

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Roger Lanes Silveira

Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]) associado a enxertos *onlay* de calota craniana em região mandibular de ratos. Estudo experimental: análise histológica, histométrica e biomecânica

Porto Alegre
2010

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial

- DOUTORADO -

**UTILIZAÇÃO DO CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO (NORIAN®)
ASSOCIADO A ENXERTOS ONLAY DE CALOTA CRANIANA EM
REGIÃO MANDIBULAR DE RATOS. ESTUDO EXPERIMENTAL:
ANÁLISE HISTOLÓGICA, HISTOMÉTRICA E BIOMECÂNICA**

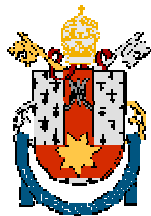
ROGER LANES SILVEIRA

Tese apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira

- Orientador -

Porto Alegre
2010



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus. Agradeço, pois tem me proporcionado concretizar sonhos muito maiores daqueles aos quais eu planejei.

Agradeço, pois vejo Sua mão providenciando saúde, paz, capacitação, sustento e perseverança. A cada degrau conquistado, vejo que é possível associar a ciência e a fé e, a cada nova aprendizagem e descoberta, vejo a perfeição da obra do Pai.

“E se clamares por inteligência, e por entendimento alçares a voz; se buscares a sabedoria como a prata e, como a tesouros escondidos a procurares, então entenderás o temor do SENHOR, e achará o conhecimento de Deus. Porque o SENHOR dá a sabedoria, da sua boca vem o entendimento. Ele reserva a verdadeira sabedoria para os retos, e escudo para os que caminham na sinceridade, guarda as veredas do juízo e conserva o caminho dos seus separados. Então entenderás justiça, juízo e equidade todas as boas veredas. Porquanto a sabedoria entrará no teu coração, e o conhecimento será agradável à tua alma.”

(Provérbios 2:3-10)

BÍBLIA SAGRADA



AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À minha esposa **Carla**, pelo incentivo e amor durante todos os momentos. Seu carinho é fundamental para nossas conquistas.

Ao meu pai **Roosevelt**, minha mãe **Ednéa**, e meu irmão **Ronny**, que sempre estão presentes, colaborando nos momentos de decisões importantes.

Aos meus alunos do Curso de Residência em Cirurgia Bucal da **PUC-MG** e aos alunos do Curso de Especialização em Implantodontia da **ABO-MG**, grandes incentivadores do meu trabalho. Também aos professores e funcionários destas instituições.

Aos amigos do **Uni-BH**.

Aos amigos da **equipe de cirurgia maxilofacial**, em Belo Horizonte.

Aos colegas do Mestrado e Doutorado, aos professores e funcionários da **PUC-RS**.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia: **Ana Prestes**, **Davenir Brush**, **Marcos Correia** e **Carlos Minossi**.

Aos amigos do curso que, devido à convivência em vários momentos, marcaram com uma participação especial: **Hedelson Borges**, **Rosilene Machado**, **Marconi Maciel**, **Otacílio Chagas** e **André Takahashi**.

A todos os parentes, amigos e também à **Maria Curty** e **Ricardo Houara** pelo companheirismo.

Aos professores do **Laboratório de Patologia Bucal** da PUC-MG e à técnica **Reni**, pela colaboração.

À doutora **Cristiana Nunes** do Laboratório Moacyr Junqueira pela ajuda fundamental.

Ao professor **Manoel Sant`Ana** e à **Vanessa**, do Laboratório de Patologia Bucodental da PUC-RS.

À professora **Maria Martha** pela ajuda na realização do trabalho e pela convivência no período do Doutorado.

À fundamental colaboração da professora **Fernanda Morrone**, do Departamento de Atenção Farmacêutica e Práticas Profissionais (Faculdade de Farmácia PUC-RS).

À professora **Ana Spohr**, do Laboratório de Materiais Dentários – Faculdade de Odontologia PUC-RS pela ajuda fundamental.

Ao professor **Rogério Belle** pela amizade, convivência e pelos momentos de incentivo.

Ao Adriano e Jaqueline da **Maximus®** Instrumentos Hospitalares, pela colaboração.

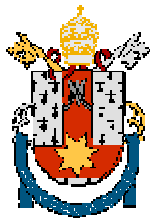
À **Neoorto®** pela colaboração.

À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, na pessoa do Magnífico Reitor Prof. **Joaquim Clotet**.

À Faculdade de Odontologia da PUCRS, na pessoa do seu Diretor, professor **Marcos Túlio Mazzini Carvalho**.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUC-RS, na pessoa do seu Coordenador, professor Dr. **José Antônio Poli de Figueiredo**.

Ao **Ministério da Educação**, por meio da **CAPES**, a qual tem investido na formação de profissionais da educação e pesquisa.



RESUMO

RESUMO

O presente trabalho analisou o nível de integração de enxertos ósseos *onlay* de calota craniana de ratos, em região mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]). Para isso, foram realizadas avaliações histológicas, histométricas, além de teste biomecânico de força de tração. Vinte e sete ratos Wistar, machos, foram submetidos à remoção de enxertos bicorticais da calota craniana e fixados nos ângulos mandibulares. Os animais foram divididos em 6 grupos: C21d – fixação do enxerto (controle - morte após 21 dias); I21d – fixação do enxerto com o pó do Norian[®] entre o enxerto e o leito receptor (morte após 21 dias); B21d – fixação do enxerto e colocação de Norian[®], atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (morte após 21 dias); C55d – fixação do enxerto (controle - morte após 55 dias); I55d – fixação do enxerto com o pó do Norian entre o enxerto e o leito receptor (morte após 55 dias); B55d – fixação do enxerto e colocação de Norian, atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (morte após 55 dias). As hemi-mandíbulas do lado esquerdo foram destinadas ao exame histológico e histométrico e as hemi-mandíbulas do lado direito ao teste de força de tração. Em nenhum dos casos ocorreu infecção ou complicações pós-operatórias. *Análise histológica e histométrica* - resquíscios do Norian foram vistos tanto em 21 quanto em 55 dias, demonstrando uma gradual substituição por tecido ósseo vascularizado; foi observada uma maior formação óssea na interface enxerto/osso receptor (IEOR) do lado esquerdo nos grupos que utilizaram o fosfato de cálcio (B21d, B55d e I55d em relação ao C21d) ($p= 0,043$); um melhor resultado também foi observado em relação ao osso total neoformado na interface do lado esquerdo, nesses mesmos grupos ($p= 0,08$); o grupo I55d apresentou resultados superiores aos grupos controle (C21d e C55d) e ao grupo B21d na formação de osso na IEOB do lado direito ($p= 0,045$); no item osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo, o grupo C21d não apresentou diferença significativa em relação ao C55d, contudo, demonstrou haver formado menos osso que os demais grupos que utilizaram o fosfato de cálcio ($p= 0,018$). *Teste de força de tração* - diferentes dispositivos foram desenvolvidos para conseguir uma fixação eficaz dos espécimes durante o ensaio mecânico, sendo utilizada a máquina EMIC[®] DL-200 e o programa MTest versão 3.0 para obtenção das forças de remoção dos enxertos em Newton (N). O teste de tração demonstrou que o grupo C21d apresentou resultados significativamente inferiores aos demais grupos ($p= 0,08$), além disso, em dois espécimes deste grupo, um enxerto não

estava integrado e o outro estava fracamente aderido ao osso receptor. Comparando-se os grupos Controle (21d e 55d), ao longo do tempo, houve um aumento significativo na força necessária para a remoção dos enxertos ($p= 0,032$). O estudo demonstrou bons resultados na utilização dos enxertos *onlay* associados ao Norian[®], apresentando maior nível de formação óssea, mesmo se tratando de uma região de constante estresse muscular. Além disso, houve uma melhor integração biomecânica, principalmente na fase inicial e mais crítica da cicatrização.

Palavras-chave*: Cimentos para Ossos; Fosfatos de Cálcio; Transplante Ósseo; Experimentação Animal; Ratos Wistar; Resistência à Tração.

*Bireme :- Centro Latino-Americano e do Caribe de Informações em Ciências da Saúde.
DECS: Descritores em Ciência da Saúde. São Paulo. Bireme/OPAS, 2007. Disponível em <http://decs.bvs.br> . Acesso em 19 de janeiro de 2010.



ABSTRACT

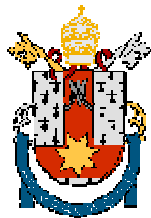
ABSTRACT

This present work has analyzes the integration level of onlay bone grafts of the skull in rats' mandibular region, combined or not with calcium phosphate cement (Norian[®]). For this, histology, morphometry, and biomechanical test of traction force have been evaluated. Twenty seven male Wistar rats were subjected to removal of bicortical grafts of the skullcap and fixed in the mandibular angles. The animals were divided into 6 groups: C21d – graft fixation (control – death after 21 days); I21d – graft fixation with Norian[®] powder between the graft and recipient bed (death after 21 days), B21d - graft fixation and placement with Norian[®], acting as a barrier on the edges of the bone graft (death after 21 days) C55D - graft fixation (control - 55 days after death); I55d - graft fixation with Norian[®] powder between the graft and the recipient bed (death after 55 days); B55d - graft fixation and placement with Norian[®], acting as a barrier on the edges of the graft (death after 55 days). The hemi-jaws on the left side were taken to the histology and histometric exam and hemi-jaws of the right to a traction force test. There was no infection in none of the cases or postoperative complications. *Histological and histometric analysis* – Norian[®]'s remnants were seen in both 21 and in 55 days, showing a gradual replacement by vascularized bone tissue; a higher bone formation was observed in the graft / bone interface receptor (GBIR) on the left side in the groups using the calcium phosphate (B21d, B55d and I55d in relation to C21d) ($p = 0.043$); a better result was also observed in regard to the total newly formed bone on the left side interface of these same groups ($p = 0.08$); the I55d group presented superior results than the control groups (C21d and C55d) and the group B21d concerning the GBIR bone formation on the right side ($p = 0.045$); about the item on the horizontally newly formed bone on the left side, the group C21d had no significant difference in comparison to C55d, however, it presented less bone formation than the other groups that used the calcium phosphate ($p = 0.018$). *The traction force test* - different devices have been developed to achieve an effective fixation of the specimens during the mechanical test, such as the EMIC[®] DL-200 machine and the MTest 3.0 version program to obtain the strength necessary to remove the grafts measured in Newton (N). The

traction test demonstrated that the C21d group's results were significantly lower than other groups ($p = 0.08$), furthermore, in two specimens from this group, one graft was not integrated and the other was weakly attached to the bone receptor. Comparing the control groups (21d and 55d), over time, there was a significant increase of the strenght required for the removal of the graft ($p = 0.032$). The study showed good results in the use of onlay grafts associated with Norian[®], presenting higher levels of bone formation, even when dealing with a region of constant muscle stress. Furthermore, there was a better biomechanic integration, especially in the initial and most critical part of healing.

Key words*: Bone Cements; Calcium Phosphate; Bone Transplantation; Animal Experimentation; Rats Wistar; Tensile Strength.

*Bireme :- Centro Latino-Americano e do Caribe de Informações em Ciências da Saúde.
DECS: Descritores em Ciência da Saúde. São Paulo. Bireme/OPAS. Disponível em <http://decs.bvs.br> . Acesso em 19 de janeiro de 2010.



LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

C21d	grupo controle 21 dias
C55d	grupo controle 55 dias
I21d	grupo interface 21 dias
I55d	grupo interface 55 dias
B21d	grupo barreira 21 dias
B55d	grupo barreira 55 dias
IEOR	interface enxerto/osso receptor
mm	milímetros
mg	miligrama
kg	quilograma
®	marca registrada
N	Newton
din	dina
Kgf	quilograma força
Lb	libra
Lbf	libra força
HE	hematoxilina e eosina
%	porcentagem
Fig.	figura
CTBMF	Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PUCMG	Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
25X	vinte e cinco vezes
50X	cinquenta vezes
100X	cem vezes
400X	quatrocentas vezes



LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 - Esquemática do estudo experimental.....	36
---	----

ARTIGO 1

Estudo comparativo entre as forças de remoção de enxertos onlay, utilizados em reconstrução mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian®). Estudo experimental (parte I): análise através de teste de tração

Figura 1 (a,b). a - Visualização da face externa da calota craniana, com as demarcações dos enxertos, realizadas com a broca trefina de 4,0 mm de diâmetro interno; b – enxertos removidos.....	43
Figura 2 (a,b). Dissecção dos tecidos moles sobre o enxerto (Grupo B21d). Parte do fosfato de cálcio se apresenta intimamente aderido ao músculo masséter.....	44
Figura 3 (a,b). Mandíbulas após o processo de secagem. a – Grupo B55d; b – Grupo I21d.....	44
Figura 4 (a,b). Cera dentro do orifício correspondente ao parafuso. A – Face lateral da hemi-mandíbula; b – Face medial da hemi-mandíbula.....	45
Figura 5. Hemi-mandíbula seccionada.....	45
Figura 6 (a,b). Plataforma de Aço Inoxidável para apreensão do acrílico com o osso receptor.....	46

Figura 7 (a,b).	a – componentes do Pino de Tracionamento; b – ranhuras inferiores da Base Cilíndrica.....	46
Figura 8.	Moldeira de Aço Inoxidável com espaços negativos capazes de incluir 6 espécimes em acrílico ao mesmo tempo.....	47
Figura 9 (a,b).	Inclusão do osso receptor em acrílico.....	47
Figura 10 (a,b).	Peça incluída em acrílico, adaptada à Plataforma de Aço Inoxidável.....	48
Figura 11 (a,b).	a - Peça posicionada para o teste de tração; b - enxerto aderido ao Pino de Tracionamento, após seu arrancamento do osso receptor mandibular.....	48
Figura 12.	A - Leito do osso receptor mandibular; B - enxerto aderido ao Pino de Tracionamento; C - Base Cilíndrica coberta por cola; D – cera utilidade.....	49
Gráfico 1.	Comparação da força tração entre os diferentes tempos (21 e 55 dias) para cada grupo.....	52

ARTIGO 2

Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian®) associado a enxertos onlay de calota craniana em região mandibular. Estudo experimental (parte II): análise histológica e histométrica

- Figura 1.** Visualização da face externa da calota craniana, com as demarcações dos enxertos, realizadas com a broca trefina de 4,0 mm de diâmetro interno.....64
- Figura 2.** Enxerto ósseo do grupo controle adaptado em região de ângulo mandibular esquerdo.....65
- Figura 3.** Enxerto ósseo do grupo interface, demonstrando a adaptação do parafuso ao enxerto. Presença do pó do Norian® na superfície que fará contato com o osso receptor.....65
- Figura 4.** Enxerto ósseo do grupo barreira adaptado em ângulo mandibular esquerdo. Observar a presença do Norian® recobrimo as bordas do enxerto.....65
- Figura 5.** (25X) - Medidas lineares da borda inferior do enxerto (linha amarela) e do osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor, na IEOR (linha preta).....68
- Figura 6.** (25X) - Mais de 1,0mm de osso neoformado além da borda do enxerto, horizontalmente (seta vermelha); e osso neoformado acima da metade da espessura do enxerto, verticalmente (linha azul).....68
- Figura 7.** (25X) - Mais de 1,0mm de osso neoformado além da borda do enxerto, horizontalmente (seta vermelha); e osso neoformado até a metade da espessura do enxerto, verticalmente (linha azul). Contudo, este osso

	neoformado reacional se apresenta à distância do enxerto, com tecido conjuntivo interpondo (seta amarela).....	69
Figura 8.	C21d-2 (100X) – Remodelação óssea do tecido receptor e tecido conjuntivo fibroso na base do enxerto (setas amarelas).....	70
Figura 9.	C21d-4 (100X) – Tecido muscular e tecido conjuntivo penetrando a IEOR através da borda do enxerto (setas amarelas).....	71
Figura 10.	I21d-2 (100X) – Tecido conjuntivo e muscular diretamente sobre a superfície externa do enxerto e infiltrando a interface através da borda direita. Observar ilhas de osso reacional formadas em meio ao tecido conjuntivo e sobre o osso receptor (setas amarelas). Vasos sanguíneos internamente ao enxerto (setas pretas).....	72
Figura 11.	I21d-1 (50X) – Neoformação óssea além do enxerto (seta amarela). Tecido conjuntivo entre o osso neoformado e a borda esquerda do enxerto (setas pretas).....	72
Figura 12.	I21d-2 (50X) – Formação de osso reacional horizontalmente e verticalmente à distância do enxerto. Tecido conjuntivo penetrando a borda esquerda e ocupando grande parte da IEOR.....	73
Figura 13.	I21d-3 (400X) – Osso neoformado em região de rosca de parafuso do lado esquerdo. Esse osso encontra-se abaixo do osso neoformado na IEOR.....	73
Figura 14.	B21d-1 (100X) – Barreira de Norian® (setas amarelas) e tecido conjuntivo. Observar que o tecido muscular apresenta-se afastado do enxerto.....	74

Figura 15. B21d-1 (400x) – Observar, na ordem de superior para inferior, os tecidos muscular, conjuntivo (setas amarelas) e o Norian® (setas pretas).....	75
Figura 16. B21d-1 (400X) – Presença de vaso sanguíneo (seta amarela) e osteoblastos na região medular do enxerto (setas pretas).....	75
Figura 17. B21d-3 (50X) – Osso neoformado envolvendo todo o enxerto - lado esquerdo. Neste local houve integração total do enxerto ao osso receptor. Superiormente há Norian® sendo substituído por tecido ósseo (seta amarela).....	76
Figura 18. B21d-3 (400X) – Em maior aumento, Norian® sendo substituído por tecido ósseo, acima da superfície externa do enxerto.....	76
Figura 19. B21d-4 (100X) – Setas amarelas mostrando a presença do Norian® dentro do osso neoformado na IEO; Norian® envolvido por tecido conjuntivo, acima da superfície externa do enxerto (setas pretas).....	77
Figura 20. B21d-5 (50X) – Osso neoformado envolvendo todo o enxerto do lado esquerdo. Resquício de Norian® (seta amarela).....	77
Figura 21. C55d-1 (50X) – Presença de osso maduro ao redor das roscas e na IEO próximo ao parafuso (setas amarelas). Tecidos muscular, conjuntivo e adiposo envolvendo o enxerto e penetrando parte da IEO.....	78
Figura 22. C55d-2 (50X) – Tecido adiposo, muscular e conjuntivo penetrando a borda esquerda do enxerto e tecido conjuntivo na IEO.....	79
Figura 23. C55d-2 (50X) – Tecido conjuntivo e muscular envolvendo o enxerto do lado direito; tecido conjuntivo na IEO.....	79

- Figura 24.** C55d-4 (100X) – Osso ao redor de todo o enxerto e remodelado nas regiões ao redor das roscas do parafuso (setas amarelas).....80
- Figura 25.** C55d-5 (50X) – Reabsorção externa do enxerto com invasão de tecido conjuntivo em sua medular.....80
- Figura 26.** I55d-1 (50X) - Osso remodelado ao redor das roscas do parafuso (setas amarelas) sobre o enxerto (setas pretas). Há tecido conjuntivo na borda direita. Osso na IEOR. Osso reacional vascularizado horizontal e vertical.....81
- Figura 27.** I55d-3 (50X) – Penetração de tecido conjuntivo na IEOR. Tecido conjuntivo, adiposo e muscular sobre a superfície externa do enxerto e do osso reacional.....82
- Figura 28.** I55d-4 (100x) – Reabsorção interna do enxerto (setas amarelas) proveniente de tecido conjuntivo que penetrou a borda esquerda e parte da IEOR (setas pretas).....82
- Figura 29.** B55d-1 (50X) – Reabsorção do enxerto com pequena quantidade de osso cercado por tecido conjuntivo. Intensa remodelação do osso receptor. Presença de Norian[®] (setas amarelas) e osso reacional vertical (setas pretas).....83
- Figura 30.** B55d-2 (50X) – Tecido conjuntivo internamente ao enxerto do lado esquerdo; tecidos conjuntivo e adiposo penetrando a borda esquerda; Norian[®] sobre e ao lado do enxerto; ilhas de osso neoformado internamente ao Norian[®] (setas amarelas).....84
- Figura 31.** B55d-3 (50X) – Osso neoformado na IEOR; integração do osso neoformado à borda direita do enxerto; tecido conjuntivo e adiposo afastando o músculo; resquícios de Norian[®] dentro do osso neoformado (setas amarelas).....84

Figura 32. B55d-4 (100X) – Enxerto do lado esquerdo, envolvido por osso vascularizado; Norian [®] sendo substituído por osso (seta amarela); resquícios de Norian [®] sobre o enxerto (setas pretas).....	85
Figura 33. B55d-5 (50x) – Enxerto do lado direito (setas amarelas) completamente envolvido por osso neoformado, vascularizado.....	85
Figura 34. B55d-5 (50x) – Enxerto do lado esquerdo envolvido por osso; osso neoformado, vascularizado, contendo resquícios de Norian [®] em seu interior (setas amarelas); resquícios de Norian [®] sobre o enxerto (seta preta).....	86
Figura 35. B55d-5 (400x) – Norian [®] sendo substituído por osso vascularizado; borda esquerda do enxerto (seta amarela).....	86
Gráfico 1. Comparação do percentual das variáveis entre os grupos em relação à borda inferior do enxerto (retirada do grupo Interface 21 dias).....	88
Gráfico 2. Comparação entre os grupos do osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo.....	89
Gráfico 3. Comparação entre os grupos do osso neoformado verticalmente do lado direito.....	90



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição dos grupos da pesquisa.....34

ARTIGO 1

Estudo comparativo entre as forças de remoção de enxertos onlay, utilizados em reconstrução mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian®). Estudo experimental (parte I): análise através de teste de tração

Tabela 1. Força de tração para remoção dos enxertos.....50

Tabela 2. Comparação da força tração entre os grupos (retirada do grupo I21d)....51

Tabela 3. Comparação da força tração entre os diferentes tempos (21 e 55 dias) para cada grupo.....51

ARTIGO 2

Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian®) associado a enxertos onlay de calota craniana em região mandibular. Estudo experimental (parte II): análise histológica e histométrica

- Tabela 1.** Comparação do percentual das variáveis entre os grupos em relação à borda inferior do enxerto (retirada do grupo Interface 21 dias).....87
- Tabela 2.** Comparação entre os grupos do osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo.....88
- Tabela 3.** Comparação entre os grupos do osso neoformado verticalmente do lado direito.....89



SUMÁRIO

SUMÁRIO

SUMÁRIO	27
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
2. DETALHES DA PESQUISA	32
2.1 Animais	33
2.2 Distribuição dos Grupos	34
2.3 Desenvolvimento da Pesquisa	35
2.4 Resumo Esquemático do Estudo Experimental	36
3. ARTIGOS	37
ARTIGO 1 - Estudo comparativo entre as forças de remoção de enxertos <i>onlay</i> , utilizados em reconstrução mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian®). Estudo experimental (parte I): análise através de teste de tração.....	39
Resumo.....	40
Introdução.....	41
Materiais e Métodos.....	42
Resultados.....	50
Discussão.....	53
Referências.....	57
ARTIGO 2 - Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian®) associado a enxertos <i>onlay</i> de calota craniana em região mandibular. Estudo experimental (parte II): análise histológica e histométrica.....	60
Resumo.....	61
Introdução.....	62
Materiais e Métodos.....	63
Resultados.....	70
Discussão.....	91
Referências.....	97
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
5. REFERÊNCIAS	102
APÊNDICES	



1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O osso autógeno é considerado o “padrão ouro” para a reconstrução dos maxilares (CHACON et al. 2004). Os enxertos homogêneos, heterogêneos e aloplásticos são utilizados como recurso na substituição aos autógenos (NASR et al., 1999; MISCH, 2000; FROUM et al., 2002; GORUSTOVICH et al. 2002). A utilização da associação do auto-enxerto a outros materiais tem sido relatada (THORWARTH et al., 2006; VOS et al., 2009), com o intuito de promover o aumento de maxilas e mandíbulas edêntulas para a futura reabilitação com implantes dentários (VOS et al., 2009). Quando os biomateriais são utilizados em associação com osso autógeno, ao invés de serem utilizados isoladamente, há uma clara aceleração da cicatrização óssea, devido à viabilidade das células transplantadas, juntamente com o osso do próprio indivíduo (THORWARTH et al., 2006).

Há vários sítios doadores de osso autógeno, tanto intra quanto extra-orais (VOS et al., 2009). Relatos de baixos níveis de reabsorção e o alto grau de qualidade do osso de calvária demonstram um grande nível de sucesso da utilização desse na reabilitação de maxilas e mandíbulas atróficas, que irão suportar implantes dentários (SMOLKA e IIZUCA, 2006).

Dentre os diferentes biomateriais utilizados em cirurgias, os cimentos à base de cálcio têm sido considerados biocompatíveis, osteocondutivos e possuem um potencial de substituição por osso (ZINS, MOREIRA-GONZALEZ E PAPAY, 2007). Geram ainda manutenção de espaço durante a osteocondução, em defeitos ósseos, e possuem a capacidade de serem utilizados como barreira protetora (SILVEIRA et al., 2008).

O cimento de fosfato de cálcio (Norian®) tem apresentado satisfatórios resultados biológicos e mecânicos para o uso em aplicações clínicas. Possui um tempo de manipulação até o início de seu endurecimento e quando implantado

dentro de defeitos craniais, remodela-se vagarosamente através de um processo normal de ação de osteoclastos e osteoblastos. Além disso, possuiu grande resistência durante o processo de reabsorção e substituição por novo osso (KIRSCHNER et al. 2002).

Diferentes trabalhos demonstram resultados de propriedades biomecânicas de tecidos biológicos e materiais aloplásticos (CAVALCANTE JR et al 2002; COSTA et al. 2006; WU et al. 2006; ZINS et al., 2008), contudo, não há nenhum relato da mensuração da força de tração relacionada aos enxertos ósseos autógenos aposicionais, isolados ou associados aos materiais aloplásticos. Segundo Rossi et al. (2007), a análise da força de ruptura em ensaios mecânicos pode ser considerada uma ferramenta útil na avaliação da resistência de materiais, fornecendo resultados precisos.

Frente à diversidade de trabalhos existentes na literatura, há poucos artigos que demonstram o uso do Norian[®] na reconstrução da região maxilofacial (CHAMBERS et al, 2007; SINIKOVIC, et al, 2007; STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; WOLFF et al., 2004). Também há uma ausência de artigos detalhando os acontecimentos histológicos da regeneração de enxertos ósseos autógenos com o uso do Norian[®], além das propriedades biomecânicas que surgem com a associação deste cimento aos enxertos *onlay*.

Segundo o fabricante, a utilização do Norian[®] com enxertos autógenos ou sobre tecidos não vascularizados ainda não é conhecida.

Perante a ausência de estudos experimentais sobre o assunto, o presente trabalho teve como objetivo analisar os resultados histológicos, histométricos e biomecânicos de enxertos ósseos *onlay* de calota craniana em região mandibular de ratos, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]).



2. DETALHES DA PESQUISA

2. DETALHES DA PESQUISA

2.1 - Animais

No presente estudo foi utilizado ratos Wistar machos adultos, pesando entre 400 – 450g (n = 3 a 5 por grupo; n total = 27 animais) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Inicialmente 30 animais foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos propostos, sendo que três animais morreram e foram repostos. Após essa reposição, houve mais três mortes, permanecendo um total de 27 animais na pesquisa. As mortes ocorreram em um período máximo de até 48h após a indução da anestesia.

Os animais foram mantidos em estantes ventiladas, equipadas com filtros de entrada e saída de ar (marca Alesco[®]), com temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ \text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7:00h e luzes apagadas às 19:00h). Dentro das estantes, os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas para roedores, preenchidas com maravalha de pinus (troçadas 3 vezes por semana), em número máximo de 5 animais por gaiola. Os animais receberam ração peletizada (marca Nuvilab[®]) e água filtrada (filtro marca Jojaco[®]) *ad libitum*. Nenhum procedimento experimental foi realizado no espaço destinado à manutenção dos animais, a fim de evitar a produção de qualquer tipo de estresse comportamental. Durante os procedimentos experimentais, a temperatura do laboratório foi mantida em $22 \pm 1^\circ \text{C}$. Foi utilizado um tempo mínimo de adaptação ao novo ambiente de pelo menos 1h, no qual os animais continuaram com livre acesso à água e à ração. Todos os experimentos foram realizados entre as 8:00h e 18:00h.

Os procedimentos experimentais seguiram as recomendações para o cuidado com animais de laboratório e normas éticas para a experimentação em animais conscientes, do Guia de Uso e Cuidado com Animais Laboratoriais do National Institutes of Health (NIH) dos Estados Unidos da América, que são adotadas pelo Conselho Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O número

de animais e a intensidade dos estímulos foram os mínimos necessários para demonstrar os efeitos consistentes do tratamento com o antagonista estudado. Todos os procedimentos foram submetidos à apreciação da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia (apêndice A) e do Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (apêndice B).

Para a realização dos procedimentos, os animais foram anestesiados pela administração intraperitoneal da associação de xilazina (10 mg/kg) e quetamina (100 mg/kg peso). A eutanásia foi realizada por inalação de isoflurano, nos intervalos de tempo apropriados. Depois da eutanásia, e da remoção da região anatômica de interesse para o estudo, os animais foram considerados como lixo biológico, sendo recolhidos pelo setor de descarte da PUCRS.

2.2 – Distribuição dos Grupos

Tabela 1. Distribuição dos grupos da pesquisa

ABREVIACÕES	GRUPO	NORIAN®	EUTANÁSIA	N.º ANIMAIS
C21d	Controle	não utilizou	21 dias	05
I21d	Interface	pó na interface	21 dias	03
B21d	Barreira	como barreira	21 dias	05
C55d	Controle	não utilizou	55 dias	05
I55d	Interface	pó na interface	55 dias	04
B55d	Barreira	como barreira	55 dias	05

Frente ao metabolismo dos animais utilizados, a eutanásia foi programada visando grupos que representassem uma fase inicial e uma fase relativamente tardia do processo de cicatrização dos enxertos.

2.3 – Desenvolvimento da Pesquisa

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório do Departamento de Atenção Farmacêutica e Práticas Profissionais da Faculdade de Farmácia da PUCRS.

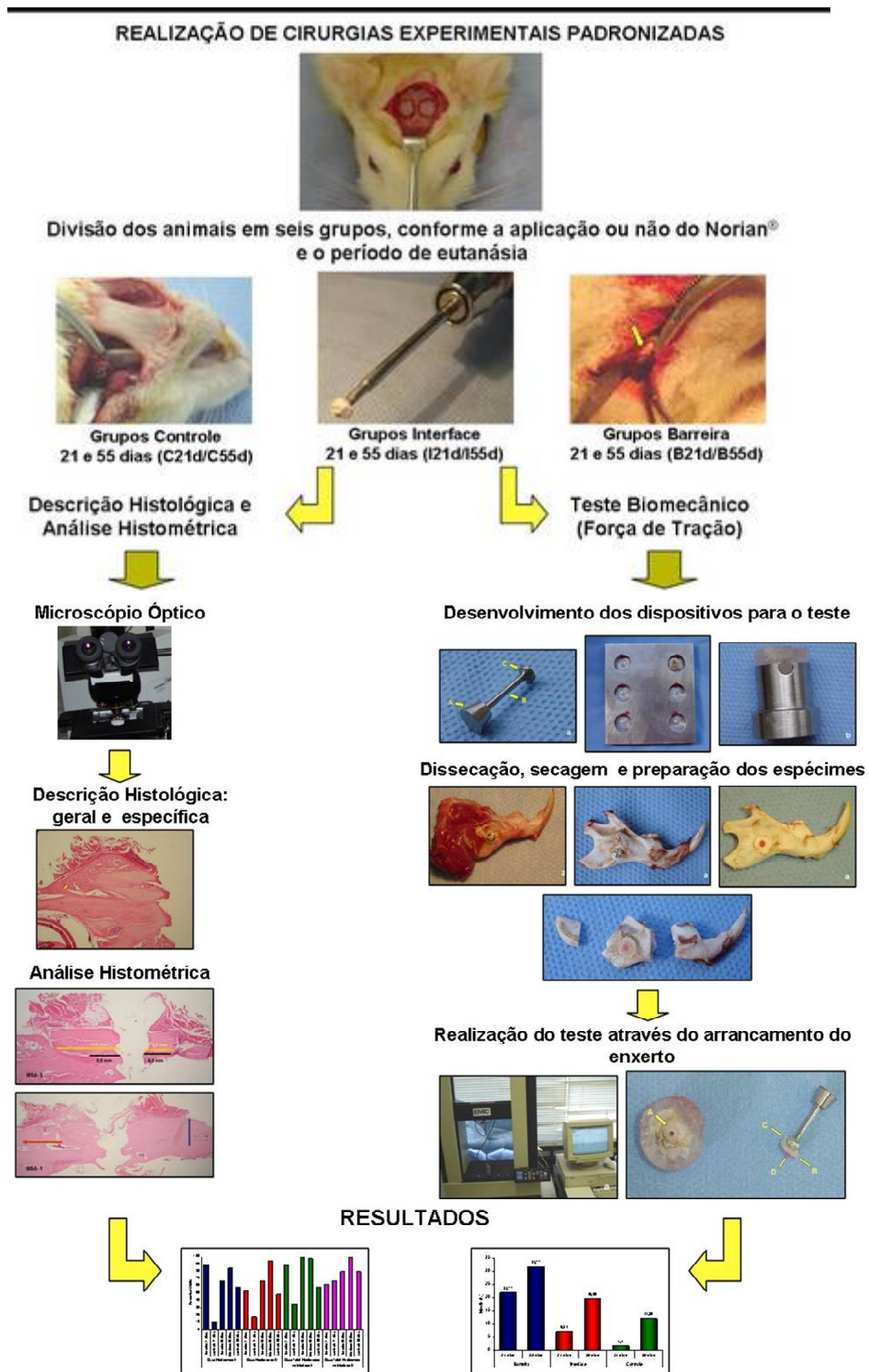
O processo de descalcificação das peças anatômicas, bem como a confecção das lâminas histológicas foi realizado no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da PUC-MG.

A análise histométrica e a digitalização das imagens histológicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Moacyr Junqueira, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

O teste de força de tração foi realizado no Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia da PUCRS.

2.4 - Resumo Esquemático do Estudo Experimental

Figura 1 – Esquemática do estudo experimental



FONTE: Dados da pesquisa. Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS



3. ARTIGOS

3. ARTIGOS

ARTIGO 1

Estudo comparativo entre as forças de remoção de enxertos onlay, utilizados em reconstrução mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian®). Estudo experimental (parte I): análise através de teste de tração *

Roger Lanes SILVEIRA

Hedelson Odenir lecher BORGES

Jonas Pereira ANDRADE

Rafael Perdomo FÉLIX

Ricardo Gontijo HOUARA

Rogério Belle OLIVEIRA

Artigo confeccionado no modelo da revista: The International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery

ARTIGO 2

Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian®) associado a enxertos onlay de calota craniana em região mandibular. Estudo experimental (parte II): análise histológica e histométrica *

Roger Lanes SILVEIRA

Hedelson Odenir lecher BORGES

Jonas Pereira ANDRADE

Rafael Perdomo FÉLIX

Rogério Belle OLIVEIRA

Artigo confeccionado no modelo da revista: The International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery

ARTIGO 1

Estudo comparativo entre as forças de remoção de enxertos onlay, utilizados em reconstrução mandibular, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio (Norian®). Estudo experimental (parte I): análise através de teste de tração *

R. L. Silveira ^{*1,5,6}

H. O. I. Borges²

J. P. Andrade³

R. P. Félix³

R. G. Houara⁴

R. B. Oliveira¹

* Resultados da Tese de Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF)

¹ Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS); ²Universidade Estadual de Londrina (UEL-PR); ³Faculdade de Odontologia (PUC-RS); ⁴Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); ⁵ Residência em Cirurgia Oral - Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG); ⁶ Programa de Pós-Graduação em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia, Seção Minas Gerais (ABO-MG).

Correspondência:

Roger Lanes Silveira

Rua Gonçalves Dias, 1181 Sala 705 – Bairro Funcionários

Belo Horizonte (MG) – Brasil 30140-091

rogerlanes@yahoo.com.br

Tel: 55 31 3243-1881 / 55 31 9222-3392

RESUMO

O presente trabalho avaliou as forças de remoção de enxertos *onlay*, através de teste de tração, utilizados na reconstrução mandibular de ratos Wistar. Vinte e sete ratos, machos, foram submetidos à remoção de enxertos bicorticais da calota craniana e fixados nos ângulos mandibulares. Os animais foram divididos em 6 grupos: C21d – fixação do enxerto (controle - eutanásia após 21 dias); I21d – fixação do enxerto com o pó do Norian[®] entre o enxerto e o leito receptor (eutanásia após 21 dias); B21d – fixação do enxerto e colocação de Norian[®], atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (eutanásia após 21 dias); C55d – fixação do enxerto (controle - eutanásia após 55 dias); I55d – fixação do enxerto com o pó do Norian[®] entre o enxerto e o leito receptor (eutanásia após 55 dias); B55d – fixação do enxerto e colocação de Norian[®], atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (eutanásia após 55 dias). Diferentes dispositivos foram desenvolvidos para conseguir uma fixação eficaz dos espécimes durante o ensaio mecânico, sendo utilizada a máquina EMIC[®] DL-200 e o programa MTest versão 3.0 para obtenção das forças de remoção dos enxertos em Newton (N). O teste de tração demonstrou que o grupo C21d apresentou resultados significativamente inferiores aos demais grupos ($p=0,08$) (Kruskal-Wallis). Além disso, em dois espécimes desse grupo, um enxerto não estava integrado e o outro estava fracamente aderido ao osso receptor. Comparando-se os grupos Controle (21d e 55d), ao longo do tempo, houve um aumento significativo na força necessária para a remoção dos enxertos ($p=0,032$) (Mann-Whitney). O presente trabalho desenvolveu um método viável para realização de teste de força de tração aos enxertos ósseos aposicionais, e os resultados demonstraram que o Norian[®] proporcionou melhores resultados biomecânicos quando associado aos enxertos *onlay*, principalmente na fase inicial e mais crítica da cicatrização.

PALAVRAS-CHAVE: Cimento ósseo; cimento de fosfato de cálcio; enxerto ósseo; enxerto ósseo aposicional; experimentação animal; resistência à tração.

INTRODUÇÃO

A reconstrução mandibular através de enxertos ósseos, visando a futura instalação de implantes dentários, é um objetivo na reabilitação de muitos casos (Schwartz-Arad e Levin, 2007). Dessa forma, o osso autógeno é largamente utilizado com esse intuito, sendo considerado o material ideal (CHACON et al., 2004; VOS et al., 2009).

Existem diferentes áreas doadoras (VOS et al., 2009), sendo que, quando se necessita de uma estrutura rígida, estável, a forma de bloco córtico-medular é indicada (CHACON et al. 2004). Assim, devido aos bons resultados obtidos nas reconstruções maxilomandibulares, o osso de calota craniana possui uma grande indicação (SMOLKA e IIZUCA, 2006; SMOLKA et al., 2006; GLEIZAL e BEZIAT, 2007).

Devido a fatores relacionados à limitação na utilização dos enxertos autógenos, os aloplásticos, dentre outros enxertos, são utilizados associados ao osso autógeno ou substituindo esse (NASR et al., 1999; MACEDO et al. 2004; STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; OUSTERHOUT e STELNICKI, 1996; SILVEIRA et al, 2008; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; THORWARTH et al., 2006). O cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]) tem demonstrado bons resultados mecânicos, além dos biológicos, alcançando uma força máxima de compressão após um período de 12 horas de sua manipulação. Com o tempo, há um processo fisiológico de substituição deste material por osso neoformado (KIRSCHNER et al. 2002; KOPYLOV, et al. 2002). Dessa forma, tem sido utilizado em cirurgias cranianas (KIRSCHNER et al., 2002; GÓMEZ et al., 2005) e, em menor proporção, em reconstruções maxilofaciais, principalmente quando há uma necessidade de ganho de volume ósseo em maxila e mandíbula (STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; WOLFF et al., 2004; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; CHAMBERS et al, 2007; SINIKOVIC, et al, 2007).

Recentemente há um aumento no número de publicações de cirurgias experimentais que avaliam a força de tração. A análise da força de ruptura em ensaios mecânicos é considerada uma ferramenta útil na avaliação da resistência de materiais fornecendo resultados precisos (ROSSI et al., 2007). Diferentes trabalhos demonstram resultados de propriedades biomecânicas de tecidos biológicos e materiais aloplásticos (CAVALCANTE JR et al 2002; COSTA et al. 2006; WU et al. 2006; ZINS et al., 2008).

O presente trabalho avalia, através de teste de tração, as diferentes forças de remoção dos enxertos autógenos *onlay* de calota craniana, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio, utilizados na reconstrução óssea mandibular de ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e grupos

27 Ratos Wistar, adultos, pesando uma média de 400g, foram submetidos a remoção de enxertos bicorticais de calota craniana e fixação com parafuso de titânio em ângulo de mandíbula, sendo divididos em 6 grupos, conforme a forma de aplicação do material (cimento de fosfato de cálcio – Norian® CRS® Craniofacial Repair System® Fast Set™ Putty) ou a não utilização dele:

-*Grupo controle 21 dias (C21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, não sendo utilizado o fosfato de cálcio; grupo com cinco animais;

-*Grupo interface 21 dias (I21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, utilizando-se o pó do Norian na interface do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com três animais;

-*Grupo barreira 21 dias (B21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, utilizando-se o fosfato de cálcio, na forma de barreira, para cobrir as bordas do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com cinco animais;

-*Grupo controle 55 dias (C55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, não sendo utilizado o fosfato de cálcio; grupo com cinco animais;

-*Grupo interface 55 dias (I55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, utilizando-se o pó do Norian na interface do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com quatro animais;

-*Grupo barreira 55 dias (B55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, utilizando-se o fosfato de cálcio, na forma de barreira, para cobrir as bordas do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com cinco animais.

Procedimento cirúrgico

A anestesia foi realizada com cloridrato de quetamina (Dopalen®) 100mg/kg (0,1ml/100g) e cloridrato de xilazina (Anasedan®) 10mg/kg (0,05ml/100g). Antes do início de qualquer procedimento, foi realizada profilaxia antibiótica com cefalexina (60mg/kg – intraperitoneal).

A tricotomia, antissepsia e degermação foram realizadas entre as orelhas e na região submandibular. Um campo estéril fenestrado isolou a cabeça do restante do corpo do animal. Realizada incisão entre as orelhas, em pele e musculatura, e outra em pericrânio, permitindo o afastamento dos tecidos e a visualização da face externa da calota craniana. Duas trepanações foram feitas com uma broca trefina com 4,0 mm de diâmetro interno, sob irrigação com soro fisiológico a 0,9%, sem envolver a sutura sagital mediana (**Fig. 1 – a,b**). Os movimentos realizados com a broca foram delicados, no sentido súpero-inferior, visando a preservação da duramáter. Os discos ósseos (enxertos bicorticais da calota craniana) foram removidos com o auxílio de um instrumento cirúrgico pontiagudo e colocados em solução salina. A sutura dos tecidos moles da cabeça foi feita com fio de Nylon 4.0.

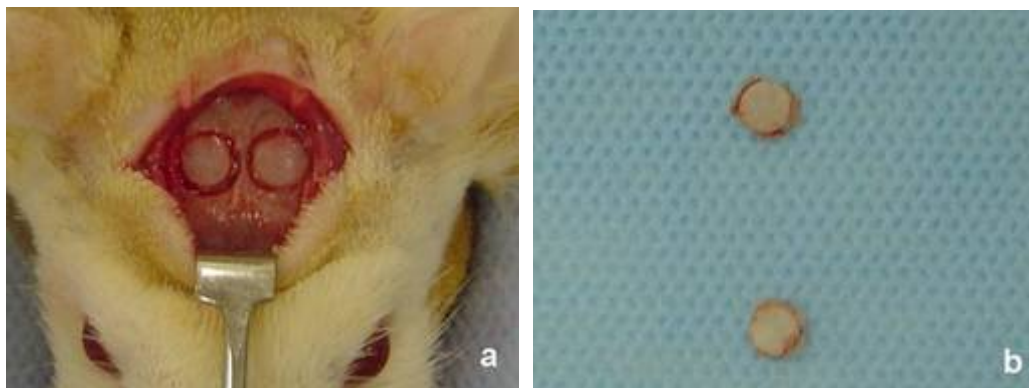


Fig.1 (a,b) - Visualização da face externa da calota craniana, com as demarcações dos enxertos, realizadas com a broca trefina de 4,0 mm de diâmetro interno.

Após essa manobra, realizou-se a incisão em pele, submandibular, bilateralmente, permitindo a divulsão parcial dos tecidos e a visualização do músculo masséter. Para evitar a lesão de nervos e vasos sanguíneos na região submandibular, a incisão em periósteo foi feita anterior à rafe pterigomandibular, estendendo-se sobre a rafe, até a metade anterior dessa estrutura. A partir desse procedimento, foi feito um amplo descolamento do masseter na face lateral da mandíbula, o que permitiu o afastamento total dos tecidos e a visualização do leito receptor.

A melhor adaptação do enxerto ósseo bicortical da calota craniana foi realizado colocando sua face externa em contato com a face lateral (externa) da mandíbula. Dessa forma houve uma maior área de contato entre os ossos, devido suas conformações anatômicas.

Um parafuso de titânio de 1.5 X 4mm (Neoortho[®] - Curitiba, Paraná, Brasil) foi utilizado para a fixação do enxerto, em sua região mais central. Para isso utilizou-se a broca do sistema, perfurando o enxerto sob irrigação com solução salina 0,9%, e adaptando de forma delicada o parafuso no centro do disco ósseo. Após esse processo, realizou-se a perfuração bicortical do ângulo da mandíbula, parafusando o enxerto contra a sua face externa, até ocorrer um travamento delicado do enxerto. Não foi realizada força, por se tratar de um osso papiráceo.

Nos grupos Controle (C21d e C55d), não foi utilizado o Norian[®], ocorrendo somente a fixação do enxerto ao osso receptor mandibular. Nos grupos Interface (I21d e I55d), foi utilizado somente o pó do Norian[®] na interface enxerto/osso receptor (IEOR), visando não impedir o futuro processo de vascularização proveniente do osso receptor. Nos grupos Barreira (B21d e B55d), o Norian[®] foi manipulado conforme orientação do fabricante e adaptado sobre as bordas do enxerto, que se apresentavam menos justapostas ao osso receptor. Esse procedimento criou uma barreira rígida e protetora nessa região.

Após, os músculos masséters foram suturados com fio reabsorvível (Vicryl 4.0) por meio de 2 a 3 pontos simples interrompidos e a pele suturada com Nylon 4.0, por meio de 4 a 5 pontos simples interrompidos. Ao término imediato das cirurgias, foi administrada uma dose intraperitoneal de Paracetamol 50mg/kg. Após 12h da primeira administração do antibiótico, foi realizada uma nova dose. O analgésico foi mantido na água dos animais por 5 dias.

Após as datas previstas, os animais foram submetidos à eutanásia através da inalação excessiva de isoflurano, as mandíbulas removidas e inseridas em formol a

10%, e as hemi-mandíbulas direitas foram destinadas ao teste de tração. As hemi-mandíbulas esquerdas foram destinadas à realização de lâminas histológicas.

Preparação das peças para o teste de tração

A pele dos animais foi removida, a mandíbula seccionada em linha média, entre os incisivos, a musculatura medial foi desinserida, realizada a dissecação da articulação temporomandibular e musculatura lateral, de forma que a mandíbula foi desarticulada sem fraturas.

As hemi-mandíbulas direitas foram dissecadas cuidadosamente, sendo removida toda a mucosa e gengiva, além da musculatura medial e a lateral, que se apresentava sobre o enxerto parafusado. Nos grupos onde se utilizou o Norian®, principalmente aos 21 dias, parte do material se apresentou visível, com pequenas porções aderidas ao periósteo e à musculatura (**Fig. 2 – a,b**).

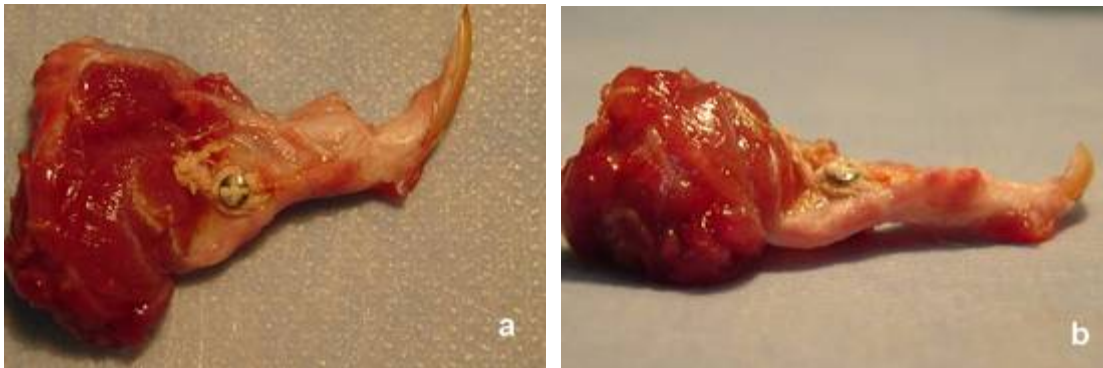


Fig. 2 (a,b) - Dissecação dos tecidos moles sobre o enxerto (Grupo B21d). Parte do fosfato de cálcio se apresenta intimamente aderido ao músculo masséter.

As mandíbulas foram secas à temperatura ambiente (entre 25 e 30° Celsius) por um período de 96 horas. Após esse período, as peças se apresentavam secas, permitindo o processo de inserção em acrílico e colagem do dispositivo de tração (**Fig. 3 – a,b**).

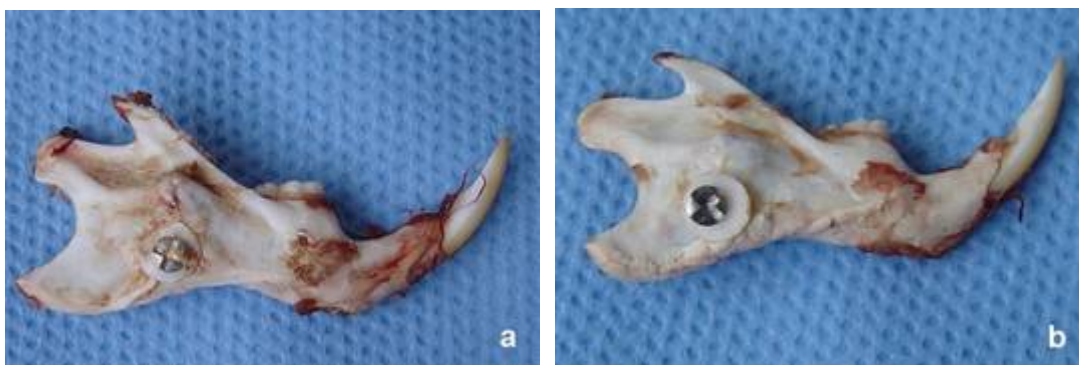


Fig. 3 (a,b) – Mandíbulas após o processo de secagem. a – Grupo B55d; b – Grupo I21d.

Os parafusos foram cuidadosamente removidos das mandíbulas, e o orifício do parafuso foi preenchido com cera utilidade (W Wilson®), com o intuito de não haver

o escoamento de cola ou acrílico para este local (**Fig. 4 – a,b**). As hemi-mandíbulas foram segmentadas para serem incluídas em acrílico.



Fig. 4 (a,b) – Cera dentro do orifício correspondente ao parafuso. A – Face lateral da hemi-mandíbula; b – Face medial da hemi-mandíbula.

O osso receptor foi seccionado com uma distância mínima de 3mm do enxerto, permanecendo com arestas avivadas, de forma que o acrílico pudesse fazer uma apreensão eficaz do osso receptor, sem acometer o enxerto (**Fig. 5**).



Fig. 5 - Hemi-mandíbula seccionada.

Para que o teste de tração fosse realizado os seguintes dispositivos foram desenvolvidos:

1 – *Plataforma de Aço Inoxidável*. O terço inferior possui maior diâmetro (16,0 mm) que os 2/3 superiores (13,0 mm). Existe superiormente uma canaleta semi-cilíndrica, com o objetivo de manter inerte o acrílico que possui o osso receptor, que suporta o enxerto (**Fig. 6 – a,b**);

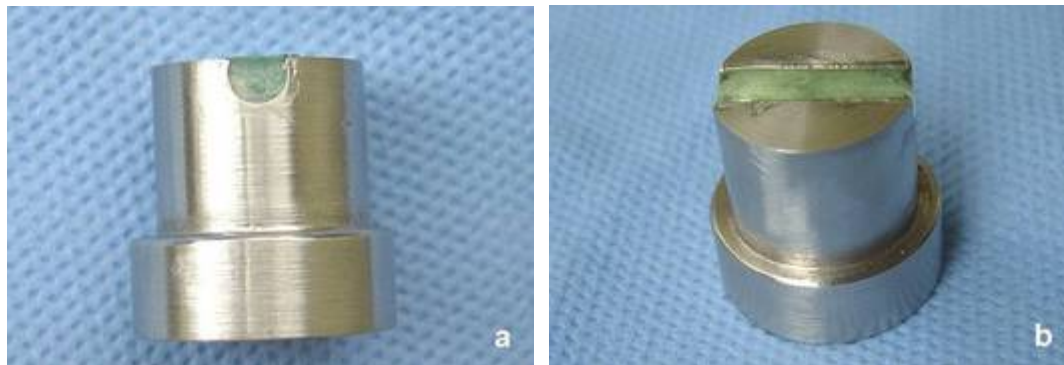


Fig.6 (a,b) – Plataforma de Aço Inoxidável para apreensão do acrílico com o osso receptor.

2 – *Pino de Tracionamento (A-Base Invertida; B-Haste intermediária; C-Base Cilíndrica)* (**Fig.7a**). Desenvolvido com a parte superior em forma de trapézio invertido, com diâmetros de 5,0 mm e 3,0 mm, destinado a ser apreendido pelo cabo de tracionamento da máquina. A Base Cilíndrica possui 1,0 mm de altura, quinas avivadas, e diâmetro menor (3,0 mm) que o diâmetro do enxerto (4,0 mm), além de ranhuras inferiores. As ranhuras inferiores possuem o papel de aumentar a superfície de contato com a cola que se prenderá ao enxerto (**Fig.7b**). O objetivo do diâmetro da base cilíndrica ser inferior ao diâmetro do enxerto, além das quinas avivadas, é permitir que a cola chegue até a haste intermediária, gerando maior retenção durante a tração que será exercida;



Fig.7 (a,b) – a – componentes do Pino de Tracionamento; b – ranhuras inferiores da Base Cilíndrica.

3 – *Moldeira de Aço Inoxidável*. Possui espaços com diâmetro de 13,0 mm, medida correspondente aos 2/3 superiores da Plataforma de Aço Inoxidável. Utilizada para fazer a inclusão do osso receptor ao acrílico (**Fig.8**).



Fig. 8 – Moldeira de Aço Inoxidável com espaços negativos capazes de incluir 6 espécimes em acrílico ao mesmo tempo.

A Moldeira de Aço Inoxidável foi lubrificada com vaselina sólida e uma pequena porção de cera utilidade foi colocada na borda de cada espaço, visando facilitar a remoção da peça de acrílico após a polimerização.

Acrílico transparente auto polimerizável (JET[®]) foi manipulado e colocado dentro dos orifícios específicos da Moldeira de Aço Inoxidável. As peças foram ajustadas de forma que a superfície externa dos enxertos permaneceu o mais paralela possível ao plano horizontal da Moldeira. O acrílico foi mantido a uma distância mínima de 1,0 mm da união enxerto/osso receptor, impedindo qualquer apreensão do enxerto pelo acrílico, o que poderia gerar alterações no resultado final da força de tração (**Fig.9 - a,b**).

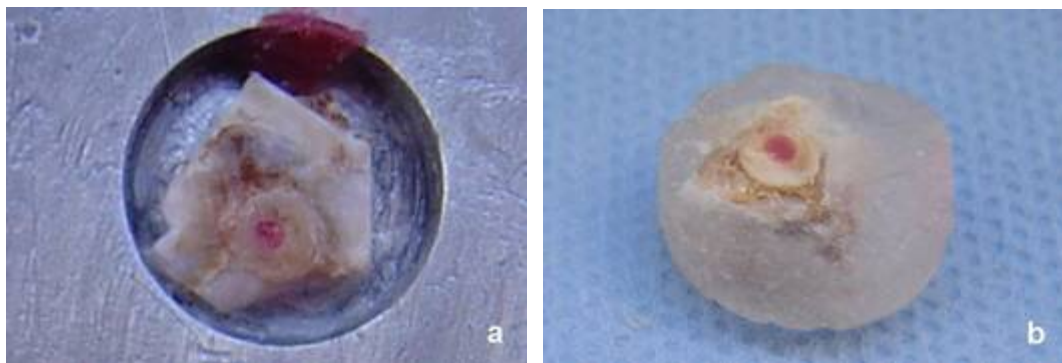


Fig.9 (a,b) – Inclusão do osso receptor em acrílico.

Com as peças incluídas em acrílico, sua adaptação à Plataforma de Aço Inoxidável se tornou possível (**Fig.10 - a,b**).

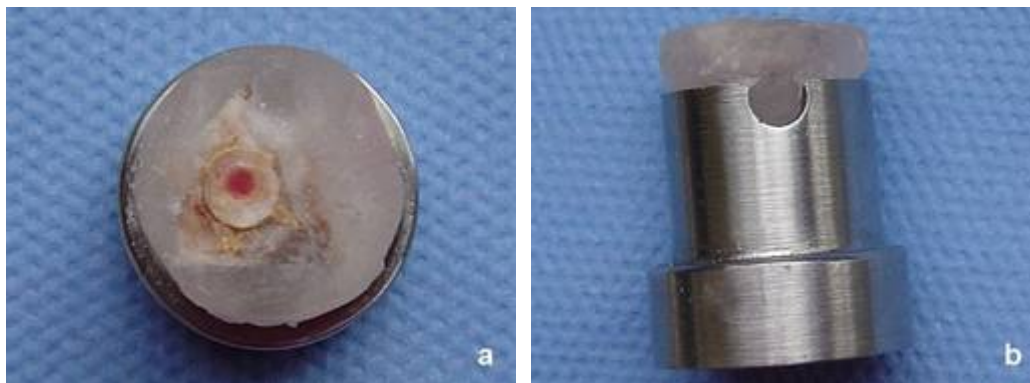


Fig.10 (a,b) - Peça incluída em acrílico, adaptada à Plataforma de Aço Inoxidável

Para que o Pino de Tracionamento permanecesse unido ao enxerto, foi utilizada cola gel de Éster de Cianocrilato (Super Bonder Gel[®]), colocada nas ranhuras inferiores da Base Cilíndrica, e ultrapassando a altura dessa, até chegar à Haste Intermediária. A cola foi cuidadosamente ajustada para não acometer o osso receptor. Para que o Pino de Tracionamento permanecesse perpendicular à superfície externa do enxerto, sem se movimentar até a secagem da cola, foi utilizado um acelerador instantâneo de cola (Zip Kicker[™]).

Os dispositivos foram adaptados à máquina EMIC[®] DL-200 e a tração foi aplicada até que a remoção de cada enxerto ocorresse (**Fig.11 - a,b; Fig.12**).



Fig.11 (a,b) – a - Peça posicionada para o teste de tração; b - enxerto aderido ao Pino de Tracionamento, após seu arrancamento do osso receptor mandibular.

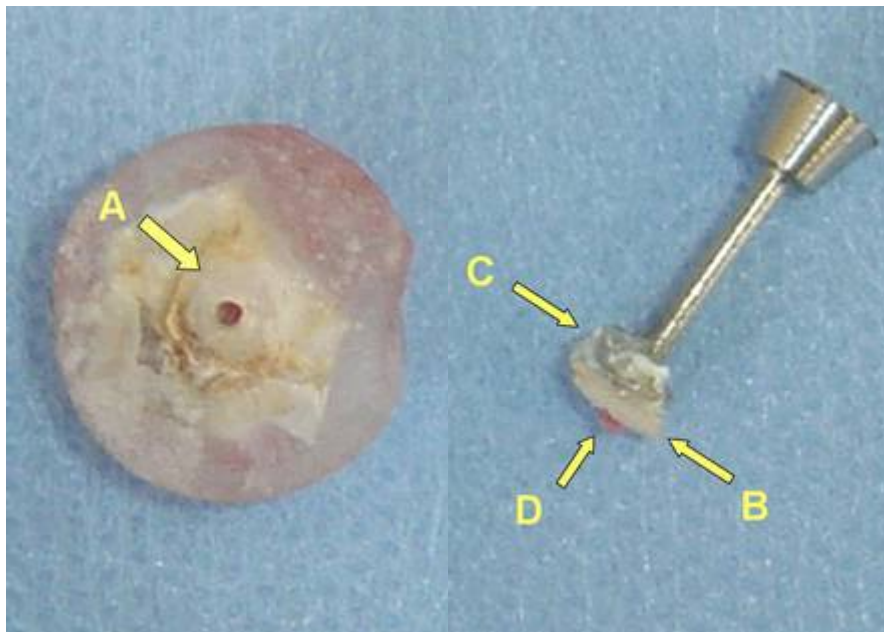


Fig.12 – A - Leito do osso receptor mandibular; B - enxerto aderido ao Pino de Tracionamento; C - Base Cilíndrica coberta por cola; D – cera utilidade.

Em alguns casos onde o enxerto se apresentou fortemente integrado, houve o desprendimento do Pino de Tracionamento, sem o arrancamento do enxerto. Foi realizada então a confecção de quatro pequenos orifícios semi-circulares, por meio de uma broca esférica de baixa rotação, medindo 0,5 mm de diâmetro, além de uma segunda colagem. Esses orifícios não ultrapassaram a espessura total do enxerto, e foram dispostos simetricamente entre a perfuração central do parafuso e as bordas do osso aposicional.

RESULTADOS

Para a realização do ensaio foi utilizada a máquina EMIC[®] DL-200 (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e o programa MTest versão 3.0 com velocidade de 0,5 mm/minuto.

Os resultados da tração necessária para a remoção dos enxertos para cada espécime são demonstrados na **tabela 1**.

Tabela 1 – Força de tração para remoção dos enxertos

C21d	FORÇA (N)	C55D	FORÇA (N)
1	3,855	1	15,67
2	0,3731	2	13,59
3	2,771	3	0,9593
4	0,00	4	6,893
5	0,00	5	22,19
I21d		I55D	
1	12,38	1	26,72
2	3,269	2	11,58
3	4,797	3	8,261
4	MORTE	4	31,68
5	MORTE	5	MORTE
B21d		B55D	
1	7,124	1	53,67
2	61,54	2	36,74
3	15,40	3	31,50
4	15,86	4	14,37
5	8,936	5	22,56

O objetivo da análise dos espécimes foi um resultado em grupo, ou seja, as médias obtidas em cada grupo específico. Por isso, as hemi-mandíbulas direitas (1,2,3,4 e 5) do teste de tração foram numeradas aleatoriamente, não correspondendo obrigatoriamente aos mesmos animais em que foram utilizadas as hemi-mandíbulas esquerdas (1,2,3,4 e 5) para a análise histológica.

No grupo C21d, um enxerto não estava integrado, apresentando-se já solto durante a remoção do parafuso e, em outro, a integração foi mínima, não suportando a colagem do Pino de Tracionamento.

A comparação entre as forças de tração é demonstrada nas **tabelas 2, 3 e gráfico 1**. Para a aplicação dos testes estatísticos, o grupo com menos de quatro animais foi removido.

Os resultados foram considerados significativos a um nível de significância máximo de 5% ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Comparação da força tração entre os grupos (retirada do grupo I21d)

<i>Grupo</i>	<i>N</i>	<i>Média (N)</i>	<i>Desvio-padrão (N)</i>	<i>P</i>
Controle 21 dias	5	1,40 ^A	1,79	0,008
Barreira 21 dias	5	21,77 ^{BC}	22,56	
Controle 55 dias	5	11,86 ^B	8,18	
Interface 55 dias	4	19,56 ^{BC}	11,39	
Barreira 55 dias	5	31,77 ^C	14,93	

* O grupo com 3 animais foi removido, pois impossibilitava a aplicação do teste estatístico

** A Média (N) do grupo Interface 21 dias foi de 6,81 e o desvio-padrão 4,89

*** Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si

Através do teste Kruskal-Wallis, verificou-se que o grupo Controle 21 dias apresentou resultados significativamente inferiores aos demais grupos, seguido pelo grupo Controle 55 dias, que difere significativamente apenas do grupo Barreira 55 dias. Os outros grupos não diferem entre si. ($p=0,008$)

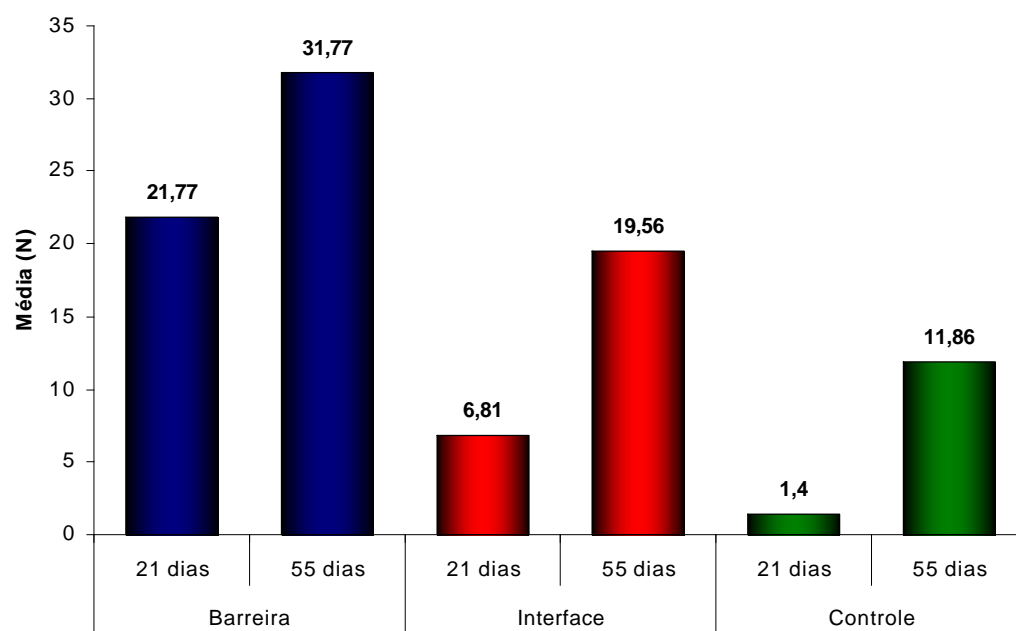
Tabela 3 – Comparação da força tração entre os diferentes tempos (21 e 55 dias) para cada grupo

<i>Grupo</i>	<i>Tempo</i>	<i>n</i>	<i>Média (N)</i>	<i>Desvio-padrão (N)</i>	<i>P</i>
Barreira	21 dias	5	21,77	22,56	0,310
	55 dias	5	31,77	14,93	
Interface	21 dias	3	6,81	4,89	**
	55 dias	4	19,56	11,39	
Controle	21 dias	5	1,40	1,79	0,032
	55 dias	5	11,86	8,18	

* No grupo com 3 animais não foi possível a aplicação do teste estatístico

Para o grupo Barreira, através do teste Mann-Whitney, verificou-se que não existe diferença significativa entre os períodos de tempo acima comparados ($p=0,310$). Já para o grupo Controle, verificou-se que os valores do período de 21 dias foram significativamente inferiores aos do período de 55 dias ($p=0,032$).

Gráfico 1 - Comparação da força tração entre os diferentes tempos (21 e 55 dias) para cada grupo



DISCUSSÃO

O enxerto autógeno é considerado o material de escolha para o ganho de volume ósseo (CHACON et al., 2004; VOS et al., 2009), principalmente naqueles locais onde há necessidade de instalação de implantes dentários (Schwartz-Arad e Levin, 2007). Diferentes áreas do corpo são indicadas como doadoras (VOS et al., 2009), sendo a calota craniana um local que apresenta bons resultados pós-operatórios (SMOLKA e IIZUCA, 2006; SMOLKA et al., 2006; GLEIZAL e BEZIAT, 2007). Na literatura são descritas outras classes de enxertos, como as substâncias aloplásticas, que são utilizadas em substituição ou associação ao autoenxerto (NASR et al., 1999; MACEDO et al. 2004; STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; OUSTERHOUT e STELNICKI, 1996; SILVEIRA et al, 2008; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; THORWARTH et al., 2006).

Na bula do fabricante há modalidades cirúrgicas em que a utilização do Norian® ainda não é conhecida, sendo um exemplo, a utilização do produto com enxertos autógenos. Além disso, frente à diversidade de artigos publicados, existem relativamente poucos trabalhos demonstrando a aplicação desse material em região maxilofacial (WOLFF et al., 2004; CHAMBERS et al, 2007; SINIKOVIC, et al, 2007) e uma quantidade menor ainda quando se trata de maxila e de mandíbula (WOLFF et al., 2004; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006). O presente estudo avaliou, através de teste de força de tração, o nível de integração de enxertos *onlay* de calota craniana, utilizados na reconstrução óssea mandibular de ratos Wistar, associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio.

Recentemente há um aumento no número de publicações de cirurgias experimentais que avaliam a força de tração, analisando diferentes aspectos. O teste de força de tração consiste em submeter o material à tração, tendendo a esticá-lo e até rompê-lo. A unidade física utilizada para quantificar a força, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades é o Newton (N). Contudo, outras unidades de força também utilizadas, como: dina (din), quilograma força (Kgf), libra força (Lb ou lbf) (ROSSI et al., 2007). As metodologias encontradas são as mais variadas, buscando avaliar os diferentes locais e materiais propostos em cada estudo, contudo, não há uma metodologia específica para avaliação de enxertos ósseos aposicionais.

Nahas e Ferreira (2003) utilizam a tração para avaliar a alteração de tensão na parede abdominal de cadáver, após incisões e descolamentos destes músculos e aponeuroses.

Cavalcante Jr et al. (2002) utilizaram o teste de tração uniaxial para comparar os métodos de fixação direto e indireto do labrum glenóide. Para isso, reproduziu lesões em 20 ombros de 10 cadáveres e fixou com os diferentes métodos. Após a obtenção dos resultados em Newton, os autores concluíram que não existe diferença biomecânica significativa entre as técnicas realizadas.

Diferentes testes biomecânicos, dentre eles a força de ruptura à tração, são considerados válidos para o estudo da reparação tecidual em anastomoses cólicas. Testes de resistência à ruptura foram utilizados por Wu et al. (2003), em um estudo experimental com 90 ratos.

A máquina para testes mecânicos EMIC® DL-200 foi utilizada por d'Acampora et al. (2007) para comparar a resistência tênsil de diferentes telas cirúrgicas após síntese de defeito músculo-aponeurótico em ratos Wistar.

Segundo Rossi et al. (2007) o primeiro aspecto a ser considerado em experimentos biomecânicos é a qualidade do material a ser utilizado. Usualmente, os espécimes de cirurgias experimentais são representados por materiais semelhantes à matéria orgânica e até amostras de fragmentos de animais. O problema na realização de testes de tração está muito relacionado à fixação dos espécimes e o instrumento utilizado na obtenção dos resultados em Newton. Assim, a eficácia na fixação é o fator mais importante para que ocorra o sucesso. Um dos erros mais freqüentes é a escolha incorreta do dispositivo de fixação, gerando uma perda de tempo na execução do experimento, ou mesmo a necessidade de recomeçar o teste, em ordem correta, para conseguir resultados científicos consistentes.

Visando minimizar as chances de erro relacionadas ao método de fixação, os dispositivos utilizados em nossa pesquisa foram desenvolvidos especificamente para o trabalho, sendo confeccionados em materiais com resistência muito superior àquela necessária para o arrancamento dos enxertos. Além disso, as dimensões precisas dos dispositivos permitiram um acoplamento justaposto aos encaixes da máquina de tração. Dessa forma, nas vezes onde foram necessárias repetições do teste de tração para um mesmo espécime, o que foi pouco freqüente, essas ocorreram por dois motivos: 1- a forte integração do enxerto ao osso receptor, ocorrendo principalmente nos grupos de 55 dias, e com o uso do Norian[®]; 2- à pequena área de contato da superfície do enxerto com a cola. Lembrando que, para não haver erros na obtenção da força de tração, a cola foi cuidadosamente posicionada sobre a superfície externa do enxerto, não escoando para o osso receptor. Assim, trata-se de uma superfície pequena, de 4,0 mm de diâmetro, devendo-se ainda subtrair a área correspondente ao parafuso, que foi preenchida por cera. Nesses casos, realizamos então a confecção de quatro pequenos orifícios semi-circulares, que não ultrapassaram a espessura do enxerto, dispostos em posições simétricas ao orifício central do parafuso. Esse procedimento permitiu então o aumento da área de contato entre a cola e o enxerto, além da retentividade da cola, promovida pelo formato dos orifícios.

Costa et al. (2006) utilizaram diferentes mecanismos de tração para determinar as propriedades biomecânicas do complexo labrum-glenóide bicapital superior submetido ao estresse mecânico contínuo e repetitivo. Para isso, utilizaram dezoito estruturas anatômicas dissecadas de quinze cadáveres. Os autores obtiveram os resultados de ruptura do tendão bicapital em Newton, concluindo que a tração contínua ou súbita do braço não produz lesões desse complexo na articulação do ombro. Os pesquisadores afirmam que não é possível reproduzir lesões desse complexo utilizando máquinas de tração uniaxial, devido às variações de movimentos e situações diversas neste local. Dessa forma, afirmam que futuros estudos envolvendo a robótica, cinematografia, computação, com o auxílio da artroscopia irá ajudar a validar as diversidades de locais complexos.

A utilização da força uniaxial, na presente pesquisa, foi o suficiente para demonstrar as variações entre os grupos frente o uso ou não do Norian[®]. Isso foi possível, pois se tratou de uma quantificação da adesividade, ou seja, da integração do enxerto, que deve possuir o princípio básico de imobilidade em relação ao osso receptor, para atingir o sucesso desejado. Contudo, não há dúvidas de que tendências futuras no desenvolvimento de novos métodos de avaliação irão ampliar o espectro de obtenção de diferentes resultados.

Da mesma forma, Wu et al. (2006) ao fazerem comparações de resultados, afirmam que a força de ruptura à tração, mesmo sendo uniaxial e uma análise de vetor

parcial, demonstra ser um possível parâmetro da resistência intestinal em ratos, apesar de ser um tecido de propriedades viscoelásticas não lineares. Eles utilizaram amostras de cólon descendente de ratos Wistar para testes de ruptura à tração.

O Norian[®] CRS[®] Craniofacial Repair System[®] Fast Set[™] Putty é uma segunda geração do mesmo cimento, recentemente inserido no mercado (Zins et al., 2008), possuindo propriedades biocompatíveis, osseocondutivas, com resistência mecânica e com potencial de substituição por osso (Zins, Moreira-Gonzalez e Papay, 2007; Zins et al., 2008). A pasta obtida da mistura dos constituintes alcança máxima força de compressão em 12 horas (KOPYLOV, et al. 2002).

Este material foi avaliado em nossa pesquisa tanto na interface do enxerto com o osso receptor, utilizando-se somente o pó, bem como na forma de barreira, fazendo a cobertura das bordas do enxerto. Esta última forma de aplicação se baseou no princípio da osteopromoção, onde o objetivo é promover um selamento de um local anatômico onde se deseja uma reconstituição do osso, impedindo que outros tecidos não ósseos possam interferir no processo (LINDE et al., 1993). Este princípio, quando utilizado com membranas, é conhecido como regeneração tecidual guiada (CRUMP et al., 1996; DAHLIN, 1996; PECORA et al., 1997).

No processo de integração do enxerto, a fase inicial de cicatrização pode ser considerada a mais crítica, interferindo diretamente no resultado tardio esperado. Esta integração se apresenta frágil no início da cicatrização, devido à imaturidade do osso na IEOR, e pode ser observada quando são comparados os grupos controle, sem o uso de biomaterial, ao longo do tempo. Aplicando-se o teste Mann-Whitney aos resultados de tração, verificou-se que o grupo C21d apresentou valores significativamente inferiores ao C55d ($p=0,032$).

Comparando-se todos os grupos, o teste de tração também demonstrou que o C21d apresentou resultados significativamente inferiores aos demais ($p=0,08$) (Kruskal-Wallis). Dos cinco espécimes desse grupo, em um, o enxerto não estava integrado e, em outro, estava fracamente aderido ao osso receptor. Estes resultados permitem concluir que a utilização do Norian[®] acelerou o processo de cicatrização óssea e/ou manteve o enxerto mecanicamente mais aderido ao osso receptor, na fase mais crítica do processo de cicatrização. A utilização do cimento como barreira, aos 55 dias, também demonstrou resultados superiores ao C55d.

Resultados clínicos demonstram uma rapidez no processo de recuperação quando se é utilizado o Norian[®]. Segundo Kopylov et al. (2002), o uso deste cimento permite uma mobilização mais precoce em fraturas, contudo, a forma isolada desse material é inadequada para estabilização, necessitando de uma fixação adicional interna ou externa.

Quando bem indicado, o Norian[®] promove uma integridade estrutural e mecânica, atingindo uma força de compressão final de 55MPa após 12 horas. Pesquisadores relatam que o produto não se fratura durante o processo de reabsorção e remodelação do osso (KOPYLOV, et al. 2002; KIRSCHNER et al. 2002). Contudo, Zins et al. (2008) encontraram casos de fragmentação. O resultado histológico geral apresentado por esses autores demonstrou uma excelente osseointegração e uma limitada osteocondução. Também, através do teste mecânico de queda vertical (*vertical drop test*), encontraram um melhor resultado do Norian[®] CRS[®] Craniofacial Repair System[®] Fast Set[™] Putty quando comparado ao cimento de primeira geração.

Na reconstrução de ossos maxilares atroficos, com inserção simultânea de implantes dentários, Swaid, Hölzle e Wolff (2006) afirmam que há estabilidade dos implantes devido à plasticidade inicial e grande força de compressão do material.

Os resultados de tração obtidos em nossa pesquisa podem ser associados aos achados histológicos das hemi-mandíbulas opostas. Apesar de cada caso ser um corpo de prova isolado, ou seja, com suas características particulares locais, o conjunto pode ser levado em consideração. O grupo C21d apresentou resultados inferiores tanto na avaliação histológica quanto na biomecânica.

O presente trabalho desenvolveu dispositivos e uma metodologia capaz de quantificar o nível de integração de enxertos ósseos aposicionais ao osso receptor, quando associados ou não ao cimento de fosfato de cálcio. Os resultados demonstraram, através do teste de força de tração, que os enxertos *onlay*, quando associados ao Norian[®], apresentam maior integração ao osso mandibular, principalmente na fase inicial e mais crítica da cicatrização.

Aprovação Ética

Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUC-RS e CEP/PUC-RS

Agradecimentos. Departamento de Atenção Farmacêutica e Práticas Profissionais – Faculdade de Farmácia PUC-RS (Prof.^a Fernanda Bueno Morrone / Prof.^a Maria Martha Campos); Neoortho[®](Curitiba, Paraná, Brasil); Maximus[®] Instrumentos Hospitalares (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) pela fabricação dos dispositivos desenhados para o estudo; Laboratório de Materiais Dentários – Faculdade de Odontologia PUC-RS (Prof.^a Ana Spohr).

REFERÊNCIAS

Cavalcante Jr, JS; Leite, JAD; Melo FEA et al. Eficácia da fixação direta do Labrum na glenóide em lesão de Bankart provocada em laboratório e submetida à estresse. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 17(6), 410-416, 2002.

Chambers, PA; Loukota, RA; High, AS. Vascularisation of Norian CRS bone cement and its replacement by autologous bone when used for orbital reconstruction. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 45, 77-78, 2007.

Chancon, GE; Ellis, JP; Kalmar, JR; McGlumphy, EA. Using resorbable screws for fixation of cortical onlay bone grafts: an in vivo study in rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62, 1396-1402, 2004.

Costa, ASS; Leite, JAD; Melo, FEA; Guimarães, SB. Biomechanical properties of the biceps-labral complex submitted to mechanical stress. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21(4), 214-218, 2006.

Crump, TB et al. Influence of three membrane types on healing of bones defects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, St. Louis, v. 82, n. 4, Oct. 1996.

D'Acampora, AJ; Kesting, DM; Soldi, MS; Rossi, LF. Experimental study comparing the tensile strength of different surgical meshes following aponeurotic-muscle deformity synthesis on Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 22(1), 47-52, 2007.

Dahlin, CA. Origem científica da regeneração óssea guiada. In: Buser, D; Dahlin, C; Schenk, RK. *Regeneração óssea guiada na implantodontia*. 1 ed. São Paulo: Quintessence, 1996, p. 31-48.

Gleizal, AM; Beziat, JLE. Maxillary and Mandibular reconstruction using bicortical calvarial bone grafts. Retrospective study of 122 reconstructions in 73 patients. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 119 (2), 542-548 ,2007.

Gómez, E; Martín, M; Arias, J; Carceller, F. Clinical Applications of Norian SRS (Calcium Phosphate Cement) in Craniofacial Reconstruction in Children: Our Experience at Hospital La Paz Since 2001. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 63, 8-14, 2005.

Kirschner, RE; Karmacharya, J; Ong, G et al. Repair of the immature craniofacial skeleton with a calcium phosphate cement: quantitative assessment of craniofacial growth. *Annals of Plastic Surgery*, 49 (1), 2002.

Kopylov, P; Adalberth, K; Jonsson, K; Aspenberg P. Norian SRS Versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients. *Journal of Hand Surgery*. 27B(6), 538-541, 2002.

Linde, A et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone osteogenesis. *Journal of Periodontology*, Chicago, v. 64, n. 11, p. 1116-1128, Nov. 1993.

Macedo, NL et al. Bone defect regeneration with bioactive glass implantation in rats. *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB*, Bauru, 12(2), 137-143, 2004.

Nahas, FX; Ferreira, LM. Cadaver as an experimental model to study abdominal wall tension. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 18, 37-45, 2003.

Nasr, HF; Aichelmann-Reidy, ME; Yukna, RA. Bone and bone substitutes. *Periodontology 2000*, Copenhagen, v. 19, p. 74-86, Feb. 1999.

Ousterhout, DK; Stelnicki, EJ. Plastic surgery's plastics. *Clinics in Plastic Surgery*, 23(1), 183-190, 1996.

Pecora, G. et al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*. St. Louis, v. 84, p. 424-429, 1997.

Rossi, LF; Ramos, RR; Ely, JB et al. Considerations that may influence the result of trials assessing tensile strength in experimental surgery. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 22(6), 499-502, 2007.

Schwartz-Arad, D; Levin, L. Multitier technique for bone augmentation using intraoral autogenous bone blocks. *Implant Dentistry*, 16 (1), 5-12, 2007.

Silveira, RL; Machado, RA; Silveira CRS; Oliveira, RB. Bone repair process in calvarial defects using bioactive glass and calcium sulfate barrier. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 16 (4), 322-328, 2008.

Sinikovic, B; Kramer, FJ; Swennen, G; Lübbers, HT; Dempf, R. Reconstruction of orbital wall defects with calcium phosphate cement: clinical and histological findings in a sheep model. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 36, 54-61, 2007.

Smolka, W; Eggensperger, N; Carollo, V. Ozdoba, C; Iizuka, T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Impl Research*, 17, 149-155, 2006.

Smolka, W; Iizuka, T. Reconstruction of severely atrophic jaws using calvarial bone grafts and endosseous dental implants. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 34, 124, Sppl. S1, 2006.

Stanton, DC; Chou, JC; Carrasco, LR. Injectable Calcium-Phosphate Bone Cement (Norian) for Reconstruction of a Large Mandibular Defect: A Case Report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62, 235-240, 2004.

Swaid, S; Hölzle F; Wolff, KD. Degradable injectable bone cement (Norian SRS) in augmentation of atrophic mandible and maxilla. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 34, 124-125, Sppl. S1, 2006.

Thorwarth, M; Schlegel, KA; Wehrhan, F; et al. Acceleration of de novo bone formation following application of autogenous bone to particulated anorganic bovine material in vivo. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101, 309-316, 2006.

Vos, MD; Raghoobar, GM; van der Wal, JE; Kalk, WWI; Vissink, A. Autogenous femoral head as grafting material for mandibular augmentation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 38 (12), 1320-1323, 2009.

Wolff, KD; Swaid, S; Nolte, D; Böckmann, RA; Hölzle, F; Müller-Mai, C. Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 32, 71-79, 2004.

Wu, FC; Ayrizono, ML; Fagundes, JJ et al. Estudos biomecânicos da ação de aderências sobre anastomose cólica. Trabalho experimental em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 18, 216-223, 2003.

Wu, FC; Lee, HD; Niz, MAK et al. Comparative study of descendent colon rupture resistance considering traction force of rupture and total energy of rupture in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21(2), 97-100, 2006.

Zins, JE; Moreira-Gonzales, A; Papay, FA. Use of Calcium-Based Bone Cements in the Repair of Large, Full-Thickness Cranial Defects: A Caution. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 120, 1332-1342, 2007.

Zins, JE; Moreira-Gonzalez, A; Parikh, A et al. Biomechanical and Histologic Evaluation of the Norian Craniofacial Repair System and Norian Craniofacial Repair System Fast Set Putty in the long-term reconstruction of full-thickness skull defects in a sheep model. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 121, 271e-282e, 2008.

ARTIGO 2

Utilização do cimento de fosfato de cálcio (Norian®) associado a enxertos onlay de calota craniana em região mandibular. Estudo experimental (parte II): análise histológica e histométrica *

R. L. Silveira *^{1,4,5}

H. O. I. Borges²

J. P. Andrade³

R. P. Félix³

R. B. Oliveira¹

*Resultados da Tese de Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF)

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS); ²Universidade Estadual de Londrina (UEL-PR); ³Faculdade de Odontologia (PUC-RS); ⁴Residência em Cirurgia Oral - Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG); ⁵Programa de Pós-Graduação em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia, Seção Minas Gerais (ABO-MG).

Correspondência:

Roger Lanes Silveira

Rua Gonçalves Dias, 1181 Sala 705 – Bairro Funcionários

Belo Horizonte (MG) – Brasil 30140-091

rogerlanes@yahoo.com.br

Tel: 55 31 3243-1881 / 55 31 9222-3392

RESUMO

O presente trabalho descreve os resultados histológicos e avaliação histométrica da neoformação óssea de enxertos em região mandibular associados ao cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]). Vinte e sete ratos Wistar, machos, foram submetidos à remoção de enxertos bicorticais da calota craniana e fixados nos ângulos mandibulares. Os animais foram divididos em 6 grupos: C21d – fixação do enxerto (controle - eutanásia após 21 dias); I21d – fixação do enxerto com o pó do Norian[®] entre o enxerto e o leito receptor (eutanásia após 21 dias); B21d – fixação do enxerto e colocação de Norian[®], atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (eutanásia após 21 dias); C55d – fixação do enxerto (eutanásia - morte após 55 dias); I55d – fixação do enxerto com o pó do Norian[®] entre o enxerto e o leito receptor (eutanásia após 55 dias); B55d – fixação do enxerto e colocação de Norian[®], atuando como barreira, sobre as bordas do enxerto (eutanásia após 55 dias). Em nenhum dos casos ocorreu infecção ou complicações pós-operatórias. Resquícios do Norian foram vistos tanto em 21 quanto em 55 dias, demonstrando uma gradual substituição por tecido ósseo vascularizado. Foi observada uma maior formação óssea na interface enxerto/osso receptor (IEOR) do lado esquerdo nos grupos que utilizaram o fosfato de cálcio (B21d, B55d e I55d em relação ao C21d) ($p=0,043$). Um melhor resultado também foi observado em relação ao osso total neoformado na interface do lado esquerdo, nesses mesmos grupos ($p=0,08$). O grupo I55d apresentou resultados superiores aos grupos controle (C21d e C55d) e ao grupo B21d na formação de osso na IEOB do lado direito ($p=0,045$). Além disso, no item osso neoformado horizontalmente, do lado esquerdo, o grupo C21d não apresentou diferença significativa em relação ao C55d; contudo, demonstrou menos formação de osso que os demais grupos que utilizaram o fosfato de cálcio ($p=0,018$). O estudo demonstrou bons resultados na utilização do Norian[®] quando associado aos enxertos *onlay* na região mandibular, mesmo em região de constante estresse muscular.

PALAVRAS-CHAVE: Cimento ósseo; cimento de fosfato de cálcio; enxerto ósseo; enxerto ósseo aposicional; calvária.

INTRODUÇÃO

O osso autógeno é considerado o “padrão ouro” para a reconstrução dos maxilares (CHACON et al. 2004). Os enxertos homogêneos, heterogêneos e aloplásticos são utilizados como recurso na substituição aos autógenos (NASR et al., 1999; MISCH, 2000; FROUM et al., 2002; GORUSTOVICH et al. 2002). A utilização da associação do auto-enxerto a outros materiais tem sido relatada (THORWARTH et al., 2006; VOS et al., 2009), com o intuito de promover o aumento de maxilas e mandíbulas edêntulas para a futura reabilitação com implantes dentários (VOS et al., 2009). Quando os biomateriais são utilizados em associação com osso autógeno, ao invés de serem utilizados isoladamente, há uma clara aceleração da cicatrização óssea devido a viabilidade das células transplantadas com o osso do próprio indivíduo (THORWARTH et al., 2006).

Há vários sítios doadores de osso autógeno, tanto intra quanto extra-orais (VOS et al., 2009). Relatos de baixos níveis de reabsorção e o alto grau de qualidade do osso de calvária demonstram um grande nível de sucesso da utilização desse na reabilitação de maxilas e mandíbulas atroficas, que irão suportar implantes dentários (SMOLKA e IIZUCA, 2006).

Dentre os diferentes biomateriais utilizados em cirurgias, os cimentos à base de cálcio têm sido considerados biocompatíveis, osteocondutivos e possuem um potencial de substituição por osso (ZINS, MOREIRA-GONZALEZ E PAPAY, 2007). Geram ainda manutenção de espaço durante a osteocondução, em defeitos ósseos, e possuem a capacidade de serem utilizados como barreira protetora (SILVEIRA et al., 2008).

O cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]) tem apresentado satisfatórios resultados biológicos e mecânicos para o uso em aplicações clínicas. Possui um tempo de manipulação até o início de seu endurecimento e quando implantado dentro de defeitos craniais, remodela-se vagarosamente através de um processo normal de ação de osteoclastos e osteoblastos. Além disso, possui grande resistência durante o processo de reabsorção e substituição por novo osso (KIRSCHNER et al. 2002).

Cirurgias com esse cimento de fosfato de cálcio têm sido realizadas, inclusive em reconstruções craniofaciais em crianças (GÓMEZ et al., 2005), pois segundo alguns pesquisadores, o material não gera restrições no processo de crescimento (KIRSCHNER et al., 2002).

Há poucos trabalhos demonstrando o uso deste material na reconstrução da região maxilofacial, como defeitos de parede orbitária (SINIKOVIC, et al, 2007; WOLFF et al., 2004), defeitos do complexo órbitozigomático (CHAMBERS et al, 2007; WOLFF et al., 2004), deformidades do osso frontal (WOLFF et al., 2004), lesão mandibular (STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004), defeitos pós-traumáticos mandibulares ou causados por cistos (WOLFF et al., 2004) e a aplicação direta do fosfato de cálcio em maxilas e mandíbulas atroficas, com a colocação imediata de implantes dentários (SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; WOLFF et al., 2004). Além disso, há uma carência de artigos que demonstrem detalhes dos acontecimentos histológicos

de regeneração óssea com o uso do Norian[®], ao longo do tempo, quando associados aos enxertos ósseos autógenos.

De acordo com o fabricante, existe uma série de situações onde o efeito da aplicação do Norian[®] ainda não é conhecido, como a combinação com enxertos autógenos ou sobre tecidos não vascularizados. O presente trabalho avalia, histologicamente, a utilização do Norian[®] associado ao enxerto autógeno *onlay* de calota craniana, em diferentes formas, para a reconstrução óssea em região mandibular de ratos. Além disso, realiza uma avaliação histométrica da neoformação óssea.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e grupos

27 Ratos Wistar, adultos, pesando uma média de 400g, foram submetidos a procedimentos cirúrgicos semelhantes: remoção de enxertos bicorticais de calota craniana e fixação com parafuso de titânio em ângulo de mandíbula. Foram divididos em 6 grupos, conforme a forma de aplicação do material (cimento de fosfato de cálcio - Norian[®] CRS[®] Craniofacial Repair System[®] Fast Set[™] Putty) ou a não utilização dele:

-*Grupo controle 21 dias (C21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, não sendo utilizado o fosfato de cálcio; grupo com cinco animais;

-*Grupo interface 21 dias (I21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, utilizando-se o pó do Norian na interface do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com três animais;

-*Grupo barreira 21 dias (B21d)* – animais submetidos à eutanásia após 21 dias de cirurgia, utilizando-se o fosfato de cálcio, na forma de barreira, para cobrir as bordas do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com cinco animais;

-*Grupo controle 55 dias (C55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, não sendo utilizado o fosfato de cálcio; grupo com cinco animais;

-*Grupo interface 55 dias (I55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, utilizando-se o pó do Norian na interface do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com quatro animais;

-*Grupo barreira 55 dias (B55d)* – animais submetidos à eutanásia após 55 dias de cirurgia, utilizando-se o fosfato de cálcio, na forma de barreira, para cobrir as bordas do enxerto parafusado ao osso receptor; grupo com cinco animais.

Procedimento cirúrgico

Os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina (Dopalen[®]) 100mg/kg (0,1ml/100g) e cloridrato de xilazina (Anasedan[®]) 10mg/kg (0,05ml/100g). Antes do início de qualquer procedimento, foi realizada profilaxia antibiótica com cefalexina (60mg/kg – intraperitoneal).

Foi feita tricotomia em região da cabeça, entre as orelhas, e região submandibular, bem como a antisepsia e a degermação desses locais. Após, foi colocado um campo cirúrgico estéril que permitia o isolamento da cabeça do animal em relação o restante do corpo. Foi realizada uma incisão coronal em pele e musculatura, entre as

orelhas, e outra em pericrânio, permitindo o afastamento dos tecidos e a visualização da face externa da calota craniana. Foram realizadas duas trepanações com uma broca trefina com (4,0 mm de diâmetro interno), não envolvendo a sutura sagital mediana, utilizando-se irrigação abundante com solução fisiológica a 0,9% (**Fig. 1**). Os movimentos realizados com a broca foram delicados, no sentido súpero-inferior, visando a preservação da duramáter. Os discos ósseos (enxertos bicorticais da calota craniana) foram removidos com o auxílio de um instrumento cirúrgico pontiagudo e colocados em solução salina. A sutura dos tecidos moles da cabeça foi feita com fio de Nylon 4.0.



Fig. 1 - Visualização da face externa da calota craniana, com as demarcações dos enxertos, realizadas com a broca trefina de 4,0 mm de diâmetro interno.

Após essa manobra, realizou-se a incisão em pele, submandibular, bilateralmente, permitindo a divulsão parcial dos tecidos e a visualização do músculo masséter. Para evitar a lesão de nervos e vasos sanguíneos na região submandibular, a incisão em periósteo foi feita anterior à rafe pterigomandibular, estendendo-se sobre a rafe, até a metade anterior dessa estrutura. A partir desse procedimento, foi feito um amplo descolamento do masseter na face lateral da mandíbula, o que permitiu o afastamento total dos tecidos e a visualização do leito receptor.

A melhor adaptação do enxerto ósseo bicortical da calota craniana foi realizada com colocando-se sua face externa em contato com a face lateral (externa) da mandíbula. Dessa forma houve uma maior área de contato entre os ossos, devido suas conformações.

Um parafuso de titânio de 1.5 X 4 mm (Neoortho[®]) foi utilizado para a fixação do enxerto, em sua região mais central. Para isso, utilizou-se a broca do sistema, perfurando o enxerto, sob irrigação com solução salina 0,9%, e adaptando de forma delicada o parafuso no centro do disco ósseo. Após esse processo, realizou-se a perfuração bicortical do ângulo da mandíbula, parafusando o enxerto contra a sua face externa, até ocorrer um travamento delicado do enxerto. Não foi realizada força, por se tratar de um osso papiráceo.

Nos grupos Controle (C21d e C55d), não foi utilizado o Norian[®], ocorrendo somente a fixação do enxerto ao osso receptor mandibular (**Fig. 2**). Nos grupos Interface (I21d e I55d), foi utilizado somente o pó do Norian[®] na interface enxerto/osso receptor (IEOR), visando não impedir o futuro processo de vascularização proveniente do osso receptor (**Fig. 3**). Nos grupos Barreira (B21d e B55d), o Norian[®] foi manipulado conforme orientação do fabricante e adaptado sobre as bordas do

enxerto, que se apresentavam menos justapostas ao osso receptor. Esse procedimento criou uma barreira rígida e protetora nessa região (**Fig. 4**).



Fig. 2 - Enxerto ósseo do grupo controle adaptado em região de ângulo mandibular esquerdo.



Fig 3 - Enxerto ósseo do grupo interface, demonstrando a adaptação do parafuso ao enxerto. Presença do pó do Norian® na superfície que fará contato com o osso receptor.

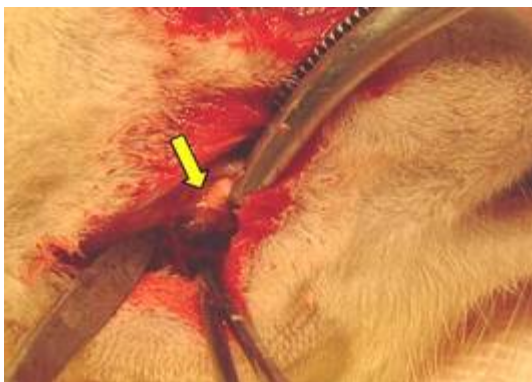


Fig. 4 - Enxerto ósseo do grupo barreira adaptado em ângulo mandibular esquerdo. Observar a presença do Norian® recobrindo as bordas do enxerto.

Após, os músculos masseteres foram suturados com fio reabsorvível (Vicryl 4.0) por meio de 2 a 3 pontos simples interrompidos e a pele suturada com Nylon 4.0, por meio de 4 a 5 pontos simples interrompidos. Ao término imediato das cirurgias, foi administrada uma dose intraperitoneal de Paracetamol 50mg/kg. Após 12h da primeira administração do antibiótico, foi realizada uma nova dose. O analgésico foi mantido na água dos animais por 5 dias.

Após as datas previstas, os animais foram submetidos à eutanásia através da inalação excessiva de isoflurano, as mandíbulas removidas e inseridas em formol a 10%, e as hemi-mandíbulas esquerdas foram destinadas à realização de lâminas histológicas. As hemi-mandíbulas direitas foram destinadas a testes de tração.

Confecção das Lâminas

Após a permanência das hemi-mandíbulas por um período de 72h em formol a 10%, os parafusos foram desrosqueados cuidadosamente. Para isso, realizou-se uma pequena incisão sobre a cabeça do parafuso, permitindo visualizá-lo, sem danificar o restante do músculo masseter. As peças passaram por um processo de descalcificação em ácido nítrico a 5%, com troca diária do ácido, por um período de 15 dias. Após a remoção de tecido ósseo mandibular e tecidos moles desprezíveis para a pesquisa, a uma distância maior que 5,0 mm das bordas do enxerto, as peças foram inseridas em parafina. Os cortes foram realizados na porção mais central do enxerto, onde se encontrava a imagem correspondente ao parafuso. Foi utilizado o processo de rotina para realização das lâminas coradas com hematoxilina e eosina (HE).

Descrição Histológica e Análise Histométrica

Descrição Histológica

Em relação aos achados histológicos, foi realizada uma descrição geral, na qual se encontram as particularidades de cada grupo e as descrições específicas, onde se encontram as particularidades relevantes de cada espécime. Os seguintes parâmetros foram considerados: neoformação óssea; osso maduro; remodelação óssea; reabsorção do enxerto; vasos sanguíneos; tipo de tecido presente na interface enxerto/osso receptor (IEOR); tecido conjuntivo; tecido muscular; tecido adiposo; presença de Norian[®]; substituição de Norian[®] por tecido ósseo.

Análise Histométrica

Para análise histométrica foi utilizado microscópio óptico (Nikon Althathot-2[®]) contendo uma lente ocular milimetrada. Nesta avaliação, algumas considerações devem ser realizadas:

- O enxerto ósseo aposicional apresenta a base (face de contato com o osso receptor) menor que sua face externa. Isso ocorreu, pois, ao utilizar a broca trefina, optou-se por deixar uma lâmina papirácea da cortical interna para ser fraturada com auxílio da ponta curva de uma sonda exploradora, visando a proteção das meninges do animal, que poderiam ser lesadas com a rotação da broca;

- É comum observar um afastamento das bordas do enxerto em relação ao osso receptor, quando comparado à região mais central, devido à conformação dos ossos. Dessa forma, as bordas dos enxertos se apresentam menos justapostas.

Os itens analisados na histometria foram:

1 – *Borda inferior do enxerto (base do enxerto)* – apesar dos enxertos possuírem um tamanho aproximado, pois foram confeccionados com brocas trefinas de tamanhos padronizados, foram realizadas as medidas das bases dos enxertos, onde ocorreram os contatos iniciais com os ossos receptores (**Fig. 5**);

2 – *Osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor* – Osso neoformado na Interface Enxerto/Osso Receptor (IEOR). Este item, ao alcançar 100% de formação, se iguala à medida da borda inferior do enxerto (**Fig. 5**);

3 – *Osso total neoformado na Interface* – Esse item leva em consideração o osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor + osso reacional neoformado abaixo de tecido não ósseo, mas que esteja compreendido na região correspondente à interface. Esta análise foi adicionada prevendo a ocorrência de tecido mole na IEOE somente no corte que foi analisado, ou seja, na região mais central. Dessa forma, conforme observado na **Fig. 5**, o osso neoformado em contato direto com o enxerto e osso receptor esquerdo foi de 0,89mm. Contudo, o osso total neoformado na interface do lado esquerdo foi de 1,89mm (mesmo tamanho da borda inferior do enxerto do lado esquerdo do parafuso).

Outros dois itens foram analisados:

4 – *Osso neoformado horizontalmente* – trata-se do osso neoformado ao longo do osso receptor, além das bordas do enxerto. Para isso, utilizou-se como parâmetro: não formou osso; formou osso horizontalmente até 1,0mm de distância, a partir da borda do enxerto; formou osso horizontalmente além de 1,0mm de distância, a partir da borda do enxerto (**Fig. 6**);

5 – *Osso neoformado em altura* – Osso neoformado verticalmente, a partir da borda do enxerto. Para isso, utilizou-se como parâmetro: não formou osso vertical (ou formou até a altura da borda inferior do enxerto, não sendo considerado); formou osso verticalmente, até metade da espessura do enxerto; formou osso verticalmente, acima da metade da espessura do enxerto.

Em alguns casos houve a neoformação de osso reacional horizontal e vertical, contudo, distante do enxerto, com tecido não ósseo interpondo (**Fig. 7**).

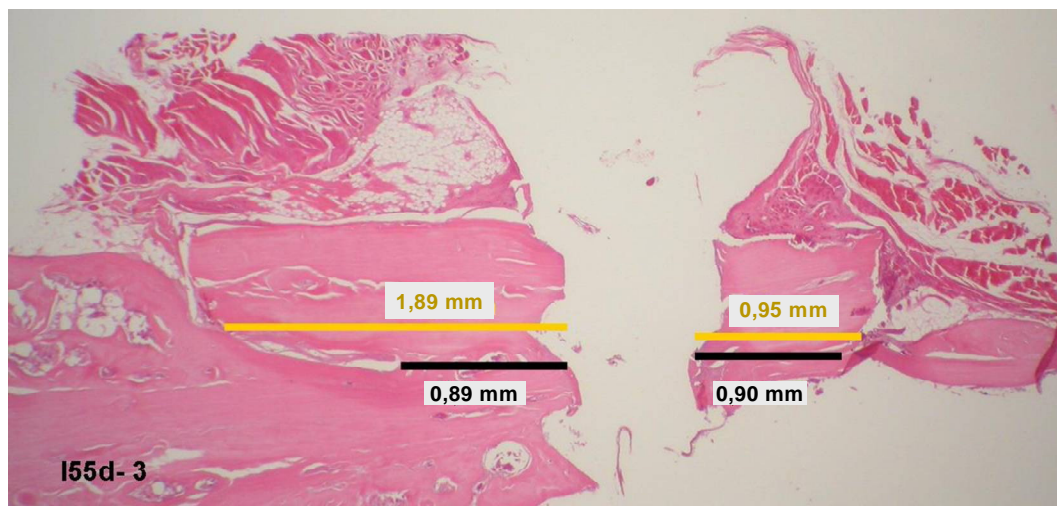


Fig. 5 – (25X) - Medidas lineares da borda inferior do enxerto (linha amarela) e do osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor, na IEOR (linha preta).

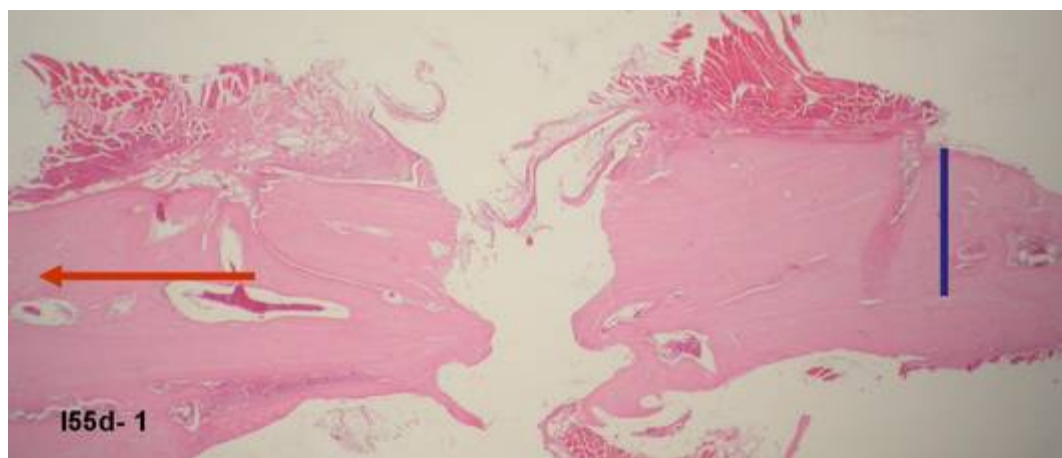


Fig. 6 – (25X) - Mais de 1,0mm de osso neoformado além da borda do enxerto, horizontalmente (seta vermelha); e osso neoformado acima da metade da espessura do enxerto, verticalmente (linha azul).

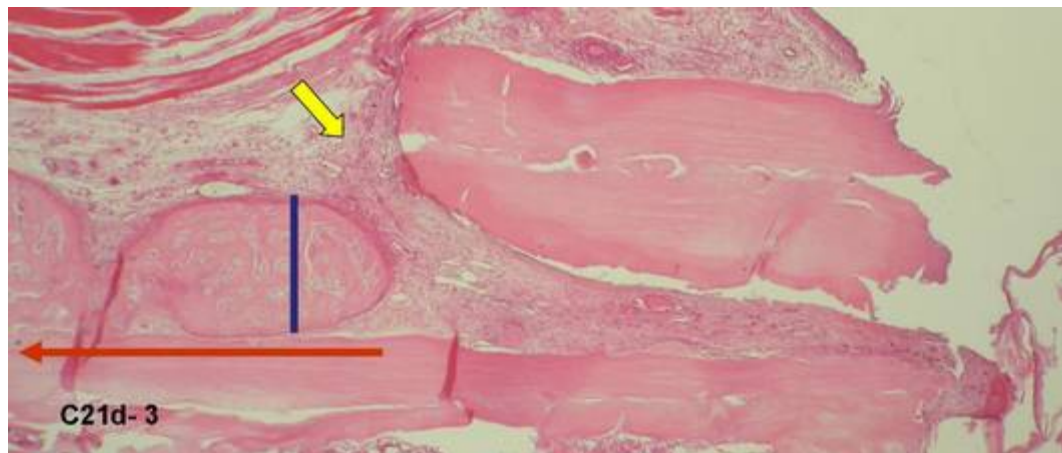


Fig. 7 – (25X) - Mais de 1,0mm de osso neoformado além da borda do enxerto, horizontalmente (seta vermelha); e osso neoformado até a metade da espessura do enxerto, verticalmente (linha azul). Contudo, este osso neoformado reacional se apresenta à distância do enxerto, com tecido conjuntivo interpondo (seta amarela).

Todos os resultados foram catalogados em tabelas específicas, sendo aplicados testes estatísticos.

RESULTADOS

- Descrição Histológica -

GRUPO CONTROLE 21 DIAS

Descrição Geral

Presença de osso neoformado reacional (jovem) na IEO, proveniente do osso receptor, contendo osteoblastos e vasos sanguíneos. Apesar do osso receptor apresentar relativa neoformação óssea sobre ele, há tecido conjuntivo logo acima, proveniente do espaço entre as bordas, interpondo a IEO, impedindo a integração óssea total do enxerto, ou criando uma base para a futura neoformação óssea (fase inicial da cicatrização óssea). Observam-se tecido conjuntivo e muscular diretamente sobre a superfície externa do enxerto, incluindo suas bordas, e sobre a superfície externa do osso receptor. Na região central do enxerto (medular), há vasos sanguíneos em cortes transversais, além de osteoblastos. Na periferia do enxerto há osteócitos em menor quantidade (regiões corticais).

Descrições Específicas

C21d-1 – Formação de tecido ósseo em interface, mais próximo à região correspondente ao parafuso. Nos demais espécimes, há tecido conjuntivo próximo à região dos parafusos.

C21d-2 – Observa-se um padrão de remodelação óssea interna do enxerto e tecido conjuntivo invadindo a porção medular, através da cortical inferior (basal) (**Fig. 8**).

C21d-4 e **C21d-5** – Nos espécimes 4 e 5, observa-se tecido muscular, além de tecido conjuntivo, penetrando a IEO através do espaço das bordas do enxerto (**Fig. 9**).

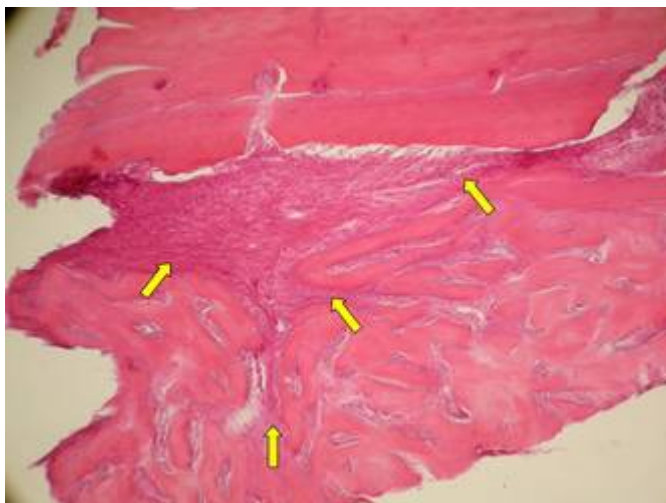


Fig. 8 - C21d-2 (100X) – Remodelação óssea do tecido receptor e tecido conjuntivo fibroso na base do enxerto (setas amarelas).

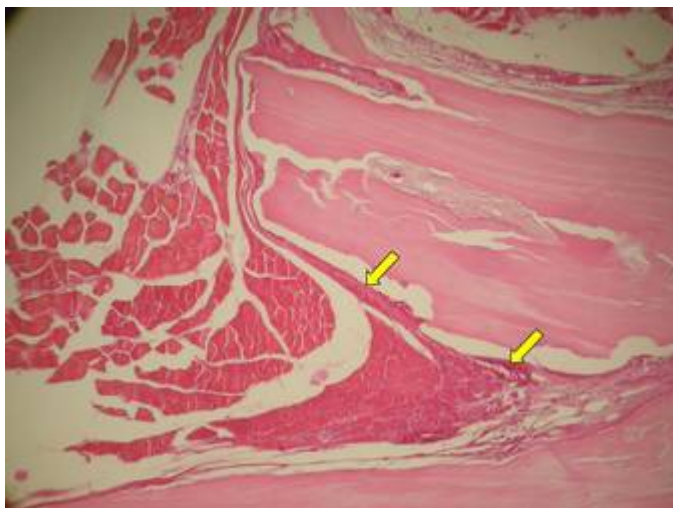


Fig. 9 - C21d-4 (100X) – Tecido muscular e tecido conjuntivo penetrando a IEO através da borda do enxerto (setas amarelas).

GRUPO INTERFACE 21 DIAS

Descrição Geral

Presença de osso neoformado na IEO. Esse osso não apresenta vasos sanguíneos muito evidentes e, onde houve formação, essa se encontrou na interface, mais próxima ao parafuso de titânio. Resquícios do material utilizado (Norian[®]) foram encontrados na interface, em meio ao tecido conjuntivo, onde não houve a formação óssea. Eventualmente, pequenos resquícios de Norian[®] que se desprenderam da interface foram observados em outras áreas. Há tecido conjuntivo e muscular em contato direto com a superfície do enxerto e, inclusive, penetrando na interface através das bordas (**Fig. 10**). Os enxertos apresentam-se vascularizados internamente.

Descrições Específicas

I21d-1 – Lado esquerdo do enxerto com neoformação óssea horizontal e vertical, ultrapassando a altura do enxerto. Contudo, na borda do enxerto há interposição de tecido conjuntivo. O contato ósseo direto está restringido à parte da IEO (**Fig. 11**).

I21d-2 – Houve formação de osso reacional vascularizado tanto horizontal, como em altura, contudo, distante do enxerto (há tecido conjuntivo interpondo). Esse tecido conjuntivo preencheu praticamente toda IEO. Casos como esse estão expressos nas análises histométricas (**Fig. 12**).

I21d-3 – Formação de osso diretamente na região das roscas do parafuso (**Fig. 13**).

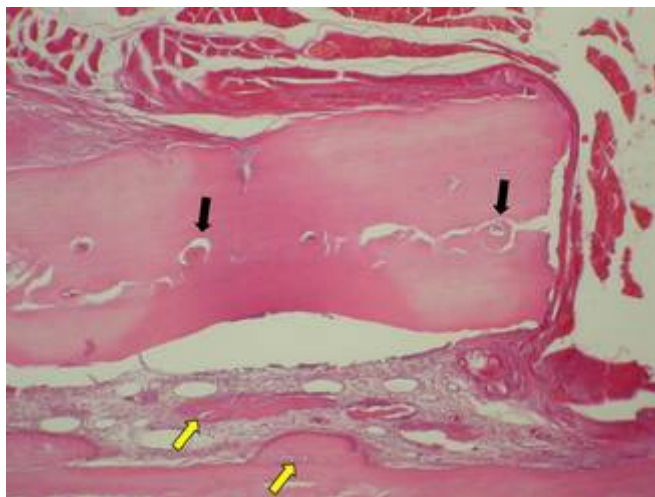


Fig. 10 - I21d-2 (100X) – Tecido conjuntivo e muscular diretamente sobre a superfície externa do enxerto e infiltrando a interface através da borda direita. Observar ilhas de osso reacional formadas em meio ao tecido conjuntivo e sobre o osso receptor (setas amarelas). Vasos sanguíneos internamente ao enxerto (setas pretas).

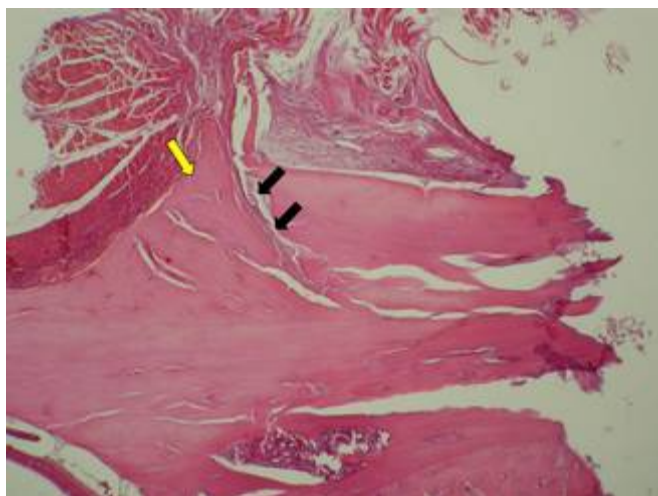


Fig. 11 - I21d-1 (50X) – Neoformação óssea além do enxerto (seta amarela). Tecido conjuntivo entre o osso neoformado e a borda esquerda do enxerto (setas pretas).

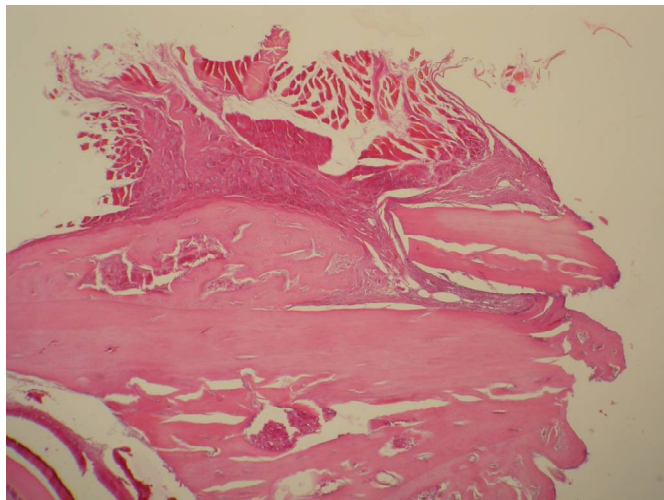


Fig. 12 - I21d-2 (50X) – Formação de osso reacional horizontalmente e verticalmente à distância do enxerto. Tecido conjuntivo penetrando a borda esquerda e ocupando grande parte da IEOR.

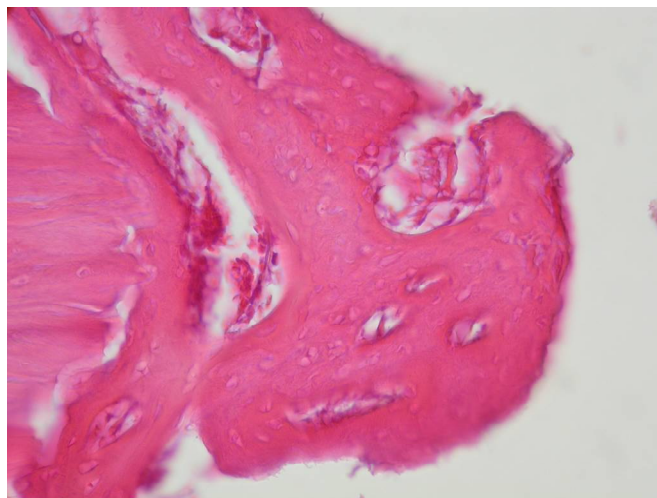


Fig. 13 - I21d-3 (400X) – Osso neoformado em região de rosca de parafuso do lado esquerdo. Esse osso encontra-se abaixo do osso neoformado na IEOR.

GRUPO BARREIRA 21 DIAS

Descrição Geral

Presença de osso neoformado reacional (jovem) na IEO, contendo osteoblastos e vasos sanguíneos em grande quantidade, proveniente do osso receptor. O osso jovem em formação apresenta, na maioria dos casos, um padrão irregular, com intensa vascularização. Há uma relativa neoformação óssea na IEO, promovendo uma maior integração entre os ossos. Esse osso neoformado na interface, em todos os casos, apresenta-se próximo à região do parafuso de titânio. Há tecido conjuntivo fibroso, muito celularizado, em contato direto com o material utilizado (Norian[®]) e também em seu interior (**Fig. 14**). O material é observado como imagens negativas (**Fig. 15**). Esse conjunto, formado pelo tecido conjuntivo e Norian[®], promove o afastamento do tecido muscular, ou seja, ausência do contato direto do músculo sobre o enxerto em quase todos os locais. Em alguns casos há material nas laterais da IEO, devido ao escoamento desse através das bordas, durante a adaptação. Todos os enxertos apresentaram neovascularização e osteoblastos na região medular (**Fig. 16**).

Descrições Específicas

B21d-3 – Lado esquerdo. Exemplo onde houve integração total do enxerto ao osso receptor (**Fig. 17, 18**).

B21d-4 – Há Norian[®] dentro do osso neoformado vascularizado na IEO. Neste espécime é evidente a integração do osso receptor com o enxerto, observando-se a remodelação óssea interna do enxerto (**Fig. 19**).

B21d-5 – Há grande quantidade de osso neoformado na IEO esquerda, na borda, sobre o enxerto e o osso receptor. Em alguns poucos locais há resquícios de Norian[®], internamente ao osso (**Fig. 20**).

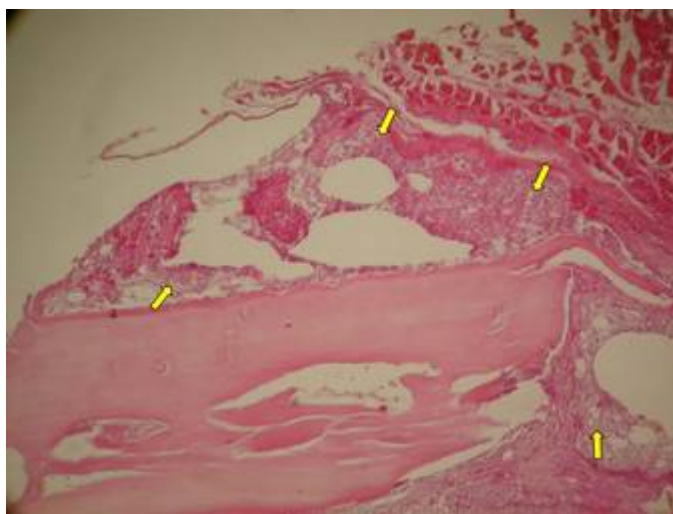


Fig. 14 - B21d-1 (100X) – Barreira de Norian[®] (setas amarelas) e tecido conjuntivo. Observar que o tecido muscular apresenta-se afastado do enxerto.

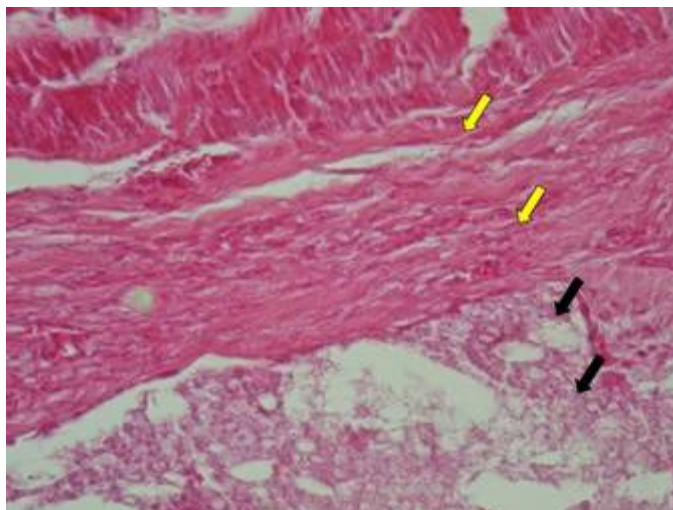


Fig. 15 - B21d-1 (400x) – Observar, na ordem de superior para inferior, os tecidos muscular, conjuntivo (setas amarelas) e o Norian[®] (setas pretas).

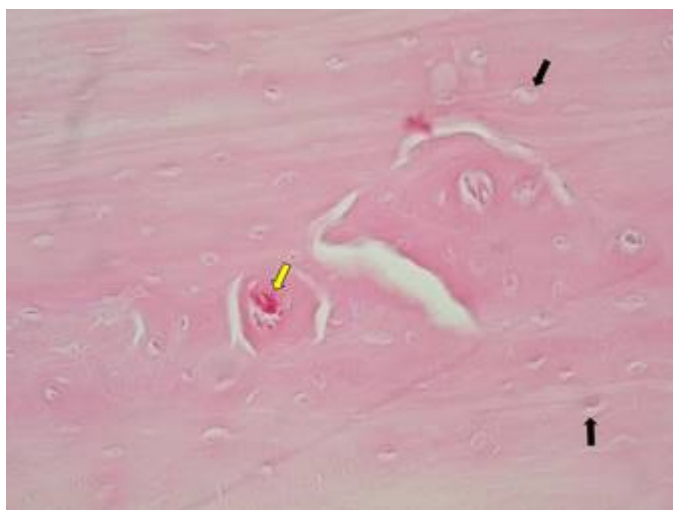


Fig. 16 - B21d-1 (400X) – Presença de vaso sanguíneo (seta amarela) e osteoblastos na região medular do enxerto (setas pretas).

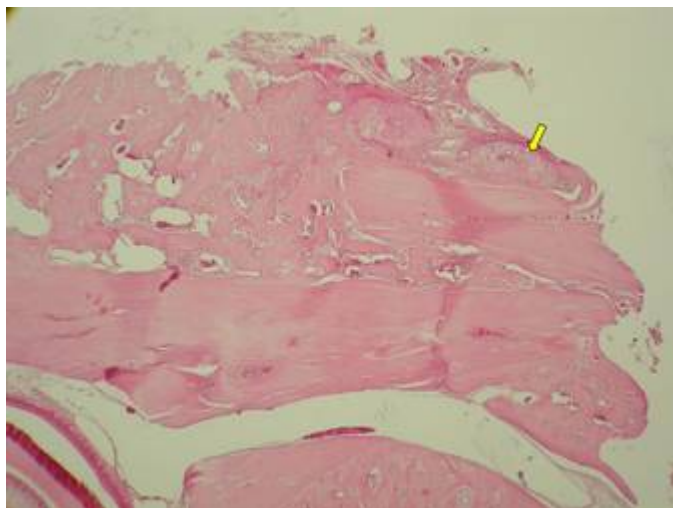


Fig. 17 - B21d-3 (50X) – Osso neoformado envolvendo todo o enxerto - lado esquerdo. Neste local houve integração total do enxerto ao osso receptor. Superiormente há Norian[®] sendo substituído por tecido ósseo (seta amarela).

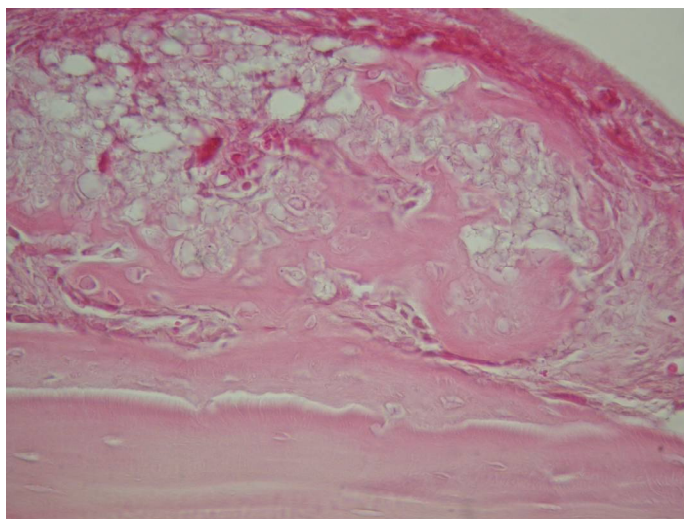


Fig. 18 - B21d-3 (400X) – Em maior aumento, Norian[®] sendo substituído por tecido ósseo, acima da superfície externa do enxerto.

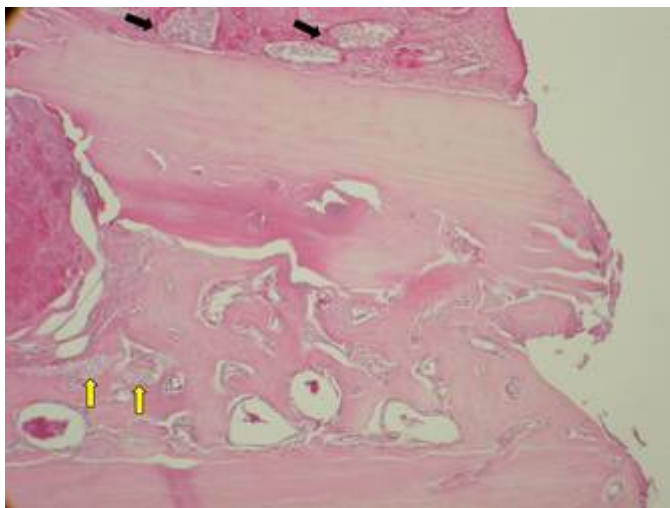


Fig. 19 - B21d-4 (100X) – Setas amarelas mostrando a presença do Norian® dentro do osso neoformado na IEO; Norian® envolvido por tecido conjuntivo, acima da superfície externa do enxerto (setas pretas).

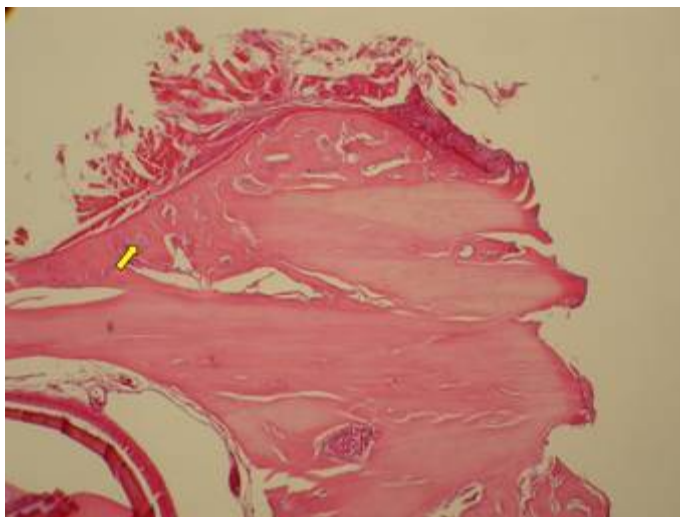


Fig. 20 - B21d-5 (50X) – Osso neoformado envolvendo todo o enxerto do lado esquerdo. Resquício de Norian® (seta amarela).

GRUPO CONTROLE 55 DIAS

Descrição Geral

Presença de osso maduro ao redor das roscas do parafuso de titânio e na IEOB próximo ao parafuso. Nos locais onde não se formou osso, houve proliferação do tecido muscular, tecido conjuntivo e tecido adiposo em contato direto com a superfície do enxerto, com as bordas e também na interface (**Fig. 21**). Alguns padrões variados de reabsorção são observados externamente e internamente no enxerto. Além disso, há um remodelamento ósseo interno e externo do enxerto.

Descrições Específicas

C55d - 2 – Não houve integração desse enxerto, havendo tecido não ósseo na IEOB. Contudo, houve formação de osso reacional à distância, do lado esquerdo, horizontalmente, além de 10,0mm da borda do enxerto e, verticalmente, acima da metade da espessura do enxerto (**Fig 22, 23**).

C55d - 4 – Do lado direito há osso na IEOB, horizontalmente, verticalmente, sobre o enxerto e remodelado nas regiões ao redor das roscas (**Fig. 24**).

C55d - 5 – Grande reabsorção óssea do enxerto do lado esquerdo, com invasão de tecido conjuntivo em sua medular (**Fig. 25**). Do lado direito, há tecido conjuntivo na IEOB, na região de roscas.

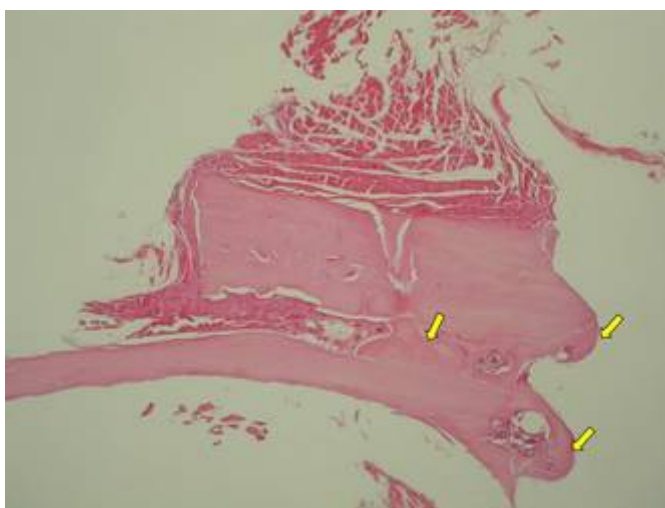


Fig. 21 - C55d-1 (50X) – Presença de osso maduro ao redor das roscas e na IEOB próximo ao parafuso (setas amarelas). Tecidos muscular, conjuntivo e adiposo envolvendo o enxerto e penetrando parte da IEOB.

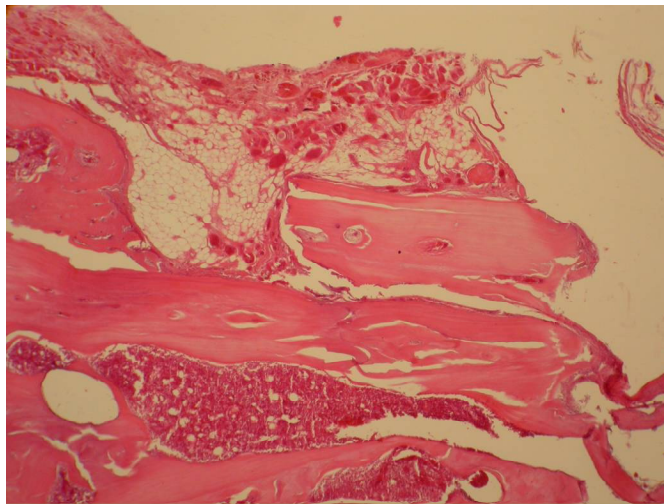


Fig. 22 - C55d-2 (50X) – Tecido adiposo, muscular e conjuntivo penetrando a borda esquerda do enxerto e tecido conjuntivo na IEOR.

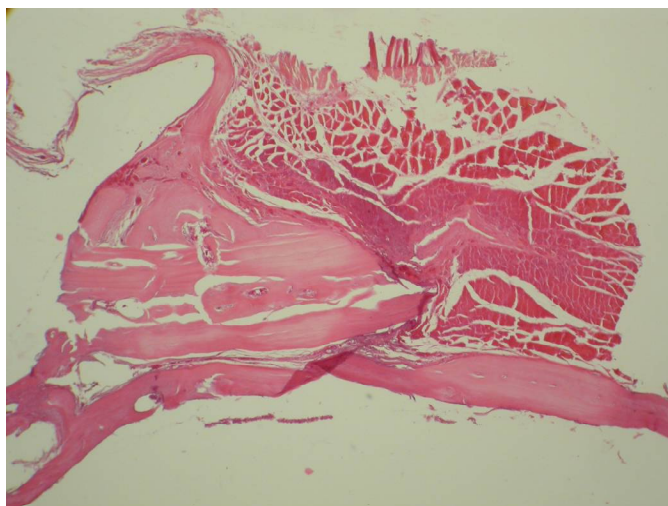


Fig. 23 - C55d-2 (50X) – Tecido conjuntivo e muscular envolvendo o enxerto do lado direito; tecido conjuntivo na IEOR.

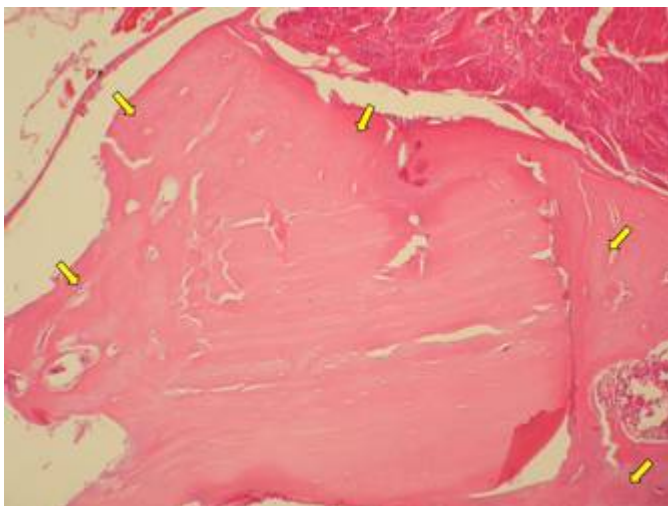


Fig. 24 - C55d-4 (100X) – Osso ao redor de todo o enxerto e remodelado nas regiões ao redor das roscas do parafuso (setas amarelas).

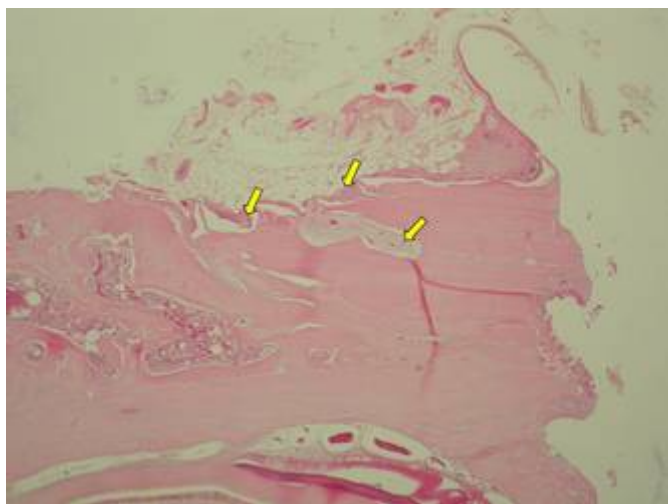


Fig. 25 - C55d-5 (50X) – Reabsorção externa do enxerto com invasão de tecido conjuntivo em sua díploe.

GRUPO INTERFACE 55 DIAS

Descrição Geral

Há osso maduro ao redor das roscas do parafuso de titânio e na IEOR, próximo ao parafuso. Observam-se tecidos muscular, conjuntivo e em alguns locais, tecido adiposo presentes diretamente sobre a superfície externa do enxerto e do osso reacional neoformado. Este osso neoformado se apresenta intensamente vascularizado. Nos locais onde não formou osso nas bordas, houve a proliferação de tecido conjuntivo e adiposo, estendendo-se em alguns casos para a IEOR. Algumas áreas focais de reabsorção são observadas externa e internamente ao enxerto, com remodelamento ósseo.

Descrições Específicas

I55d – 1 – Osso maduro remodelado ao redor das roscas do parafuso e sobre o enxerto (**Fig. 26**).

I55d – 3 – Tecido conjuntivo e adiposo na borda esquerda e penetração de tecido conjuntivo na IEOR (**Fig. 27**).

I55d – 4 – O enxerto do lado esquerdo apresentou um padrão de reabsorção aumentado (**Fig. 28**).

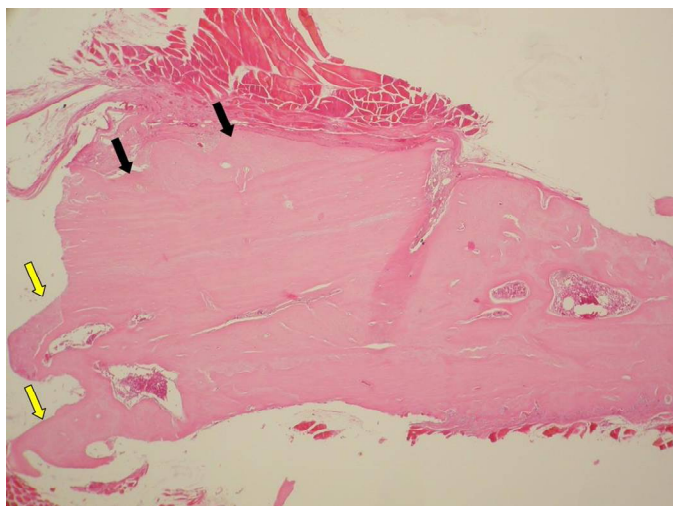


Fig. 26 - I55d-1 (50X) - Osso remodelado ao redor das roscas do parafuso (setas amarelas) sobre o enxerto (setas pretas). Há tecido conjuntivo na borda direita. Osso na IEOR. Osso reacional vascularizado horizontal e vertical.

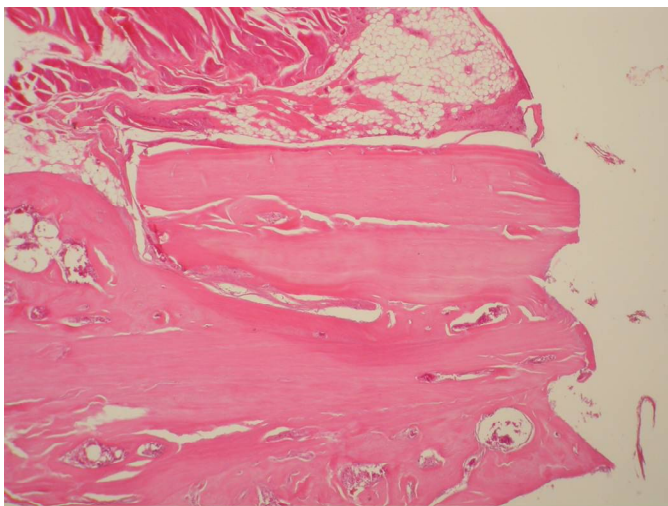


Fig. 27 - I55d-3 (50X) – Penetração de tecido conjuntivo na IEOR. Tecido conjuntivo, adiposo e muscular sobre a superfície externa do enxerto e do osso reacional.

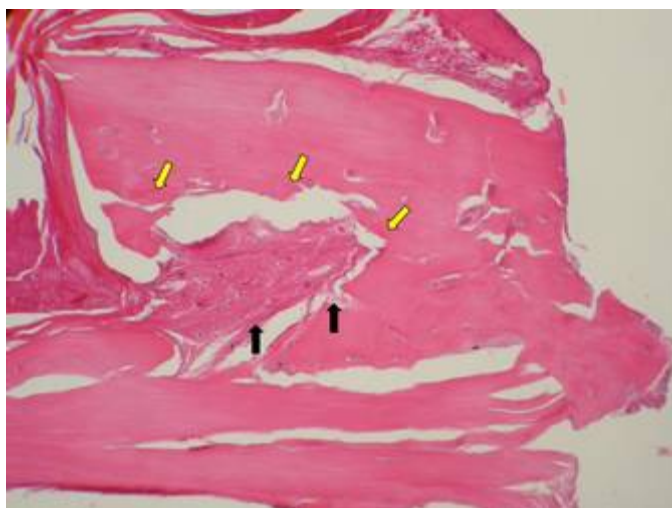


Fig. 28 - I55d-4 (100x) – Reabsorção interna do enxerto (setas amarelas) proveniente de tecido conjuntivo que penetrou a borda esquerda e parte da IEOR (setas pretas).

GRUPO BARREIRA 55 DIAS

Descrição Geral

Há osso maduro ao redor das roscas do parafuso de titânio e na IEOR, próximo ao parafuso. Somente em um caso, o osso neoformado na IEOR está distante do parafuso. Em alguns poucos casos há contato direto do músculo sobre a superfície externa do enxerto, osso receptor ou invadindo as bordas. Na maior parte há resquícios de Norian® (abaixo ou entre o tecido conjuntivo, ou dentro do osso neoformado), tecido conjuntivo e até tecido adiposo afastando o músculo.

Nos espécimes onde houve total integração do enxerto ao osso neoformado, ocorreu certo padrão de reabsorção, contudo, todo o enxerto foi envolvido por osso (na

interface, bordas e até mesmo sobre o enxerto). Os ossos neoformados se apresentam intensamente vascularizados.

Descrições Específicas

B55d – 1 – Observam-se resquícios de Norian® ao redor do enxerto, em meio ao tecido conjuntivo. Do lado esquerdo, o pouco osso neoformado na IEOR se encontrava distante do parafuso. Do lado direito houve uma reabsorção de praticamente todo o enxerto, sendo o local parcialmente ocupado por tecido conjuntivo e Norian®. Houve uma intensa remodelação do osso receptor e formação de osso reacional, tanto horizontalmente, quanto verticalmente além da região onde estaria o enxerto (**Fig. 29**).

B55d – 2 – Tecido conjuntivo invadindo internamente o enxerto do lado esquerdo gerando reabsorção (**Fig. 30**).

B55d – 3 – Do lado esquerdo houve formação de osso na IEOR. Do lado direito houve formação de osso na IEOR e integração do osso neoformado à borda do enxerto (**Fig. 31**).

B55d – 4 – Enxerto com certo padrão de reabsorção, contudo, envolvido por osso neoformado (**Fig. 32**).

B55d – 5 – Enxerto com certo padrão de reabsorção, contudo, envolvido por osso neoformado (**Fig. 33, 34, 35**).

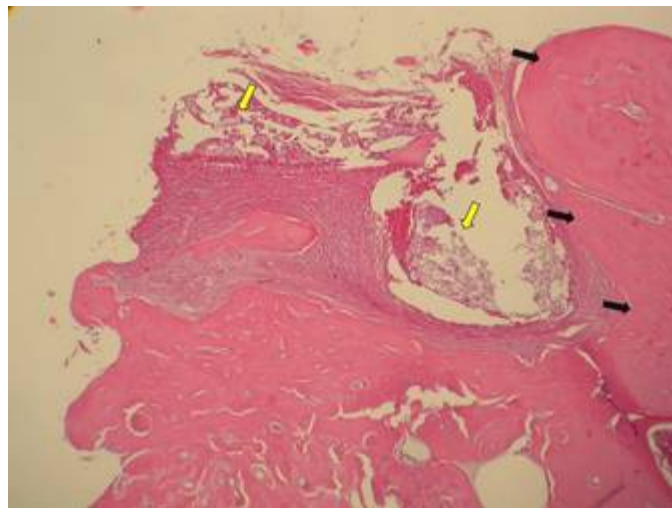


Fig. 29 - B55d-1 (50X) – Reabsorção do enxerto com pequena quantidade de osso cercado por tecido conjuntivo. Intensa remodelação do osso receptor. Presença de Norian® (setas amarelas) e osso reacional vertical (setas pretas).

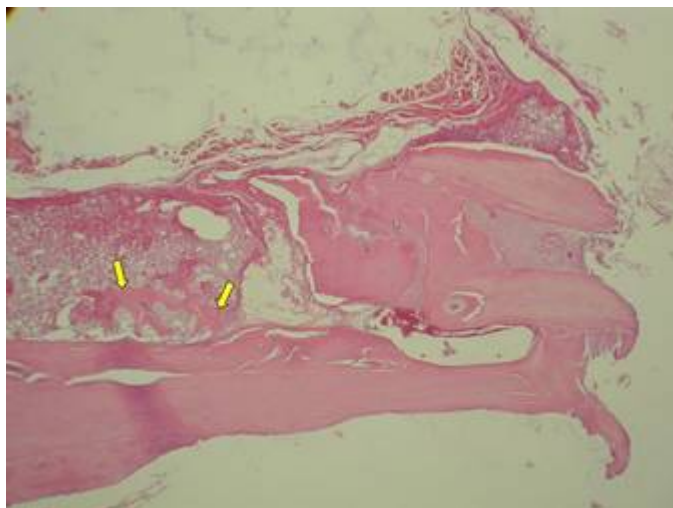


Fig. 30 - B55d-2 (50X) – Tecido conjuntivo internamente ao enxerto do lado esquerdo; tecidos conjuntivo e adiposo penetrando a borda esquerda; Norian[®] sobre e ao lado do enxerto; ilhas de osso neoformado internamente ao Norian[®] (setas amarelas).

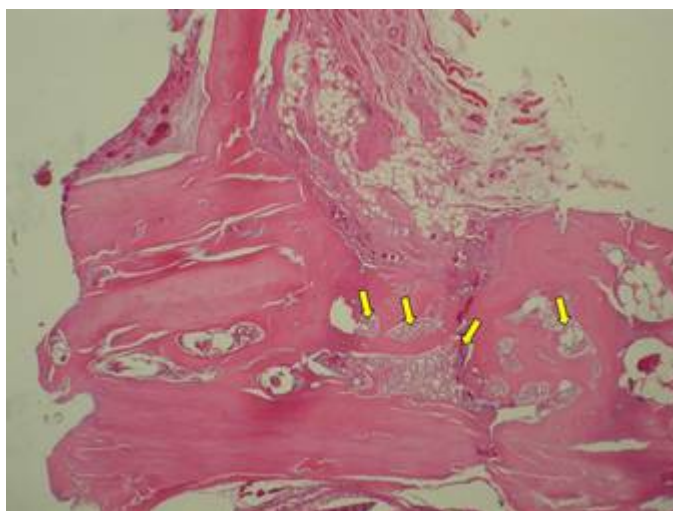


Fig. 31 - B55d-3 (50X) – Osso neoformado na IEOR; integração do osso neoformado à borda direita do enxerto; tecido conjuntivo e adiposo afastando o músculo; resquícios de Norian[®] dentro do osso neoformado (setas amarelas).

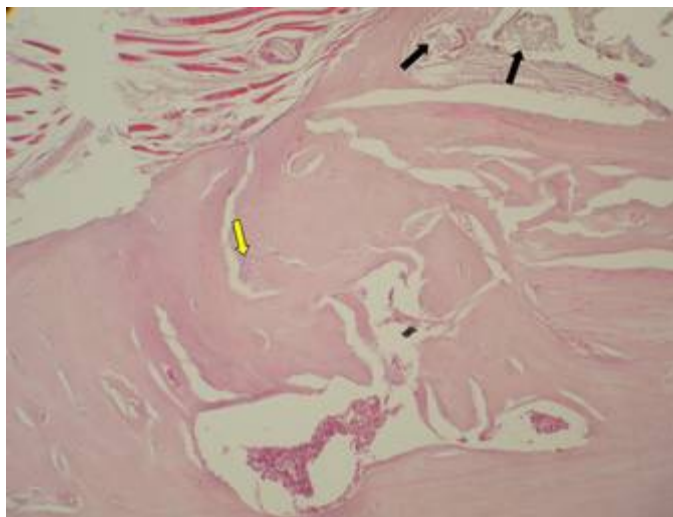


Fig. 32 - B55d-4 (100X) – Enxerto do lado esquerdo, envolvido por osso vascularizado; Norian[®] sendo substituído por osso (seta amarela); resquícios de Norian[®] sobre o enxerto (setas pretas).

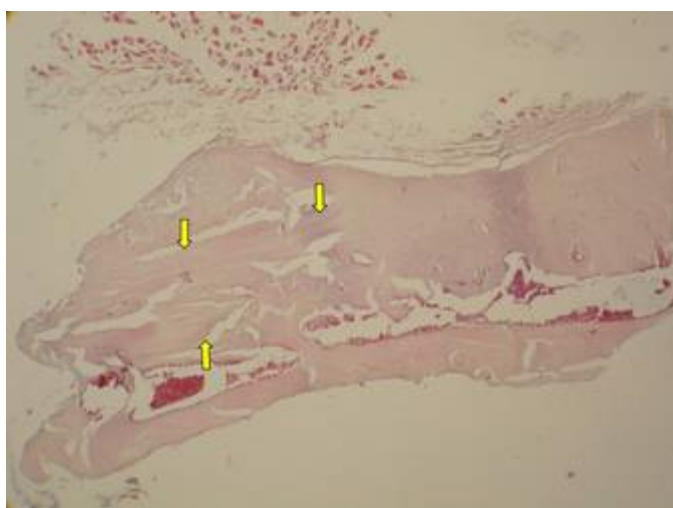


Fig. 33 - B55d-5 (50x) – Enxerto do lado direito (setas amarelas) completamente envolvido por osso neoformado, vascularizado.

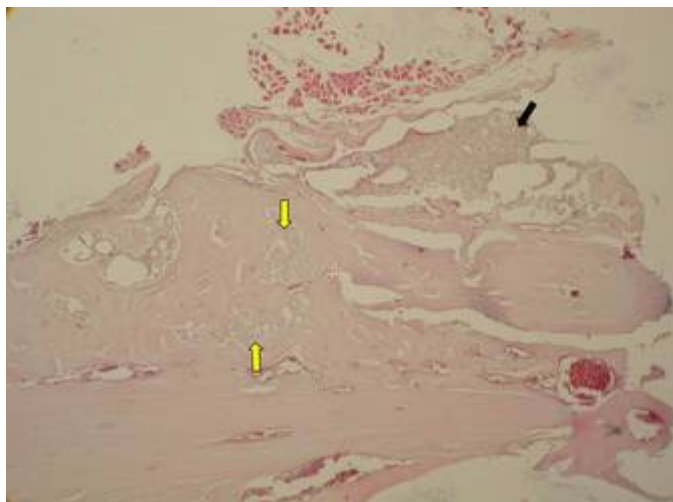


Fig. 34 - B55d-5 (50x) – Enxerto do lado esquerdo envolvido por osso; osso neoformado, vascularizado, contendo resquícios de Norian® em seu interior (setas amarelas); resquícios de Norian® sobre o enxerto (seta preta).

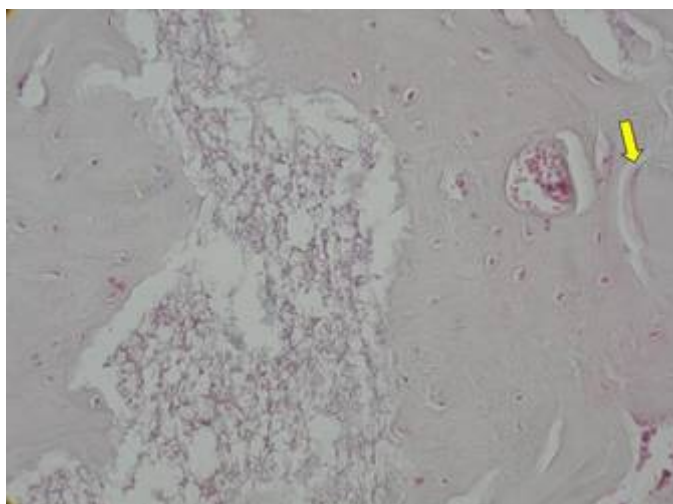


Fig. 35 - B55d-5 (400x) – Norian® sendo substituído por osso vascularizado; borda esquerda do enxerto (seta amarela).

- Análise Histométrica -

Borda Inferior do Enxerto, Osso Neoformado em contato direto com o Enxerto e o Osso Receptor, Osso Total Neoformado na Interface

Foi realizada uma proporção do *osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor* e do *osso total neoformado na Interface* em relação à medida da *borda inferior do enxerto*. Nessas medidas lineares, após obter uma média de cada grupo, o grupo contendo menos de quatro animais foi removido (I21d – 3 animais), pois impossibilitava a correta aplicação do teste estatístico.

Os resultados foram considerados significativos a um nível de significância máximo de 5% ($p \leq 0,05$).

Tabela 1. Comparação do percentual das variáveis entre os grupos em relação à borda inferior do enxerto (retirada do grupo Interface 21 dias)

<i>Percentual</i>	<i>Grupo</i>	<i>n</i>	<i>Média (%)</i>	<i>Desvio-padrão(%)</i>	<i>P</i>
Osso Neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor (lado esquerdo)	Barreira 21 dias	5	88,87 ^A	24,88	0,043
	Controle 21 dias	5	10,70 ^B	23,93	
	Barreira 55 dias	5	67,03 ^A	45,21	
	Interface 55 dias	4	84,52 ^A	25,31	
	Controle 55 dias	5	58,46 ^{AB}	42,54	
Osso Neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor (lado direito)	Barreira 21 dias	5	53,69 ^A	20,44	0,045
	Controle 21 dias	5	17,34 ^A	24,10	
	Barreira 55 dias	5	67,79 ^{AB}	46,21	
	Interface 55 dias	4	95,18 ^B	6,62	
	Controle 55 dias	5	48,44 ^A	38,07	
Osso Total Neoformado na Interface (lado esquerdo)	Barreira 21 dias	5	88,87 ^A	24,88	0,008
	Controle 21 dias	5	34,73 ^B	15,57	
	Barreira 55 dias	5	100,00 ^A	0,00	
	Interface 55 dias	4	97,75 ^A	4,50	
	Controle 55 dias	5	58,46 ^{AB}	42,54	
Osso Total Neoformado na Interface (lado direito)	Barreira 21 dias	5	61,62	28,54	0,300
	Controle 21 dias	5	67,70	46,27	
	Barreira 55 dias	5	80,00	44,72	
	Interface 55 dias	4	100,00	0,00	
	Controle 55 dias	5	80,00	44,72	

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si

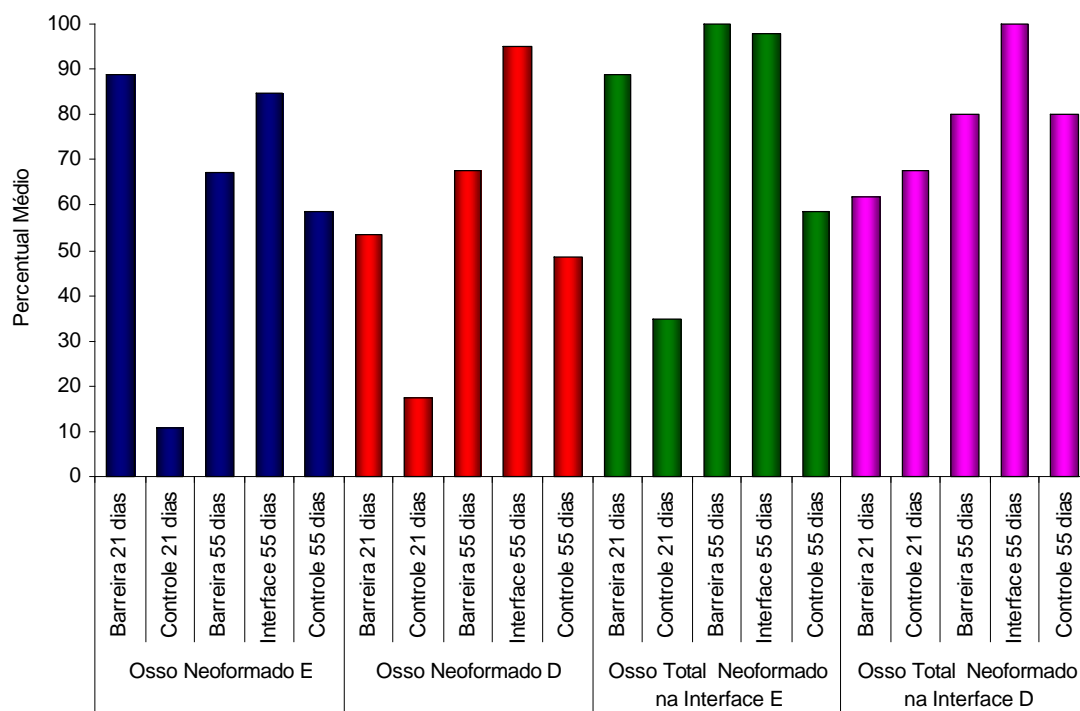
** As médias e desvio padrão do grupo I21d foram: osso neoformado esquerdo 40,56 (37,38); osso neoformado direito 37,11 (17,49); osso total esquerdo 50,85 (43,64); osso total direito 53,06(23,97)

Através dos resultados do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, verifica-se que existe diferença significativa entre os grupos para todas as variáveis, com exceção da variável percentual de *Osso Total Neoformado na Interface do lado direito*. Para as demais:

- *Osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor (lado esquerdo)*: o grupo Controle 21 dias apresenta valores significativamente inferiores aos grupos Barreira 21 dias, Barreira 55 dias e Interface 55 dias ($p=0,043$);

- Osso neoformado em contato direto com o enxerto e o osso receptor (lado direito): Os grupos Barreira 21 dias, Controle 21 dias e Controle 55 dias, apresentam valores significativamente inferiores ao grupo Interface 55 dias ($p=0,045$);
- Osso total neoformado na interface (lado esquerdo): Grupo Controle 21 dias apresenta valores significativamente inferiores aos grupos Barreira 21 dias, Barreira 55 dias e Interface 55 dias ($p=0,08$);

Gráfico 1. Comparação do percentual das variáveis entre os grupos em relação à borda inferior do enxerto (retirada do grupo Interface 21 dias)



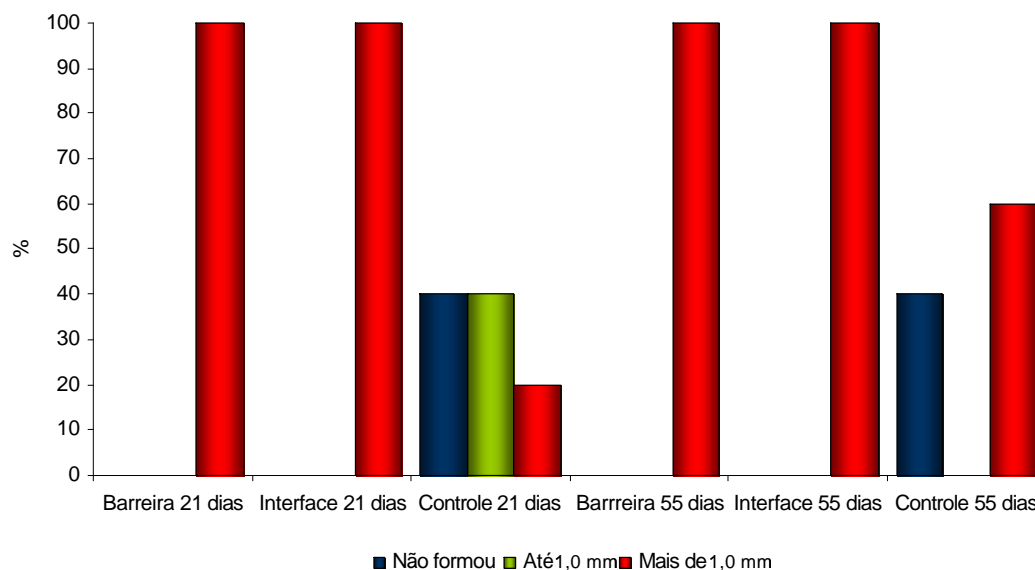
Osso Neoformado Horizontalmente

Tabela 2. Comparação entre os grupos do osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo

Grupo	Osso neoformado horizontalmente (esquerdo)						Total	
	Não formou		Até 1,0mm		Mais de 1,0mm			
	N	%	n	%	n	%	n	%
Barreira 21 dias	-	-	-	-	5	100,0	5	100,0
Interface 21 dias	-	-	-	-	3	100,0	3	100,0
Controle 21 dias	2	40,0	2	40,0	1	20,0	5	100,0
Barreira 55 dias	-	-	-	-	5	100,0	5	100,0
Interface 55 dias	-	-	-	-	4	100,0	4	100,0
Controle 55 dias	2	40,0	-	-	3	60,0	5	100,0
Total	4	14,8	2	7,4	21	77,8	27	100,0

Através do teste Kruskal-Wallis, verifica-se que o grupo Controle 21 dias apresenta menos osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo do que os outros grupos (com exceção do grupo Controle 55 dias que não apresentou diferença significativa em relação ao Controle 21 dias) ($p=0,018$). Do lado direito não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,280$).

Gráfico 2. Comparação entre os grupos do osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo



Osso Neoformado em Altura (Verticalmente)

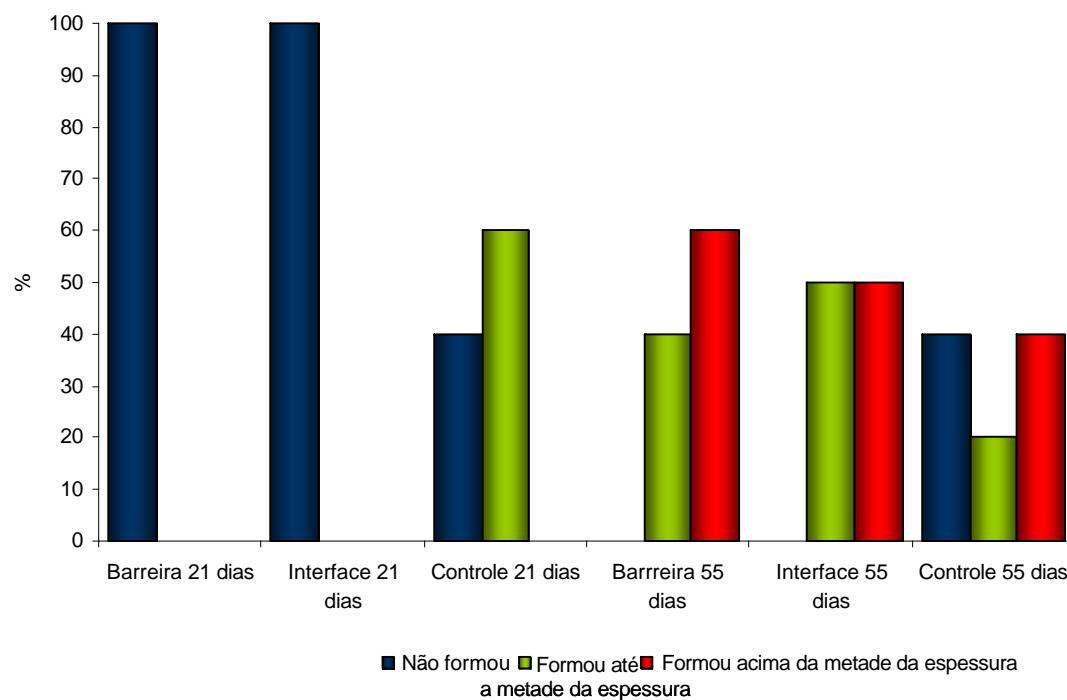
Do lado esquerdo não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,432$).

Tabela 3. Comparação entre os grupos do osso neoformado verticalmente do lado direito

Grupo	Osso neoformado verticalmente (direito)						Total	
	Não formou (ou formou abaixo da cortical inferior)		Até a metade da espessura do enxerto		Acima da metade da espessura do enxerto			
	N	%	n	%	n	%	n	%
Barreira 21 dias	5	100,0	-	-	-	-	5	100,0
Interface 21 dias	3	100,0	-	-	-	-	3	100,0
Controle 21 dias	2	40,0	3	60,0	-	-	5	100,0
Barreira 55 dias	-	-	2	40,0	3	60,0	5	100,0
Interface 55 dias	-	-	2	50,0	2	50,0	4	100,0
Controle 55 dias	2	40,0	1	20,0	2	40,0	5	100,0
Total	12	44,4	8	29,6	7	25,9	27	100,0

Através do teste Kruskal-Wallis verifica-se que o grupo Barreira 21 dias apresentou osso neoformado vertical do lado direito significativamente inferior aos grupos Barreira 55 dias e Interface 55 dias ($p=0,014$). O restante dos grupos não apresentou diferenças significativas.

Gráfico 3. Comparação entre os grupos do osso neoformado verticalmente do lado direito



DISCUSSÃO

O osso autógeno é considerado o material de escolha para o tratamento de defeitos e reconstruções ósseas (CHACON et al., 2004; VOS et al., 2009). Técnicas de enxertos mandibulares são citadas, visando o ganho de volume ósseo em região posterior de mandíbula, com o intuito de reabilitação com implantes dentários (SCHWARTZ-ARAD e LEVIN, 2007). A forma córtico-medular em bloco tem demonstrando que, além de promover uma estrutura rígida, permite o transplante de osteoblastos viáveis e fatores de crescimento, auxiliando no processo de cicatrização (CHACON et al. 2004).

Dentre as áreas doadoras de osso autógeno, existem tanto as intra-orais como as extra-orais (VOS et al., 2009). Relatos de baixos níveis de reabsorção e o alto grau de qualidade do osso de calvária demonstram uma grande taxa de sucesso da utilização desse na reabilitação de maxilas e mandíbulas atroficas que irão suportar os implantes dentários (SMOLKA e IIZUCA, 2006; SMOLKA et al., 2006). Há técnicas que utilizam inclusive a forma de enxerto bicortical para esse fim (GLEIZAL e BEZIAT, 2007). Dessa forma, o presente trabalho optou pela escolha dessa região doadora, pois se trata de um sítio doador consagrado na literatura e com relativa facilidade de execução da técnica, frente ao tamanho dos animais utilizados.

Já a escolha da área receptora se deu por alguns fatores: a utilização de modelo animal para a avaliação da integração de enxertos autógenos córtico-medulares, em região de ângulo de mandíbula, é descrita por Chacon et al. 2004; tratando-se de aplicação clínica, é uma região que necessita de constante reconstrução com enxertos ósseos para reabilitação (SMOLKA e IIZUCA, 2006; SMOLKA et al., 2006; Schwartz-Arad e Levin, 2007); é uma área sob constante ação de força muscular.

As desvantagens clínicas para a utilização do auto-enxerto estariam concentradas na necessidade de um segundo sítio cirúrgico para área doadora, e na limitação quanto à quantidade de material disponível. Dessa forma, os demais tipos de enxertos, incluindo os aloplásticos, são utilizados em substituição ou associação ao osso autógeno. (NASR et al., 1999; MACEDO et al. 2004; STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; OUSTERHOUT e STELNICKI, 1996; SILVEIRA et al, 2008; SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006; THORWARTH et al., 2006).

Segundo o fabricante, não se sabe a eficácia do Norian[®] quando combinado a enxertos ósseos, colocado sobre tecidos não vascularizados, em áreas que suportam estresse e na reconstrução ou aumento do rebordo alveolar. Algumas aplicações clínicas utilizando o Norian[®] em mandíbula têm sido descritas, buscando esclarecer o seu comportamento (STANTON, CHOU e CARRASCO, 2004; SMOLKA e IIZUCA, 2006; SMOLKA et al., 2006).

O estudo experimental realizado utilizou o fosfato de cálcio (Norian[®] CRS[®] Craniofacial Repair System[®] Fast Set[™] Putty) associado ao osso autógeno *onlay*, que se trata de um enxerto livre, inicialmente não vascularizado, e em uma região de inserção do músculo masséter de um roedor, submetido a constante estresse. Assim, frente ao metabolismo dos animais utilizados, foram formados os grupos de 21 dias e 55 dias, com o intuito de avaliar uma fase inicial e uma fase relativamente tardia do processo de integração do enxerto.

Dentre as características ideais para os substitutos do osso estão: serem resistentes ou não à reabsorção, dependendo do uso; excreção ou metabolismo através de uma via fisiológica normal, quando os materiais forem reabsorvíveis; não serem carcinogênicos ou alergênicos; possuírem resistência à deformação (OUSTERHOUT e STELNICKI, 1996; ANUSAVICE, 1998; VALÉRIO et al., 2004; KNABE et al., 2005). O cimento de fosfato de cálcio (Norian[®]) é formado por uma mistura de fosfato de monocálcio monohidratado, α -tricálcio fosfato e carbonato de cálcio, no qual é adicionada uma solução de fosfato de cálcio. Após a mistura, a pasta endurece, formando um composto cristalino semelhante à fase mineral do osso (KIRSCHNER et al. 2002). A pasta obtida da mistura dos constituintes do cálcio e fosfato, com a solução tampão, e injetados dentro do defeito ósseo, alcançam sua máxima força de compressão em 12 horas. Essa reação ocorre no pH e temperatura do corpo, permitindo um tempo de trabalho de 5 minutos após uma mistura de 2,5 minutos (KOPYLOV, et al. 2002). Esses cimentos de fosfato de cálcio são considerados a segunda geração de hidroxiapatitas de substituição óssea (GENECOV et al., 2007). Segundo Herculiani et al. (2000) um dos principais fatores que atuam impedindo ou dificultando a regeneração do osso, parcialmente ou totalmente, no local desejado, é a rápida formação de tecido conjuntivo de origem não óssea. O objetivo da utilização do Norian[®], como forma de barreira, foi a proteção das bordas do enxerto. Essa região, mais distante do parafuso, apresentou-se menos adaptada ao osso receptor, estando mais propensa à penetração de tecido mole.

O princípio da osteopromoção é baseado no artifício utilizado para fazer o selamento de um local anatômico, onde se deseja a formação de novo osso, ou mesmo a reconstituição do osso perdido, impedindo que outros tecidos, mais comumente o tecido conjuntivo, possam interferir no crescimento ou na direção da formação desse. Uma aplicação do princípio da osteopromoção compreende em colocar membranas artificiais no tecido, envolvendo o local que se deseja a osteogênese, de maneira firme e adaptada à superfície do osso. Isso gera uma melhor cicatrização, através de uma completa restituição e/ou formação óssea (LINDE et al., 1993). Dentre os métodos utilizados na regeneração ou reparo de tecido ósseo perdido, está incluída a regeneração tecidual guiada (RTG), com a utilização de membranas. O método funciona como uma barreira física biocompatível que previne a proliferação de tecido conjuntivo e epitélio, considerados não osteogênicos. No caso das membranas não-reabsorvíveis é necessário um segundo procedimento para sua remoção. Já as membranas reabsorvíveis, funcionam como barreiras biocompatíveis e eficazes, possuindo a vantagem de não necessitarem de um segundo ato cirúrgico para sua remoção (CRUMP et al., 1996; DAHLIN, 1996; PECORA et al., 1997). O mesmo princípio, envolvendo especificamente a regeneração do osso, é descrito por Schenk (1996) como regeneração óssea guiada (ROG).

Relatos da aplicação clínica de membranas reabsorvíveis e não-reabsorvíveis, baseada nos princípios da ROG, têm sido apresentados demonstrando a preservação e até o aumento do processo alveolar, com resultados satisfatórios, quando comparados à não utilização dessas (LEKOVIC et al., 1997; ANSON, 2002; PROUSSAEFS e LOZADA, 2003). Além disso, Silveira et al. (2008) demonstram em sua pesquisa que uma pasta à base de cálcio, manipulável, quando utilizado para preencher defeitos ósseos, possuiu a capacidade de fazer a manutenção do espaço, permitindo a migração de células osteogênicas para seu interior. Quando utilizado em forma de barreira, sobre um material aloplástico de preenchimento, proporciona

maior osteocondutividade, quando comparado com o material sem a proteção externa da barreira de cálcio.

Staton, Chou e Carrasco (2004) relatam um caso de reconstrução de um grande defeito ósseo com o fosfato de cálcio (Norian[®]), causado pela remoção de um ceratocisto em mandíbula. Após a remoção da lesão e preservação de paredes ósseas finas remanescentes, o cimento foi injetado. Cerca de ¼ do material foi perdido ao longo de 2 meses, através da mucosa oral, devido à ação traumática da dentição oposta sobre o local. Após 3 anos de cirurgia não foi observada a recorrência da lesão e ocorreu a gradativa substituição e a reabsorção do material por osso, sendo que a força e a forma da mandíbula foram preservadas. Os autores sugerem que o cimento funcionou como uma regeneração tecidual guiada, promovendo suporte estrutural para o periósteo ao redor e prevenindo que tecido mole invadisse a cavidade.

Casos de complicações são descritos na literatura, como fístula devido à separação do material; celulite no local da incisão; infecções do acesso cirúrgico; infecção crônica no local da cirurgia (GENECOV et al., 2007); deiscência parcial, com exposição da superfície do material (SWAID, HÖLZLE e WOLFF, 2006); e deiscência com infecção, necessitando a remoção do produto (GÓMEZ, et al., 2005). Para Zins, Moreira-Gonzalez e Papay (2007) os casos devem ser avaliados para que haja uma correta indicação frente ao tratamento clínico proposto e, Gómez et al. (2005) afirmam que, pacientes com risco de infecção devem ser previamente triados. Em nosso estudo, o propósito dos grupos na forma de barreira (B21d e B55d) também foi de impedir que o tecido mole invadisse os espaços existentes entre as bordas do enxerto e o osso receptor. Além disso, visou promover uma adesão extra do enxerto ao osso mandibular através do material, auxiliando naquela propiciada pelo parafuso, só que com propriedades osseocondutivas. Em muitos casos desses grupos observamos esse papel, onde o tecido conjuntivo e muscular se apresentou afastado do enxerto e do osso receptor devido a presença do Norian[®]. Frente à utilização do produto, foi observada uma maior formação óssea na IEOR do lado esquerdo. O grupo C21d apresentou valores significativamente inferiores aos B55d, I55d e até mesmo ao grupo B21d ($p=0,043$). Um melhor resultado também foi observado em relação ao osso total neoformado na interface do lado esquerdo, nesses mesmos grupos ($p=0,08$).

Para Swaid, Hölzle e Wolff, 2006 o Norian[®] se trata de um material com força de compressão e plasticidade inicial ideais para reabilitar maxilas e mandíbulas atroficas com, inclusive, a colocação imediata de implantes dentários. Já Genecov et al. (2007) acreditam que, apesar de o material ser biocompatível e osseocondutivo, eles devem ser utilizados com cuidado, pois são propensos às fraturas e requerem uma estrutura remanescente para se estabilizar nos defeitos.

Em relação às propriedades osseocondutivas, esse cimento permite uma integridade estrutural e mecânica, com uma força de compressão final de 55 MPa, após 12 horas de sua aplicação, não se fraturando durante o processo de reabsorção e remodelação do osso (KOPYLOV, et al. 2002; KIRSCHNER et al. 2002). Além disso, possuiu uma capacidade química de promover a reabsorção através das células do hospedeiro, sendo substituído por osso proveniente do osso receptor. Esse processo ocorre devido à ação de osteoclastos, à infiltração vascular e a deposição de matriz óssea por osteoblastos (KIRSCHNER et al. 2002).

Por apresentar uma favorável osteocondutividade, biorreabsorção, propriedades de contorno, força compressiva alta, e baixo risco de transmissão de doenças, esse

cimento se torna uma alternativa valiosa de material aloplástico para a reconstrução de defeitos mandibulares (STANTON, CHOU E CARRASCO, 2004). Para Chambers et al., 2007, complicações na utilização do material para o restabelecimento do contorno do esqueleto facial como infecção, perda do material e exteriorização podem ocorrer, contudo, os cimentos à base de fosfato de cálcio teoricamente não gerariam esse problema, já que sua composição se assemelha à porção inorgânica do osso, sendo remodelado e posteriormente substituído por osso neoformado. Zins, Moreira-Gonzalez e Papay (2007) também afirmam que cimentos à base de cálcio são biocompatíveis, osteocondutivos e possuem um potencial de substituição por osso.

No experimento, nos locais onde havia o fosfato de cálcio, foi observada a substituição gradual do material por osso, bem como a intensa vascularização do osso neoformando. Além disso, a vascularização do enxerto também ocorreu em todos os casos.

Esse processo de neovascularização foi observado clinicamente por Chambers, et al. (2007) ao fazerem uma reintervenção em uma paciente com fratura de complexo orbitozigomático. Observaram que o local em que se havia utilizado previamente o Norian[®], com resultados satisfatórios, havia uma revascularização clínica, demonstrada através de sangramento. Um fragmento da região foi removido e enviado para exame histológico, sendo constatada uma complexa relação entre o Norian[®] e o osso lamelar, confirmando a revascularização e remodelação óssea.

Chacon et. al (2004) ao estudarem o processo de fixação óssea aposicional, observaram histologicamente processos de remodelação do enxerto, bem como a formação de osso reacional, próximo ao parafuso na superfície medial da mandíbula, à distância do enxerto. Esses achados coincidem com o presente estudo, onde foram observados enxertos vascularizados e, em alguns casos, com remodelação óssea interna, indicando que houve o processo de neovascularização, reabsorção e deposição óssea mediada por osteoclastos e osteoblastos. Aqueles enxertos que não apresentaram integração, ou seja, com tecido conjuntivo interposto, apresentaram-se vascularizados, com vasos sanguíneos provenientes do tecido mole. Além disso, os autores citados anteriormente afirmam sobre a importância da fixação rígida para o resultado final da integração. Essa relação é vista de forma evidente em nossos achados histológicos, onde, a maior parte do osso neoformado na IER, ocorreu próximo ao parafuso de fixação, local de maior adaptação e estabilidade do enxerto ao osso receptor.

Kopylov et al. (2002) utilizou o cimento em fraturas de ossos do esqueleto apendicular, o que permitiu uma mobilização mais acelerada, igualmente comparada a diferentes técnicas utilizadas com esse intuito. Contudo, recomenda que a utilização isolada desse material é inadequada para estabilização, necessitando de uma fixação adicional interna ou externa. Isso porque, apesar de conseguirem obter um melhor alinhamento utilizando o Norian[®] em fraturas de rádio, algumas perdas de redução ocorreram ao longo do tratamento.

Nossos resultados demonstram que, a utilização do Norian[®] proporcionou significância estatística em diferentes itens analisados. O grupo I55d apresentou resultados superiores aos grupos controle (C21d e C55d) e ao grupo B21d na formação de osso na IER do lado direito ($p=0,045$). Além disso, no item osso neoformado horizontalmente do lado esquerdo, o grupo C21d não apresentou diferença significativa em relação ao C55d, contudo, demonstrou haver formado menos osso que os demais grupos que utilizaram o fosfato de cálcio ($p=0,018$),

sugerindo uma indução da neoformação óssea reacional por parte do osso receptor, mesmo que a certa distância do enxerto.

Swaid, Hölzle e Wolff (2006) observaram, por um período de 32 meses, através de acompanhamentos radiográficos, a completa substituição no Norian[®] por tecido ósseo, sem ocorrer qualquer deslocamento ou fratura do material. Eles utilizaram o produto na reconstrução em altura de maxilas e mandíbulas atróficas, para a colocação de implantes dentários, sendo que, em alguns casos, houve a colocação imediata dos implantes. Em dois casos houve deiscência parcial, com exposição da superfície do material. Nos 73 implantes colocados não houve sinais de infecção ou perda. Para os autores, nos casos de reconstrução de ossos maxilares atróficos, com inserção simultânea de implantes dentários, devido à plasticidade inicial do material e grande força de compressão, é possível obter a estabilidade dos implantes.

No experimento, foi observado o cimento de fosfato de cálcio tanto extra quanto intra-ósseo, sugerindo o processo de reabsorção e substituição. Contudo, mesmo aos 55 dias, resquícios do material foram observados, não sendo o tempo suficiente para o processo completo de troca. Dessa forma, a explicação do resultado do grupo B21d ter apresentado osso neoformado vertical do lado direito diminuído em relação aos grupos B55d e I55d ($p=0,014$) é que o fosfato de cálcio ainda estava presente, pois nessa fase, na maior parte dos casos, não houve tempo suficiente para substituição total ou quase total do material por novo osso.

Demais pesquisadores utilizaram medidas lineares para avaliar o osso neoformado com o uso do Norian[®], com diferentes referências. Genecov et al. (2007) associaram o material a diferentes telas, em defeitos ósseos bilaterais em calvárias de cães, e observaram novo osso formado nas bordas do defeito em três e seis meses, e uma boa integração do osso neoformado com o osso receptor aos 12 meses. Uma boa formação óssea foi vista circundando o Norian[®] em ambos os grupos (teste e controle). Frente aos resultados do trabalho, os autores acreditam que, o produto associado à tela de titânio, seja apropriado para a estabilidade em curto e longo prazo.

Além das utilizações já descritas, esse cimento tem sido aplicado em estudos experimentais de craniotomias fronto-orbitárias de animais em fase de crescimento (KIRSCHNER et al., 2002) e na reconstrução de terço superior e médio de pacientes pediátricos (GÓMEZ et al., 2005), sem gerar alterações no desenvolvimento ósseo. No estudo em animais, após um período de 90 dias, caracterizado como o período máximo de crescimento dos Yorkshire piglets, foi observada completa, ou quase completa cicatrização óssea no sentido póstero-medial dos espaços ósseos onde se utilizou o material. Nos pacientes pediátricos, em um caso que foi operado 16 meses após a cirurgia para a colocação do Norian[®], em algumas áreas, o cimento de cálcio estava presente. Alguns locais apresentaram substituição parcial do Norian[®] por osso neoformado, sem a perda do contorno desejado.

Assim como foi observado por Kirschner et al. (2002), no presente experimento não houve infecção ou extrusão do material utilizado, situações citadas pelo fabricante como possíveis complicações. Segundo os autores, esse resultado satisfatório é obtido não só pela biocompatibilidade do material, mas também pela velocidade de remodelação do produto, ou seja, caso o material não seja substituído por osso, pode gerar uma reação de corpo estranho em longo prazo.

Dessa forma, frente aos resultados do trabalho proposto, foi possível concluir que a utilização do Norian[®], associado aos enxertos *onlay*, proporcionou neoformação óssea mais evidente, mesmo em uma região de constante estresse muscular.

Aprovação Ética

Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUC-RS e CEP/PUC-RS

Agradecimentos. Laboratório de Patologia Bucodental da PUC-RS; Laboratório de Patologia Bucal da PUC-MG; Laboratório Moacyr Junqueira – (BH-MG) - Dr.^a Cristiana B. Nunes; Departamento de Atenção Farmacêutica e Práticas Profissionais – Faculdade de Farmácia PUC-RS (Prof.^a Fernanda Bueno Morrone / Prof.^a Maria Martha Campos); NeoOrtho[®] (Curitiba, Paraná, Brasil).

REFERÊNCIAS

Anusavice, KJ. *Materiais Dentários*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, 412p.

Chambers, PA; Loukota, RA; High, AS. Vascularisation of Norian CRS bone cement and its replacement by autologous bone when used for orbital reconstruction. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 45, 77-78, 2007.

Chancon, GE; Ellis, JP; Kalmar, JR; McGlumphy, EA. Using resorbable screws for fixation of cortical onlay bone grafts: an in vivo study in rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62, 1396-1402, 2004.

CRUMP, T. B. et al. Influence of three membrane types on healing of bones defects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, St. Louis, v. 82, n. 4, Oct. 1996.

DAHLIN, C. A origem científica da regeneração óssea guiada. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. *Regeneração óssea guiada na implantodontia*. 1 ed. São Paulo: Quintessence, 1996, p. 31-48.

FROUM, S.; CHO, S. C.; ROSENBERG, E.; ROHRER, M.; TARNOW, D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *Journal of Periodontology*, Chicago, v. 73, n.1, p. 94-102, 2002.

Genecov, DG; Kremer, M; Agarwal, R; Salyer, KE; Barcelo, CR; Aberman, HM; Opperman, LA. Norian Craniofacial Repair System: Compatibility with Resorbable and Nonresorbable Plating Materials. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 120, 1487-1495, 2007.

Gleizal, AM; Beziat, JLE. Maxillary and Mandibular reconstruction using bicortical calvarial bone grafts. Retrospective study of 122 reconstructions in 73 patients. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 119 (2), 542-548, 2007.

Gómez, E; Martín, M; Arias, J; Carceller, F. Clinical Applications of Norian SRS (Calcium Phosphate Cement) in Craniofacial Reconstruction in Children: Our Experience at Hospital La Paz Since 2001. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 63, 8-14, 2005.

Gorustovich, A; Rosenbuch, M; Guglielmotti, MB. Characterization of bone around titanium implants and bioactive glass particles: an experimental study in rats. *International Journal Oral & Maxillofacial Implants*, [S.l.], v. 17, n. 5, p. 644-650, 2002.

Herculiani, PP et al. Tratamento de defeito ósseo perene em calvária de cobaia com membrana de cortical óssea bovina liofilizada associada ou não a enxerto ósseo bovino desmineralizado. *Revista Brasileira de Implantodontia*, Niterói, v. 1, n. 1, p. 7-14, abr./jun. 2000.

- Kirschner, RE; Karmacharya, J; Ong, G et al. Repair of the immature craniofacial skeleton with a calcium phosphate cement: quantitative assessment of craniofacial growth. *Annals of Plastic Surgery*, 49 (1), 2002.
- Knabe, C et al. The effect of bioactive glass ceramics on the expression of bone-related genes and proteins *in vitro*. *Clinical Oral Implants Research*, Copenhagen, v. 16, p. 119-127, 2005.
- Kopylov, P; Adalberth, K; Jonsson, K; Aspenberg P. Norian SRS Versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients. *Journal of Hand Surgery*. 27B(6), 538-541, 2002.
- Linde, A et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone osteogenesis. *Journal of Periodontology*, Chicago, v. 64, n. 11, p. 1116-1128, Nov. 1993.
- Macedo, NL et al. Bone defect regeneration with bioactive glass implantation in rats. *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB*, Bauru, 12(2), 137-143, 2004.
- Misch, CE. *Implantes Dentários Contemporâneos*. 2. ed. São Paulo: Santos, 2000. Cap 29. p. 451-467.
- Nasr, HF; Aichelmann-reidy, ME; Yukna, RA. Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000, Copenhagen, v. 19, p. 74-86, Feb. 1999.
- Oosterhout, DK; Stelnicki, EJ. Plastic surgery's plastics. *Clinics in Plastic Surgery*, 23(1), 183-190, 1996.
- PECORA, G. et al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*. St. Louis, v. 84, p. 424-429, 1997.
- Schenk, RK. Regeneração óssea: Bases biológicas. In: Buser, D; Dahlin, C; Schenk, RK. *Regeneração óssea guiada na implantodontia*. 1. ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1996. p. 49-100.
- Schwartz-Arad, D; Levin, L. Multitier technique for bone augmentation using intraoral autogenous bone blocks. *Implant Dentistry*, 16 (1), 5-12, 2007.
- Silveira, RL; Machado, RA; Silveira CRS; Oliveira, RB. Bone repair process in calvarial defects using bioactive glass and calcium sulfate barrier. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 16 (4), 322-328, 2008.
- Sinikovic, B; Kramer, FJ; Swennen, G; Lübbers, HT; Dempf, R. Reconstruction of orbital wall defects with calcium phosphate cement: clinical and histological findings in a sheep model. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 36, 54-61, 2007.

Smolka, W; Eggenberger, N; Carollo, V. Ozdoba, C; Iizuka, T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Impl Res*, 17, 149-155, 2006.

Smolka, W; Iizuka, T. Reconstruction of severely atrophic jaws using calvarial bone grafts and endosseous dental implants. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 34, 124, Sppl. S1, 2006.

Stanton, DC; Chou, JC; Carrasco, LR. Injectable Calcium-Phosphate Bone Cement (Norian) for Reconstruction of a Large Mandibular Defect: A Case Report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62, 235-240, 2004.

Swaid, S; Hölzle F; Wolff, KD. Degradable injectable bone cement (Norian SRS) in augmentation of atrophic mandible and maxilla. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 34, 124-125, Sppl. S1, 2006.

Thorwarth, M; Schlegel, KA; Wehrhan, F; et al. Acceleration of de novo bone formation following application of autogenous bone to particulated anorganic bovine material in vivo. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101, 309-316, 2006.

Valerio, P et al. The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. *Biomaterials*, [S.I.], v. 25, n. 15, p. 2941-2948, July 2004.

Vos, MD; Raghoobar, GM; van der Wal, JE; Kalk, WWI; Vissink, A. Autogenous femoral head as grafting material for mandibular augmentation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 38 (12), 1320-1323, 2009.

Wolff, KD; Swaid, S; Nolte, D; Böckmann, RA; Hölzle, F; Müller-Mai, C. Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 32, 71-79, 2004.

Zins, JE; Moreira-Gonzales, A; Papay, FA. Use of Calcium-Based Bone Cements in the Repair of Large, Full-Thickness Cranial Defects: A Caution. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 120, 1332-1342, 2007.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- O uso do Norian[®], em conjunto com enxertos ósseos aposicionais devidamente fixados, em ângulo de mandíbula de ratos Wistar, demonstrou ser uma opção viável, não apresentando complicações pós-operatórias;

- Os dispositivos de tracionamento desenvolvidos para a pesquisa, juntamente com a metodologia proposta, permitiram criar uma forma de quantificação da integração dos enxertos *onlay* em mandíbulas de ratos;

- Os enxertos aposicionais, quando associados ao Norian[®], apresentaram melhores resultados ao teste de força de tração, principalmente na fase inicial da cicatrização óssea;

- Através da descrição histológica e da análise histométrica foi possível verificar que, a utilização do Norian[®], associado aos enxertos *onlay*, proporcionou maior formação óssea, mesmo em uma região de constante estresse muscular.



5. REFERÊNCIAS

5. REFERÊNCIAS

ANUSAVICE, KJ. **Materiais Dentários**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, 412p.

CAVALCANTE Jr, JS; LEITE, JAD; MELO FEA et al. Eficácia da fixação direta do Labrum na glenóide em lesão de Bankart provocada em laboratório e submetida à estresse. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 17(6), 410-416, 2002.

CHAMBERS, PA; Loukota, RA; High, AS. Vascularisation of Norian CRS bone cement and its replacement by autologous bone when used for orbital reconstruction. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 45, 77-78, 2007.

CHANCON, GE; Ellis, JP; Kalmar, JR; McGlumphy, EA. Using resorbable screws for fixation of cortical onlay bone grafts: an in vivo study in rabbits. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 62, 1396-1402, 2004.

COSTA, ASS; Leite, JAD; Melo, FEA; Guimarães, SB. Biomechanical properties of the biceps-labral complex submitted to mechanical stress. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 21(4), 214-218, 2006.

CRUMP, T. B. et al. Influence of three membrane types on healing of bones defects. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, St. Louis, v. 82, n. 4, Oct. 1996.

D'ACAMPORA, AJ; KESTERING, DM; Soldi, MS; Rossi, LF. Experimental study comparing the tensile strength of different surgical meshes following aponeurotic-muscle deformity synthesis on Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 22(1), 47-52, 2007.

DAHLIN, C. A origem científica da regeneração óssea guiada. In: BUSER, D.; DAHLIN, C; SCHENK, R K. **Regeneração óssea guiada na implantodontia**. 1 ed. São Paulo: Quintessence, 1996, p. 31-48.

FROUM, S; CHO, SC; ROSENBERG, E; ROHRER, M; TARNOW, D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralizes freeze-dried bone allograft: a pilot study. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 73, n.1, p. 94-102, 2002.

GENECOV, DG; KREMER, M; AGARWAL, R; SALYER, KE; BARCELO, CR; ABERMAN, HM; OPPERMAN, LA. Norian Craniofacial Repair System: Compatibility with Resorbable and Nonresorbable Plating Materials. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 120, 1487-1495, 2007.

GLEIZAL, AM; BEZIAT, JLE. Maxillary and Mandibular reconstruction using bicortical calvarial bone grafts. Retrospective study of 122 reconstructions in 73 patients. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 119 (2), 542-548, 2007.

GÓMEZ, E; MARTÍN, M; ARIAS, J; CARCELLER, F. Clinical Applications of Norian SRS (Calcium Phosphate Cement) in Craniofacial Reconstruction in Children: Our Experience at Hospital La Paz Since 2001. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 63, 8-14, 2005.

GORUSTOVICH, A; ROSENBUCH, M; GUGLIELMOTTI, MB. Characterization of bone around titanium implants and bioactive glass particles: an experimental study in rats. **International Journal Oral & Maxillofacial Implants**, [S.l.], v. 17, n. 5, p. 644-650, 2002.

HERCULIANI, PP. et al. Tratamento de defeito ósseo perene em calvária de cobaia com membrana de cortical óssea bovina liofilizada associada ou não a enxerto ósseo bovino desmineralizado. **Revista Brasileira de Implantodontia**, Niterói, v. 1, n. 1, p. 7-14, abr./jun. 2000.

Kirschner, RE; Karmacharya, J; Ong, G et al. Repair of the immature craniofacial skeleton with a calcium phosphate cement: quantitative assessment of craniofacial growth. **Annals of Plastic Surgery**, 49 (1), 2002.

KNABE, C. et al. The effect of bioactive glass ceramics on the expression of bone-related genes and proteins *in vitro*. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 16, p. 119-127, 2005.

KOPYLOV, P; ADALBERTH, K; JONSSON, K; ASPENBERG P. Norian SRS Versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients. **Journal of Hand Surgery**. 27B(6), 538-541, 2002.

LINDE, A. et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone osteogenesis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 64, n. 11, p. 1116-1128, Nov. 1993.

MACEDO, NL et. al. Bone defect regeneration with bioactive glass implantation in rats. **Journal o Applied Oral Science: Revista FOB**, Bauru, 12(2), 137-143, 2004.

MISCH, CE. **Implantes Dentários Contemporâneos**. 2. ed. São Paulo: Santos, 2000. Cap 29. p. 451-467.

NAHAS, FX; FERREIRA, LM. Cadaver as an experimental model to study abdominal wall tension. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 18, 37-45, 2003.

NASR, H. F., AICHELMANN-REIDY, M. E., YUKNA, R. A. Bone and bone substitutes. **Periodontology** 2000, Copenhagen, v. 19, p. 74-86, Feb. 1999.

OUSTERHOUT, DK; STELNICKI, EJ. Plastic surgery's plastics. **Clinics in Plastic Surgery**, 23(1), 183-190, 1996.

PECORA, G. et al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. St. Louis, v. 84, p. 424-429, 1997.

ROSSI, LF; RAMOS, RR; ELY, JB et al. Considerations that may influence the result of trials assessing tensile strength in experimental surgery. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 22(6), 499-502, 2007.

SCHENK, RK. Regeneração óssea: Bases biológicas. In: BUSER, D; DAHLIN, C; SCHENK, RK. **Regeneração óssea guiada na implantodontia**. 1. ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1996. p. 49-100.

SCHWARTZ-ARAD, D; LEVIN, L. Multitier technique for bone augmentation using intraoral autogenous bone blocks. **Implant Dentistry**, 16 (1), 5-12, 2007.

SILVEIRA, RL; MACHADO, RA; SILVEIRA CRS; OLIVEIRA, RB. Bone repair process in calvarial defects using bioactive glass and calcium sulfate barrier. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 16 (4), 322-328, 2008.

SINIKOVIC, B; KRAMER, FJ; SWENNEN, G; LÜBBERS, HT; DEMPFF, R. Reconstruction of orbital wall defects with calcium phosphate cement: clinical and histological findings in a sheep model. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 36, 54-61, 2007.

SMOLKA, W; EGGENSBERGER, N; CAROLLO, V. OZDOBA, C; IIZUKA, T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. **Clin Oral Impl Research**, 17, 149-155, 2006.

SMOLKA, W; IIZUKA, T. Reconstruction of severely atrophic jaws using calvarial bone grafts and endosseous dental implants. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 34, 124, Sppl. S1, 2006.

STANTON, DC; CHOU, JC; CARRASCO, LR. Injectable Calcium-Phosphate Bone Cement (Norian) for Reconstruction of a Large Mandibular Defect: A Case Report. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 62, 235-240, 2004.

SWAID, S; HÖLZLE F; WOLFF, KD. Degradable injectable bone cement (Norian SRS) in augmentation of atrophic mandible and maxilla. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 34, 124-125, Sppl. S1, 2006.

THORWARTH, M; SCHLEGEL, KA; WEHRHAN, F; et al. Acceleration of de novo bone formation following application of autogenous bone to particulated anorganic bovine material in vivo. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 101, 309-316, 2006.

VALERIO, P. et al. The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. **Biomaterials**, [S.l.], v. 25, n. 15, p. 2941-2948, July 2004.

VOS, MD; RAGHOEBAR, GM; VAN DER WAL, JE; KALK, WWI; VISSINK, A. Autogenous femoral head as grafting material for mandibular augmentation. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 38 (12), 1320-1323, 2009.

WOLFF, KD; SWAID, S; NOLTE, D; BÖCKMANN, RA; HÖLZLE, F; MÜLLER-MAI, C. Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 32, 71-79, 2004.

WU, FC; AYRIZONO, ML; FAGUNDES, JJ et al. Estudos biomecânicos da ação de aderências sobre anastomose cólica. Trabalho experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 18, 216-223, 2003.

WU, FC; LEE, HD; NIZ, MAK et al. Comparative study of descendent colon rupture resistance considering traction force of rupture and total energy of rupture in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 21(2), 97-100, 2006.

ZINS, JE; MOREIRA-GONZALES, A; PAPAY, FA. Use of Calcium-Based Bone Cements in the Repair of Large, Full-Thickness Cranial Defects: A Caution. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 120, 1332-1342, 2007.

ZINS, JE; MOREIRA-GONZALEZ, A; PARIKH, A et al. Biomechanical and Histologic Evaluation of the Norian Craniofacial Repair System and Norian Craniofacial Repair System Fast Set Putty in the long-term reconstruction of full-thickness skull defects in a sheep model. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 121, 271e-282e, 2008.



APÊNDICES

APÊNDICE A



*Comissão Científica e de Ética
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

Porto Alegre 03 de dezembro de 2007

O Projeto de: Tese

Protocolado sob n°: 0100/07
Intitulado: Avaliação microscópica do efeito do sulfato de cálcio associado a enxertos ósseos aposicionais em ratos
Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira
Pesquisadores Associados: Roger Lanes Silveira
Nível: Doutorado

Foi *aprovado* pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 30 de novembro de 2007.

Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEP/PUCRS.

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira
Presidente da Comissão Científica e de Ética da
Faculdade de Odontologia da PUCRS

APÊNDICE B



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS

Ofício 015/09 - CEUA

Porto Alegre, 26 de janeiro de 2009.


Senhor Pesquisador:

O Comitê de Ética para o Uso de Animais apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 09/00076, intitulado: **"Avaliação microscópica do efeito do sulfato de cálcio associado a enxertos ósseos aposicionais em ratos"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios do andamento do projeto devem ser entregues a este Comitê.

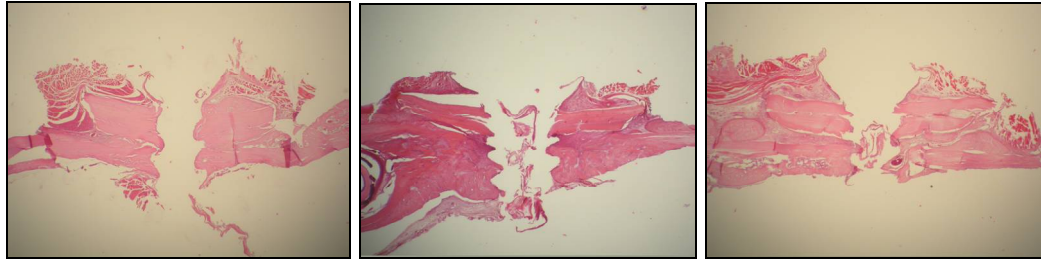
Atenciosamente,


Prof. Dr. Anamaria Feijó
Coordenadora do CEUA - PUCRS

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira
Faculdade de Odontologia
N/Universidade

PUCRS

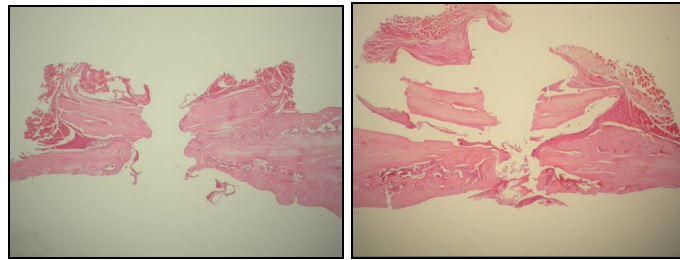
Campus Central
Av. Itália, 6690 - 3º andar sala 314- CEP: 90610-000
Fone/Fax: (51) 3320-3345
E-mail: ceua@pucrs.br

APÊNDICE C***Grupo Controle 21 dias (C21d) – aumento de 50X***

Animal 01

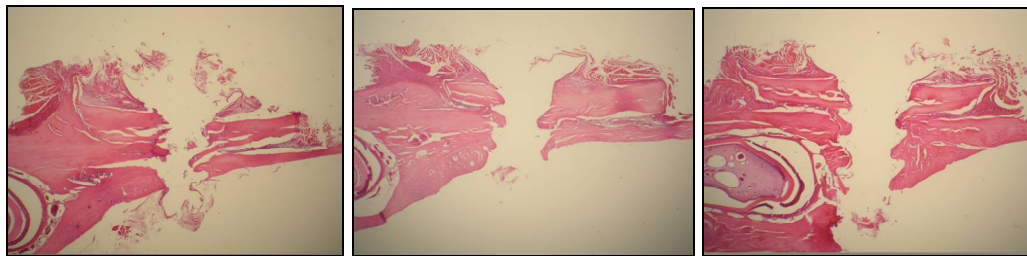
Animal 02

Animal 03



Animal 04

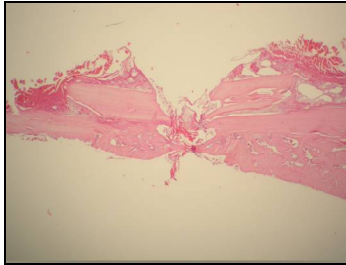
Animal 05

Grupo Interface 21 dias (I21d) – aumento de 50X

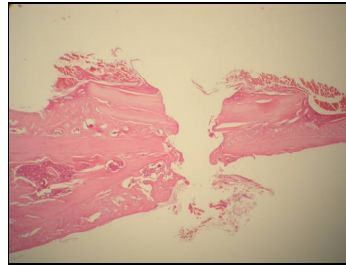
Animal 01

Animal 02

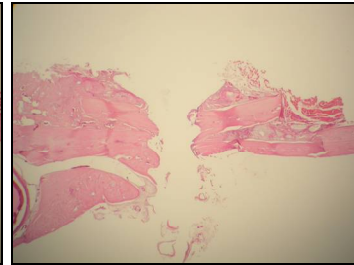
Animal 03

APÊNDICE D***Grupo Barreira 21 dias (B21d) – aumento de 50X***

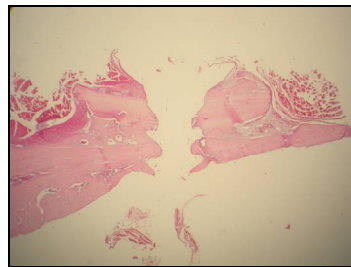
Animal 01



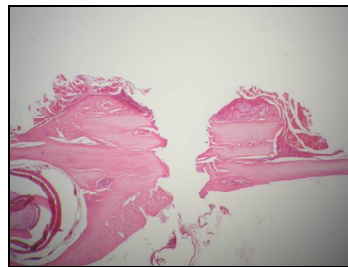
Animal 02



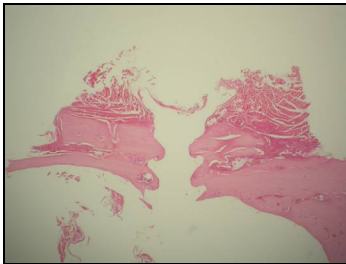
Animal 03



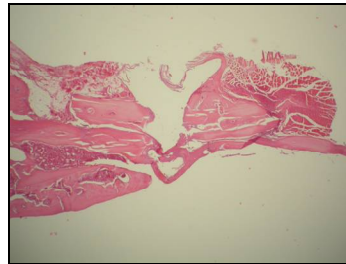
Animal 04



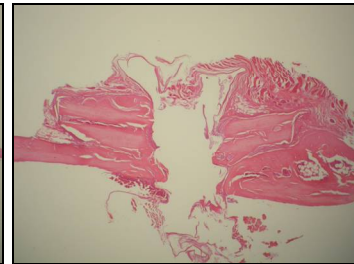
Animal 05

Grupo Controle 55 dias (C55d) – aumento de 50X

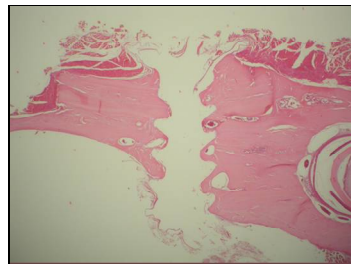
Animal 01



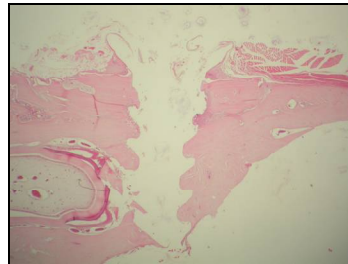
Animal 02



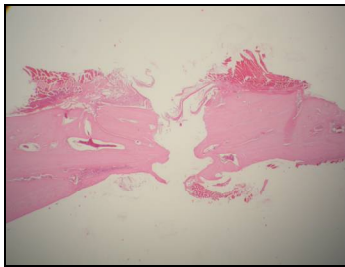
Animal 03



Animal 04



Animal 05

APÊNDICE E***Grupo Interface 55 dias (I55d) – aumento de 50X***

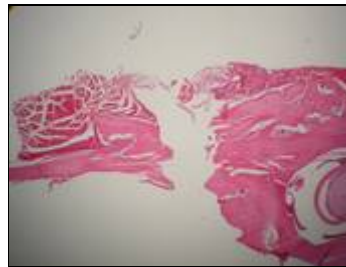
Animal 01



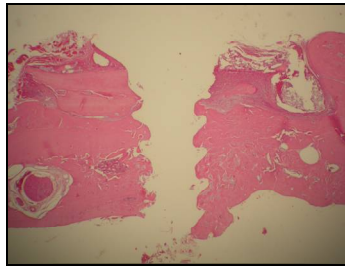
Animal 02



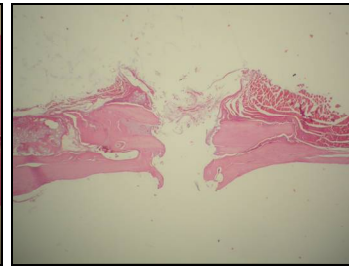
Animal 03



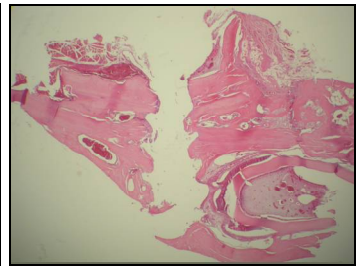
Animal 04

Grupo Barreira 55 dias (B55d) – aumento de 50X

Animal 01



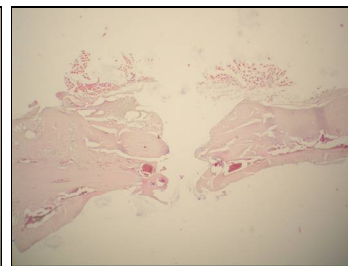
Animal 02



Animal 03



Animal 04



Animal 05