

EROTIDES CAPISTRANO DA SILVA

**HIDROXIAPATITA SINTÉTICA EM ALVÉOLO DENTÁRIO APÓS
EXODONTIA EM *Felis catus*: ESTUDO CLÍNICO,
RADIOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO.**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S586h
2009

Silva, Erotides Capistrano da, 1981-
Hidroxiapatita sintética em alvéolo dentário após exodontia
em *Felis catus* : estudo clínico, radiológico e histomorfométrico
/ Erotides Capistrano da Silva. – Viçosa, MG, 2009.
xv, 61f.: il. ; 29cm.

Inclui anexo.

Orientador: Andréa Pacheco Batista Borges.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 50-60.

1. Gato - Cirurgia. 2. Dentística operatória. 3. Processo
alvolar. 4. Hidroxiapatita. 5. Maxilares - Cirurgia. 6. Dentes -
Extração. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

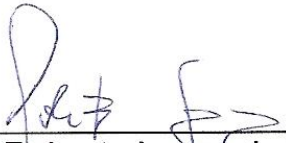
CDD 22.ed. 636.0897

EROTIDES CAPISTRANO DA SILVA

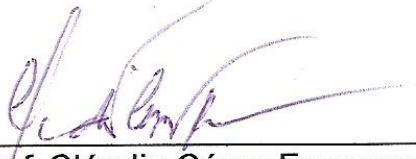
**HIDROXIAPATITA SINTÉTICA EM ALVÉOLO DENTÁRIO APÓS EXODONTIA
EM *Felis catus*: ESTUDO CLÍNICO, RADIOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

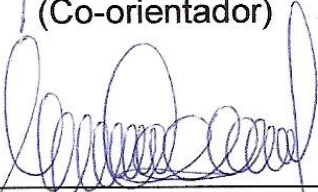
APROVADA: 05 de março de 2009.



Prof. Roberto Lopes de Souza
(Co-orientador)




Prof. Cláudio César Fonseca
(Co-orientador)



Profa. Maria Cristina F. Nunes S. Hage



Prof. Laércio dos Anjos Benjamin



Profa. Andréa Pacheco Batista Borges
(Orientadora)

“Quem sabe, pode muito. Quem ama, pode mais.”

Chico Xavier

DEDICO:

Aos meus pais, Mauricio e Dionice, as pessoas de mais puro coração que conheço nesta vida.

Ao meu marido Igor, pois seu sincero amor deu-me forças para concluir mais esta fase.

Aos gatos, minha paixão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, bondade infinita, e a todos os anjos e santos que sempre intercederam e intercedem por mim.

Aos meus pais, Mauricio e Dionice, pois sempre me apoiaram em tudo e nunca mediram esforços para me ajudar, mesmo em momentos difíceis.

À minha orientadora Andréa Pacheco Batista Borges, um eterno 'muito obrigada' pela paciência e confiança.

Ao Igor, cujas mãos unidas facilitaram a caminhada e a atravessar obstáculos, fazendo-me uma pessoa de sorte por provar da capacidade de um verdadeiro amor.

À minha irmã, por cuidar da nossa família na minha ausência e à querida Nê.

À Universidade Federal de Viçosa e à pós-graduação do DVT pela oportunidade.

À Universidade Federal de Mato Grosso, sempre receptiva com seus 'filhos'.

À Vetbrands e à Centagro pela doação de medicamentos.

A Profa. Cristina, exemplo de profissionalismo e de pesquisadora, sempre preocupada com seus orientados e co-orientados.

Ao Prof. Roberto, uma pessoa incrivelmente incentivadora. Obrigada pela sua ajuda, pelos e-mails rapidamente respondidos, pelos conselhos e por estar sempre presente em todos esses anos, mesmo estando tão longe.

Ao Prof. Cláudio Fonseca pelas sugestões e pronta disponibilidade para leitura das lâminas histological e ao Prof Laércio pela contribuição na banca de defesa

Ao Prof. José do Carmo, pela atenção e cuidado com a leitura das lâminas histológicas, como também agradeço ao Adão e ao Cláudio pela ajuda no processamento destas.

Ao Prof. Marcos de Almeida Souza, por abrir as portas do Laboratório de Patologia da UFMT e disponibilizar do seu tempo para ajudar-me.

Ao Prof. Luís Gonzaga, o paizão do DVT, obrigada pelos momentos de ensinamentos, como também de descontração.

Ao Prof. Paulo Renato, pela boa vontade na realização de vários outros experimentos, ajudando assim a ampliar o campo de estudo com os felinos.

Aos Profs. Edson (UFMT), José Antônio Viana, Dantas, Simone, Tatinha, Eduardo Paulino e Ricardo, que somaram para o aprendizado nestes anos todos.

A Emily, minha irmã mais velha dos orientados da profa. Andréa, que foi extremamente importante para a realização deste experimento com seus conselhos, ajuda e disposição.

Ao funcionário Paulão, por cuidar tão bem do meu gatil neste tempo todo.

À Rose, Geraldinho, Bel, Maninha, Etelvina, Claudiomiro, Camilo, Aécio, Lucinda, Luís Márcio, Celinho, Valnei e Toninho pelo carinho e boa vontade.

À Cinthya, Renato, Lukyia, Betânia, Liana, Mauricio, Taciana, Kelly, Letícia, Gláucia e Ana, que auxiliaram direta ou indiretamente nos experimentos. À Magyda, Rose, Fabi e Isis, amigos distantes, porém presentes.

Ao JHS Laboratório Químico, em especial Dra. Sheyla M. C. Máximo Bicalho, pelo fornecimento do material e pela presença e contribuições na banca de defesa. À Hernane da Silva Barud, pelo fornecimento das membranas de celulose bacteriana.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa, de muita valia para meus estudos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. O problema.....	4
2.2. Substitutos ósseos.....	5
2.3. Hidroxiapatita.....	7
2.4. Utilização de HA no osso alveolar.....	12
2.5. Membrana de celulose bacteriana.....	14
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1.Trans-operatorório.....	27
4.2.Avaliação clínica pós-operatória.....	28
4.3.Análise radiográfica.....	31
4.4.Análise histológica e histomorfométrica.....	40
5.CONCLUSÕES.....	49
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ANEXO.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Seqüência da extração dentária de gato submetido à cirurgia experimental	20
Figura 2. Cobertura da membrana sobre os alvéolos dentários de gato submetido à cirurgia experimental.....	21
Figura 3. Esquema da realização da biópsia excisional em gatos submetidos à cirurgia experimental.....	26
Figura 4. Representação gráfica da grade idealizada por Merz (Grade de Merz).....	26
Figura 5. Radiografia da arcada dentária mandibular esquerda e direita de gatos submetidos à cirurgia experimental no pós-operatório imediato.....	31
Figura 6. Esquema da divisão em quadrantes realizada para análise radiográfica dos alvéolos.....	32
Figura 7. Halo de radiopacidade no alveolo circindando o centro radiopaco.....	34
Figura 8: Reabsorção óssea apresentada em um dos animais do grupo tratado aos 21 dias após cirurgia experimental.....	35
Figura 9. Interface contínua entre superfície de tecido de granulação e tecido ósseo neoformado. Grupo tratado, 8 dias.....	41
Figura 10. Cristais de HA no interior do espaço alveolar. Proliferação de tecido ósseo em torno dos cristais de HA. Grupo tratado, 8 dias.....	41

Figura 11. Membrana de celulose bacteriana aos 8 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas; material proteináceo aderido na substância fibrilar; detritos celulares de origem inflamatória.....	42
Figura 12. A - Proliferação fibrovascular (tecido de granulação) próximo ao osso alveolar no grupo controle aos 8 dias. B - Proliferação fibrovascular (tecido de granulação) com intensa infiltração de fibroblastos e matriz extracelular imatura, infiltrado polimorfonuclear (neutrófilos) moderado e difuso. Grupo controle, 8 dias.....	42
Figura 13. Membrana aos 21 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas; projeções papilares (vegetações) com detritos celulares de origem inflamatória com áreas multifocais basofílicas compatíveis com colônias bacterianas. Corte longitudinal, 40X.....	43
Figura 14. Membrana aos 21 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas; projeções papilares (vegetações) com detritos celulares de origem inflamatória com áreas multifocais basofílicas compatíveis com colônias bacterianas. Corte longitudinal, 100X	43
Figura 15. Proliferação de tecido conjuntivo em torno de trabéculas ósseas. Infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) focal e discreto. Grupo controle, 30 dias.....	44
Figura 16. Espaço alveolar com infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) moderado e difuso. Grupo controle, 30 dias.....	44
Figura 17. Tecido ósseo neoformado, infiltrado inflamatório polimorfonuclear e hemácias. Grupo tratado, 30 dias.....	46

Figura 18. Proliferação celular osteoblástica em torno de cristais de HAP-91. Osteonecrose associada à presença de HAP-91 com proliferação fibrovascular associado a um infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) acentuado. Grupo tratado, 30 dias..... 46

Figura 19. A: Tecido ósseo imaturo (osteóide) com diversos ósteons. Grupo tratado, 50 dias. B: Tecido ósseo imaturo (osteóide) com diversos ósteons e proliferação de tecido conjuntivo (TC) ao seu redor. Grupo controle, 50 dias..... 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comportamentos indicativos de dor nos pacientes submetidos à extração dentária de gatos submetidos à cirurgia experimental.....	22
Tabela 2. Tabela esquemática da avaliação de dor através do comportamento do paciente submetido à cirurgia experimental.....	22
Tabela 3. Classificação da radiopacidade local do alvéolo em gatos submetidos à cirurgia experimental.....	24
Tabela 4. Porcentagem da presença da membrana de celulose bacteriana aos 8, 15 e 21 dias de pós-operatório nos gatos submetidos à cirurgia experimental.....	29
Tabela 5. Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, medial e apical, de todos os animais do grupo tratado e controle, aos 8 dias após a cirurgia experimental.....	33
Tabela 6. Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, medial e apical, de todos os animais do grupo tratado e controle, aos 21 dias após a cirurgia experimental.....	35
Tabela 7. Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, medial e apical, de todos os animais do grupo tratado e controle, aos 30 dias após a cirurgia experimental.....	36
Tabela 8. Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, medial e apical, de todos os animais do grupo tratado e controle, aos 50 dias após a cirurgia experimental.....	37

Tabela 9. Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo controle em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental.....	37
Tabela 10. Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo tratado em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental.....	39
Tabela 11. Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo tratado em comparação ao grupo controle em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental.....	39
Tabela 12. Médias e desvio padrão das porcentagens de tecido ósseo e tecido conjuntivo formados nos alvéolos dentários do grupo tratado e do grupo controle aos 8, 30 e 50 dias após extração e/ou implantação de HA e membrana de celulose bacteriana.....	48

RESUMO

SILVA, Erotides Capistrano da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Hidroxiapatita sintética em alvéolo dentário após exodontia em *Felis catus*: Estudo clínico, radiológico e histomorfométrico.** Orientadora: Andréa Pacheco Batista Borges. Co-orientadores: Cláudio César Fonseca; Roberto Lopes de Souza e Luiz Gonzaga Pompermayer.

A biocompatibilidade de um material depende de suas características, como também da espécie e do ambiente receptor. A fim de avaliar a resposta biológica da hidroxiapatita sintética (HAP-91) nos alvéolos dos felinos, essa foi implantada após exodontia do terceiro pré-molar inferior direito e mantida por meio de uma membrana de celulose bacteriana. No lado esquerdo, os alvéolos foram apenas recobertos com a membrana de celulose bacteriana, formando o grupo controle. Para tal, foram utilizados doze gatos, compondo dois grupos de igual número, o grupo tratado (n=12) e o grupo controle (n=12), realizados na mesma unidade animal. Foram realizadas avaliações clínicas diárias por uma semana e, após esse período, a cada 15 dias até a completa cicatrização. Foram realizadas também avaliações radiográficas logo após a cirurgia e aos 8, 21, 30 e 50 dias. Para realização da histologia e histomorfometria, os grupos foram divididos em três subgrupos. No grupo 1, foi realizada a biópsia aos oito dias após a implantação; no grupo 2 aos trinta dias e no grupo 3 aos 50 dias. Clinicamente os animais voltaram a comer normalmente ração úmida logo após a recuperação anestésica, sem sinais de dor ou desconforto após os procedimentos cirúrgicos. A cicatrização da ferida cirúrgica ocorreu de forma satisfatória, sendo que a membrana de celulose bacteriana auxiliou a reparação da gengiva e evitou a saída precoce da hidroxiapatita, permanecendo na maioria dos animais até o 8º dia. Radiograficamente aos 50 dias todos apresentaram radiopacidade óssea homogênea. À análise histológica e histomorfométrica, observou-se um adiantamento do processo do reparo do osso alveolar nos 8 primeiros dias no grupo tratado quando comparado ao grupo controle, e um atraso aos 30 dias; porém, aos 50 dias, ambos apresentavam uma porcentagem de tecido ósseo semelhantes e morfologicamente normal. Nas condições

de trabalho conclui-se que a HAP-91 é biocompatível e integra-se ao tecido ósseo alveolar, podendo ser utilizado em felinos.

ABSTRACT

SILVA, Erotides Capistrano da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Hydroxyapatite in *Felis catus* dental sockets: Clinic, radiographic and histomorfometric studies.** Adviser: Andréa Pacheco Batista Borges. Co-advisers: Cláudio César Fonseca; Roberto Lopes de Souza and Luiz Gonzaga Pompermayer.

The biocompatibility of a material depends on their characteristics, as well as of the species and of the environment recipient. In order to evaluate the biological response of the synthetic hydroxyapatite in dental alveoli of felines, that was implanted in the right inferior third premolar tooth after extraction and maintained through a bacterial cellulose membrane. In the left side, the alveoli were just covered with a bacterial cellulose membrane (designed as a control group). For the present study, twelve cats were used. The animals were arranged into two groups, the treated group (n=12) and the control group (n=12), accomplished in the same animal unit. Daily clinical evaluations were took over for a week. Afterwards, clinical evaluations were carried out at 15 days intervals until complete cicatrisation. Also, radiographics evaluations were carried out after the surgery and at 8, 21, 30 and 50 days post surgical. For the histological and histomorfometrical analysis, the groups were divides in three subgroups. In the group 1, the biopsies were carried out eight days followed the implantations; while in the group 2 were done at 30 days post surgery and in the group 3 at 50 days. The animals started to eat wet feedstuff soon after the anesthetic recovery time, without clinical signs of pain or discomfort. The healing of the surgical wound happened in a satisfactory way, and the bacterial cellulose membrane aided the repairing of the gum and it avoided the lost of the hydroxyapatite, it remained in the majority of the animals until the 8th days. Radiographs taken 50 days post surgery presented homogeneous bone radiopacity. The histological and histomorfometrical analysis showed an improvement of the process of the alveolar repair in the first 8 days in the treated group when compared to the control group and a delay to the 30 days, however to the 50 days both

presented a percentage of bone tissue similar and morphologically normal. Under the study conditions, the conclusion is that the HAP-91 is biocompatible and it integrates into the alveolar bone, so it could be used in felines.

1.INTRODUÇÃO

O campo de biomateriais é uma área cada vez mais explorada, pois há muito interesse dos cientistas na utilização desses para uso biológico. Para que tais materiais possam ser utilizados, é necessário conhecer a sua biocompatibilidade, sendo que a utilização em experimento animal visa fornecer dados sobre o seu comportamento em meio biológico. Essa utilização é de interesse do médico veterinário, já que a forma com que o organismo vai reagir em contato com um biomaterial depende de inúmeros fatores tais como suas características intrínsecas, da tarefa que ele se propõe, da toxicidade, do tipo de tecido hospedeiro e do tipo específico de organismo receptor (Hench, 2006).

Muitos materiais, naturais ou sintéticos, têm sido desenvolvidos para resolver problemas de afecções ósseas nos homens e nos animais (Eid *et al*, 2001). Dos 300.000 produtos para uso na área da saúde, os biomateriais ocupam uma parte importante, sendo que no ano de 2000 o mercado mundial de biomateriais foi estimado em 23 milhões de dólares, ultrapassando US\$ 40 bilhões em 2005. Na medicina humana, os maiores gastos com biomateriais são as áreas cardiovasculares (variando de 56 a 80% correspondendo a equipamentos biomédicos, próteses endovasculares e válvulas cardíacas), seguido pela área ortopédica (de 20 a 36% correspondente a próteses, principalmente para procedimento de artroplastia) (Soares, 2005).

Na ortopedia, foca-se sua utilização principalmente em perdas de tecido ósseo e consolidação de fraturas (Carlo *et al*, 2009). Na odontologia, os desafios são encontrar biomateriais ideais na substituição óssea para tratamentos diversos, como defeitos ósseos, aumento do rebordo alveolar, lesões osteoporóticas, deformidades maxilofaciais e defeitos ósseos periodontais (Zenóbio *et al*, 1998).

Na odontologia veterinária, o desafio maior é em relação à perda do osso alveolar, sendo traumas acidentais, traumas cirúrgicos devido às extrações dentárias e, principalmente, a doença periodontal algumas das causas desta perda óssea (Emily *et al*, 1999; Duarte *et al*, 2006).

Dentre os biomateriais utilizados na ortopedia e na odontologia, as

cerâmicas de fosfato de cálcio se destacam pela similaridade com a matriz óssea em sua composição. A hidroxiapatita é a mais utilizada dentre as cerâmicas (Pereira *et al*, 2006) sendo biocompatível, bem tolerada pelos pacientes e não tóxica (Arakaki *et al*, 1995).

A biodegradação desta cerâmica depende de muitos fatores que variam entre espécies, tais como os fatores biológicos da fagocitose, presença de leucócitos e mediadores químicos que causam redução local do pH (Pereira *et al*, 2006), o que podem interferir na proliferação óssea. Os felinos são semelhantes fisiologicamente em muitos aspectos com o cão, porém o conhecimento científico sobre o sistema imunológico felino é incompleto (Harvey, 2006), o que torna necessário o estudo da resposta biológica em relação aos biomateriais.

Outro campo em crescente estudo é o da regeneração tecidual guiada – (RTG), também conhecida como regeneração tecidual controlada, repovoamento celular ou cicatrização dirigida, que consiste de tratamento regenerativo onde se utiliza uma barreira física oclusiva sobre o defeito ósseo, impedindo que tecidos moles invadam a área protegida e, ao mesmo tempo, permitindo que células osteogênicas das margens ósseas produzam osso no espaço delimitado (Iamaguti *et al*, 2007). A regeneração óssea pode ser inibida pela proliferação rápida dos fibroblastos no interior do defeito e uma osteogênese limitada ocorre quando esses são instalados, impedindo a colonização da ferida cirúrgica pelos osteoblastos (Macedo *et al*, 2003).

Vários tipos de barreiras físicas têm sido sugeridas para o uso na RTG, sendo classificadas em duas categorias: reabsorvíveis e não-reabsorvíveis. Dentre as membranas reabsorvíveis estão as membranas de colágeno, membranas de ácido polilático e/ou poliglicólico, membrana de monômero de fibrina e elastina. Exemplos de membranas não-reabsorvíveis são as membranas de politetrafluoretileno expandido e membrana de celulose (Martins *et al*, 2001). A característica de uma membrana ideal inclui ser atóxica; biocompatível; suportar crescimento tecidual; apresentar uma porosidade adequada com capacidade de promover barreira contra infecção; controlar a perda de fluido e manter um ambiente úmido; reduzir a dor durante o tratamento; promover uma fácil

cobertura do local a ser inserido; possibilitar a introdução ou transferência de medicamentos; absorver exsudato durante a fase inflamatória; exibir alta força mecânica, elasticidade e conformabilidade; apresentar opções de formatos e permitir uma liberação fácil e sem dor (Czaja *et al*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento biológico da hidroxiapatita sintética (HAP-91), implantado em alvéolos dentários de gatos, espécie esta que apresenta uma resposta inflamatória não totalmente esclarecida, como também doenças particulares que acometem a cavidade oral, levando à perda dentária e óssea, tendo como hipótese que a hidroxiapatita possa ser usada como substituto ósseo em alvéolos de felinos, auxiliando a manutenção da altura da crista alveolar após exodontia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O problema

Além do conhecimento limitado sobre seu sistema imunológico (Harvey, 2006), os gatos apresentam outras particularidades relacionadas às doenças da cavidade oral. Dentre elas, encontra-se a lesão de reabsorção odontoclástica felina (LROF), que atinge cerca de 70% dos gatos domésticos e, apesar de não se saber a causa da doença, acredita-se ter relação com a inflamação local (Tilley e Smith, 2003). Outra doença muito importante que acomete a cavidade oral dos felinos é a gengivostomatite crônica felina (GECF), que é uma entidade clínica complexa devido à sua frequência, à severidade e caráter crônico das lesões com freqüentes reagudizações, sendo os tratamentos disponíveis não eficazes (Niza *et al*, 2004).

Para ambas as doenças supracitadas, a extração dentária acaba sendo o tratamento mais indicado, porém, ela leva à perda do osso alveolar. Em alguns casos, na GECF, é necessária a extração dentária completa, como nos casos dos animais positivos para imunodeficiência felina (Gorrel, 2007).

A extração dos dentes leva a uma notável tendência do osso que anteriormente os sustentava ser reabsorvido, podendo ocorrer também em indivíduos normais sem alteração do metabolismo mineral. Essa reabsorção pode ser aumentada pelo trauma mastigatório, sendo o rebordo alveolar da mandíbula mais acometido do que o da maxila tornando-se delgado e reduzido, levando a sensibilidade à pressão a formação de projeções ósseas agudas (Stafne, 1982).

Após a perda dos dentes, a radiopacidade óssea da lâmina cortical é diminuída e as trabéculas do osso esponjoso tornam-se mais delgadas, devido a um desequilíbrio do processo de remodelação. A reabsorção, ou remodelação passiva, acaba predominando sobre a aposição, ou remodelação ativa, por falta do estímulo mecânico da oclusão dental. Ocorre também a

reabsorção das paredes do alvéolo, agora com a função perdida. O resultado final é a cicatrização com perda óssea. No total, cerca de um centímetro da altura de cada processo alveolar desaparece em humanos (Madeira, 2004).

O adelgaçamento da mandíbula predispõe às fraturas, que costumam ser de difícil tratamento e apresentar complicações como má-oclusão, consolidação tardia, dano iatrogênico durante o reparo da fratura, efeitos nocivos dos dispositivos empregados sobre o tecido periodontal e traumatismos às raízes dentárias e estruturas neurovasculares que podem resultar em desvitalização dos dentes (Verstraete, 2007). As fraturas mandibulares em gatos são relativamente comuns em traumas, principalmente por atropelamento ou queda, como cita Bennett (2006).

Além das preocupações odontológicas citadas, a manutenção do rebordo alveolar após extração para reabilitação da função mastigatória, defeitos ósseos maxilares, reparação de perdas de tecido ósseo, lesões osteoporóticas e as altas reabsorções de enxerto autógeno levam a longos estudos a procura de um biomaterial ideal na odontologia (Boeck *et al*, 1999; Borges *et al*, 2000; Brandão *et al*, 2002; Cehreli *et al*, 2003; Fernandes *et al*, 2004; Carlo *et al*, 2009).

2.2. Substitutos ósseos

O termo biomaterial foi definido na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982 como: “Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (Helmus e Tweden, 1995). Elas devem ser degradáveis ou absorvíveis ou ambos, inertes, favorecer o crescimento ósseo por condução e, se possível, por indução, sendo estas características dependentes das propriedades físicas e químicas do biomaterial utilizado (Borges *et al*, 2000; Vital, 2005). Embora sejam chamados implantes biológicos ou biomateriais, nada há de biológico nestes implantes, a não ser o local de implantação (Roush,

2007).

O desafio do campo de biomateriais é que estes substituam tecidos vivos nos quais as propriedades físicas são resultados de milhões de anos de aperfeiçoamento, com capacidade de crescimento, regeneração e reparo. Assim, todos os materiais utilizados nos organismos representam um ajuste de características e propriedades mais próximas ao tecido substituído e com resposta tóxica mínima, sendo o tipo de interação entre tecido-implante dependente do tipo de material e reunida nos seguintes grupos: tóxica, não-tóxica, bioativa e biodegradável (Hench, 2006). As características de um biomaterial ideal incluem: ser biocompatível, ter força suficiente para manter-se durante a cicatrização, boas características de manipulação, fácil esterilização, não alergênico, não corrosivo, não tóxico, não carcinogênico, não teratogênico e baixo custo (Roush, 2007).

Na odontologia, os materiais para implantes e transplantes são classificados imunologicamente em: autógeno (transplante realizado no mesmo indivíduo); alógeno (obtido de outros indivíduos da mesma espécie); xenogênico (obtido de uma espécie e transplantada para outra) e aloplástico (substância sintética) (Jansen *et al*, 2006). O osso autógeno é o material de escolha nas áreas de periodontia e cirurgia para reconstrução óssea e, apesar de apresentar bons resultados, também apresenta desvantagens (Zenóbio *et al*, 1998), como incisão separada para coleta, aumento do tempo de cirurgia, obtenção de quantidade limitada, dificuldade de moldar o implante ao defeito ósseo, risco de complicações no sítio doador e reabsorção imprevisível (Kalfas *et al*, 2001). Transplante alógeno também é utilizado, porém existe risco de infecção e resposta imunológica, o que pode levar a problemas de saúde e afetar a qualidade de vida (Murugan *et al*, 2003). Os xenoenxertos mais utilizados na prática da clínica odontológica são a matriz mineral óssea purificada de origem bovina e os derivados da matriz do esmalte dos gérme dentário de suínos, que pode gerar uma boa vascularização e integração no osso receptor, demonstrando eficácia na reparação óssea (Correia e Alves, 2002). As desvantagens dos xenoenxertos são o risco de reações imunológicas, transmissão de doenças infecciosas e incorporação biológica lenta (Pinkowski *et al*, 1996; Brendolan *et al*, 2007).

Considerando as desvantagens supracitadas, os estudos com materiais sintéticos vêm crescendo, pois apresentam como vantagens a disponibilidade, reprodutividade, confiabilidade e a resistência mecânica em alguns casos em relação ao bioenxerto (Hench, 2000; Carlo *et al*, 2009). Dentre os materiais sintéticos, incluem-se os materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos biodegradáveis ou não (Oréfice, 2006).

Os materiais aloplásticos, assim como os ossos sintéticos e orgânicos, têm sido utilizados como implantes intra-alveolares em exodontia que necessite de alveolectomia total, mas podem acarretar problemas de ordem mecânica e estética na área da extração (Santos-Junior *et al*, 1992). Os metais são muito utilizados na implantodontia devido sua resistência elevada, principalmente da família do titânio, além das perspectivas de se utilizar metais da família do nióbio e tântalo (Jansen *et al*, 2000).

A fim de ampliar as possibilidades de utilização de outros materiais como substitutos na odontologia, várias inovações têm sido apresentadas, com atenção especial aos materiais de fosfato de cálcio (Zenóbio *et al*, 1998). As cerâmicas de fosfato de cálcio se destacam entre as biocerâmicas devido à similaridade com a matriz óssea, que favorece a interação entre o tecido vivo e o material, com a formação de uma ligação entre eles. Estas biocerâmicas são precipitadas a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato, sob condições alcalinas ou ácidas, e classificadas através de sua razão molar Ca/P (Pereira *et al*, 2006), sendo muito utilizadas para reparação de tecidos duros em ortopedia e na odontologia (Cehreli *et al*, 2003).

2.3. Hidroxiapatita (HA)

Dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita (HA) e o fosfato tricálcico (TCP) destacam-se entre os principais objetos de estudo e utilização na área biomédica (Pereira *et al*, 2006). A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio hidratado e o principal componente na fase mineral do osso. Ela é o constituinte utilizado pelos vertebrados para compor o esqueleto devido a capacidade de atuar como reserva de cálcio e fósforo,

sendo composta por íons como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e CO_3^{2-} em diversas concentrações (Saleh *et al*, 2004).

A hidroxiapatita sintética tem sido produzida desde o início dos anos 70 e utilizada clinicamente desde início dos anos 80 (Eanes, 1980; Vital, 2005). Suas características químicas e estruturais possibilitam seu uso como material biocompatível em implantes e próteses (Eanes, 1980), tendo como principal indicação em preenchimento de defeitos ósseos, regeneração óssea (Carlo *et al*, 2009) e artrodeses (Neto *et al*, 2004). Tem sido também, usada em associação com polímeros, coadjuvante na colocação de implantes metálicos, equipamentos percutâneos, reparo e substituição de paredes orbitais, substituição de globo ocular e recobrimento de implantes metálicos (Daculsi *et al*, 1999).

Além destas utilidades citadas, existe uma perspectiva e estudos da utilização de hidroxiapatita como “drug delivery”, isto é, liberação de medicamento controlado como ampicilina e gentamicina (Paul e Sharma, 2003). Combinação com fatores de crescimento como BMP (proteína morfogenética óssea) e medula óssea para indução de crescimento ósseo tem sido relatado (Fujita *et al*, 2003).

Na odontologia, ela tem sido utilizada no tratamento de defeitos ósseos periodontais, aumento de rebordo alveolares, cirurgias ortognáticas para correção de deformidades maxilofaciais (Fernandes *et al*, 2004), recobrimento de alguns implantes orais intraósseo (Cehreli *et al*, 2003) e em locais de grandes perdas ósseas (Jansen *et al*, 2006).

A hidroxiapatita apresenta uma proporção de 1,67 entre cálcio e fósforo e sua fórmula química é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Pereira *et al*, 2006; Roush, 2007). Ela é obtida por precipitação em condições básicas e produzida geralmente entre 1100 e 1150⁰ C (Legeros, 2002). A solubilidade da hidroxiapatita sintética é extremamente baixa e ela pode apresentar-se em diferentes formas, porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade, entre outros, o que interfere na solubilidade e absorção desta pelo organismo (Saleh *et al*, 2004). Além de tais características do implante que interfere na solubilidade, fatores do próprio hospedeiro, como espécie animal, o local de implantação e a pressão biomecânica sobre o implante também podem interferir (Pollick *et al*, 1995; Vital, 2005). Em pH

5,0, que ocorre até uma semana após o ato operatório, a solubilidade da HA é 45 vezes maior que em pH fisiológico, o que explica a estreita ligação osso-implante (Zenóbio *et al*, 1998).

No laboratório, o tamanho, forma e porosidade da HA podem ser pré-determinados, sendo também livre de impurezas (Borges *et al*, 2000). A concentração de Ca pode ser ajustada e substituída por Sr e Mg, por exemplo, na apatita, assim como a concentração de fosfato pode ser ajustada, sendo substituído por carbonato se desejado (Pereira *et al*, 2006). A HA pode não ser reabsorvível, caso ela não seja calcinada (Borges *et al*, 2000). Assim, é possível obter-se HA desde praticamente não-absorvível até totalmente absorvível em meio fisiológico em função dos diferentes métodos e condições de obtenção (Saleh *et al*, 2004). Na opinião de Donath (1984), todas as hidroxiapatitas são reabsorvidas, porém em diferentes graus de reabsorção.

Comercialmente, a HA apresenta-se em dois tipos: microgranular (250 a 1000 μm) e macrogranular (1000 a 2000 μm), a porosa ou não-porosa (Jansen *et al*, 2006). O tamanho dos poros da HA deve ser suficiente para hospedar componentes celulares e extracelulares, tendo influência direta sobre a formação do tecido ósseo. As cerâmicas porosas devem ter poros interconectados com tamanho mínimo de 100 μm , sendo que poros maiores que 200 μm são necessários para uma osteocondução eficaz (Pereira *et al*, 2006). Porém, quanto mais porosa, menos resistente a impactos ela se torna e, no caso dos implantes, para compensar a porosidade, um aumento da espessura é exigido para compensar a diminuição da resistência (Borges *et al*, 2000; Vital, 2005).

A hidroxiapatita sintética é um dos materiais mais biocompatíveis existentes. É bioativa, ou seja, estabelece uma ligação direta e forte entre ela e o tecido ósseo; é osteocondutora, isto é, promove um molde para favorecimento do crescimento ósseo dentro de seus poros; não é tóxica, não-inflamatória e não-imunogênica (Borges *et al*, 2000; Eid *et al*, 2001; Murugan, 2003; Duarte *et al*, 2006; Resende, 2006; Carlo *et al*, 2009). Porém, sua propriedade de osteoindução não foi comprovada (Borges *et al*, 2000; Carlo *et al*, 2009), embora já tenha sido relatada a formação óssea com HA derivado de coral em músculos de babuínos, coelhos e

cães (Yuan *et al*, 1999). Ela possui uma resistência mecânica pequena, sendo por isso não indicativa em áreas onde há suporte de pesos ou cavidades ósseas, devendo ser associada a técnica de imobilização em fraturas (Borges *et al*, 2000; Fehlberg, 2001; Vital, 2005). A HA é suscetível à digestão bacteriana e não pode ser usada em locais infectados (Roush, 2007).

Embora bons resultados clínicos tenham sido apresentados, algumas complicações já foram relatadas, como reação de corpo estranho por falta de reabsorção e longa permanência no corpo (Fujita *et al*, 2003). Comportamentos de corpo estranho como encapsulamento por tecido conjuntivo fibroso, não aderência ao osso e falta de bioatividade são alguns efeitos indesejáveis que podem ocorrer. Outra desvantagem da HA é a instabilidade das partículas quando misturadas com solução salina ou sangue do paciente e, em conseqüência, não ocorre fixação e há migração da mesma para tecidos vizinhos, prejudicando a saúde do tecido (Murugan *et al*, 2003).

O tecido de granulação contendo macrófagos, fibroblastos e vasos neoformados, além das células gigantes tipo corpo estranho fazem parte do processo biológico quando o organismo reconhece no implante um corpo estranho. Quanto melhor a interação com o tecido, menor a resposta inflamatória, ocorrendo uma rápida reabsorção das células inflamatórias, gerando uma cápsula de tecido fibroso no qual a espessura variável, sendo menor quando há menos trauma mecânico na interface (Vasconcelos, 2006).

Há muitos relatos sobre a ligação direta da HA com o tecido ósseo, sem interposição de tecido conjuntivo (MacNeill *et al*, 1999; Borges *et al*, 2000; Carlo *et al*, 2009). A superfície da HA permite a interação de ligações do tipo dipolo e, assim, moléculas de água, proteínas e colágeno são adsorvidas na superfície, induzindo a regeneração tecidual (Pereira *et al*, 2006). Quando as proteínas específicas no plasma adsorvem na superfície do biomaterial, esta superfície fica reconhecida como parte do corpo e interagem saudavelmente com as entidades celulares constituintes do sistema. Neste caso, as proteínas mantêm a sua conformação original e apenas as proteínas que apresentam sítios ativos disponíveis, aspectos

conformacionais não alterados e densidade de população adequada serão biorreconhecidas (adsorção específica) (Hench, 2006).

Caso a superfície do material não seja reconhecida pelas células, haverá sinalização para um processo inflamatório que será resolvido pela formação de uma cápsula fibrosa que isolará o biomaterial do corpo. Se ocorrer tal reconhecimento, inicia-se a colonização da superfície por células que poderão proliferar e estimular a regeneração dos tecidos, fixação dos implantes e provocar menor grau de inflamação (Hench, 2006). Quanto maior a duração do processo inflamatório e quanto mais especializado for um tecido, menor é a possibilidade dessa regeneração celular (Vasconcelos, 2006). A reação depende do tecido, do organismo e da espécie e essas reações ocorrem dentre 2 a 3 semanas do tempo de implantação (Anderson, 2001). Os mediadores químicos liberados no plasma por células e tecidos quando ocorre lesão tecidual e a implantação de um biomaterial, são rapidamente inativados e destruídos, sugerindo que sua ação seja predominantemente no local do implante (Anderson, 2001).

No caso da HA, ao ser implantada no tecido ósseo, seu meio se torna ácido e sua superfície carregada negativamente (OH^- e PO_4^{3-}). Esses íons combinarão com o Ca^{+2} , formando assim o fosfato de cálcio. Com o acúmulo de cálcio, a superfície se torna positiva, atraindo assim os íons fosfato, gerando um ciclo (Carlo *et al*, 2009). Assim, após reações físico-químicas complexas, forma-se uma camada de fosfato de cálcio biologicamente ativa, induzida pela cerâmica. Devido à bioatividade da HA, isto é, à sua capacidade de provocar a formação de uma ligação interfacial entre tecido vivo e o material, a camada de hidroxiapatita carbonatada na superfície do implante é formada (Pereira *et al*, 2006). Há assim a continuidade da regeneração óssea, incorporando-a ao tecido ósseo, formando osso trabecular e assim, conseqüentemente, ocorre o processo de formação de novo osso e remodelação (Vital, 2003).

Alguns pesquisadores afirmam que após uma extração dentária, o tecido ósseo é depositado diretamente na superfície do osso adjacente nos alvéolos, sem interposição de tecido fibroso (Frame *et al*, 1981; Oguchi *et al*, 1995). Porém, há muitos relatos de hidroxiapatita tanto em

contato direto com o tecido ósseo (Resende, 1991; Duarte *et al*, 2006) como também envolvido por tecido fibroso (Gumaer *et al*, 1986), que com o tempo é preenchido por tecido ósseo. Um dos possíveis fatores dessa interposição, segundo Hench (2006) são as diferentes formas de apresentação da HA, densa ou porosa.

A biodegradação da HA ocorre através de ação osteoclástica e de macrófagos (Borges *et al*, 2000). Partículas menores que 10 µm de diâmetro são capazes de serem fagocitadas por células nucleares histiocitárias, e o baixo pH dos lisossomas dos macrófagos consegue dissolvê-las lentamente. (Wang *et al*, 1994).

Sugere-se que a reabsorção da hidroxiapatita ocorra através das fraturas das bordas das partículas à medida que ocorre formação de novo osso no interior de poros (Oonishi *et al*, 1997). Segundo Boeck *et al* (1999), a contaminação proveniente do meio bucal também pode contribuir para alteração na taxa de reabsorção da HA, como também fatores biológicos, respostas a infecções em geral e tolerância do tecido ao suporte de peso citados por El Deeb *et al* (1989).

2.4. Utilização de HA no osso alveolar

O uso de biomateriais para melhorar a neoformação óssea imediatamente após extração dentária parece atrasar o processo de reparação. O uso de HA microgranular, parece ter pouco ou nenhum efeito comparado ao grupo controle na maioria dos estudos, assim como também o fosfato tricálcico, *Ricinus communis* (mamona) e ionômero de vidro (Brandão *et al*, 2002).

O primeiro experimento com HA em alvéolos dentais, em humanos, ocorreu há aproximadamente 28 anos e, seis meses após a implantação, a osteocondução e o reparo progrediram positivamente. Porém, após anos, estudos demonstraram uma reabsorção peri-implante do osso alveolar (Denissen *et al*, 2000)

Boeck *et al* (1999) concluíram que a HA atrasou a cronologia do processo de reparo alveolar, apesar da compatibilidade biológica, pois a HA inserida nos alvéolos de ratos foi integrada pelo tecido ao longo do

processo de reparo.

Zenóbio *et al* (1998) avaliaram o comportamento biológico de dois materiais sintéticos de HA, havendo diferença na formação óssea entre elas. Apresentando diferentes tamanhos de partículas, a HA com menor número de cristais teve sua reabsorção facilitada, permanecendo uma pequena quantidade geralmente envolta por tecido conjuntivo, enquanto o outro material apresentou maior quantidade de tecido ósseo englobando as partículas do implante. Eles concluíram que a formação óssea em ambos, relacionados ao grupo controle, foram menos significativas.

Brandão *et al* (2002) compararam histologicamente o implante de HA e de HA associada à BMP (Proteína Morfogenética Óssea) em ratos aos 7, 21 e 42 dias. Eles também notaram que ambos os implantes causaram um atraso na reparação óssea, comparado ao grupo controle (sem tratamento) e a associação da HA com a BMP não teve propriedade osteocondutora.

A HA pode, então, requerer uma modificação biológica com um agente inibidor de reabsorção óssea uma vez que relatos de reabsorção óssea vertical peri-implante após anos de implantação no osso alveolar tem sido feitos. Pensando nisso, Denissen *et al* (2000) incubaram a HA em uma solução de 10^{-2} M bifosfonato, com pH 3,49, acreditando na ação direta do bifosfonato sobre osteoclastos e assim ocorrendo a manutenção óssea. Essa HA foi implantada em alvéolos de cabras e concluíram ocorrer uma completa e efetiva integração com o osso alveolar, assim como só a HA nos animais controle.

Cehreli *et al* (2003) associaram à HA o PLLA-(-O-CHR-CO-)-n, formando o Poli (L- lactide)-hidroxiapatita (PLLA-HA), com a finalidade de obter um melhor ambiente para crescimento celular, melhores propriedades mecânicas e um pH estável durante a degradação. Esse compósito foi inserido nos alvéolos dentais de cães e a reparação óssea, comparada ao grupo controle (alvéolos não preenchidos) foi semelhantes. Concluíram também que o compósito auxilia uma nova formação óssea e pode ser usado para preenchimento.

Fernandes *et al* (2004) estudaram a associação do alendronato sódico (um bifosfonato que inibe a reabsorção óssea) com a HA na

reparação de defeitos na cortical óssea externa do corpo da mandíbula de coelhos, concluindo que a associação não interfere na reparação óssea.

Muitos resultados positivos da utilização da HA sem associações também foram relatados. Duarte *et al* (2006) utilizaram a HA em defeitos de 6 X 5 mm na superfície vestibular do processo alveolar de cães e observou que a HA acelerou o preenchimento de defeito provocado no mesmo, sendo a neovascularização e a proliferação celular muito maiores com a presença de HA.

Batista (2004) realizou levantamentos de seio maxilar em três pacientes humanos para posterior colocação de implantes, obtendo uma taxa de sucesso da implantação em 83,3% dos casos. Ribeiro Júnior (2004) relatou o sucesso da HA no rebordo alveolar atrófico de paciente humano, com características estéticas e biomecânicas desfavoráveis, além de doença periodontal avançada. Devido ao resultado clínico e histológico positivo obtido, houve um encorajamento do cirurgião-dentista para colocação do implante.

Lima *et al* (2003) observaram o efeito da HA na regeneração óssea em defeitos experimentais em furca de dentes de cães, concluindo ser um biomaterial viável para esses fins. A HA também é usada como implante para restauração de áreas mutiladas e áreas deprimidas que geram problemas estéticos e de higiene (Bicalho, 2004).

2.5. Membrana de Celulose Bacteriana

A membrana de celulose bacteriana é um polissacarídeo, formado por um homopolímero linear de glicose $(C_6H_{10}O_5)_n$, com n variando de 500 a 5000 (Pértile *et al*, 2007). As propriedades físicas e mecânicas da membrana de celulose bacteriana devem a sua estrutura que diferencia consideravelmente da celulose vegetal (Czaja *et al*, 2006).

A celulose bacteriana é livre de lignina e hemicelulose, é extremamente hidrofílica e possui cristalinidade superior à da celulose vegetal (Barud, 2007). Comparado com outros polímeros biodegradáveis como o colágeno, a quitosana e a gelatina, a celulose bacteriana apresenta propriedades mecânicas superiores (Wan *et al*, 2007). A

estrutura tridimensional nanométrica da microfibrila cria uma extensa área que permite segurar bastante água enquanto mantém um alto grau de conformação (hidrofilicidade). O hidrogênio entre estas fibrilas estabiliza toda a estrutura (Czaja, 2006). Essa rede de fibras finas que a membrana apresenta é bem resistente à tensão (Pértile *et al*, 2007) e apresenta dificuldade em se dissolver em líquidos devido ao seu alto peso molecular, à rigidez e à extensa ligação com o hidrogênio (Tabuchi, 2007). É biodegradável, inerte, atóxica e seletivamente permeável, agindo como uma barreira contra microorganismos (Carmo, 1993), mas permitindo a evaporação (Wouk *et al*, 1998). Essas propriedades conferem um amplo meio de aplicação como em indústria de papel, têxtil, alimentícia e na área médica, sendo que nesta última, destaca-se como substituto temporário de pele nos tratamentos de queimaduras e feridas difícil cicatrização (Barud *et al*, 2007).

Devido sua moldabilidade, a celulose bacteriana também está sendo usada para tecidos artificiais cardiovasculares e cirurgia de nervos. Outra vantagem é que a membrana de celulose bacteriana apresenta certa transparência que permite uma observação clínica contínua da cicatrização tecidual (Czaja *et al*, 2007), além de ser livre de ocorrência de infecção cruzada, normalmente associada com o colágeno (Wan *et al*, 2007).

Wouk e Souza (1996) compararam a membrana de celulose bacteriana com diferentes agentes (nitrofurazona, polvidine tópico, solução salina, soro fetal bovino e açúcar cristal) sobre a cicatrização de feridas cutâneas por segunda intenção em cavalos e constataram que a membrana de celulose bacteriana favoreceu uma epitelização da ferida muito superior quando comparada aos demais. Em pele de suínos, cuja semelhança com a pele humana é grande, Wouk *et al* (1998) relataram que a membrana de celulose foi mais eficiente se comparada ao Tegaderm® e o Duoderm®, sendo que a disposição de fibrina no leito da ferida foi mais precoce.

O filme de celulose aplicado sobre a pele também reduz a dor, pois isola a terminação final dos nervos e absorve exsudatos da ferida (Farah, 1990). Ela também facilita o processo de remoção de debris de necrose

(debridamento autolítico), melhorando o desenvolvimento do tecido de granulação e acelerando o processo de reepitelização (Czaja *et al*, 2004). O produto tem sido usado em diversos tratamentos de lesões de pele como substituto em tecidos com carcinoma de células basais, queimaduras severas, suturas, sítios doadores e receptores de pele (Fontana *et al*, 1990) e feridas crônicas como em úlceras conseqüentes de diabetes (Czaja *et al*, 2006).

O uso da membrana de celulose também foi relatado como indutor de formação de uma neoduramáter na correção intra-uterina da meningomielocele criada experimentalmente em feto bovino (Oliveira *et al*, 2007), como substituto de duramáter em cães (Mello *et al*, 1996), em implante lamelar em córnea de coelhos (Pippi *et al*, 1990), em papilas mamárias de vacas (Marques *et al*, 1991) e em estudos de regeneração de meniscos, promovendo migração celular (Concaro *et al*, 2007). Em estudos realizados por Macedo *et al* (2003) na regeneração tecidual guiada em defeitos ósseos realizados na tíbia, a membrana não-porosa de politetrafluoroetileno (PTFE) foi mais efetiva que a membrana de celulose bacteriana em coelhos, sendo que a primeira proporcionou maior deposição óssea e menor inflamação. Para o tecido cartilaginoso, a membrana de celulose bacteriana é considerada um material promissor devido sua alta resistência no estado úmido e moldabilidade *in situ*, sendo observado um crescimento significativo de condrócitos viáveis *in vitro* (Svensson, 2005).

Na odontologia, o uso da membrana de celulose bacteriana foi relatado em diferentes ocasiões, com o principal intuito de promover RTG para tratamento de vários tipos de doenças periodontais (Martins *et al*, 2001). Nos defeitos de furcas mandibulares de classe II, ela pode ser utilizada só ou em associação com enxertos. Simonpietri *et al* (2000) realizaram um estudo em 14 pacientes como problema acima relacionado e utilizaram dois tratamentos, onde em um utilizava a membrana de celulose bacteriana associado a osso inorgânico derivado de bovino e, no outro, a utilização apenas da membrana. Em seu estudo, ambos reduziram bem a profundidade na sonda odontológica e resolução do defeito vertical, não havendo diferença entre os grupos. Apenas a resolução da furca

horizontal foi significativa entre os grupos, sendo maior no grupo tratado apenas com a membrana, indagando assim se há uma necessidade real da associação da membrana com outro material. Já Novaes-Júnior *et al* (1990) utilizaram para tal problema a membrana de celulose bacteriana, com ou sem a associação de hidroxiapatita (HA), e houve regeneração de todas as lesões tratadas, sem diferença entre os grupos. Novaes-Júnior *et al* (1993) utilizaram a membrana para recobrir implante de titânio, sendo a HA utilizada como material de enxerto, resultando em formação óssea.

Novos compósitos de celulose bacteriana estão surgindo a fim de melhorar as propriedades da membrana. Barud *et al* (2006) incorporaram sílica à membrana, o que causou um aumento na estabilidade térmica do polímero orgânico, como também aumento na rigidez do compósito. Nanopartículas de prata, com diâmetro médio de 8nm, foram bem adsorvidas nas fibras de celulose no experimento de Barud *et al* (2007), sendo o interesse da adição da prata devido às suas propriedades antibacterianas. A síntese da HA com a celulose bacteriana também tem sido estudada (Wan, 2007).

As membranas de celulose bacteriana também podem ser infundidas com outros componentes terapêuticos que auxiliam na cicatrização, como antibióticos, antioxidantes, ácido hialurônico e quitosana, sendo que esta última retém a umidade por mais tempo quando comparado à membrana de celulose sozinha (Czaja *et al*, 2007).

3.MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi submetido, analisado e aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV) em 20/05/2008 e protocolada como processo nº 10/2008 (anexo 01).

Para que se chegasse a metodologia proposta, um experimento piloto foi realizado. Neste período experimental foi designado o dente a ser extraído, o tipo de sutura que diminuísse a ocorrência de deiscência, a alimentação pós-operatória, se possível realização de biópsia sem a necessidade de eutanásia dos animais e qual o melhor método para executá-la. Foi realizado também o acompanhamento de dor e a verificação do analgésico mais eficaz, além de como oferecer uma melhor qualidade de vida no pós-operatório até a completa recuperação. Após definida a metodologia, iniciou-se o experimento.

Para a realização deste experimento, foram utilizados 12 gatos (*Felis catus*), machos e fêmeas, sem raça definida, clinicamente sadios, de aproximadamente 2 anos, provenientes do gatil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os gatos foram obtidos de três ninhadas de mães diferentes e desmamados aos 45 dias aproximadamente, sendo criados sobre as mesmas condições, em ambiente semi-fechado, arejado e com acesso à luz solar, água à vontade e ração comercial balanceada, além de suplementação com leite, carne e vitaminas periodicamente. Os animais foram castrados aos oito meses de idade, vacinados e vermifugados a cada seis meses.

O tratamento e o controle foram realizadas na mesma unidade animal, sendo então no total 12 animais no grupo tratado e 12 animais no grupo controle, que foram subdivididos em 3 subgrupos (n=4), para realização das biópsias excisionais.

No dia anterior à cirurgia, os animais passaram por exames físicos e realizou-se hemograma completo. Todos os animais receberam 20 mg/Kg de amoxicilina, por via intramuscular, 12 horas antes do procedimento cirúrgico e foram mantidos em jejum sólido e líquido por 12 horas.

Previamente à cirurgia de extração do 3º dente pré-molare inferiore

direito e esquerdo, foi realizado radiografia com filme intra-oral, utilizando a técnica do paralelismo, para observar a morfologia da raiz e radiopacidade do osso alveolar.

Para o procedimento radiográfico e cirúrgico, foi realizado uma indução anestésica com associação de quetamina¹ 10% + xilazina² 10% (na proporção 10:1, na dose de 0,1 ml/Kg), por via intramuscular. Após descarte de anormalidades da cavidade oral e radiográfica, os animais foram intubados e a anestesia de manutenção foi realizada com inalação de isoflurano³, em borbulhador universal e circuito semi-fechado. Foi realizado também um bloqueio do nervo mandibular, no ramo da mandíbula, em ambos os lados, com 1ml de cloridrato de lidocaína⁴ 1%.

Em seguida, uma anti-sepsia da cavidade oral com gluconato de clorexidine⁵ 0,12% foi realizada. Os animais foram colocados em decúbito lateral, mantendo a cabeça inclinada para assegurar a drenagem de saliva e de fluido de irrigação.

Para o procedimento cirúrgico, primeiro foi realizado a incisão gengival e retalhos mucoperiosteais correspondente ao terceiro pré-molar inferior esquerdo e direito foram criados. Para isso, realizou-se uma incisão, com o bisturi n° 15⁶, correspondente a área do dente extraído (Figura 1A) e, sem seguida, o retalho foi deslocado com a ajuda de um sindesmótomo⁷ (Figura 1B). Com a ajuda de uma broca⁸ diamantada, com ponta fina, acoplada a um motor de alta rotação, foi realizada a odonto-seção. Com uma alavanca, o dente já dividido foi luxado (Figura 1C), até o rompimento do ligamento periodontal. Após a luxação, extraiu-se o dente com leves movimentos por meio de um fórceps infantil⁹ (Figura 1D), realizando o mesmo procedimento que se extrai dentes uniradiculados, evitando fratura de raiz. Após a extração, a altura da crista do osso alveolar foi mensurada através de um paquímetro.

¹ Dolalen® - Divisão Vetbrands Saúde Animal. Jacareí- SP, Br.

² Dopaser® - Divisão Vetbrands Saúde Animal. Jacareí- SP, Br.

³ Isoforine® - Cristália Produtos Farmacêuticos LTDA. Itapira-SP, Br.

⁴ Lidocaína 2% - Hipolabor. Sabará-MG, Br.

⁵ PerioGard® - Colgate-Palmolive Company. São Paulo-SP, Br.

⁶ Free-Bac® - P.C.R. – Itajaí-SC, Br.

⁷ Golgran Instrumentos Cirúrgicos e Odontológicos. São Paulo-SP, Br.

⁸ N° 2200 - KG Sorensen Industria e Comércio Ltda. Barueri-SP, Br.

⁹ Golgran Instrumentos Cirúrgicos e Odontológicos. São Paulo-SP, Br.

Os espaços alveolares do dente pré-molar inferior direito extraído foi totalmente preenchido com a hidroxiapatita HAP-91^{® 10}, com a ajuda de porta amálgama pediátrico. Para o preenchimento dos alvéolos, a HAP-91^{® 10} foi misturada a algumas gotas de sangue do próprio animal, adquirindo uma consistência de pasta e facilitando a inserção e a acomodação nos alvéolos.

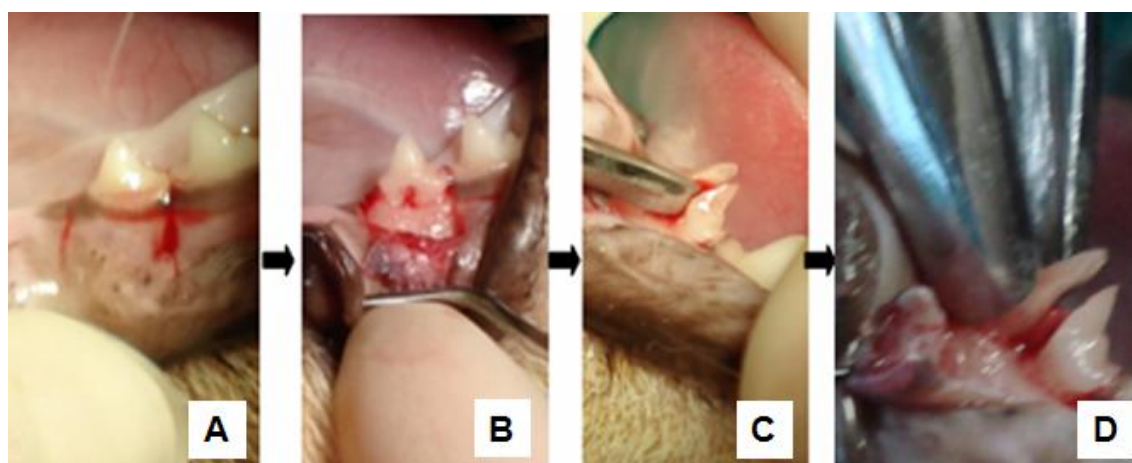


Figura 1: Seqüência da extração dentária de gato submetido à cirurgia experimental: A. Incisão gengival. B. Realização do retalho gengival. C. Luxação do dente após odonto-secção. D. Extração com o fórceps.

Para evitar a saída da HAP-91 e auxiliar a cicatrização da gengiva, os alvéolos foram recobertos com uma membrana de celulose bacteriana^{® 11}. As membranas foram recortadas de forma retangular e colocadas recobrendo totalmente os alvéolos, sendo sua borda inserida aproximadamente 3 mm sub-gengival, de modo que não houvesse possibilidade da hidroxiapatita entrar em contato com a cavidade oral, evitando a sua saída e contaminação (Figura 2). Em seguida, o retalho mucoperiosteal foi suturado com ponto simples separado, utilizando fio cat-gut^{12 4-0}.

O alvéolo do dente pré-molar inferior esquerdo extraído foi preenchido pelo coágulo que se forma normalmente, e também recoberto com a membrana de celulose bacteriana¹⁰, sendo realizado na seqüência

¹⁰ HAP-91[®] Cerâmica Fosfocálcica – Enxerto Ósseo. JHS Laboratório Químico. Sabará-MG, Br.

¹¹ BioFill[®] - Produtos Biotecnológicos. Curitiba-PR, Br.

¹² Categut cromado 4-0 Technofio – Farma Brasileira. São Paulo-SP, Br.

os mesmos procedimentos do lado direito. As cúspides dos 3º dentes pré-molares superiores direito e esquerdo foram desgastadas, a fim de evitar atrito com os pontos de sutura.



Figura 2: Cobertura dos alvéolos dentários com membrana de celulose bacteriana em gato submetido à cirurgia experimental (exodontia).

Os cuidados pós-operatórios incluíram administração de sulfato de morfina¹³ 0,2 mg/Kg, imediatamente após a recuperação anestésica e a cada 12 horas por via subcutânea, por três dias consecutivos. Também se administrou amoxicilina¹⁴, na dose de 20 mg/Kg, a cada doze horas, durante sete dias por via intramuscular. Os gatos, mantidos em baias coletivas com dois animais cada, foram alimentados com ração úmida, carne moída e água a vontade por 45 dias. Os animais utilizaram colar Elizabetano por 21 dias.

A avaliação clínica constou da observação diária da ferida cirúrgica por sete dias consecutivos ao pós-operatório e, após uma semana, continuou-se a observação a cada 15 dias, até completa cicatrização. Esse exame constou da observação de fenômenos relacionados com a evolução clínico-cirúrgica considerando: a intensidade da reação inflamatória por meio da alteração do volume local (edema) e a sensibilidade dolorosa. A sensibilidade dolorosa foi mensurada através da reação comportamental do animal, sendo indicativo de dor a ausência de

¹³ Dimorf® - Cristália do Brasil. São Paulo-SP, Br.

¹⁴ Vetrinoxin L.A.® - Ceva saúde animal. São Paulo-SP, Br.

apetite, postura tensa, tendência a esconder, o estado de quietude mais que o normal e se tentou fugir / rosar quando abordado (Tabela 1). Esses comportamentos foram classificados em graus 0, 1 e 2, como indica a tabela 2.

Tabela 1: Comportamentos indicativos de dor em gatos submetidos à cirurgia experimental (exodontia):

Comportamentos
1) Ausência de apetite
2) Postura tensa
3) Tendência a esconder
4) Permanecer mais quieto que o normal
5) Tentar fugir, rosar

Tabela 2: Tabela esquemática da avaliação de dor por meio do comportamento do paciente submetido à cirurgia experimental (exodontia).

Grau	Dor
0	Dor ausente. Classifica-se nesta categoria quando o paciente apresentar ausência de todos os comportamentos indicativos de dor (Tabela 1).
1	Dor discreta a moderada. Classifica-se nesta categoria quando o paciente apresenta discretamente todos os comportamentos indicativos de dor ou dois dos cinco comportamentos indicativos de dor (Tabela 1).
2	Dor intensa. Classifica-se nesta categoria quando o paciente apresenta três a cinco dos comportamentos indicativos de dor.

Avaliou-se também a presença de secreção purulenta e a deiscência de sutura, no 8º dia, com os animais anestesiados para a realização da radiografia. As variáveis foram classificadas como ausente ou presente.

O edema foi classificado em diferentes graus, sendo o grau 1 representado por edema discreto, ou seja, quando houve um pequeno aumento de volume no local da incisão cirúrgica; grau 2 representado por edema moderado, quando o aumento de volume atingiu a região gengival do dente extraído, alcançando a região dos dentes adjacentes e grau 3,

edema intenso, onde houve presença de aumento de volume na região gengival dos dentes extraídos, dos dentes adjacentes e dos tecidos moles adjacentes, resultando em aumento do volume facial.

Foram realizadas radiografias da região operada, com filme intra-oral¹⁵, utilizando a técnica do paralelismo, imediatamente após a cirurgia e aos 8, 21, 30 e 50 dias de pós-operatório, visando avaliar o processo de reparação dos alvéolos dos dentes pré-molares inferiores extraídos e preenchidos ou não com a hidroxiapatita sintética. Para os procedimentos radiográficos, os animais foram anestesiados com quetamina¹⁶ 10% + xilazina¹⁷ 10% (na proporção 10:1, na dose de 0,1 ml/kg), via intramuscular. As radiografias foram analisadas quanto à radiopacidade local em diferentes graus (Tabela 3) em comparação ao osso não lesionado ao redor, sendo avaliado estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney com $p < 0,05$. Avaliou-se também a presença de radioluscência peri-implante e reabsorção do osso alveolar, classificado como presente ou ausente.

Foram realizadas também análises histológicas da membrana de celulose bacteriana e dos alvéolos. Para obter o material alveolar, foram feitas biópsias excisionais dos grupos tratados e controles. Para tal, os gatos foram divididos em três subgrupos. No grupo 1 ($n = 4$), as biópsias foram realizadas aos 8 dias; no grupo 2 ($n = 4$) as biópsias foram realizadas aos 30 dias e no grupo 3 ($n = 4$), as biópsias foram realizadas aos 50 dias. Para a realização de cada biópsia, foi necessária a extração do quarto pré-molar inferior direito e esquerdo. Após a extração, com uma broca de aço inoxidável e de ponta diamantada de 10 mm¹⁸, acoplada a uma caneta de alta rotação¹⁹ e sob irrigação constante de solução salina isotônica estéril²⁰, inseriu-se no primeiro alvéolo do terceiro pré-molar, descendo aproximadamente 0,5 centímetro. Realizou-se o mesmo procedimento no primeiro alvéolo do quarto pré-molar e, atravessando o segundo alvéolo do terceiro pré-molar em direção ao primeiro corte

¹⁵ InSight[®] Filme dental – Eastman Kodak Company, Rochester-NY, EUA.

¹⁶ Dopalen[®] - Divisão Vetbrands Saúde Animal. Jacaréi- SP, Br.

¹⁷ Dopaser[®] - Divisão Vetbrands Saúde Animal. Jacaréi- SP, Br.

¹⁸ N° 2200 - KG Sorensen Industria e Comércio Ltda. Barueri-SP, Br.

¹⁹ Microdent[®] Aparelhos Odontológicos.

²⁰ Solução fisiológica ARBORETO[®].

realizado no primeiro alvéolo do 3º pré-molar até encontrá-lo, retirou-se o osso destacado pela broca, obtendo assim um formato retangular de aproximadamente 0,5 X 1 cm. Este procedimento está indicado no esquema da figura 3. Já as membranas de celulose bacteriana foram coletadas com uma pinça anatômica aos 8 e 21 dias de pós-operatório.

Tabela 3: Classificação da radiopacidade local do alvéolo em gatos submetidos à exodontia deste experimento.

Grau	Radiopacidade
0	O alvéolo do dente extraído apresentou menor radiopacidade radiográfica, obtendo uma opacidade de “tecido mole”, classificado como “radiopacidade ausente”.
1	O alvéolo do dente extraído apresentou opacidade radiográfica maior que o grau zero, sendo, porém intensamente abaixo da radiopacidade do osso adjacente, classificado como “radiopacidade parcial”.
2	A opacidade do alvéolo do dente extraído foi considerada discreta em relação à radiopacidade do osso vizinho, sendo sua opacidade reconhecida como “osso ou mineral”, porém menos radiopaco que o osso alveolar não lesionado, classificado como “radiopacidade presente”.
3	O alvéolo do dente extraído apresentou radiopacidade semelhante à radiopacidade do osso alveolar não lesionado, com opacidade “osso ou mineral”, classificado como “radiopacidade óssea contínua”.
4	A radiopacidade do alvéolo do dente extraído apresentou-se maior que ao osso circunvizinho.

O pós-operatório seguiu o mesmo protocolo utilizado para a extração dentária, associado ao meloxicam²¹ (0,1 mg/Kg, uma vez ao dia) por três dias consecutivos, para potencializar o efeito analgésico.

As amostras alveolares obtidas foram fixadas em formol a 10% tamponado, durante 6 dias e, em seguida, descalcificados em ácido fórmico a 10% em tampão citrato, por 7 dias. Após total descalcificação, os fragmentos foram lavados em água corrente por 10 minutos e, então, desidratados em seqüências crescentes de álcool a 70%, 80%, 90%, 100% (2 passagens) e 100% + xilol, seguido de permanência no xilol puro

²¹ Maxicam® 0,2% - Ourofino Saúde Animal Ltda. Cravinhos-SP, Br.

por 3 horas. As membranas de celulose bacteriana foram fixadas em formol durante 5 dias. Logo após, todos os cortes foram processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina, seccionados em micrótomo de rotação, com 5 μ m de espessura e montados em lâmina de vidro. As lâminas foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina e observadas ao microscópio óptico²².

Os materiais foram analisados qualitativa e quantitativamente através de microscopia óptica. Na análise qualitativa descritiva caracterizaram-se os tecidos e células presentes em cada amostra, comparando os grupos. Para a análise quantitativa (histomorfometria), uma fração do material foi estimada por um método de contagem de pontos, sendo a porcentagem de pontos distribuídos proporcionalmente ao volume relativo dos elementos da amostra. Para quantificar percentualmente o tecido ósseo alveolar, foi utilizada a grade de Merz, que considera o número de pontos que insidem sobre a estrutura. Ela contém 10 pontos, marcados sobre 10 linhas sinuosas, formada por uma sucessão de semi-círculos encadeados, conforme figura 4. Em um aumento de 100X, foram quantificados os pontos distribuídos sobre tecido conjuntivo, tecido ósseo e hidroxiapatita, em três áreas distintas da lâmina.

²² Microscópio Óptico Binocular – Eclipse E 600 – Nikon, Japan..

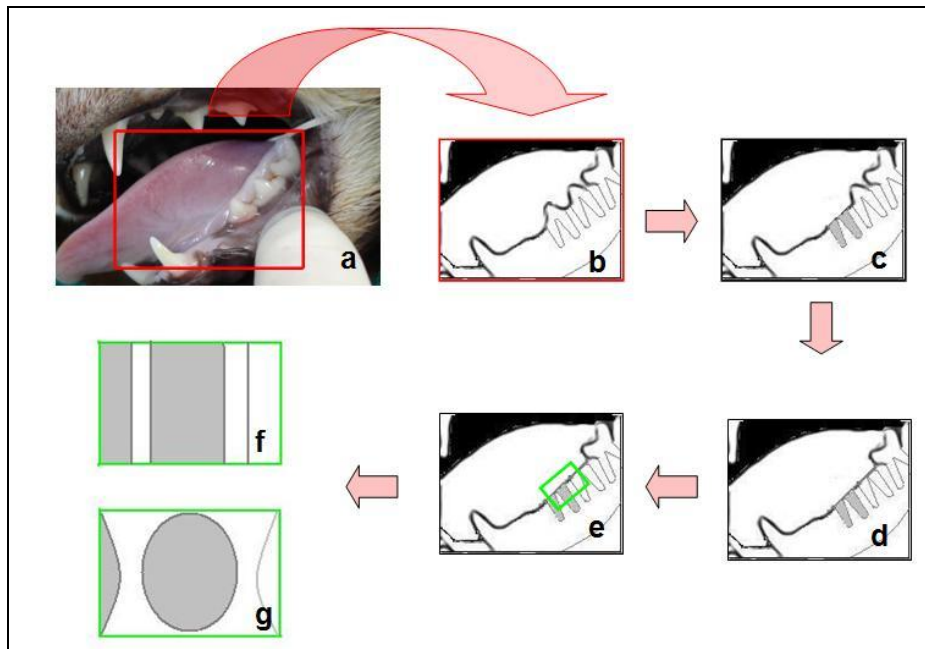


Figura 3: Esquema da realização da biópsia excisional em gatos submetidos à cirurgia experimental. a: Local onde está representado o desenho esquemático a seguir. b.: Dentes pré-molares e molar com suas raízes. c: Alvéolos do 3º pré-molar preenchidos com HA ou coágulo após a extração (raízes cinzas). d: Extração do 4º pré-molar para realização da biópsia. e: Área retangular indicando a local de realização da biópsia, passando a broca no primeiro alvéolo do 3º pré-molar e no primeiro alvéolo do 4º pré-molar, conservando a região medial e apical do segundo alvéolo do 3º pré-molar para a histologia. f: Vista vestibulo-lingual da biópsia (vista lateral). Área cinza indicando o primeiro e segundo alvéolo do 3º pré-molar inferior. g: Vista corona-apical da biópsia (vista dorsal). Área cinza indicando o primeiro e segundo alvéolo do 3º pré-molar inferior.

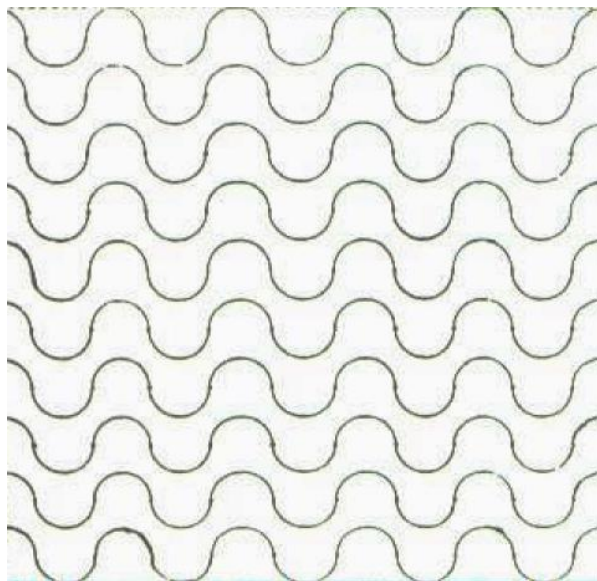


Figura 4: Representação gráfica da grade idealizada por Merz (Grade de Merz).

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Trans-operatório

O descolamento da gengiva para a formação do retalho gengival, em sentido apical para coronal após a incisão, foi de extrema importância, uma vez que esse procedimento melhorou a cooptação da gengiva no momento da sutura, a sua resistência e a sua integridade, não havendo tensão local. Outro procedimento importante foi a preservação do perióstio, levando-o junto ao retalho gengival, o que ajudou a aumentar a resistência no momento da sutura. Porém, segundo estudos de Schmid *et al* (1994), apesar de aumentar a resistência do tecido, o perióstio não é essencial para formação de novo osso.

Houve pouco sangramento após a extração, que cessou rapidamente quando o alvéolo foi preenchido pela HAP-91, diferentemente do que observaram Borges *et al* (2000), Vital (2005), Duarte *et al* (2006), e Martinez (2008) que relataram aumento da hemorragia no momento que o biomaterial entrou em contato com o tecido receptor, e em alguns casos, apresentando ainda uma hemorragia pós-cirúrgica. Pode ser que a HAP-91 tenha aumentado o sangramento neste experimento, mas como se trabalhou em uma cavidade, este fato não pode ser bem observado. Ainda, a compressão feita pelo próprio preenchimento da HAP-91 e pela sua hidrofiliabilidade contribuiu para o não sangramento. Não houve dificuldade de inserir a HA nos alvéolos, apesar da mesma apresentar em forma de grânulos.

Na tentativa de fazer com que as partículas permaneçam no local implantado, muitos procedimentos já foram descritos, como a mistura de osso autógeno à HA (Block *et al*, 1988); porém, isto dificulta o procedimento por necessitar de um sítio doador. Neste experimento, para tal, utilizou-se a membrana de celulose bacteriana, que foi eficiente para a permanência da HAP-91 nos alvéolos dentários. A membrana de celulose bacteriana, por ser muito fina, muitas vezes se aderiu nela mesma, sendo necessário descartá-la; no geral, entretanto, a sua aplicação foi de fácil

manejo e manteve-se bem no local implantado. Dentre os conceitos de membrana ideal citados por Czaja *et al* (2007), a membrana bacteriana utilizada neste experimento demonstrou, no momento da cirurgia, ter boa transparência; aderência; manter a elasticidade e conformação, apresentando opções de formato.

Segundo Moreira *et al* (2003) a restauração de falhas ósseas ocorre mais rapidamente em função do tipo de granulação, o que coincide com do tipo utilizado neste experimento (microgranular). Segundo normas do fabricante, a HAP-91 utilizada foi do tipo reabsorvível, o que não é indicado por Jarcho (1986), que relatou ser a HA do tipo não-reabsorvível mais apropriada para procedimentos restauradores e preservadores de longa duração. Porém, uma hidroxiapatita que leva um tempo longo de reabsorção e permanência pode prejudicar a reparação óssea, pois aumenta a chance de ocorrer uma reação de corpo estranho. Segundo Hench (2006), o tempo de permanência do implante no corpo pode influenciar o grau de sucesso, o que levou a escolher, neste experimento, um biomaterial do tipo reabsorvível.

Mesmo a hidroxiapatita sendo indicada para locais submetidos a baixas cargas devido à sua baixa resistência (Pereira *et al*, 2006), neste experimento, utilizou-se a HAP-91 no preenchimento alveolar, onde existe alta força mecânica de oclusão da mastigação, seguindo as orientações de Duarte *et al* (2006), onde foi associada a membrana de celulose bacteriana para impedir uma possível movimentação do implante.

4.2. Avaliação clínica pós-operatória

O tempo de avaliação clínica pós-operatória (50 dias) foi baseado nos trabalhos de Resende (1991), que recomenda esse tempo como ideal para avaliar a biocompatibilidade no animal.

Sabe-se que a utilização de um anti-séptico pós-operatório é de extrema importância; porém, a utilização de clorexidina, constatada no experimento piloto, não foi aceitável pelos felinos, que apresentaram salivação intensa, ocasionando a passagem constante da língua sobre a

sutura, com conseqüente deiscência, além de provocar grande estresse para o felino. Baseado nesses resultados preliminares, optou-se pela não higienização oral no pós-operatório. Apesar dessa falta de higienização oral, não houve sinais clínicos de infecção, ao contrário do relatado de Alliot *et al* (1999). Acredita-se que o uso de antibiótico sistêmico foi responsável pela ausência clínica de infecção.

Em relação à dor, nenhum animal apresentou alterações no comportamento indicativo de dor, apresentando apetite satisfatório logo após o retorno anestésico completo. Cinco animais apresentaram tendência a se esconder e permaneceram mais quietos que o natural, porém já apresentavam tais tendências antes do procedimento cirúrgico, sendo as atitudes atribuídas ao estresse de mudança de ambiente.

Não houve aumento de volume intenso (Grau 3) no local da incisão em nenhum dos animais durante os sete primeiros dias, sendo o edema classificado como discreto, provavelmente decorrente do trauma cirúrgico. Esse fato leva a crer que a HAP-91 e a membrana de celulose bacteriana foram bem toleradas pelos tecidos bucais, não havendo presença de hemorragia ou secreção purulenta em nenhum dos animais, resultados compatíveis com os encontrados por Duarte *et al* (2006).

A membrana permaneceu no local entre 8 e 21 dias nos gatos (Tabela 4), o que foi suficiente para manter a HAP-91 nos alvéolos durante a fase inicial de reparação. Simonpietri *et al* (2000) relataram que em seus pacientes com defeitos de furca classe II as membranas permaneceram em média por 4 semanas, sendo removidas simplesmente com pinça anatômica.

Tabela 4: Presença da membrana de celulose bacteriana aos 8, 15 e 21 dias de pós-operatório nos gatos submetidos à cirurgia experimental.

Dias	Lado Direito - Tratado		Lado Esquerdo – Controle	
	Presente	Ausente	Presente	Ausente
08	100%	0%	100%	0%
15	62,5%	37,5%	75%	25%
21	12,5%	87,5%	12,5%	87,5%

A saída precoce da membrana de celulose bacteriana pode estar relacionada com a falta de higienização e pelo ambiente contaminado da cavidade oral, embora clinicamente não se tenha observado sinais de infecção. Segundo Fugazzotto (2003), a anti-sepsia pós-operatória após a colocação da membrana, evita a contaminação dessa e sua conseqüente perda, o que não foi possível neste experimento. Outro fator que pode ter influenciado para a saída precoce da membrana, seria o trauma mecânico provocado pelo animal ao atritar a língua áspera na sutura e no biomaterial, em conseqüência de um possível incômodo provocado por ambos.

Algumas complicações já foram relatadas após o implante de HA, como parestesia na região do nervo mentoniano, infecção e deiscência (Resende, 1991). No momento de realização da primeira radiografia, com o animal anestesiado, avaliou-se a presença ou não de deiscência. Neste experimento constatou-se deiscência em 33% dos gatos, em ambos os grupos, mesmo tendo desgastado as cúspides dos 3^o pré-molares superiores, como medida de prevenção. Essa deiscência pode ser explicada pelo hábito do animal de passar a língua áspera na sutura. Ainda assim, a membrana se manteve aderida a gengiva, evitando a exposição óssea e evasão da HAP-91. Mesmo adaptando-se bem ao uso do colar Elizabetano, os animais passaram a efetuar apreensão dos alimentos mais rostralmente, com aplicação da força mastigatória em cima da sutura, fato que pode ter colaborado para ocorrência de deiscência.

Segundo Jahangiri *et al* (1998), o rebordo alveolar é reduzido rapidamente nos primeiros seis meses após a extração dentária, mas a reabsorção óssea da crista continua por toda a vida de uma forma mais lenta. A hidroxiapatita tem sido utilizada para evitar osteopenia induzida pelo desuso, o que ocorre no osso alveolar quando apresenta ausência de dente. Nesse experimento, não foi observado, após a extração e até 50 dias de avaliação, diminuição da crista em ambos grupos. Isso pode ser devido ao fato de que o tempo de avaliação não tenha sido suficiente para observar uma possível diminuição da altura da crista em gatos, ou então, como citado por Novaes Júnior *et al* (2002), a utilização da membrana de

celulose bacteriana pode prevenir deformidades ósseas.

4.3. Análise radiográfica

As radiografias obtidas no pós-operatório imediato se caracterizaram, no grupo controle, por radiopacidade grau 0, característica de tecidos moles e portanto, não-mineralizados (Figura 5A). No grupo tratado com a HAP-91, todas as radiografias demonstraram radiopacidade no alvéolo maior que a do osso circunvizinho, sendo classificada em grau 4 (Figura 5B), isto porque a HAP-91 possui elementos com alto número atômico (Borges *et al*, 2000; Duarte, 2003; Carlo *et al*, 2009). Observou-se, também, que a HAP-91 foi devidamente implantada, preenchendo todo o alvéolo, demonstrado pela ausência de áreas radioluscentes dentro do mesmo.

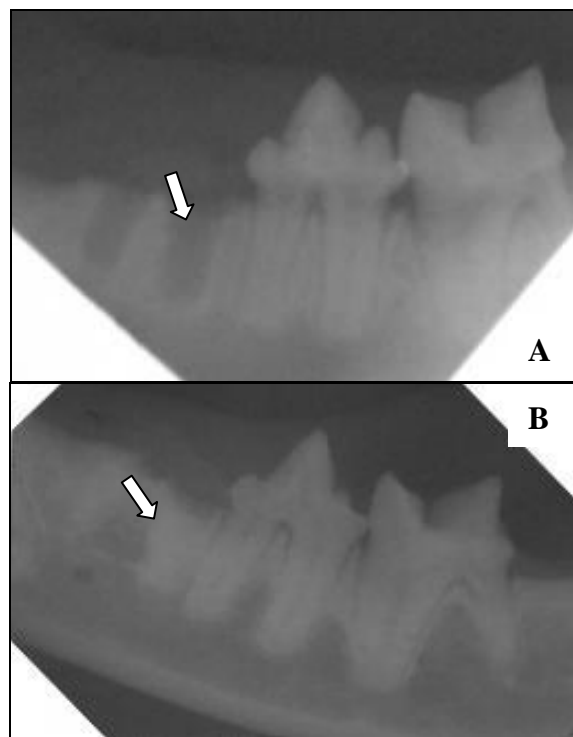


Figura 05: Radiografia da arcada dentária mandibular esquerda (A) e direita (B) de gatos submetidos à cirurgia experimental no pós-operatório imediato. A: Grupo controle. Radiopacidade ausente (grau 0) (seta). B: Grupo tratado. Radiopacidade da HAP-91 maior que a do osso circunvizinho (grau 4) (seta).

Para observar as diferentes classificações na extensão do alvéolo, a partir do oitavo dia, cada alvéolo foi dividido em três partes, como mostra a

figura 05:

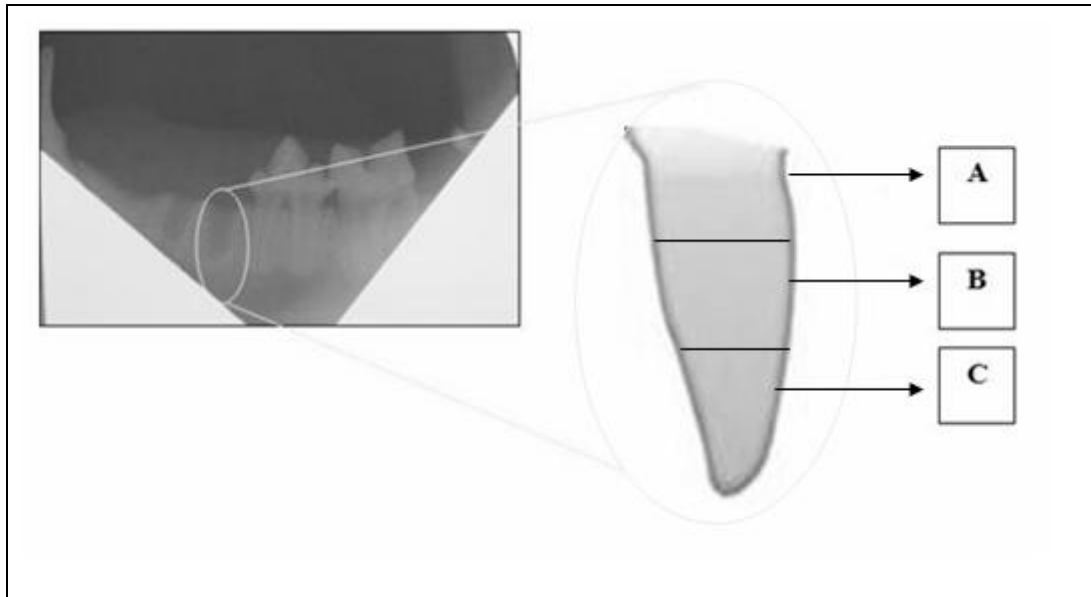


Figura 06: Esquema da divisão em terços realizada para análise radiográfica dos alvéolos. Em destaque o 2º alvéolo do 3º pré-molar inferior. A: Região coronal. B: Região média. C: Região apical.

Aos 8 dias, no grupo controle, 75% dos animais continuaram a apresentar grau 0, e 25% apresentaram grau 1, isto é, um aumento da radiopacidade local, tanto no primeiro alvéolo como no segundo, em todas as regiões, porém, ainda intensamente abaixo da radiopacidade do osso adjacente (Tabela 5). É bom lembrar, no entanto, que, em todo processo de cicatrização, inicialmente se desenvolve tecido conjuntivo no foco da lesão, cuja radiopacidade é insuficiente para ser perceptível ao exame radiográfico (Borges *et al*, 2000).

Neste mesmo período, no grupo tratado, na região coronal do primeiro alvéolo, 50% dos animais ainda permaneciam em grau 4 e 16,66% apresentavam grau 0, apresentando a mesma porcentagem nos graus 2 e 3. Já no segundo alvéolo, na mesma região, 75% dos animais apresentaram grau 4, 8,33% apresentaram grau 3 e 16,66% apresentaram grau 0 (tabela 5). Nos animais que apresentaram grau 0, acredita-se ter ocorrido migração da HAP-91, fato caracterizado pela ausência de radiopacidade na região coronal de ambos os alvéolos.

Na região média do grupo tratado, aos 8 dias, no primeiro alvéolo,

50% dos animais também continuaram no grau 4, 33,33% apresentaram grau 3 e 16,66% apresentaram grau 2. Já no segundo alvéolo da mesma região, 50% permanecerem no grau 4 e 50% apresentaram grau 3 (Tabela 5).

Na região apical, no mesmo grupo e no mesmo período, no primeiro alvéolo, a maioria dos animais apresentaram grau 3 (75%), 16,66% apresentaram grau 4 e 8,34% apresentaram grau 2. No segundo alvéolo, 83,34% apresentam em grau 3, enquanto 8,33% apresentaram grau 4 e 8,33% apresentaram grau 2 (Tabela 5).

Tabela 5: Classificação da radiopacidade (em graus) das regiões coronal, média e apical, dos animais do grupo tratado e controle, aos 8 dias após a cirurgia experimental (exodontia).

Grupos	Coronal				Média				Apical				
	Controle		Tratado		Controle		Tratado		Controle		Tratado		
Alvéolos	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	
G	0	9	9	2	2	9	9	-	-	9	9	-	-
r	1	3	3	-	-	3	3	-	-	3	3	-	-
a	2	-	-	2	-	-	-	2	-	-	-	1	1
u	3	-	-	2	1	-	-	4	6	-	-	9	10
s	4	-	-	6	9	-	-	6	6	-	-	2	1

Foi observado por Duarte (2003) e Fófano (2004) um halo de radiotransparência no alvéolo circundando o centro mais radiopaco durante a reparação óssea nos animais tratados. Tal fato foi observado também neste experimento (Figura 7). Essa diminuição da radiopacidade sugere a substituição da HAP-91 por um tecido menos denso, provavelmente o tecido fibrovascular que participa na reparação fisiológica de um defeito ósseo, com radiopacidade insuficiente para ser perceptível ao exame radiográfico (Borges *et al*, 2000; Fehlberg, 2001; Duarte, 2003).



Figura 7: Halo de radiotransparência no alvéolo circundando o centro mais radiopaco durante a reparação óssea nos animais tratados.

Aos 21 dias, no grupo controle, na região coronal, em ambos os alvéolos, 66,67% apresentaram grau 2 e 33,33% apresentaram grau 1. Na região média, 83,33% apresentaram grau 2 e 16,67% apresentaram grau 1. Na região apical, 83,33% apresentaram grau 2 e 16,67% apresentaram grau 3 (Tabela 6). Esse aumento gradativo da radiopacidade em ambos os alvéolos, provavelmente, se deveu à formação de novo osso, processo normal de reparação alveolar. É importante ressaltar que não foi possível realização de radiografia em dois animais nesta data.

No grupo tratado, aos 21 dias, na região coronal do primeiro alvéolo, 66,67% dos animais apresentaram grau 2 e 33,33% apresentaram grau 3. Já no segundo alvéolo, 33,33% dos animais apresentaram grau 1, e a mesma porcentagem ocorreu no grau 2 e 3 (Tabela 6).

Na região média, no mesmo período, no primeiro alvéolo do grupo tratado, 50% dos alvéolos apresentaram em grau 2 os outros 50% apresentaram em grau 3. No segundo alvéolo, 66,67% dos animais apresentaram grau 3, 16,66% apresentaram grau 4 e 16,66% apresentaram grau 2 (Tabela 6).

Na região apical do mesmo grupo, neste mesmo período, 100% dos animais apresentaram grau 3 no primeiro alvéolo; no segundo alvéolo, 83,33% apresentaram grau 3 e 16,67% apresentaram grau 2 (Tabela 6).

Em um animal não foi possível a classificação do grau de radiopacidade porque notou-se reabsorção óssea alveolar (Figura 08). Lins *et al* (2006) sugerem que a contaminação local devido ao difícil controle da flora bacteriana seja a causa mais provável para que a

reabsorção ocorra. Contudo, acredita-se que nesse experimento, o quadro se deveu a uma resposta inerente ao animal, uma vez que Resende (2006) cita a possibilidade de haver diferentes respostas do organismo em relação aos biomateriais entre espécies diferentes e dentro da mesma espécie.

Tabela 6: Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, medial e apical, de todos os animais do grupo tratado e controle, aos 21 dias após a cirurgia experimental.

Grupos	Coronal				Medial				Apical				
	Controle		Tratado		Controle		Tratado		Controle		Tratado		
	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	2	2	-	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-
2	4	4	4	2	5	5	3	1	5	5	-	1	-
3	-	-	2	2	-	-	3	4	1	1	6	5	-
4	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-



Figura 08: Reabsorção óssea observada em um dos animais do grupo tratado aos 21 dias após cirurgia experimental.

Aos 30 dias, no grupo controle, em ambos alvéolos e em todas as regiões, 50% dos animais apresentaram grau 2 e 50% apresentaram grau 3 (tabela 7). Na região coronal de ambos os alvéolos, no grupo tratado, no mesmo período, 60% dos animais apresentaram grau 2, 20% apresentaram grau 3 e 20% apresentaram grau 1. Na região média, em ambos os alvéolos, 80% apresentaram grau 2 e 20% apresentaram grau 3. Já na região apical, 100% apresentaram grau 3 em ambos os alvéolos (Tabela 7). Estes resultados revelam que, com a evolução da reparação

óssea, o padrão alveolar se manteve semelhante dentro dos grupos.

Tabela 7: Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, média e apical, dos animais do grupo tratado e controle, 30 dias após a cirurgia experimental (exodontia).

Grupos	Alvéolos	Coronal				Medial				Apical			
		Controle		Tratado		Controle		Tratado		Controle		Tratado	
		1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º
G	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
r	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
a	2	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	-	-
u	3	3	3	1	1	3	3	1	1	3	3	5	5
s	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Aos 50 dias, tanto o grupo tratado e controle, apresentaram quadro semelhante, caracterizado por grau 3 em todos os alvéolos (Tabela 8), conseqüente da reparação tecidual com presença de tecido ósseo em ambos os grupos.

As informações descritivas dos parâmetros radiológicos demonstraram que o tempo de regeneração dos alvéolos dentários foi igual tanto nos alvéolos tratados, quanto nos controles. Radiograficamente, o tempo necessário para a regeneração óssea completa não foi menor com a presença da HAP-91, o que está de acordo com Duarte (2003).

Neste experimento, aos 50 dias, se observou linha radiotransparente entre o implante de HAP-91 e o tecido ósseo receptor. Esta observação sugere adequada interação do biomaterial com o osso alveolar, sem sinais de osteólise, estando de acordo com Weiss *et al* (2007). Segundo Borges *et al* (2000), a ausência dessa linha leva a crer que a união HAP-91-osso ocorreu por crescimento direto sobre o implante, sem interposição de tecido fibroso.

Tabela 8: Classificação da radiopacidade (graus) das regiões coronal, média e apical, dos animais do grupo tratado e controle, 50 dias após a cirurgia experimental (exodontia).

Grupos	Alvéolos	Coronal				Média				Apical			
		Controle		Tratado		Controle		Tratado		Controle		Tratado	
		1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º
G	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
r	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
u	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
s	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Analisando estatisticamente os dados citados no grupo controle, houve diferença significativa entre os graus em todas as regiões comparando entre os dias 8 e 21, 21 e 50 e 8 e 50 dias. Entre os dias mais próximos (isto é, entre 21 e 30, e entre 30 e 50 dias), não houve essa diferença significativa, demonstrando assim um aumento gradativo da radiopacidade, que pode ser percebido comparando períodos mais distantes de avaliação. Comparando as diferentes regiões dos alvéolos, não houve diferença significativa em nenhuma data, demonstrando que o aumento da radiopacidade ocorreu de forma semelhante em todas as regiões (Tabela 9).

Tabela 9: Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo controle em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental.

D	i	a	s	Coronal		Média		Apical	
				<i>Ambos Alvéolos</i>		<i>Ambos Alvéolos</i>		<i>Ambos Alvéolos</i>	
	8			0,25 ± 0,45	aA	0,25 ± 0,45	aA	0,25 ± 0,45	aA
	21			1,66 ± 0,51	bA	1,83 ± 0,4	bA	2,17 ± 0,40	bA
	30			2,5 ± 0,54	bcA	2,5 ± 0,54	bc A	2,5 ± 0,54	bcA
	50			3,0 ± 0,33	cA	3,0 ± 0,33	cA	3,0 ± 0,33	cA

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna sinalizam diferença significativa entre os dias, pelo teste de Mann-Whitney com $p < 0,05$. Letras maiúsculas iguais na mesma linha sinalizam semelhança entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney com $p < 0,05$.

No grupo tratado, não houve em nenhuma data diferença significativa entre o 1º e o 2º alvéolo, resultado favorável e esperado, uma vez que ambos repararam de forma semelhante em todas as regiões. Houve uma diminuição significativa do grau de radiopacidade entre 8 e 30

dias, sugerindo a biodegradação da HA e conseqüente deposição de tecido fibrovascular. Já comparando 30 e 50 dias, houve um aumento significativo na região coronal e média, devido a provável formação óssea (Tabela 10). Na região apical, não houve diferença significativa, isto é, o grau permaneceu semelhante em todos os momentos (grau 3). Isto pode ser devido ao fato de maior proximidade da região com o delta apical, área de região de nervos e vasos e, conseqüentemente, local de maior fluxo sanguíneo, ocorrendo uma maior degradação da HAP-91, simultaneamente com a neoformação óssea, mantendo assim radiopacidade constante. A reparação dos alvéolos aconteceu de forma semelhante em todas as regiões, exceto aos 21 dias, onde a região apical mostrou estar em grau mais adiantado comparado à região coronal (Tabela 10).

Comparando as respectivas regiões dos grupos tratado e controle, não houve diferença significativa aos 30 e 50 dias, isto é, aos 30 dias os grupos tratado e controle já apresentavam radiopacidade semelhantes. Aos 8 e 21 dias, ainda havia diferença significativa entre as regiões apicais, médias e coronais, provavelmente devido à diferente constituição do tecido ali formado (Tabela 11).

Tabela 10: Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo tratado em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental (exodontia).

Alvéolos		Coronal		Média		Apical	
		1º	2º	1º	2º	1º	2º
D	8	2,83±1,52 a A	3,22±1,54 a A	3,33±0,77 a A	3,50±0,52 a A	3,08±0,51 a A	3,0±0,42 a A
i	21	2,33±0,51 a A	2,0±0,89 a A	2,5±0,54 b AB	3,0±0,63 b AB	3,0±0,32 a B	3,0±0,32 a B
a	30	2,0±0,70 b A	2,0±0,70 b A	2,2±0,44 b A	2,2±0,44 b A	3,0±0,00 a A	3,0±0,00 a A
s	50	3,0±0,00 c A	3,0±0,00 c A	3,0±0,00 c A	3,0±0,00 c A	3,0±0,00 a A	3,0±0,00 a A

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna sinalizam diferença significativa entre os dias, pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma linha sinalizam semelhança entre as regiões, pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Tabela 11: Média e desvio padrão da classificação da radiopacidade (graus) do grupo tratado em comparação ao grupo controle em todas as regiões aos 8, 21, 30 e 50 dias após cirurgia experimental (exodontia).

Alvéolo	Grupos	Coronal		Média		Apical				
		Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado			
		Ambos	1º	2º	Ambos	1º	2º	Ambos	1º	2º
D	8	0,25±0,45A	2,83±1,52B	3,22±1,54B	0,25±0,45A	3,33±0,77B	3,50±0,52B	0,25±0,45A	3,08±0,51B	3,0±0,42B
i	21	1,66±0,51A	2,33±0,51B	2,0±0,89B	1,83±0,4bA	2,5±0,54B	3,0±0,63B	2,17±0,40A	3,0±0,32B	3,0±0,32B
a	30	2,5±0,54A	2,0±0,70A	2,0±0,70A	2,5±0,54A	2,2±0,44A	2,2±0,44A	2,5±0,54A	3,0±0,00A	3,0±0,00A
s	50	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A	3,0±0,00A

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha, numa mesma região, sinalizam diferença significativa pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

4.4. Análise histológica e histomorfométrica

As biópsias excisionais foram realizadas de modo que não se prejudicasse a função mandibular e que não ocorressem riscos de fraturas no local, evitando dessa maneira, a necessidade de eutanásia dos animais. Entretanto, devido ao tamanho limitado da amostra obtido, dificultou-se a observação histológica e histomorfométrica, coletando-se somente o terço coronal e médio dos alvéolos, não sendo possível avaliar a região apical.

Na análise histológica, aos oito dias, a HAP-91 apresentou-se com forma de material amorfo, bem delimitado e acelular, como caracterizado por Borges *et al* (2000) e Vital (2005). Observou-se no grupo tratado, tecido de granulação caracterizado pela proliferação fibroblástica e angioblástica, com algumas áreas de tecido ósseo neoformado, apresentando áreas de interface contínua entre eles (Figura 09). Houve proliferação de tecido ósseo em torno dos cristais de HAP-91 (Figura 10) e um processo de remodelação em suas margens, com osteoblastos superficiais. Neutrófilos maduros e não degenerados foram encontrados em grande quantidade. De acordo com Raskin (2003), a presença de grande quantidade de neutrófilos é sugestiva de intensa inflamação, e que nesse experimento, provavelmente teve como causa uma infecção bacteriana devido ao ambiente altamente contaminado da cavidade oral.

Este grupo apresentou uma grande quantidade de linfócitos jovens e maduros. Os linfócitos possuem receptores altamente especializados que identificam seqüência de peptídeos de poucos aminoácidos (proteínas) (Abbas, 2000). Foi observado na membrana de celulose bacteriana, aos 8 dias, substância fibrilar organizada em camadas, detritos celulares de origem inflamatória e sugestivo material proteináceo aderido na substância fibrilar (Figura 11), sendo que este último justifica a presença dos linfócitos. Segundo Macedo *et al* (2003), esse potencial de induzir uma reação inflamatória, associado à baixa resistência à pressão e a pequena habilidade de criar espaço apropriado para o crescimento tecidual são as maiores desvantagens da membrana de celulose bacteriana que influenciam a regeneração óssea dos sítios.

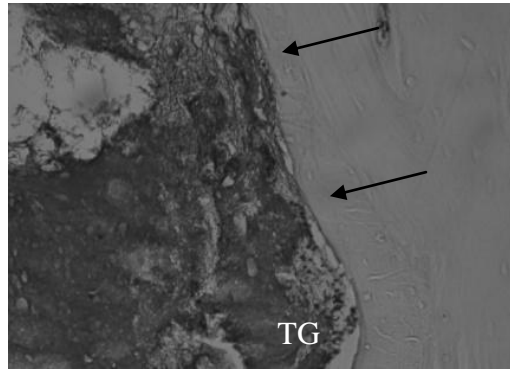


Figura 09: Interface contínua entre superfície de tecido de granulação (TG) e tecido ósseo neoformado (setas). Corte longitudinal, 100X.

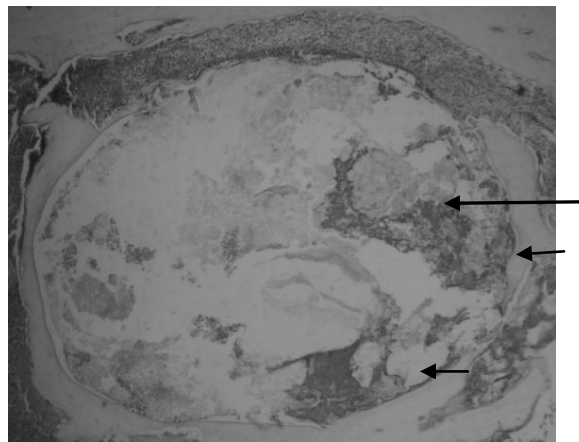


Figura 10: Cristais de HA (seta maior) no interior do espaço alveolar. Proliferação de tecido ósseo em torno dos cristais de HA (setas menores). Grupo tratado, 8 dias. Corte transversal, 40X.

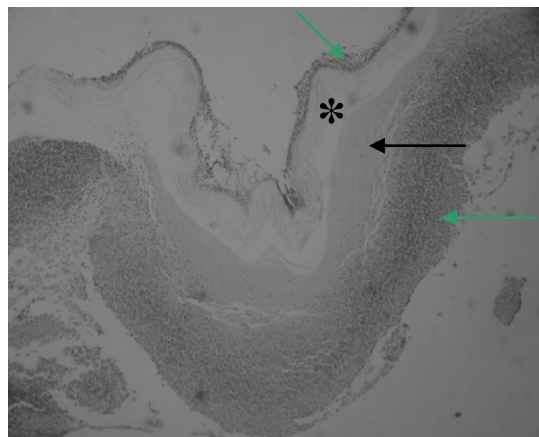


Figura 11: Membrana de celulose bacteriana aos 8 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas (asterisco); material proteináceo aderido na substância fibrilar (seta negra); detritos celulares de origem inflamatória (setas verdes). Corte longitudinal, 40X.

No mesmo período no grupo controle, pode-se observar um preenchimento do alvéolo por tecido de granulação (Figura 12A), fato fundamental apontado por Catanzano Guimarães (1982), que relaciona a reparação do alvéolo com a presença de tecido de granulação dentro do mesmo. O presente tecido de granulação apresentou-se com intensa infiltração de fibroblastos, infiltrado polimorfonuclear (neutrófilo) moderado e difuso (Figura 12B). Também houve presença de linfócitos jovens e maduros e poucas áreas de tecido ósseo imaturo. Ao contrário dos resultados encontrados por Paris (2002) e Duarte *et al* (2006), não foram observados sinais de reabsorção do osso alveolar, como irregularidades das bordas do defeito ou superfície.

Aos 21 dias, a membrana apresentava projeções papilares (vegetações) com detritos celulares de origem inflamatória com áreas multifocais basofílicas, compatíveis com colônias bacterianas (Figura 13 e 14). Esse acúmulo de bactérias encontradas tanto aos 8 dias como aos 21 dias pós-operatório pode ter sido a causa da sua expulsão posterior. Segundo Fugazzotto (2003), para a aplicação da membrana na cavidade oral, cuidados devem ser tomados em relação à anti-sepsia pós-operatória para que não ocorram contaminação e perda precoce da mesma.

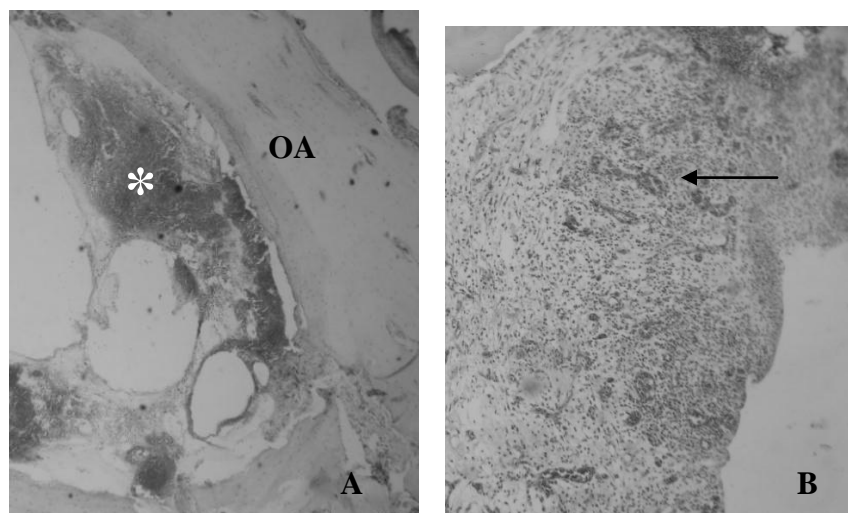


Figura 12: A: Proliferação fibrovascular (tecido de granulação) (estrela) próximo ao osso alveolar (OA) em alvéolo do grupo controle aos 8 dias. Corte transversal, 40X. B: Proliferação fibrovascular (tecido de granulação) com intensa infiltração de fibroblastos e matriz extracelular imatura; infiltrado polimorfonuclear (neutrófilos) moderado a difuso (seta). Grupo controle, 8 dias. Corte longitudinal, 100X.

Aos 30 dias, no grupo controle, observou-se proliferação de tecido conjuntivo com predomínio de população fibroblástica e vascularização, em torno de trabéculas ósseas. O espaço alveolar encontrava-se com infiltrado inflamatório polimorfonuclear discreto a moderado (Figura 15 e 16).

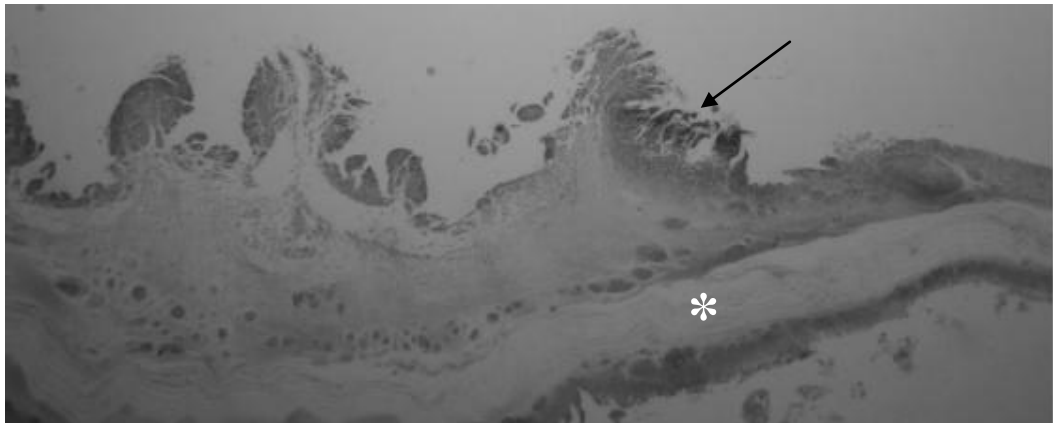


Figura 13: Membrana aos 21 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas (estrela branca); projeções papilares do tipo vegetativo com detritos celulares de origem inflamatória com áreas multifocais basofílicas compatíveis com colônias bacterianas (seta). Corte longitudinal, 40X.

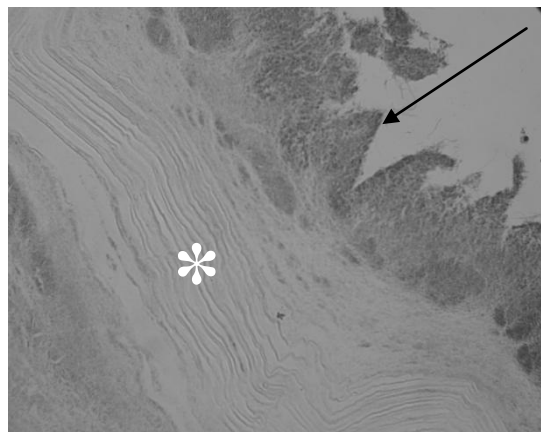


Figura 14: Membrana aos 21 dias de pós-operatório. Substância fibrilar organizada em camadas (estrela branca); projeções papilares com detritos celulares de origem inflamatória com áreas multifocais basofílicas compatíveis com colônias bacterianas (seta). Corte longitudinal, 100X.

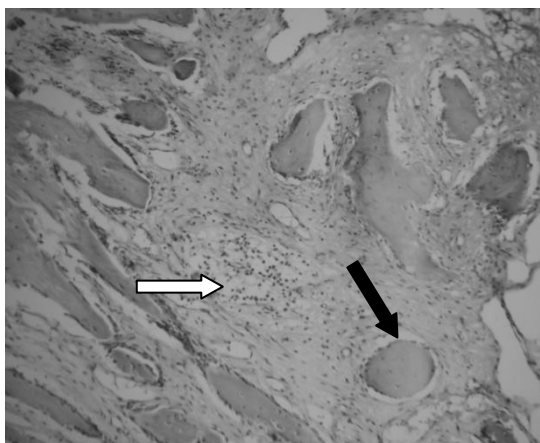


Figura 15: Proliferação de tecido conjuntivo (seta preta) em torno de trabéculas ósseas. Infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) focal e discreto (seta branca). Grupo controle, 30 dias. Corte longitudinal, 100X.

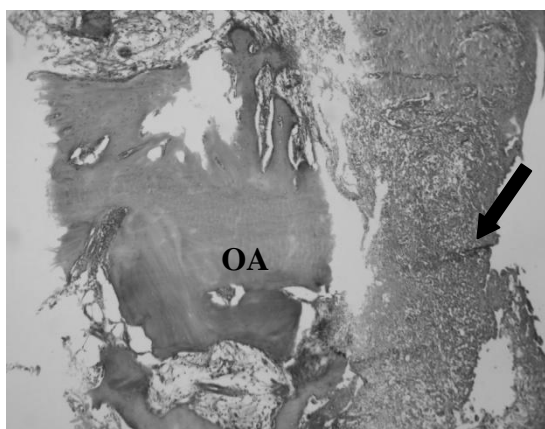


Figura 16: Espaço alveolar com infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) moderado e difuso (seta). OA: Osso alveolar. Grupo controle, 30 dias. Corte longitudinal, 40X.

Em relação ao grupo tratado, aos 30 dias, observou-se proliferação celular osteoblástica em torno dos cristais de HAP-91 (Figura 18), tecido ósseo neoformado, infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) acentuado (Figura 17), hemácias e alguns macrófagos. Os neutrófilos são granulócitos típicos de fenômenos agudos de inflamação, desaparecendo depois de 24 a 48 horas, pois os fatores quimiotáticos para migração de neutrófilos são ativados precocemente na resposta inflamatória (Anderson, 2001). A sua presença neste período, neste caso, foi possivelmente devido à constante contaminação da cavidade oral, uma vez que tal fato também foi encontrado no grupo controle. Porém, a presença de HAP-91 associada a contaminação favoreceu o processo inflamatório, pois a hidroxiapatita é

susceptível à digestão bacteriana (Roush, 2007), sendo observado neste experimento algumas áreas onde a HAP-91 se apresentava envolvida por tecido granulomatoso com proliferação fibrovascular, presença de osteonecrose, associado também infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilos) acentuado (Figura 18).

Aos 50 dias, tanto o grupo tratado como o grupo controle demonstraram tecido ósseo imaturo (osteóide) com diversos ósteons, num processo de reparação óssea similar ao processo de mineralização (Figura 19A e B), e poucas áreas de tecido conjuntivo. Em ambos os grupos, não havia presença de reação inflamatória. No grupo tratado, já não se observou a presença da HAP-91. No experimento de Duarte *et al* (2006), aos 60 dias, não foi observada a presença de HAP-91, sendo sugerida a sua biodegradação. Jensen *et al* (1996), em seu experimento, demonstrou que aos 8 dias pós-cirúrgico praticamente toda a hidroxiapatita havia sido reabsorvida. Boeck *et al* (1999) também observaram que a HA foi parcialmente reabsorvida aos 60 dias de pós-operatório, relatando que os resultados podem variar dependendo do local implantado. Esses autores contradizem a teoria de que a hidroxiapatita apresenta uma lenta degradação, começando a ser reabsorvida após 4 ou 5 anos de implantação (Pereira *et al*, 2006).

Durante todo o experimento, não foram observados partículas de HAP-91 no interior de macrófagos, como relatado por Borges *et al* (2000), o que não descarta a sua biodegradação por fagocitose. Também não foi observado células gigantes (formado por fusão de monócitos na tentativa de fagocitar o material). Segundo Vasconcelos (2006), o tecido de granulação, macrófagos e células gigantes poderão compor a reação inflamatória quando o organismo reconhece o biomaterial como corpo estranho, diminuindo as chances de regeneração quanto maior for o tempo do processo inflamatório. Apesar da presença de tecido de granulação e macrófagos em torno da HAP-91 aos 30 dias, neste experimento, o que podem ter levado a um atraso na reparação óssea em determinados locais, houve a reconstituição por tecido ósseo alveolar aos 50 dias.

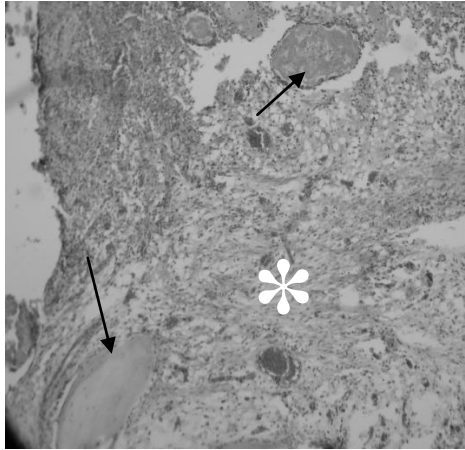


Figura 17: Tecido ósseo neoformado (setas), infiltrado inflamatório polimorfonuclear e hemácias (estrela branca). Grupo tratado, 30 dias. Corte longitudinal, 100X.

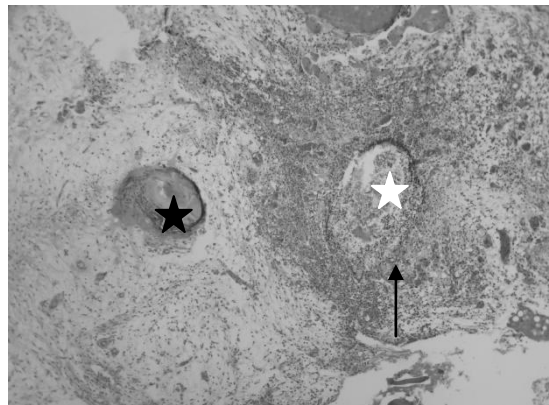


Figura 18: Proliferação celular osteoblástica em torno de cristais de HAP-91 (estrela negra). Osteonecrose associada à presença de HAP-91 (seta) com proliferação fibrovascular associado a um infiltrado inflamatório polimorfonuclear (neutrófilo) acentuado (estrela branca). Grupo tratado, 30 dias. Corte longitudinal, 100X.

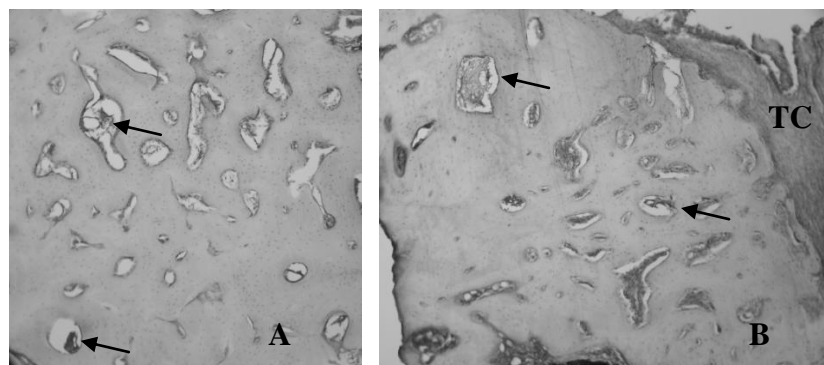


Figura 19: A: Tecido ósseo imaturo (osteóide) com diversos ósteons (setas). Grupo tratado, 50 dias. B: Tecido ósseo imaturo (osteóide) com diversos ósteons (setas) e proliferação de tecido conjuntivo (TC) ao seu redor. Grupo controle, 50 dias. Corte longitudinal, 100X.

À análise histomorfométrica, constatou-se que o tecido ósseo

aumentou progressivamente dos 8 aos 50 dias, porém apenas aos 50 dias pode-se observar o percentual de tecido ósseo maior que o de tecido conjuntivo, em ambos os grupos. No oitavo dia a porcentagem do tecido ósseo do grupo controle e do grupo tratado foram de $4,75 \pm 2,50$ e $10,25 \pm 1,70$ respectivamente. Aos 30 dias, a porcentagem do tecido ósseo do grupo controle foi $37,75 \pm 1,70$ e do grupo tratado foi $22,05 \pm 4,79$, e aos 50 dias foi $94,25 \pm 2,98$ e $91,0 \pm 3,26$, respectivamente (tabela 12). Tais resultados demonstram que no oitavo dia houve uma diferença significativa na quantidade de tecido ósseo no grupo tratado, podendo assim afirmar que a HAP-91 associada à membrana de celulose bacteriana promoveu um adiantamento no processo da reparação óssea nesses primeiros dias, se comparado ao grupo controle. Paris (2002) também observou um processo intenso de neoformação óssea frente aos grânulos de HA, principalmente nos períodos de 21 e 45 dias. Esse aumento de tecido ósseo no início do processo de reparação é um fator benéfico para o animal, principalmente nos casos de extensa perda do osso alveolar, pois apenas a formação de tecido de granulação no local deixa-o mecanicamente frágil, sendo que a substituição por um tecido mais resistente (o tecido ósseo) o quanto antes é o mais desejável.

A presença da HA associada a membrana de celulose bacteriana pode ter auxiliado o processo de neoformação óssea nos 8 primeiros dias neste experimento, não podendo afirmar o mesmo até aos 30 dias, onde se percebeu um atraso significativo na evolução do reparo alveolar comparado ao grupo controle. O atraso também foi observado aos 21 e 42 dias por Brandão (2002) e aos 60 dias por Resende (1991), que utilizaram apenas a hidroxiapatita. Já aos 50 dias neste experimento, não foi observado diferença estatística de tecido ósseo entre os grupos tratado e controle, apresentando quantidade de tecido ósseo semelhantes, sendo que o tempo necessário para a regeneração óssea completa não foi menor na presença da HAP-91 e de membrana.

Tabela 12: Médias e desvio padrão das porcentagens de tecido ósseo e tecido conjuntivo e hidroxiapatita (HA) nos alvéolos dentários dos grupos tratado e controle aos 8, 30 e 50 dias após extração e/ou implantação de HA e membrana de celulose bacteriana.

Dias	Grupos	Tecido Ósseo	Tecido Conjuntivo	Hidroxiapatita
8	Tratado	10,25 ± 1,70 a	29,25 ± 3,09 b	60,5 ± 3,69
	Controle	4,75 ± 2,50 b	93,75 ± 2,06 a	
30	Tratado	22,05 ± 4,79 b	61,0 ± 6,68 b	16,5 ± 3,41
	Controle	37,75 ± 1,70 a	62,25 ± 1,70 a	
50	Tratado	91,0 ± 3,26 a	9,0 ± 3,26 a	
	Controle	94,25 ± 2,98 a	5,75 ± 2,98 a	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna dentro do mesmo dia, sinalizam diferença significativa entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

5. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho e com base nos resultados clínicos, cirúrgicos, radiológicos e histomorfométricos, pode-se chegar às seguintes conclusões para os alvéolos dentais de felinos:

- A formação de osso alveolar morfolologicamente normal nos locais onde foi implantada a HAP-91 e a radiopacidade óssea contínua aos 50 dias na avaliação radiológica, demonstra a biocompatibilidade da HAP-91 no osso alveolar em felinos;
- A HAP-91 associada à membrana de celulose bacteriana, quando comparadas ao grupo controle, promoveram um adiantamento no processo de reparação óssea aos 8 dias de pós-operatório e um atraso aos 30 dias, porém aos 50 dias ambos apresentavam uma área de tecido ósseo semelhantes;
- A HAP-91 pode ser utilizada como substituto ósseo em alvéolos de felinos, pois se integrou ao tecido do leito receptor;
- A membrana de celulose bacteriana pode ser utilizada na cavidade oral em felinos.

6. Referências

- ABBAS, A.K. Lymphocyte maturation and expression of antigen receptor gene. In: ABBAS, A.K; LINCHMAN, A.H.; POBER, J.S. *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia, Editora: W.B. Saunders. 4^a edição, 2000. p.144-160.
- ALLIOT, B.; PIOTROWSKI, B.; MARIN, P. *et al.* Regeneration procedures in immediate transmucosal implants: an animal study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v.14, n.06, p.841-848, 1999.
- ANDERSON, J. Biological responses to materials. *Annual Reviews Material Research*, v.31, p.81-110, 2001.
- ARAKAKI, M., YAMASHITA, S., MUTAF, M. *et al.* Onlay silicone and hydroxyapatite-tricalciumphosphate composite (HAP-TCP) blocks interfere with nasal bone growth in rabbits. *Cleft Palate-Craniofacial Journal*, v.32, n.04, p.282-289, 1995.
- BARUD, H.S.; MARTINES, M.A.U.; RIBEIRO, C.A. *et al.* Caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana/sílica. V Congresso de Análise Térmica e Calorimetria – V CBRATEC, 2006.
- BARUD, H. S.; BARRIOS, C. E.; MARQUES, R. F. C. *et al.* Self-supported silver nanoparticles containing bacterial cellulose membranes. Materials Science & Engineering. *Biomimetic Materials, Sensors and Systems*, v. 01, p. 01-02, 2007.
- BATISTA, M.G. Levantamento de seio maxilar com hidroxiapatita HAP-91[®]: Relato de três casos realizados e análise de avaliação. In: BICALHO, S.M.C.M.; BORGES, A.P.B.; REZENDE, C.F. *et al.* HAP-91[®] e COL.HAP-91[®] Casuísticas e Estudos Científicos. JHS Laboratório. 1^aed. 2004. Belo Horizonte- MG.
- BENNETT, D. Sistema musculoesquelético. In: CHANDLER, E.A., GASKELL, C.J., GASKELL, R.M. *Clínica e terapêutica em felinos*. São Paulo, Editora: Roca, 2006. p.143.
- BICALHO, S.M.C.M.; BORGES, A.P.B.; REZENDE, C.F. *et al.* HAP-91[®] e COL. HAP-91[®] Casuísticas e Estudos Científicos. JHS Laboratório. 1^aed. 2004. p.10. Belo Horizonte - MG.
- BLOCK, M.J.; KENT, J.N. Canine mandibular response to surface-textured

- hydroxyapatite blocks. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, v.17, p.258, 1988.
- BOECK, E.M., PANSANI, C.A., OKAMOTO, T. *et al.* Implante de hidroxiapatita em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.28, n.01, p.83-96, 1999.
- BORGES, A.P.B.; RESENDE, C.M.F.; RIBEIRO, M.F.B. *et al.* Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia de cão: aspectos à microscopia de transmissão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.06, p.616-620, 2000.
- BRANDÃO, A.C., BRENTGANI, L.G., NOVAES JR, A.B. *et al.* Histomorfometric analisys of rat alveolar wound healing with hydroxyapatite alone or associated to BMPs. *Brazilian Dental Journal*, v.13, n.03, p.147-154, 2002.
- BRENDOLAN, A.P.; REZENDE, C. M. F.; MELO, E. G. *et al.* Aspectos clínicos e radiográficos do pericárdio bovino como substituto do ligamento cruzado cranial de cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária*, v.59, n.04, 2007.
- CATANZARO GUIMARÃES, S. A. Processo de reparo. In: *Patologia básica da cavidade bucal*. Rio de Janeiro, Editora: Guanabara Koogan, 1982.p.282-315.
- CARLO, E.C.; BORGES, A.P.B.; POMPERMAYER, L.G. *et al.* Compósitos para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. *Ciência Rural*, v.30, n.01, 2009.
- CARMO, J.H. Inovação e capitalismo monopolista: o caso do BioFill. Dissertação (Mestrado em Economia). 1993. Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR.
- CEHRELI, M.C., KESENCI,K., TUZLAKOGLU, K. *et al.* Biological Reactions to a Poly (L-lactide)-hydroxyapatitecomposite: A study in canine mandible. *Journal of biomaterial applications*, v.17, p.265-276, 2003.
- CONCARO, S.; AASE, B.; GATENHOLM, P. *et al.* Bacterial cellulose as a potential material for meniscal tissue engineering. *Osteoarthritis and Cartilage*, v.15, suppl.B, 2007.

- CORREIA, L. F.; ALVES, G. Auto e xenoenxertos na prática clínica implantológica. *Portugal Implantologia*, n.01, p.47-52, 2002.
- CZAJA, W., KRYSZYNOWICZ, A., BROWN JR, M. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. *Cellulose*, v.11, p.403-411, 2004.
- CZAJA, W., KRYSZYNOWICZ, A., BIELECKI, S., BROWN JR, M. Microbial cellulose – the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, v.27, p.145-151, 2006.
- CZAJA, W., YOUNG, D., KAWECKI, M. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. *Biomacromolecules*, v.08, n.01, 2007.
- DACULSI, G.; WEISS, P.; BOULER, J.M. et al. Biphasic calcium phosphate/hydrosoluble polymer composites: A new concept for bone and dental substitution biomaterials. *Bone*, v.25, n.02, p.59-61, 1999.
- DENISSEN, H.; MONTARANI, C.; MARTINETTI, R. et al. Alveolar bone responde to submerged biphosphonate-complexed hydroxyapatite implants. *J Periodontol*, v.71, p.279-286, 2000.
- DONATH, K. Reaction of tissue to calcium phosphate ceramics. In: HEIMKE, G. *Osseo-integrated implantes*. Boston: CRC Press, v.01, p.199, 1984.
- DUARTE, T.S. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães. 2003. 50f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.
- DUARTE, T.S.; BORGES, A.P.B.; LAVOR, M.S.L. et al. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar de mandíbula de cães: aspectos histológicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia.*, v.48, n.05, p.848-853, 2006.
- EANES, E.D. The influence of fluoride on the seeded growth of apatite from stable supersaturated solutions at pH 7.4 *Journal of Dental Research*, v.59, 144-150, 1980.
- EID, K., ZELICOF, S., PERONA B.P., SLEDGE, C.B. & GLOWACKI, J. Tissue reactions to particles of bone-substitute materials in intraosseus and heterotopic sites in rats: discrimination of osteoinduction, osteocompatibility, and inflammation. *Journal of Orthopaedic Research*,

n.19, p.962-969, 2001.

EL DEEB, M.; HOSNY, M.; SHARAWY, M. Osteogenesis in composite grafts of allogenic desmineralized bone powder and porous hydroxyapatite. *Journal. Oral Maxillofacial. Surgery*, v.47, n.01, p.50-56, 1989.

EMILY, P., SAN ROMÁN, F., TROBO, J.I. *et al.* Periodontia. Enfermidade Periodontal. In: SAN ROMÁN, F.S. *Atlas de odontologia de pequenos animais*. São Paulo, Editora: Manole, 1999. p.111-112.

FARAH, L.F. Process of the preparation of cellulose film, cellulose film produced thereby, artificial skin graft and it use. *US Patern*, n.04, 912, 1990.

FEHLBERG, A.F. Hidroxiapatita sintética na regeneração de falha óssea provocada em fratura completa de terço intermédio de tíbia imobilizada pela fixação percutânea de cães. 42f. 2001. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG.

FERNANDES, R.G., FAIG-LEITE, H., CARVALHO, Y.R. Estudo na reparação óssea na mandíbula de coelhos sob ação do alendronato sódico e da sua associação com a hidroxiapatita. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.33, n.03, p.123-130, 2004.

FÓFANO, G. Matriz óssea bovina mineralizada na reparação alveolar da mandíbula de cães e sua associação com membrana de colágeno. Estudo experimental. 64f. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

FONTANA, J.D.; SOUSA, A.M.; FONTANA, C.K. *et al.* Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.25, p.253-264, 1990.

FRAME, J.W.; BROWNE, R.M.; BRADY, C.L. Hydroxyapatite as a bone substitute in jaws. *Biomaterials*, v.02, p.19-22, 1981.

FUGAZZOTTO, P.A. GBR using bovine bone matrix and resorbable membranes. *Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, v.23, n.04, p.361-367, 2003.

FUJITA, R.; YOKAYAMA, A.; KAWASAKI, T. *et al.* Bone augmentation osteogenesis using hydroxyapatite and B-tricaucium phosphate blocks. *American Association of Oral and Maxilofacial Surgeons*. p.1046-1053, 2003.

- GORREL, C. Afecção inflamatória bucal e periodontal. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. São Paulo, Editora: Manole, 2007. p. 2652-2662.
- GUMAER, K.; SHERER, A.; SLIGTER, R. *et al.* Tissue response in dogs to dense hydroxyapatite implantation in the femur. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, v.44, n.08, p.618-627, 1986.
- HARVEY, C.E. Cavidade Oral. In: CHANDLER, E.A., GASKELL, C.J., GASKELL, R.M. *Clínica e terapêutica em felinos*. São Paulo, Editora: Roca, 2006. p.312-326.
- HELMUS & TWEDEN, K. Material selections. In: *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*, part A, v.01, p.27-59, 1995.
- HENCH, L.L. The challenge of orthopaedic materials. *Current orthopaedics*, v.14, p.7-15, 2000.
- HENCH, L. L. Biomateriais: Uma introdução. In: Oréfice, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p.479-505.
- IAMAGUTI, L.S., BRANDÃO, C.V.S. Uso de membrana biossintética a base de celulose na regeneração tecidual guiada. *Ciência Agrária*, v.28, n.04, p.701-708, 2007.
- JAHANGIRI, L. Currents perspectives in residual ridge remodeling and its clinical implications: a review. *Journal of Prosthetic Dentistry*, v.80, n.02, p.224-237, 1998.
- JANSEN, W.C.; GIOVANNINI, J.F.B.G.; NEVES, A.D. *et al.* Biomateriais em odontologia. In: Oréfice, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p. 455-478.
- JARCHO, M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications. *Dental Clinic of North America*, v.30, n.01, p.25-47, 1986.
- JENSEN, S.S.; AABOE, M.; PINHOLT, E.M. *et al.* Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Journal of Maxillofacial Implants*, v.11, p.407-412, 1996.
- KALFAS, I.H. Principles of bone healing. *Neurosurgery Focus*, v.10, n.04, p.1-4, 2001.
- LEGEROS, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium

- phosphates. *Clinic Orthopaedic & Related Research.*, n.395, p.81-98, 2002.
- LIMA, T.B.F. *et al.* Reparo de defeito ósseo provocado na região da furca dental em cães (*Canis familiaris*) com hidroxiapatita sintética. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, v.01, n.04, p.257-261, 2003.
- LINS, R.D.A.; PEQUENO, M.T.; MELO, J.P.L.C *et al.* Atividade ósteoreabsortiva na doença periodontal: O papel das citocinas e prostaglandinas. *Revista Brasileira de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial*, v.07, n.02, p.29-36, 2007.
- MACEDO, N.L., MATUDA, F.S., MACEDO, L.G.S. *et al.* Evaluation of two membranes in guided bone tissue regeneration: histological study in rabbits. *Brazilian Journal Oral Science*, v.03, n.08, p.395-400, 2003.
- MACNEILL, S.R.; COBB, C.M.; RAPPLEY, J.W. *et al.* In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. *Journal of Clinical Periodontology*, v.26, p. 239-245, 1999.
- MADEIRA, M.C. *Anatomia da face*. 5ª ed. São Paulo, Editora: Sarvier, 2004.
- MARTINEZ, M.M.M. Compósito de hidroxiapatita sintética e lignina como promotor de osteointegração entre implante metálico e tecido ósseo: estudo experimental. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). 67f. 2008. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.
- MARTINS, E.O.B., JANJACOMO, L.A., MILANEZI, L.A., MARTINS, F. Regeneração tecidual guiada, uma solução atual para o tratamento de lesões de furca grau II. *FOL/UNIMEP*, v.13, n.01, p. 17-25, 2001.
- MARQUES, J.A.; DALECK, C.R.; MARQUES, L.C. *et al.* Curativo biológico (BioFill) no tratamento de feridas cutâneas de papilas mamárias de vacas. *A Hora Veterinária*, v.11, n.61, p.39-42, 1991.
- MELLO, L.R.; FELTRIN, L.T.; FONTES NETO, P.T.L. ABREU, A.R. Duraplastia com celulose biossintética – estudo experimental. *Arquivo Brasileiro de Neurocirurgia*, v.15, p.14-21, 1996.
- MOREIRA, A.S.B.; PASTORELI, M.T.; DAMASCENO, L.H.F. *et al.* Estudo experimental da influência das dimensões dos grânulos de hidroxiapatita na integração óssea. *Acta Ortopédica Brasileira*, v.11, n.04,2003.

- MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite. *Biomaterials*, v.25, p.3929-3235, 2003.
- NETO, F.A.D.; PADILHA FILHO, J.G.; ORIA, A.P. et al. Artrodese do gato em gatos associada a hidroxiapatita. *Ciencia Rural*, v.34, n.03, p. 931-934, 2004.
- NIZA, M.M.R.E., MESTRINHO, L.A., VILELA, C.L. Gengivo-estomatite crônica felina – um desafio clínico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 551, p.127-135, 2004.
- NOVAES JUNIOR, A.B.; MORAES, N.H.; NOVAES, A.B. Uso do BioFill[®] como membrana biológica no tratamento de lesão de furca com e sem a utilização da hidroxiapatita porosa. *Revista Brasileira de Odontologia*, v.47, p.29-32, 1990.
- NOVAES JUNIOR, A.B.; NOVAES, A.B. Bone formation over a TiAl₆V₄ (IMZ) implant placed into an extraction socket in association with membrane therapy (Gengivex). *Clinical Oral Implant Research*, v.04, p. 106-110, 1993.
- NOVAES JUNIOR, A.B.; PAPALEXIOU, V.; LUCZYSZYN, S.M. et al. Immediate implant in extraction socket with acellular dermal matrix graft and bioactive glass: a case report. *Implant Dentistry*, v.11, n.04, p.343-348, 2002.
- OGUCHI, H.; ISHIKAWA, K.; MIZOUE, K. et al. Long-term evaluation of hydroxyapatite ceramics in humans. *Biomaterials*, v.16, n.1, p. 33-38, 1995.
- OLIVEIRA, R.C.S.; VALENTE, P.R.; ABOU-JAMRA, R.C. et al. Biosynthetic cellulose induces the formation of a neoduramater following pre-natal correction of meningomyocele in fetal sheep. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.22, n.03, 2007.
- OONISHI, H.; KUSHITANI, S.; YASUKAMA, E. et al. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clinic Orthopaedic & Related Research*, n.334, p.316-325, 1997.
- ORÉFICE, R.L. Compósitos – Ciência e aplicação como biomateriais. In:

- Oréfica, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p.157-172.
- PARIS, M.F. Reconstrução de osso alveolar, em área dentada, com uso de hidroxiapatita: Estudo experimental em ratos *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar. Dissertação (Mestrado em Odontologia). 121f. 2002. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG.
- PAUL, W.; SHARMA, C. Ceramic drug delivery: A perspective. *Journal of biomaterials applications*, v.17, p.253-264, 2003.
- PEREIRA, M.M., VASCONCELOS, W.L., ZAVAGLIA, C.A.C. Materiais cerâmicos – Ciência e aplicação em biomateriais. In: Oréfica, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p. 60-81.
- PERMAN, V.; ALSAKER, R.D.; RIIS, R.C. Cytology of the dog and cat. *American Hospital Association*, p.5-7, 1979.
- PÉRTILE, R.A.N.; SIQUEIRA, J.M.; RAMBO, C.R. *et al.* Interação de culturas celulares com suportes biopoliméricos para aplicações biomédicas. *Exacta*, vol.05, n.02, p.342-352, 2007.
- PINKOWSKI, J.L.; RODRIGO, J.J.; SHARKEY, N.A. *et al.* Immune response to nonspecific and altered tissue antigens in soft tissue allografts. *Clinic Orthopaedic & Related Research*, n.326, p.80-85, 1996. .
- PIPPI, N.L.; SAMPAIO, A. J. S. A. Estudos preliminares sobre o comportamento do BioFill na ceroplastia lamelar em coelhos. *Ciências Rurais*, v.20, p.297-302, 1990.
- POLLICK, S.; SHORTS, E.C.; HOLMES, R.E. *et al.* Bone formation and implant degradation of coralline porous ceramics placed in bone and ectopic sites. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, v.53, p.915-922, 1995.
- RASKIN, R.E. Classificação geral das alterações citológicas. In: RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. *Atlas de citologia de cães e gatos*. São Paulo, Editora: Roca, 2003, p. 17-21.
- RESENDE, C.M.F. Teste in vivo de biomateriais e histotecnica. In: Oréfica, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p.299-313.
- RESENDE, V.L.S. Verificação do comportamento do osso alveolar implantado com hidroxiapatita através de exames clínicos, radiográficos e

- histológicos. Estudo feito em cão. Dissertação (Mestrado em Odontologia). 85f. 1991. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG.
- RIBEIRO JUNIOR, G. Cirurgia de enxerto inlay em rebordo alveolar atrófico na maxila, usando hidroxiapatita absorvível HAP-91, como preparação para colocação de implantes. In: BICALHO, S.M.C.M.; BORGES, A.P.B.; REZENDE, C.F. *et al.* HAP-91[®] e COL.HAP-91[®] *Casuísticas e Estudos Científicos*. Belo Horizonte. JHS Laboratório. 1^aed. 2004. p.171-180.
- ROUSH, J.K. Biomateriais e implantes cirúrgicos. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. São Paulo, Editora: Manole, 3^a ed., v. 01. 2007. p. 141-155.
- SALEH, J.; WILLKE, L.W. Bassani, I.A. *et al.* Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo. XVI Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. Porto Alegre, 2004.
- SANTOS JUNIOR, P.V.; MELHADO, R. M. Implante de “Proplast” em alvéolo dental após exodontia por alveolectomia total. Estudo histológico em ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.21, p.147-159, 1992.
- SCHMID, J.; HAMMERLE, C.H.; OLAH, A.J. *et al.* Membrane permeability is unnecessary for guided generation of new bone: an experimental study in rabbit. *Clinical Oral Implants Research*, v.05, p.125-130, 1994.
- SIMONPIETRI, J.; NOVAES Jr., A.B.; BATISTA Jr.; E. *et al.* Guided tissue regeneration associated with bovine-derived anorganic boné in mandibular class II furcation defects. 6-month results at re-entry. *Journal Periodontol.*, v.71, n.06, p.904-911, 2000.
- SOARES, G.A. Biomateriais. Fórum de biotecnologia de biomateriais. *Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia*, 2005. p. 01-46.
- STAFNE, E.C. *Diagnóstico radiográfico bucal*. 4^a ed. Rio de Janeiro, Editora: Interamericanas, 1982.
- SVENSSON, A.; NICKLASSON, E.; HARRAH, T. *et al.* Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, v.26, p.419-431, 2005.
- TABUCHI, M. Nanobiotech versus synthetic nanotech? *Nature*

biotechnology, v.25, n.04, 2007.

TILLEY, L.P., SMITH, F.W.K. Lesões reabsortivas odontoclásticas – gatos. In: *Consulta veterinária em cinco minutos*. 2ª ed. São Paulo, Editora: Manole, 2003. p. 132-133.

VASCONCELOS, A.C. Processo inflamatório relacionado com a presença de biomateriais. In: Oréfice, R.L.; Pereira M.M.; Mansur, H.S. *Biomateriais Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro, Editora: Cultura Médica, 2006. p. 267-282.

VERSTRAETE, F.J.M. Patologia bucal. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. São Paulo, Editora: Manole, p.2638-2650, 2007.

VITAL, C.C. Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos. 46 f. 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

WAN, Y.Z.; HUANG, Y.; YUAN, C.D. *et al.* Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. *Material Science and Engineering*, v.27, p.855-864, 2007.

WANG, J.S.; GOODMAN, S.; ASPENBERG, P. Bone formation in the presence of phagocytosable hydroxyapatite particles. *Clinic Orthopaedic & Related Research*, n.304, p. 272-279, 1994.

WEISS, P.; LAYROLLE, P.; CLERGEAU, L.P. *et al.* The safety and efficacy of an injectable bone substitute in dental sockets demonstrates in human clinical trial. *Biomaterials*, v.28, p.3295-3305, 2007.

WOUK, A.F.P.F.; SOUZA, A.E. O efeito de diferentes agentes sobre a cicatrização de feridas cutâneas por segunda intenção no cavalo: estudo bacteriológico, histológico, histoquímico e morfométrico. *Archives of Veterinary Science*, v.01, n.01, p.6-7, 1996.

WOUK, A.F.P.F.; DINIZ, J.M.; CÍRIO, S.M. *et al.* Membrana biológica (BioFill) – Estudo comparativo com outros agents promotores da cicatrização da pele em suínos: Aspectos clínicos, histopatológicos e morfométricos. *Archives of Veterinary Science*, v.03, n.01, p.31-37, 1998.

YUAN, H.; KURASHINA, K.; BRUIJN, J.D. *et al.* A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. *Biomaterials*,

v.20, n.19, p.1799-1806, 1999.

ZENÓBIO, E.G.; MARCANTONIO, R.A.C.; MARCANTONIO JÚNIOR, E.
et al. Avaliação do comportamento biológico de dois materiais sintéticos, à
base de fosfato de cálcio (Bioapatita[®] e Osteogen[®]) após a implantação em
alvéolos de cães. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.27, p.73-85, 1998.

ANEXO 1

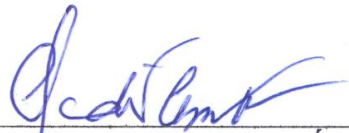
CERTIFICADO

A Comissão de Ética do DVT / UFV certifica que o processo n.º 10 / 2008, intitulado “**Implante de hidroxiapatita em alvéolo dental após exodontia em felinos: estudo clínico, radiológico, histológico e histomorfométrico**” está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em reunião de 20 / 05 /2008.

CERTIFICATE

The Ethic Committee of DVT / UFV certify that the process number 10/ 2008, named “**Implantation of hydroxyapatite in feline (*Felis catus*) dental sockets: clinic, radiographic, histologic and histomorphometric studies**” is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Departmental Commission on May 20, 2008 approved this process.

Viçosa, 20 de maio de 2008



Presidente da Comissão de Ética
Depto. de Veterinária / UFV