismo mais acentuado quando comparado ao homem; sugerindo uma tendência, futura, a reparação óssea com cronologia prolongada.

Quanto ao grupo II (Osso autógeno – controle positivo), neste mesmo período, encontramos fragmentos ósseos envoltos por tecido conjuntivo com presença de células de formação óssea e nas bordas da parede óssea remanescente a presença de formação de trabéculas ósseas. Este fato, nos leva a pensar que, possivelmente os fragmentos ósseos encontrados são decorrentes do enxerto colocado e que o tecido ao redor deste encontra-se viável para preenchimento ósseo completo do

defeito. As características histológicas encontradas para este grupo conferem com as afirmações de SCHENK, 1996; BOYNE et al., 1997.

Diferentes modelos animais têm sido usados para investigar a regeneração tecidual, como exemplo, lesões intra-ósseas de uma, duas e três paredes, além de perda horizontal. A configuração da lesão é uma das variações primárias na regeneração tecidual, sendo que um maior número de paredes ocasiona um amplo suprimento de células osteogênicas (PARK et al., 2003).

Gerentes et al., 2002, mostraram a possibilidade de manipulação do preparo do gel de quitosana, podendo assim tornar sua consistência compatível com diferentes situações clínicas que necessitassem do material de consistência mais ou menos endurecido para os diferentes defeitos a serem regenerados. Esta possibilidade permite que, no plano piloto, nos orientássemos quanto as mistura das partes para criarmos um gel que tivesse uma grande viscosidade e aderência, e com isso favorecer um completo preenchimento do defeito minimizando o escoamento do material. Provavelmente, este escoamento reduzido fez com que o material permanecesse no local, ampliando as propriedades osteocondutoras e assim otimizando os resultados.

Assim, podemos observar já aos 15 dias de pós operatório, em todos os espécimes, o grupo IV (Implantado com quitosana) apresentou ora trabéculas ósseas delgadas e o tecido conjuntivo entremeado nas trabéculas com inúmeros fibroblastos e ponto de vascularização, demonstrando a presença de osso imaturo. Não foram encontradas células inflamatórias em nenhum dos espécimes estudados. Esses achados vão de encontro aos encontrados por Mi et al., 2001, não só no

que diz respeito aos resultados histológicos como também às características clínicas no período trans cirúrgico experimental. Esses autores descrevem também a propriedade hemostática da quitosana preparada em forma de membrana para ser utilizado em curativos de feridas em ratos. Mi et al., 2001, mostram que o teste para as propriedades cicatrizantes que foram realizados com análise histológica nos períodos de 5, 21, e 35 dias pós operatórios, demonstrou impermeabilidade desta membrana a microrganismos, biocompatibilidade e inerente propriedade antimicrobiana, características que justificam os resultados em microscopia de luz realizados, onde não foi encontrada presença de células inflamatórias.

Em outro estudo realizado por Muzzarelli et al., 1989, avaliando em 10 pacientes com períodos de 30 e 60 dias por meio de microscopia de varredura e microscopia de transmissão, o comportamento do gel de ascorbato de quitosana em pH 7,0 para reconstrução de tecidos periodontais. Os autores encontraram os 30 dias uma redução do edema e inflamação com presença de resíduos de quitosana. Aos 60 dias, a área tratada mostrou excelente organização estrutural, concluindo que a quitosana em pH neutro foi altamente biocompatível, e que a reabsorção do gel ocorreu por uma reação tipo corpo-estranho. Nos resultados das biópsias realizadas com 15 dias em nosso estudo, não foram encontrados resíduos de material possivelmente em decorrência do processo de descalcificação ao qual as peças foram submetidas.

Assim como a quitosana a biocompatibilidade do vidro bioativo usado neste estudo (PerioGlass) foi comprovada pelas características do tecido formado ao redor de grânulos do material restante no defeito, que

no período de 15 dias, os histológicos demonstram o material em decomposição envolto por tecido conjuntivo frouxo rico em fibroblastos e também trabéculas ósseas, sem a presença de células inflamatórias.

Esses resultados são similares aos encontrados por Scheppers et al., 1991, que realizaram defeitos ósseos em mandíbulas de cães, e após períodos de 6 a 12 meses observaram erosão da parte central dos grânulos do material, ainda presentes com contato de tecido ósseo ao redor e na parte central desses grânulos.

A presença de poucos grânulos de PerioGlass no interior do tecido neoformado, demonstra que pode ter ocorrido reabsorção ou dissolução do material, durante os períodos de análise. O aspecto do material, no interior do tecido neoformado, sugere que o processo descrito na literatura de formação de câmaras ao redor dos grânulos, decorrentes da saída do gel de sílica, permitindo assim que ocorra neoformação óssea ao redor e dentro dos grânulos de vidro bioativo tenha ocorrido (DUCHEYNE, 1987; SCHEPERS et al., 1991, 1993).

Recentemente, pesquisadores avaliaram os efeitos do vidro bioativo, em associação ao Titânio, em preenchimento do osso parietal de coelhos, onde um enxerto composto por uma pastilha de Titânio em associação com grânulos de biovidro misturados em gel de colágeno foi comparado com um enxerto composto apenas pelo Titânio e pelo gel de colágeno, concluindo que os enxertos enriquecidos com o biovidro foram capazes de gerar novo tecido ósseo em estágios mais precoces quando comparados ao controle sem o biovidro (NISHIDA et al., 2006), o que vem de encontro com os resultados deste trabalho, onde o biovidro em comparação com outros materiais já apresentou no período inicial

formações ósseas trabeculares entremeadas com tecido conjuntivo, de forma, cronologicamente, mais precoce e com maior intensidade.

Para o grupo I (coágulo), aos 90 dias, foram observados nos espécimes a presença de colágeno sem diferenciação óssea o que sugere um processo de cicatrização por fibrose. O padrão do defeito e localização com certeza não favoreceram a organização do coágulo para reparação óssea.

Em relação ao grupo II (osso autógeno), neste mesmo período, podemos observar formação óssea preenchendo, porém não totalmente o defeito ósseo e juntamente, foi observado também tecido colagenoso com células viáveis para reparação óssea do defeito. Comparando com os grupos III e IV, observamos uma cronologia de reparo um pouco atrasada. Talvez um outro fator que tenha contribuído seja o tipo de animal. O cão com frequência, tende a morder as grades das baias, o eu poderia ser um coadjuvante ao comprometimento do resultado.

Aos 90 dias, o grupo IV, verificamos além da ausência de partículas, um trabeculado ósseo organizado com formação haversianas, indicando maturação óssea, apresentando coalecência das trabéculas dando um aspecto sólido ao tecido. Podemos observar neste trabalho de Park et al., 2003 que estudaram a regeneração de lesões intra-ósseas de uma parede conhecida como caso difícil de osteogênese natural, a fim de explorar a eficácia da quitosana como material de implantação na regeneração tecidual. Para tanto, os autores utilizaram o pó de quitosana solúvel para avaliar a regeneração de tecido periodontal em lesões de uma parede óssea, e verificaram a inibição da migração apical do epitélio e o aumento do osso bem como do cemento neo-formados. Assim, os

autores concluíram que o uso da quitosana permitiu indução da regeneração do tecido periodontal. Tal neoformação óssea é condizente com os achados do presente estudo, onde a quitosana também teve potencial de guiar nova formação óssea no interior dos defeitos ósseos cirurgicamente criados.

Com relação ao grupo III (biovidro), neste período, evidenciou-se a presença de osso compacto e formação haversiana, observando-se na grande maioria, ausência de tecido conjuntivo entre implante e osso, muito embora, mesmo quando apenas um tipo de biomaterial é testado, diferentes comportamentos podem ser observados, diferentes comportamentos podem ser observados, quanto à integração do material.

Ainda, estudos como de Schepers et al., 1993 e Wheeler et al., 1998, sugerem que o tamanho dos poros do biomaterial também parece ser um fator importante que afetaria a formação óssea dentro do material, pois os poros compatíveis com a migração vascular, promoveriam maior capacidade de neoformação óssea.

Mesmo assim, os resultados obtidos neste trabalho com a utilização do osso autógeno foram inferiores aos grupos tratados com biovidro e quitosana. Apesar disso, não se pode dizer que os biomateriais utilizados nesse estudo apresentam um maior potencial para a regeneração óssea. No entanto, podemos supor que os resultados obtidos por meio da utilização de enxerto ósseo podem ser explicados pela metodologia aplicada, isto é, foram confeccionadas lojas sem suportes ósseos ou seja, defeitos de três paredes em que uma delas era a própria superfície do implante que é do ponto de vista biológico, totalmente inerte. para manutenção desses materiais, inclusive o enxerto

ósseo, no interior do defeito, foram recobertos com membrana reabsorvível, conforme já descrito na metodologia e que pode não ter promovido suporte suficiente para a manutenção desse material permitindo que parte do enxerto ósseo se desprendesse do leito cirúrgico desfavorecendo a formação óssea. Podemos ver claramente nos cortes histológicos de todos os espécimes, dos períodos de 15 dias, poucos fragmentos do tecido ósseo enxertado.

No presente estudo, os defeitos críticos tratados com quitosana apresentaram características clínicas, no período trans-cirúrgico experimental, compatíveis com o estudo de Mi et al., 2001), que descrevem Em 90 dias, verificamos além da ausência de partículas de material, um trabeculado ósseo organizado com formações haversianas indicando maturação óssea, além de coalescência das trabéculas dando um aspecto sólido ao tecido.

O PerioGlass demonstrou, histologicamente, servir como arcabouço para as células formadoras de tecido ósseo, resultado esse compatível com o demonstrado por Schepers et al., 1991, que demonstrou propriedades osteocondutoras e efeito osteoestimulador em defeitos ósseos cirurgicamente criados em Beagles, em períodos longos (de 6 a 12 meses), que levaram os autores a utilizar tal material em defeitos ósseos resultantes de ressecções apicais, remoção de cistos, exodontias e defeitos de rebordo alveolar devido à cirurgia ou reabsorção, concluindo que o mesmo foi efetivo no tratamento de tais lesões.

O Biovidro utilizado permitiu em parte sua substituição por tecido ósseo, o que levou ao preenchimento do defeito criado por este tecido, demonstrando capacidade osteocondutora. Aos 90 dias, grânulos

restantes do biomaterial estavam intimamente unidos ao tecido ósseo, com a presença de osteócitos, como demonstrado por Furuzawa e Mizunuma, 1997.

Os resultados do presente trabalho são também condizentes com os encontrados por Cancian et al., 1999, que em defeitos ósseos criados cirurgicamente na mandíbula de macacos, avaliaram a neoformação óssea, e as características dos tecidos neoformados após preenchimento com o vidro bioativo Biogran e hidroxiapatita, concluindo que o biovidro utilizado permitiu a neoformação óssea.

Andereg et al, em 1999, avaliaram a efetividade do vidro bioativo PerioGlass no tratamento de defeitos ósseos de classe I e II na furca de primeiros e segundos molares em humanos, sendo que os parâmetros clínicos foram avaliados previamente ao procedimento cirúrgico e, aos 3 e 6 meses após o mesmo, com a amostra dividida entre os pacientes que receberam o enxerto de vidro bioativo e o grupo que não recebeu material algum (Controle negativo), obtendo resultados que permitiram concluir que o uso de vidro bioativo no tratamento desse tipo de defeito trouxe benefícios quanto à redução da profundidade e sangramento à sondagem.

É importante salientar que, embora normalmente materiais implantados em defeitos ósseos acabem resultando em atraso na reparação, no presente estudo esse fato não ocorreu, pelo contrário o reparo ocorreu dentro de um prazo de tempo aceitável, com incorporação e parcial substituição do biomaterial.

Dessa forma, os biomateriais utilizados, tanto do grupo III quanto do grupo IV proporcionaram resultados favoráveis, tendo em vista que, a

reparação, aos 90 dias, apreseto-se quase completa. O resultado final de aposição óssea direta sobre o material é sobremaneira favorável. A ausência de reação inflamatória ala à favor pois ao contrário poderia altera para utilização clínica no sentido de possíveis problemas de eliminação ou infecção no curso do tratamento.

Assim, os resultados obtidos, dentro das condições experimentais deste estudo, sugerem que estes biomateriais podem ser utilizados clinicamente como material de preenchimento de defeitos ósseos, e auxiliar na correção das limitações da indicação de instalação de implantes osseointegáveis.

Conclusão

7 Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, nos limites da metodologia empregada, é lícito concluir que:

- Tanto a quitosana como o biovidro, permitiram neoformação óssea, reparando o defeito crítico produzido.
- Os biomateriais estudados apresentaram boa biocompatibilidade.
- Os biomateriais testados (grupo III e Grupo IV) apresentaram aposição óssea direta sobre o material mais precocemente e de forma mais intensa, em comparação com os outros grupos.
- Para o tipo de defeito estudado, o coágulo sangüíneo, não mostrou resultados satisfatórios.
- A longo prazo, o grupo com enxerto ósseo apresentou maior organização óssea.
- Pela avaliação histológica do presente trabalho não foi possível concluir no período tardio se existiu diferença na ossificação comparando os grupos III e IV.

Referências

8. Referências*

- ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, v.10, n.6, p. 387-416, Dec. 1981.
- ANDEREG, C.R.; ALEXANDER, D.D.C.; FRIEDMAN, M.A. Bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n.4, p. 384-386, Apr. 1999.
- BECKER, W. et al. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 4, p. 414-421, Apr. 1998.
- BLOCK, M.S.; KENT, J.N. Sinus augmentation for dental implants: the use of autogenous bone. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v.55, n.11, p.1281-1286, Nov. 1997.
- BOYNE, P.J.; JAMES, R.A. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. **J. Oral Surg.**, Chicago, v.38, n.8, p.613-616, Aug. 1980.
- BOYNE, P.J. et al. A feasibility study evaluating rh BMP-2/absorbable collagen sponge for the maxillary sinus floor

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

augmentation. **Int. J. Period. Rest. Dent.**, Chicago, v.17, n.1, p.11-25, Feb. 1997.

- CANCIAN, D.C.J. et al. Use of BioGran and Calcitite in bone defects. Histologic study in monkeys (*Cebus paella*). **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 14, n. 6, p. 859-864, Nov. / Dec. 1999.
- CANCIAN, D.C.J. et al. Utilization of autogenous bone, bioactive glasses, and calcium phosphate cement in surgical mandibular bone defects in *Cebus apella* monkeys. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v.19, n.1, p. 73-79, Jan. / Feb. 2004.
- CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. **Biomaterials**, Guilford. v.22, n.3, p.261-268, Feb. 2001.
- CHEN, N.T. et al. The roles of revascularization and resorption on endurance of craniofacial onlay bone grafts in the rabbit. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.93, n.4, p. 714-722, Apr. 1994.
- CHEN, X.; XIA, W.S.; YU, X.B. Purification and characterization of two types of chitosanase from *Aspergillus* sp CJ22-326. **Food Res. Intern.**, Ottawa, v. 38, n. 3, p. 315-322, Apr. 2005.
- DOILLON, C.J.; DUNN M.G.; SILVER F.H. Relationship between mechanical-properties and collagen structure of closed and open wounds. **J. Biomech. Eng.**, Nova York, v.110, n.4, p.352-356, Nov. 1998.

- DUCHEYNE, P. Bioceramics: material characteristics versus in vivo behavior. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 21, p. 219-236, Aug. 1987.
- EDGERTON, M.; LEVINE, M.J. Biocompatibility: it's future in prosthodontic research. **J. Prosthet. Dent.**, Saint Louis. v. 69, n.4, p. 406-415, Apr.1993.
- FELT, O.; BURI, P.; GURNY, R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York. v.24, n.11, p.979-993, Nov. 1998.
- FETNER, A.E.; HARTIGAN, M.S.; LOW, S.P. Periodontal repair using PerioGlass in non human primates: clinical and histological observations. **Compendium**, Newtown, v. 15, n.7, p. 932, 935-938, July. 1994.
- FROUN, S.F.; WEINBERG, M.A.; TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. a clinical study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n.6, p. 698-709, June. 1998.
- FURUSAWA, I. MIZUNUMA, K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone grafting material. **Implant Dent.**, Philadelphia, v. 6, n.2, p. 93-101, Summer. 1997.
- GERENTES, P. et al. Study of a chitin-based gel as injectable material in periodontal surgery. **Biomaterials**, Guilford, v. 23, n. 5, p. 1295-1302, Mar. 2002.

- GUNGORMUS. et al. A. Evaluation of the mandible as an alternative autogenous bone source for oral and maxillofacial reconstruction. **J. Int. Med. Res.**, Northampton, v. 30, n. 3, p. 260-264, May /June. 2002.
- HALL, E.E. et al. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabone defect around implants in the canine mandible. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 526-535; May. 1999.
- HARRIS, W.H. et al. Bony ingrowth fixation of the acetabular component in canine hip joint arthroplasty. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 176, n. 7, p.289-293, July / Aug. 1983.
- ILLUM, L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. **Pharm. Res.**, Nova York, v.15, n.9, p.1326-1331, Sept. 1998.
- JOHNER, R. Zur knochenheilung in abhängigkeit Von der defektgros e. **Helv. Chir. Acta.** Basel, v.39, n.1, p.409-411, May,1972.
- KATO, Y.P. et al. Mechanical-properties of collagen- Fibers – A Comparison of Reconstituted and Rat Tail Tendon Fibers. **Biomaterials.** Guilford, v.10, n.1, p.38-42, Jan. 1989.
- LEE, J.Y. et al. Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials. **J. Control Release**, Amsterdam, v. 78, n. 1/3, p 187-197, Jan. 2002.

- LEE, Y.M. et al. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. **J. Periodontol.**, Chicago, v.71, n.3, n.418-424, Mar. 2000.
- LIM,L.Y.; KHOR, E.; KOO, O. Gamma irradiation of chitosan. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 43, n.3, p.282-290, Fall 1998.
- MI, F.L. et al. In vitro evaluation of a chitosan membrane cross-linked with genipin. **J. Biomater. Sci. Polym. Ed.**, Utrecht, v. 12, n. 8, p. 835-850, 2001.
- MUZARELLI, R.,et al. Reconstruction of parodontal tissue with chitosan. **Biomaterials**, Guilford, v. 10, n. 9, p.598-603, Nov. 1989.
- MUZZARELLI, C.; MUZZARELLI R.A. Natural and artificial chitosan-inorganic composites. **J. Inorg. Biochem.**, New York v.92, n.2, p.89-94, Nov. 2002.
- MUZZARELLI, R.A.A. et al. G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. **Biomaterials**, Guilford, v.15, n.13, p.1075–1081, Oct, 1994.
- NISHIDA, T. et al. Effects of bioactive glass on bone augmentation within a titanium cap in rabbit parietal bone. **J Periodontol.** Chicago,v. 77, n.6, p.938-939, June. 2006.

- OKAMOTO, T.; RUSSO, M.C. Wound healing following tooth extraction: histochemical study in rats. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v.2, n.2, p. 153-159, Sept. 1973.
- OZAKI, W.; BUCHMAN, S.R. Use of scanning electron microscopy in the evaluation of craniosynostosis. **J. Craniofac. Surg.**, Burlington, v. 9, n. 1, p.30-38, Jan. 1998.
- PARK, K.; ROBINSON, J.R. Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery- method to study bioadhesion. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.19, n.2, p.107-127, 1984.
- PARK, Y.J. et al. Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration. **Biomaterials.**, Guilford, v.21, n.2, p.153-159, Jan, 2000a
- PARK, Y.J. et al. Controlled release of platelet-derived growth factor-BB from chondroitin sulfate-chitosan sponge for guided bone regeneration. **J. Control Release**, Amsterdam, v.67, n.2/3, p.385-394, July, 2000b.
- PARK, J.S. et al Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one wall intrabony defects in beagle dogs. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.30, n.5, p. 443- 453, May. 2003.
- PERRI de CARVALHO, A.C; OKAMOTO, T. Reparação óssea alveolar. In: _____. **Cirurgia bucal: fundamentos**

experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Panamericana, 1987.
Cap 1, p.55-80.

- PINTO, A.V.S. et al. Função oclusal precoce em maxilas deficientes reconstruídas com enxertos ósseos do ilíaco, implantes osseointegráveis e próteses totais fixas. In: QUERIDO, M.R.M.; FAN, Y.L.. **Implantes osseointegrados, inovando soluções**”. São Paulo: Artes Médicas, 2004. Cap. 11, p. 191-216.
- RAGHOEBAR, G.M. et al. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge with autogenous bone before insertion of implants. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v.54, n.10, p.1180-1185, Oct. 1996.
- RAWLINGS, C.E. 3rd Modern bone substitutes with emphasis on calcium phosphate ceramics and osteoinductors. **Neurosurgery**, Baltimore, v.33, n.5, p.935-938, Nov. 1993.
- SANCHES, M.G.; OKAMOTO, T.; DE CARVALHO, A.C. Wound healing in dental socket following anorganic bone implantation. Histological study in rats. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v.1, n.1, p.83-90, July.1972.
- SCHENK, R.K. Regeneração óssea: bases biológicas. In: MISCH, C.E. et al. **Regeneração óssea guiada na implantodontia**. São Paulo: Quintessence, 1996. Cap. 3, p. 49-100.
- SCHENK R.K.; WILLENEGGER, H. Zur histologie der primaren knochenheilung modifikationen und grenzen der spaitheilung in

abhängigkeit von der defektgrösse. **Unfallheilkunde.**, Berlin, v.80, n.5, p.155-160, May.1977.

- SCHEPERS, E.J.; DUCHEYNE, P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. **J. Oral Rehabil.**, Denmark, v. 24, n.3, p. 171-181, Mar. 1997.
- SCHEPERS, E.J.G; BARBIER, L.; DUCHEYNE, P. Implant enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 13, n.5, p. 655-665, Sept./Oct. 1988.
- SCHEPERS, E.J.G. et al. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. **J. Oral Rehabil.**, Denmark, v. 18, n.5, p.439-452, Sept. 1991.
- SCHEPERS, E.J.G.et al. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. **Implant. Dent.**, Philadelphia, v. 2, n.3, p.151-156, Fall 1993.
- SCHIMITT, J.M. et al. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, n. 11, p. 1043-1053, Nov. 1997.
- SENEL, S.; McCLURE, S.J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, Amsterdam, v. 56, n. 10, p.1467-1480, June. 2004.

- SENEL, S. et al. Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal mucosa. **Biomaterials**, Guilford, v. 21, n. 20, p. 2067-2071, Oct. 2000.
- SINGLA, A.K.; CHAWLA, M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update. **J. Pharm. Pharmacol.**, Londres, v. 53, n. 8, p. 1047-1067, Aug. 2001.
- SMILER, D.G. Surgical solutions to prosthetic problems. **J. Dent. Symp.**, Ramsey, v.1, p. 44-49, Aug. 1993.
- SMILER, D.G. et al. Sinus lift grafts and endosseous implants treatment of the atrophic posterior maxilla. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 36, n. 1, p. 151-187, Jan. 1992.
- SUMMER, G. Bone formation and development. 2nd ed. New York: Thieme, 2002.
- TRIPPLET, R.G.; SCHOW, S.R. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 54, n. 4, p. 486-494, Apr. 1996.
- UENO, H. et al. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, Guilford, v. 22, n.12, p.1667-1673, June. 2001a.
- UENO, H. et al. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production

by macrophages. **Biomaterials.**, Guilford, v. 22, n. 15, p. 2125-2130, Aug. 2001b.

- WHEELER, S.L.; HOLMES, R.E.; CALHOUN, C.J. Six-year clinical and histological study of sinus-lift grafts. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Philadelphia, v. 11, n.1, p. 26-34, Jan/Feb. 1996.
- WHEELER, D.L. et al. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 41, n.4, p. 527-533, Sept. 1998.
- WILLIAMS, D.F. The biocompatibility clinical uses of calcium phosphate ceramics. In: _____ **Biocompatibility of tissue analogs**. Florida: CRC Press, 1985. v. 2, cap. 3, p. 43-66.
- WILLIAMS, D.F. Tissue – biomaterial interactions. **J. Mater. Sci.**, London, v. 22, n. 10, p. 3421-3445, 1987.
- WILSON, J. et al. Physiology and biocompatibility of bioglasses. **J. Mater. Res.**, Warrendale, v. 15, p. 805-817, Apr. 1981.
- YILMAZ, S. et al. Alveolar ridge reconstruction and or preservation using root form bioglass cones. Case reports. **J. Clin. Periodontol.**, Denmark, v. 25, n.10, p. 832-839, Oct. 1998.

Resumo

MANTOVANI JÚNIOR, M. **Análise histológica de defeitos ósseos preenchidos com biomateriais e associados a implantes osseointegrados. Estudo em cães.** 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente o efeito da quitosana e do biovidro colocados em defeitos ósseos críticos criados em mandíbulas de cães e associados a implantes osseointegráveis. Para isso, foram utilizados 8 cães adultos jovens e sem raça definida, que foram submetidos às exodontias dos terceiros e quartos pré-molares inferiores, bilateralmente. Após 12 semanas, nos locais das exodontias, foram instalados 2 implantes de Ticp de 3,3 x 10 mm, e em seguida criados defeitos ósseos cilíndricos com 4 mm de diâmetro por 5 mm de profundidade na região vestibular de cada implante. Os 8 animais foram divididos em 4 grupos, a saber: Grupo I – Controle negativo (Coágulo sanguíneo), Grupo II – Defeito preenchido com osso autógeno, Grupo III – Defeito preenchido com Biovidro e Grupo IV – Defeito preenchido gel de quitosana. Foram realizadas biópsias ósseas aos 15 e aos 90 dias, num total de 4 biópsias por biomaterial/período, que foram processadas e avaliadas através de análise histológica descritiva. Como resultado, observou-se aos 15 dias formação de tecido fibroso no grupo controle, e nos grupos tratados com osso autógeno, quitosana e biovidro, observou-se neoformação óssea com padrão denso e espaços medulares preenchidos com tecido fibroso, de forma e tamanhos variáveis, com trabéculas ósseas compactas. Aos 90 dias, observou-se a maturação do osso neoformado nesses três grupos. No grupo III (Biovidro), aos 90 dias observa-se presença de biomaterial. No grupo IV, na grande maioria dos espécimes, houve degradação do biomaterial.

Palavras-chave: Implante dentário; transplante ósseo; Quitosana; materiais biocompatíveis.

Abstract

MANTOVANI JÚNIOR, M. **Histologic evaluation of biomaterial filled bone defects associated to osseointegrated implants. Study in dogs.** 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

Abstract

This study objective was to histologically evaluate chitosan and bioactive glass effect on critical size bone defects created in dog's mandibles, associated to osseointegrated implants. For this, it were utilized 8 young adult, without defined race dogs, that underwent third and fourth inferior premolars extractions, bilaterally. After 12 weeks, in extraction sites, it were installed two Ticp implants of 3.3 x 10.0 mm, followed by the creation of a 4mm diameter and 5mm depth cylindrical bone defects, buccally to each implant. The 8 animals were divided into 4 groups: Group I – Negative control (Blood clot), Group II – Defect filled with autogenous bone graft, Group III – Defect filled with Bioactive glass and Group IV – Defect filled with chitosan gel. It was realized bone biopsies at 15 and 90 days, in a total amount of 4 biopsies by biomaterial/period, that were processed and evaluated under histological descriptive analysis. As a result, it was observed, at 15 days, the formation of a fibrous tissue in the negative control group, and in the groups treated with autogenous bone graft, chitosan and Bioactive glass, it was observed dense pattern bone neoformation, with bone marrow spaces filled with fibrous tissue, of variable sizes and forms, with compact bone trabecules. At 90 days, it was observed the maturation of the new formed bone in these three groups. In group III (Bioactive glass), at 90 days, there is still the presence of the biomaterial. In group IV, in most specimens, the biomaterial was degenerated.

Key-words: Dental implant; bone transplantation; Chitosan; biocompatible materials.

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, agosto de 2006.

MILTON MANTOVANI JUNIOR