

INDUTIVO DO CIMENTO DE FOSFATO DE  
CLINICA E HISTOLOGICA EM ALVEOLOS  
EM HUMANOS



B0122539

7.69 C898e 2005 ex 1

# CONSULTA

[The main body of the document is almost entirely obscured by a dark, high-contrast scan artifact, rendering the text illegible.]

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

VÂNIA BARBOSA COUTINHO

**EFEITO OSSEOCONDUTIVO DO CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO:  
ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA EM ALVÉOLOS PÓS EXODONTIA EM  
HUMANOS**

SÃO PAULO

2005

VÂNIA BARBOSA COUTINHO

**EFEITO OSSEOCONDUTIVO DO CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO:  
ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA EM ALVÉOLOS PÓS EXODONTIA EM  
HUMANOS**

Dissertação apresentada à Universidade de Santo Amaro, para obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de concentração em Implantodontia, sob a orientação do Prof. Dr. Waldyr Romão Junior.

SÃO PAULO

2005

tipo de obra.....  
Nota Fiscal.....  
Data rec. 23/12/05.....  
Preço.....  
Origem UNISA Fac.  
de Odontologia.....

**Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca Dr. Milton Soldani Afonso – Campus I**

C898e Coutinho, Vânia Barbosa  
Efeito osseocondutivo do cimento de fosfato de cálcio: análise clínica e histológica em alvéolos pós-exodontia em humanos / Vânia Barbosa Coutinho. Orientação do Prof. Dr. Waldyr Romão Junior. -- São Paulo: 2005.  
123 p.

Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em Implantodontia. Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro.

1. Cimento de Fosfato de Cálcio 2. Implantes Osseointegrados 3. Alvéolos Dentários I. Título

VÂNIA BARBOSA COUTINHO

EFEITO OSSEOCONDUTIVO DO CIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO: ANÁLISE  
CLÍNICA E HISTOLÓGICA EM ALVÉOLOS PÓS-EXODONTIA EM HUMANOS

Dissertação apresentada à Universidade de Santo Amaro, para  
obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação  
em Odontologia. Área de concentração em Implantodontia, sob  
a orientação do Prof. Dr. Waldyr Romão Junior.

APROVADA EM   /  /  

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Waldyr Romão Junior  
Doutor em Materiais Dentários- Faculdade de Odontologia- USP



---

Profa. Dra. Manoela Domingues Martins  
Doutora em Patologia Bucal pela Universidade de São Paulo – USP



---

Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk  
Livre Docente em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da UNICAMP

Média Final de Aprovação: \_\_\_\_\_

Menção: \_\_\_\_\_

**A DEUS**, que tem concedido todos os desejos do meu coração e mesmo que assim não fosse... A certeza que sua graça me basta!

**Ao meu marido ALBERTO**, pela compreensão, cumplicidade e a ajuda indispensável que torna possível o "sonhar juntos".

**Ao meu filho BRENNO**, seu sorriso tem o poder de colorir o cinza e tornar ínfima a dor. Sem dúvida... É muito mais do que eu sonhava!

## AGRADECIMENTOS

Agradecimentos sinceros ao Prof. Dr. Waldyr Romão, orientador deste trabalho por sua dedicação e apoio que tornaram possível a sua realização;

Ao Prof. Dr. Luís Alberto Santos e sua esposa Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Vânia, por me permitir testar o Cimento de Fosfato de Cálcio e pelo suporte nesta área;

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk, que tem sido fonte inspiradora para minha carreira. E pela oportunidade ímpar de poder participar de um curso de mestrado junto de um grupo tão seleta de profissionais;

Ao Prof. Dr. Alfredo Gromatzky, por sua dedicação incontestável à profissão e à pesquisa.

Aos pacientes da pesquisa, sem os quais seria impossível a realização do trabalho;

Ao Laboratório de Histologia da UNISA por ceder todo material necessário para confecção das lâminas histológicas;

A técnica em Histologia Kay Adirr Áquila pelo preparo das lâminas e por sua disponibilidade em servir;

Ao Mestrando Marcio Antônio de Faria, professor assistente da disciplina de Histologia e a Profa. Dra. Cristiane Miranda França por contribuírem com as análises histológicas em duplo cego nesta pesquisa;

Ao Professor Casemiro Fernando Soares pela elaboração da análise estatística;

A Dra Dânia Emi Hamassaki e a doutoranda Mara Rúbia Marques por tornar possível a visualização das lâminas por meio de fotomicrografias no Departamento de Biologia Celular e Tecidual da USP;

Aos amigos Ladmilson Galdino Neves e Ramayanna Cunha Galdino pela impressão desta dissertação;

À Biblioteca da UNISA, em especial, à Luciana Cristina Costa Marangoni, pelo tempo despendido na correção e formatação dessa tese;

À UNISA pela oportunidade oferecida para a realização dessa pesquisa;

À secretária Juliana Selma Oliveira por sua amizade e ajuda sempre disponível;

As assistentes do consultório Andréia Conceição Santos e Luciana Bastos de Sena, a amizade tornou este trabalho um pouco mais fácil de ser realizado;

A todos os professores do curso que contribuíram para intensificação do espírito científico, crítico e criativo;

Aos amigos de turma e em especial a amiga Donata de Sousa Soares pelo carinho e companheirismo;

Aos meus pastores José Gilberto Braud Sanches e Ana Kátia Dota Sanches por suas orações e cobertura espiritual;

Aos meus pais, Vamberto e Mariza, por ser meus primeiros exemplos de luta e sucesso;

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste feito.

*“ Mas, como está escrito: As coisas que o olho não viu,  
e o ouvido não ouviu, e não subiram ao coração do homem  
são as que Deus preparou para os que o amam.”*

*1 Coríntios 2:9*

## RESUMO

A excelência estética dos implantes osseointegrados, instalados *tardia* ou imediatamente é um dos objetivos cultuados pelos implantodontistas e almejados pelos leigos. Para alcançar tal fim, faz-se necessário entre outros, de suporte ósseo. Suporte este, que pode ser perdido por trauma, processos tumorais ou infecciosos, e em magnitude preocupante, durante a reabsorção fisiológica pós-exodontias. Com o pressuposto e motivados pelos bons resultados demonstrados em estudo prévio, o objetivo desta pesquisa foi investigar clínica e histologicamente o efeito osseocondutivo do cimento de fosfato de cálcio (CFC), à base de  $\alpha$ -fosfato tricálcico e sulfato de cálcio em 24 alvéolos pós-exodontias em humanos após um período de dezesseis semanas. Os resultados histológicos não demonstraram osteoclastos nos locais enxertados com o CFC. Osteoblastos estiveram presentes de forma discreta, o que explica a escassa atividade osteogênica nestes locais em relação aos alvéolos controles. O cimento esteve envolto por tecido conjuntivo fibroso em grande parte das amostras. Reações clínicas adversas estiveram associadas ao pós-operatório imediato e tardio com os alvéolos testes, destas, de maior relevância citam-se: edema, deiscência de sutura e exposição do enxerto ao meio bucal. Macroscopicamente, após o período cicatricial proposto, alguns espécimes apresentavam a forma original do alvéolo e outras, aparência fragmentada, contudo a maioria dos espécimes apresentou-se envoltos por cápsula fibrosa, levando a crer que alterações locais ou processos físico-químicos indesejáveis durante a presa tiveram efeitos deletérios sobre as propriedades do cimento testado. Assim, baseado nas condições

experimentais utilizadas neste estudo,o CFC testado não apresentou as propriedades de osseocondutividade, sendo contudo, biocompatível.

**Palavras chaves:** Cimento de Fosfato de Cálcio, implantes osseointegrados, alvéolos dentários.

## ABSTRACT

Esthetic excellence of osseointegrated dental implants, be they late or early loaded, is the objective of implantodontists as well as of laymen. In addition to other aspects, maintenance of bone support is needed to meet with this success. Loss of bone support may be a consequence of trauma, infectious or neoplastic conditions and may be too extensive after physiologic resorption post tooth extractions. Based upon encouraging earlier work, this study clinically and histologically evaluated the osteoconductive effect of calcium phosphate cement (CPC), containing tricalcium  $\alpha$ -phosphate and calcium sulphate, when used on 24 human sockets sixteen weeks after tooth extractions. Histological evaluation did not disclose osteoclasts in sockets treated with CPC. Presence of osteoblasts was discreet, indicating low osteogenic activity when compared to the control sites. The cement was surrounded by fibrous connective tissue in the majority of specimens. The most relevant adverse clinical reactions in the tested sockets, observed in early and late post-operative periods, were: edema, suture dehiscence and exposure of the graft to the oral environment. From the macroscopic point of view, after the reparative period determined by researchers, some specimens showed the original shape of the socket and others had a fragmented appearance while the majority was surrounded by a fibrous capsule. These findings led to the conclusion that local changes or adverse physical - chemical processes during placement of the cement may have been deleterious. Finally, based upon these experimental conditions, the CPC in question did not exhibit osteoconductive properties but it has proven to be biocompatible.

**Key words:** Calcium phosphate cement; osseointegrated dental implants ; sockets; humans.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas cirúrgicas .....	74
Figura 2 – Mensuração Espécime.....	77
Figura 3 - Espécime fixada em Boin.....	77
Figura 4 - Exposição clínica do CFC .....	81
Figura 5 - Radiografia panorâmica após quatro meses do enxerto com CFC. Destaque aos alvéolos teste e controle.....	82
Figura 6 - CFC visível no corte 42 da tomografia computadorizada.....	82
Figura 7 - Mensurações após reabertura e previamente à instalação do implante.....	84
Figura 8 - Aspectos macroscópicos alvéolos teste.....	89
Figura 9 - Amostra CFC.....	94
Figura 10 - CFC, tecido conjuntivo fibroso e osso.....	94
Figura 11 - CFC em contato com osso.....	95
Figura 12 - CFC envolto por tecido conjuntivo.....	95
Figura 13 - CFC e tecido conjuntivo fibroso.....	96
Figura 14 - Histológico alvéolo controle.....	96

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Gráfico de normalidade entre as primeiras e segundas cirurgias (alvéolos testes -CFC).....	86
Gráfico 2 - Gráfico de normalidade entre as primeiras e segundas cirurgias (alvéolos controle-coágulo).....	87
Gráfico 3 - Histológico percentual dos escores encontrados para cada parâmetro analisado (CFC).....	92
Gráfico 4 - Histológico percentual dos escores encontrados para cada parâmetro analisado (coágulo).....	93

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Distribuição dos dentes com necessidade de exodontia de acordo com cada paciente.....	71
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Demonstrativo dos resultados clínicos do pós-operatório imediato ao quarto mês dos alvéolos testes enxertados com CFC.....	80
Tabela 2 - Medidas tomadas durante a primeira e segunda Cirurgia dos alvéolos controles.....	83
Tabela 3 - Medidas tomadas durante a primeira e segunda cirurgia dos alvéolos teste.....	84
Tabela 4 - Teste-t: duas amostras em par para médias.....	85
Tabela 5 - Teste-t: duas amostras em par para médias.....	86
Tabela 6 - Escores utilizados na quantificação dos parâmetros analisados para verificação do reparo ósseo em 18 semanas (atividade de osteoblastos e osteoclastos, fibrose, presença de osso imaturo e presença de osso lamelar).....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b><math>\alpha, \beta</math> -TCP</b>	$\alpha, \beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; alfa, beta fosfato tricálcico
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	micrometro
<b>BMP</b>	proteína óssea morfogenética
<b>CC</b>	$\text{CaCO}_3$ ; carbonato de cálcio
<b>CHA</b>	Cimento de hidroxiapatita
<b>CDHA</b>	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ ; hidroxiapatita deficiente em cálcio
<b>CFC</b>	Cimento de Fosfato de Cálcio
<b>CSD</b>	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; sulfato de cálcio diidratado; gesso
<b>CSH</b>	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ ; sulfato de cálcio hemihidratado
<b>DCPA</b>	$\text{CaHPO}_4$ ; hidrogenofosfato de cálcio anidro; fosfato dicálcico anidro; monetita
<b>DCPD</b>	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; hidrogenofosfato de cálcio diidratado; fosfato dicálcico diidratado; brushita
<b>DFDB</b>	osso desmineralizado congelado seco (liofilizado)
<b>DFDBA</b>	Aloenxerto ósseo desmineralizado e desidratado
<b>HA</b>	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; hidroxiapatita
<b>HCA</b>	hidroxicarbonoapatita
<b>MCPM</b>	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; dihidrogeno fosfato de cálcio monoidratado; fosfato monocálcico monoidratado
<b>mm</b>	milímetro
<b>pH</b>	potencial hidrogeniônico

<b>PMMA</b>	Polimetilmetacrilato
<b>rhTGF-β1</b>	Fator de crescimento tumoral recombinante humano beta 1
<b>TCP</b>	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; fosfato tricálcico
<b>TTCP</b>	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ; fosfato tetracálcico

## SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISTA DA LITERATURA.....	21
2.1 Processo de Reparo Alveolar.....	21
2.2 Generalidades sobre os Biomateriais.....	27
2.3 Biomateriais Sintéticos.....	30
2.4 Cimento de Fosfato de Cálcio.....	32
2.5 Ação do Cimento Fosfato de Cálcio sobre os Tecidos Biológicos.....	37
3 PROPOSIÇÃO.....	66
4 MATERIAL E MÉTODO.....	67
4.1 Material.....	67
4.1.1 Material Permanente.....	67
4.1.2 Material de Consumo.....	67
4.2 Atendimento aos Princípios da Bioética.....	68
4.3 Seleção dos Pacientes.....	69
4.3.1 Critérios de inclusão.....	69
4.3.2 Critérios de exclusão.....	70
4.3.3 Delineamento do estudo.....	70
4.4 Biomaterial sintético.....	71
4.5 Procedimento Pré-Cirúrgico.....	72
4.6 Procedimento Cirúrgico.....	72
4.7 Registros Clínicos.....	75

4.8 Avaliações Macroscópicas.....	76
4.9 Biópsia.....	77
4.10 Histologia.....	78
4.11 Método Estatístico.....	79
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>80</b>
5.1 Acompanhamento Clínico.....	80
5.2 Avaliação Radiográfica.....	81
5.3 Avaliação Macroscópica.....	83
5.3.1 Mensurações Clínicas Alveolares .....	83
5.3.2 Análise estatística.....	85
5.3.3 Descrição Macroscópica dos Espécimes.....	88
5.3.4 Análise Histológica.....	90
5.3.5 Análise do Reparo Ósseo Alveolar.....	91
5.3.6 Análise Histológica.....	94
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>97</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>115</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>121</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em relação às décadas passadas a incidência de perdas dentárias e edentulismo apresentaram considerável declínio, entretanto a maior frequência de procedimentos cirúrgicos em Odontologia ainda é representado por exodontias. Após a perda dentária, o osso do processo alveolar está sujeito a um processo de reabsorção contínua, pronunciado de forma significativa nas fases que ocorreram posteriormente à remoção do dente. Kan e Rungcharassaeng (2001), inferem que 23% da reabsorção alveolar ocorre nos primeiros seis meses.

A resultante da atrofia óssea alveolar é a deformidade antiestética, insuficiente volume ósseo para acomodação confortável de próteses e mesmo frustrações no planejamento referente a posição funcional e estética ideal de implantes dentários. Frente a esta questão, nas últimas décadas, alguns procedimentos estão se desenvolvendo para preservar e restaurar as dimensões do rebordo alveolar como: regeneração tecidual guiada e/ou procedimentos de enxertos ósseos.

Dentre os materiais biológicos de escolha para reconstruções ósseas, temos os enxertos autógenos. Estes apresentam, porém a desvantagem de morbidade do local doador, limitação em quantidade para grandes defeitos, reabsorção e dificuldade em se obter contorno preciso (KURASHINA et al., 1998). Segundo Clockie et al. (2002), osso alógeno é mais comumente utilizado como alternativa para enxerto autógeno; contudo estes bioimplantes oferecem risco potencial de transmissão de doença, potencial de rejeição e reabsorção.

Diante de tais limitações, houve o estímulo pela procura de materiais sintéticos para procedimentos de enxertia. Dentre estes, podemos ressaltar o uso dos enxertos aloplásticos como as cerâmicas bioativas que são a maior família de substitutos ósseos, dentre as quais a mais difundida é a Hidroxiapatita (HA), esta possui propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osseocondutividade. A HA apresenta, contudo, limitações quanto ao seu uso nas apresentações em blocos ou grânulos, como dificuldade de moldagem, estabilização do material no leito cirúrgico e baixa resistência mecânica. Estas desvantagens estariam ausentes se um material obtivesse composição similar às das cerâmicas de fosfato de cálcio, e, portanto, exibissem propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osseocondutividade que, fossem moldáveis na forma e dimensões do defeito que se pretendesse corrigir. Estas possibilidades, e outras de interesse são encontradas em um tipo de cimento a base de hidroxiapatita recém desenvolvido; o Cimento de Fosfato de Cálcio (CFC).

O CFC tem sido exaustivamente estudado em modelos *in vitro* (CHOW; MARKOVIC; TAKAGI, 2003; KNABE et al., 2000; ROSSA JUNIOR et al., 2005), modelos animais (FUJIKAWA et al., 1995; KUEMMERLE et al., 2005; SORESEN et al., 2004) e em humanos (BROWN et al., 1998; GOMEZ et al., 2005; MAZOR et al., 2000; STANTON; CHOU; CARRASCO, 2004, WILTFANG et al., 2004, COUTINHO, 2004). O seu uso, outrora restringido a Ortopedia, estendeu-se para odontologia, cirurgias plásticas e bucomaxilofacial. Recentemente estudos sinalizam seu uso como coadjuvantes ao tratamento com implantes imediatos (BOIX et al., 2004; LEW et al., 2000; OOMS et al., 2002); reconstrução de rebordo alveolar para ganho em altura em mandíbula associado a

implantes (SUGAWARA et al., 2002) e como material de enxerto em seio maxilar e imediata instalação das fixações osseointegradas (MAZOR et al., 2000).

Ao considerarmos, portanto que o alvéolo dental é uma cavidade ideal para se avaliar o reparo ósseo (BECKER; BECKER; CAFESSE, 1994) e da iminente necessidade da preservação do contorno alveolar, principalmente nos primeiros meses, propusemo-nos a investigar o efeito osseocondutivo do CFC à base do  $\alpha$ -fosfato tricálcico com modificações introduzidas na composição do cimento por meio da adição de sulfato de cálcio em alvéolos pós-exodontias em humanos, após um período de quatro meses.

## 2 REVISTA DA LITERATURA

### 2.1 Processo de Reparo Alveolar

Clafin (1936), estudando o processo reparativo dos alvéolos de extração em cães, descreveu histologicamente as etapas de cicatrização destes em diferentes intervalos de tempo, num período de trinta e um dias. Sob microscopia de luz, o autor observou o preenchimento completo do alvéolo pelo coágulo sanguíneo no primeiro dia, tendo a superfície coberta por uma rede de fibrina. Ao terceiro dia, o epitélio iniciou sua proliferação sobre o coágulo. Na crista óssea foram encontrados osteoclastos; ocorreu a migração de fibroblastos das paredes do alvéolo para o centro dos mesmos. No quarto dia, observou-se o aumento do número de fibroblastos e continuação da proliferação do epitélio, diminuindo, assim, a abertura do alvéolo. Já no quinto dia, observou-se contração do coágulo e acentuada invasão de fibroblastos jovens, com novo osso sendo visto rodeado por osteoblastos. No sétimo dia, o epitélio cobriu completamente a abertura do alvéolo. No décimo primeiro dia, o epitélio apresentou maior espessura; novo osso foi encontrado a partir das paredes, indo em direção ao centro do alvéolo. Uma depressão vista no epitélio denotou a contração do coágulo. No décimo nono dia, o coágulo ainda estava presente na porção central do alvéolo que se encontrou preenchido por tecido ósseo até a altura da crista. No vigésimo segundo dia, o novo osso apresentou ainda restos do coágulo

sanguíneo e na crista alveolar ocorreu atividade osteoclástica. Os alvéolos estiveram bem preenchidos ao vigésimo oitavo dia por novo osso; contudo, mesmo não havendo evidências do coágulo original, o seu contorno mostrou-se visível. No trigésimo primeiro dia, os alvéolos completamente preenchidos por novo osso e ainda existiam osteoblastos abaixo da persistente antiga lâmina cribiforme, o que denotou um início de atividade de remodelação óssea. O autor incluiu no estudo um espécime humano, obtido por necropsia. A exodontia foi realizada seis semanas antes do falecimento do paciente por pneumonia. O autor observou os mesmos fenômenos reparativos descritos acima, notando porém, que a ferida em humanos restaurou-se mais lentamente.

Nos intervalos de tempo de quatro, seis, oito, dez, doze e dezesseis semanas, Evian et al. (1982), analisaram a reparação da parte central do osso alveolar humano. Em um período entre quatro a oito semanas, os resultados revelaram que a proliferação celular e dos elementos do tecido conjuntivo ocorreram dentro do alvéolo. Ilhas de osso neoformado com camada osteóide, envolvidos por osteoblastos, estiveram presentes dentro do tecido conjuntivo. Neste período, o autor identificou progressiva formação osteogênica imatura com proliferação celular. Entre oito a doze semanas, houve uma quantidade substancial de osso maduro, que conteve osteoblastos e camada osteóide. Pela décima segunda a décima sexta semana, o trabeculado ósseo mostrou-se maduro com pouca matriz osteóide e osteoblastos.

Amler (1981, 1993) em suas publicações, relatou estudos sobre a influência da idade na reparação do alvéolo em dois grupos de pacientes, um com indivíduos menores de vinte anos e outro com indivíduos maiores de cinquenta anos. Nos dois grupos a reparação ocorreu de maneira semelhante até o décimo dia. No grupo dos mais jovens, o processo

restaurador continuou com progressivo aumento de formação osteóide. No grupo dos indivíduos mais velhos houve uma fase de repouso, retomando os processos cicatriciais de maneira acelerada no vigésimo dia. As reparações se igualaram para os dois grupos somente na fase de maturação óssea, a partir do quadragésimo dia.

Ohta (1993) relata que o reparo do alvéolo dentário é caracterizado por quatro fases, a saber:

#### a) Fase Angiogênica Inicial

Desenvolve-se na primeira semana que segue a exodontia, quando a partir das terminações dilaceradas dos vasos sanguíneos, forma-se o coágulo. Após quarenta e oito a setenta e duas horas, ocorre a contração do coágulo e o início da formação do tecido de granulação, com grande proliferação de vasos sanguíneos e fibroblastos imaturos, a partir da porção apical do alvéolo. Ocorre também, a proliferação epitelial para a margem da ferida com noventa e seis horas.

#### b) Fase de Neoformação Óssea

Nota-se o inteiro preenchimento do alvéolo por tecido de granulação entre a segunda e terceira semana, assim como a presença de tecido conjuntivo jovem e a formação de tecido osteóide a partir do fundo do alvéolo. Neste ínterim, o osso cortical da crista do rebordo continua a reabsorver, especialmente na região inter-septal e na lâmina cortical vestibular mais delgada.

### c) Fase de Crescimento Ósseo

Inicia-se na quarta semana após a exodontia, com a mineralização do tecido osteóide e neoformação óssea a partir das paredes do alvéolo e da região apical, em direção mais central. Neste estágio está praticamente completada a cobertura epitelial sobre a ferida.

### d) Fase de Reorganização do Osso

Inicia seis semanas após a exodontia, com as trabéculas primárias do osso remodelando-se para formar uma camada esponjosa mais espessa. A lâmina cortical ao redor do alvéolo não é totalmente reabsorvida, portanto, a fase de remodelação continua de quatro a seis meses após a exodontia.

Lin; Mculloch e Cho (1994) investigaram por meio de microscopia eletrônica a diferenciação do ligamento periodontal durante a cicatrização do alvéolo após extração do primeiro molar superior em vinte ratos. Os resultados indicaram que os fibroblastos do ligamento periodontal após a extração proliferaram ativamente, migraram para dentro do coágulo, formaram tecido conjuntivo e diferenciaram-se em osteoblastos formando novo osso durante a cicatrização alveolar.

Adicionalmente Sendyk (2002), sobre o processo de cicatrização alveolar, acrescentou que na extensão longitudinal de um alvéolo vazio espera-se a neoformação até 50% em sua parte apical, aliada à reabsorção óssea dos 50% restantes nas paredes vestibulares e palatinas da porção coronária, onde há proporção maior de osso cortical.

Salienta-se que estes dados são estritamente dependentes da quantidade de osso cortical e medular das paredes remanescentes do alvéolo.

Em revisão de literatura, Sodek e Mckee (2000) reiteraram que o osso alveolar tem função especializada no suporte dos dentes e que a atividade celular que envolve a formação e remodelação deste osso são comuns a outros tecidos ósseos.

Conforme Junqueira e Carneiro (1998), o tecido ósseo é formado por células e por um material intercelular calcificado chamado matriz óssea. Dentre os componentes celulares desta matriz, encontram-se osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. A fração orgânica deste tecido, responsável por sua elasticidade, corresponde a 25%, enquanto a fração inorgânica mineral corresponde a 75% que é formada por cristais de hidroxiapatita.

Os osteoblastos são células cubóides, ou ligeiramente alongadas, de origem mesenquimal sendo responsáveis pela matriz orgânica do osso (SODEK; MCKEE, 2000). Esta é constituída de proteínas (principalmente colágeno tipo I) e proteoglicanas quimicamente adequadas à futura calcificação. Nas células osteoblásticas mais ativas, o núcleo mostra proeminente nucléolo (sugerindo intensa síntese protéica). Os osteoblastos dispõem-se em fileiras ao longo da trabécula óssea preexistente e adicionam matriz nova. O osso neoformado é mais celular que o preexistente, pela maior quantidade de osteoblastos em relação à da matriz.

O osso novo é também chamado osso não lamelar. Desta forma, acrescenta-se que a matriz óssea adjacente aos osteoblastos ativos, e que não estão ainda calcificados, recebe o nome de “tecido osteóide”, “pré-osso” ou “osso imaturo”. À medida que vão sintetizando as proteínas, os osteoblastos ficam envoltos por elas e terminam por ocupar pequenas cavidades no interior da trabécula. A partir deste ponto, passam a chamar-se

osteócitos. São notados por pequenos núcleos de cromatina muito condensada. A deposição das fibras colágenas da matriz óssea se dá de forma lenta, e ao longo de linhas de tensão, criando a estrutura lamelar do osso esponjoso (também presente no osso cortical ou compacto). A presença de lamelas indica osso maduro.

Os osteoclastos são células grandes, multinucleadas responsáveis pelo processo de remodelação do tecido. Sua ação faz contraponto com a dos osteoblastos, permitindo a moldagem das novas trabéculas segundo as linhas de força.

Histologicamente há dois tipos de tecido ósseo: o imaturo ou primário; e o maduro, secundário ou lamelar. Os dois tipos possuem as mesmas células e os mesmos constituintes da matriz. O osso imaturo, neoformado é um tecido ósseo altamente celular que é estruturado rapidamente (30-50  $\mu\text{m}/\text{dia}$  ou mais) em resposta a crescimento ou injúria. Comparado ao osso maduro, tem conteúdo mineral relativamente baixo; as fibras colágenas se dispõem irregularmente, sem orientação definida. Segundo Roberts e Garetto (2000) e Roberts et al. (1987) este tipo ósseo tem um papel importante nos estágios iniciais da cicatrização de implantes endósseos, pois sob ótimas circunstâncias é rapidamente substituído por osso maduro. Por ser mais maleável que o osso lamelar maduro, tolera mais os micromovimentos relativos associados à cicatrização da interface osso/implante. Apesar de ser capaz de estabilizar um implante sem carga, não tem força para resistir às cargas funcionais.

O osso lamelar é o principal tecido de suporte de carga do esqueleto adulto, sendo o componente predominante do osso cortical e trabecular. Apresenta uma matriz altamente organizada e densamente mineralizada. Sua principal característica é possuir fibras colágenas organizadas em lamelas de 3 a 7  $\mu\text{m}$  de espessura, que ficam

paralelas umas as outras, ou se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais com vasos formando o sistema de Havers.

## 2.2 Generalidades sobre os Biomateriais

Delloye; Cnockaert e Cornu (2003) acrescentaram que o objetivo do uso dos biomateriais como enxertos ósseos ou substitutos ósseos é iniciar a resposta de cicatrização a qual produzirá novo osso como produto final na área onde o novo osso é requisitado.

Conforme Moore; Graves e Bain (2001), um material de enxerto ideal deve exibir características de osseointegração (permite ligação química com a superfície do osso sem intervenção de uma camada de tecido fibroso); Osseocondução (suportar crescimento ósseo sobre a sua superfície); Osseoindução (induzir diferenciação de células tronco pluripotentes do tecido circundante em osteoblastos); Osteogênese (formação de novo osso por células osteoblásticas presentes dentro do material enxertado). Acrescentam ainda, que os enxertos ósseos sintéticos possuem apenas duas das quatro características (osseointegração e osseocondução). Idealmente o enxerto ósseo sintético deve ser biocompatível, mostrando mínima reação fibrosa, sofrer remodelação, suportar neoformação óssea, e do ponto de vista mecânico, devem ter uma força similar àquela do osso cortical ou esponjoso que substituem.

Greenwald et al. (2001), analogamente declaram que qualquer material com aspiração a ser considerado um substituto ósseo deve apresentar os seguintes requisitos: ser completamente biocompatível; ser capaz de servir como uma superfície de ancoragem para células hospedeiras; ter porosidade que permita osseocondução e deve ser progressivamente reabsorvido e substituído por novo osso.

Delloye; Cnockaert e Cornu (2003) com muita propriedade acrescentam que um material osseocondutivo deve servir como uma estrutura de suporte para células do hospedeiro, onde estas podem migrar, ligarem-se e diferenciarem-se em células osteogênicas. Assim sendo, a neoformação óssea dentro do arcabouço é o resultado final em lugar de cicatriz de tecido fibroso.

Há dois outros requisitos muito importantes para o sucesso da formação óssea ocorrer: vascularização e estabilidade mecânica. Para Cornu et al. (1995), estes fatores estão relacionados à abordagem cirúrgica e a preparação do local a ser enxertado.

Considera-se o enxerto autógeno como padrão ouro por conter as propriedades de osteogênese, osseocondução e osseoindução. A substituição do osso autógeno por materiais sintéticos, no entanto, pode oferecer distintas vantagens tais como disponibilidade ilimitada, ausência de morbidade do local doador além de evitar uma intervenção cirúrgica adicional (GISEP et al., 2003).

Assim, diante da necessidade e busca constante por um substituto ideal para tecidos humanos, surgiu o uso dos biomateriais, ou seja, materiais sintéticos para uso biológico. Os biomateriais podem ser classificados de acordo com o seu comportamento fisiológico em (HENCH e WILSON, 1993):

Biotoleráveis, materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por meio da formação de camada envoltória de tecido fibroso. Esta camada é induzida por meio da liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Quanto maior a espessura da camada de tecido fibroso formada, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos assim como a grande maioria dos metais.

Bioinertes, materiais também tolerados pelo organismo, mas em que a formação de envoltório fibroso é mínimo, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o faz em quantidades mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono.

Bioativos, materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre o material e tecido ósseo (osseointegração). Em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo osseocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e as vitro-cerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.

Absorvíveis, materiais que, após certo período de tempo em contato com os tecidos, acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo.

## 2.3 Biomateriais Sintéticos

Diferentes materiais osseocondutivos têm sido usados para substituição óssea ao longo dos anos. O sulfato de cálcio, conhecido também como gesso paris, é um produto utilizado por mais de cem anos. Na presença de água, forma uma pasta moldável que endurece gradualmente. *In vivo*, o sulfato de cálcio é reabsorvido por volta de seis a oito semanas sem resposta inflamatória. Determinou-se, contudo, que este tempo de reabsorção é rápido demais para crescimento ósseo simultâneo (DELLOYE; CNOCKAERT; CORNU, 2003). Referente a esta questão, Moore; Graves e Bain (2001), acrescentaram que este biomaterial é reabsorvido por um processo de dissolução; e por ser reabsorvido razoavelmente rápido não tem capacidade osseocondutiva. Se o sulfato de cálcio é exposto à umidade tende a amolecer e fragmentar-se, por esta razão, não tem propriedades mecânicas confiáveis. Pode ser usado como um reservatório de antibiótico de liberação lenta ou como um preenchedor de defeito ósseo (DELLOYE; CNOCKAERT; CORNU, 2003).

Em seguimento ao sulfato de cálcio, derivados de diferentes naturezas ou fosfato de cálcio sinterizados foram usados para preencher defeitos. Entre estes, estavam os grânulos ou blocos feitos de HA e fosfato  $\beta$ -tricálcico ( $\beta$ -TCP) (GISEP et al., 2003). Um dos fenômenos característicos das HA é a sua biocompatibilidade, mostrando união direta com tecido ósseo. Não causam inflamação ou reações tóxicas nos tecidos circunjacentes e apresentam osseocondutividade (KURASHINA et al., 1998). Adicionalmente, tamanho de partículas, porosidade, estrutura química e composição das cerâmicas bioativas,

influenciam grandemente a taxa de reabsorção do material (LU et al., 2002; MISCH; DIETSCH, 1993; MOREIRA et al., 2003) materiais a base de fosfato de cálcio são largamente utilizados como substitutos ósseos em odontologia, ortopedia e cirurgia reconstrutiva devido sua biocompatibilidade e osseocondutividade (KURASHINA et al., 1997a). Estas primeiras gerações de substitutos ósseos de HA foram usadas para aumentar alvéolos da maxila e mandíbula, para reconstruir defeitos periodontais, e também como um material de aumento craniofacial, assim como, coberturas em implantes metálicos para melhorar a osseointegração (SCHIMITZ et al., 1999).

A produção destes materiais envolve processamento à temperatura elevada (>1000°C) que resulta em cerâmicas altamente cristalinas e densas, que são capazes de formar uma ligação química com o corpo (OOMS et al., 2002). As cerâmicas de HA são resistentes a reabsorções *in vivo* que ocorrem na taxa de 1 a 2% por ano e conseqüentemente permanecerão visíveis radiograficamente por longo tempo. Se isto é clinicamente importante no presente não se sabe (DELLOYE; CNOCKAERT; CORNU, 2003).

Após duas décadas do início de sua aplicação clínica, surgiram registros de algumas desvantagens nas cerâmicas de Fosfato de Cálcio. Os blocos são fabricados com formas predeterminadas e normatizadas; não permitem invaginação fibro-óssea e têm um módulo de elasticidade maior que o osso. Kurashina et al. (1998) ainda relataram sua fragilidade e dificuldade em esculpir os defeitos esqueléticos. Driessens et al. (1998) acrescentaram que os granulados apresentam o risco de migrarem além do sítio de implantação, alcançando o tecido, provocando reações granulomatosas e até mesmo sua expulsão do organismo.

Também apresentam limitações relativas à ausência de estabilidade estrutural, bem como não conferem ao reparo resistência mecânica.

Em contrapartida, segundo Moore; Graves e Bain (2001) o fosfato tricálcico é mais solúvel e sua reabsorção; ocorre em um período de seis a dezoito meses. O  $\beta$ -TCP foi um dos primeiros componentes de fosfato de cálcio usado como substituto ósseo. Disponível na forma porosa ou sólida, como também grânulos ou blocos. Estruturalmente  $\beta$ -TCP apresenta força à compressão e tensão similar ao osso esponjoso. Grânulos porosos tendem a migrarem menos que os sólidos (não porosos), devido a mais cedo fixação pela invaginação fibrovascular (BYRD; HOBAR; SHEWMAKE, 1993). Reabsorvem por meio de dissolução e fragmentação. Infelizmente a substituição do  $\beta$ -TCP não ocorre de maneira equitativa, ou seja, há sempre menos volume ósseo produzido que o volume de  $\beta$ -TCP reabsorvido. O uso clínico do  $\beta$ -TCP, por esta razão, é como adjunto a outro substituto ósseo menos reabsorvível ou como expansor para enxerto autógeno (MOORE; GRAVES; BAIN, 2001). Knabe et al. (2000) relataram, entretanto, que uma nova composição de cerâmica, o  $\alpha$ -TCP exibe maior biodegradação que o  $\beta$ -TCP.

## **2.4 Cimento de Fosfato de Cálcio**

Brown e Chow desenvolveram o chamado cimento de fosfato de cálcio, que consiste em uma mistura de um ou vários pós de fosfato de cálcio com uma solução aquosa. O trabalho pioneiro capacitou o desenvolvimento do primeiro produto fabricado

(BoneSource®). Os CFC são a segunda geração de HA e representam uma classe emergente de substitutos ósseos. São identificados como excelentes materiais aloplásticos para aumento ósseo pela combinação de osseocondutividade, biocompatibilidade e moldabilidade (KOMATH; VARMA, 2003).

Para obter o máximo do uso biológico dos CFC, faz-se necessário conhecimento de suas propriedades. Driessens et al. (1998), descreveram as características determinantes que fazem dos CFC biomateriais atrativos para reconstrução ou remodelação óssea; podemos citar: facilidade de manipulação e moldagem sem que seja preciso estabelecer uma forma prévia ao implante, adaptando-se totalmente à forma da cavidade óssea, obtendo um íntimo contato entre o osso e o cimento desde os primeiros estágios da implantação; não produzem reação exotérmica durante o processo de endurecimento, evitando necrose tecidual. A preparação é feita durante o ato cirúrgico e possui biocompatibilidade e bioatividade.

Do ponto de vista clínico segundo Lemaitre; Munting e Mirtchi (1992), existem certos requisitos que um cimento ósseo deve cumprir, o que reduz ainda mais os tipos de CFCs de interesse clínico, como curar e endurecer in vivo, em tempo razoável e possuir uma resistência mecânica apropriada durante o período requerido; ter pH neutro (6,5 a 8,5) durante e após a cura, para evitar efeitos citotóxicos; ter fácil manipulação, ausência de toxicidade, perfeita adesão ao tecido ósseo e ausência de características alergênicas e cancerígenas.

Muitos destes cimentos são injetáveis, moldáveis ao local e endurecem a temperatura corporal. São formulados como componentes sólidos e líquidos que quando misturados em proporções predeterminadas, reagem para formar HA (BROWN et al.,

1998). Como inferem Driessens et al. (1998) o pó pode ser composto por um ou vários fosfatos de cálcio, outros sais de cálcio e certos aditivos orgânicos. O líquido, por sua vez, pode ser água, soro ou fosfato de sódio, que também podem conter certos aditivos orgânicos como demonstrou Chow (1998). A pasta de CFC baseada em água, no entanto, não é altamente coesiva, e sim vulnerável à lavagem até o endurecimento ocorrer (LEE; LIM; KIM, 2003). É importante compreender que a água não é um reagente na reação de presa do cimento; todavia permite a dissolução dos sólidos e precipitação dos produtos. Ao obter a mistura dos componentes sólido e líquido dos CFC, inicia-se a dissolução dos compostos presentes no pó e a precipitação de novos compostos. Este novo precipitado composto por cristais microscópicos forma um emaranhado que proporciona resistência ao sistema (JANSEN et al., 2005).

São cimentos não cerâmicos em forma de pasta, que depois de manipulados cristalizam *in vivo* resultando em HA microporosa reabsorvível. Esta cristalinização ocorre em pH e temperatura normais do corpo e é essencialmente isotérmica (CLOCKIE et al., 2002; SCHMITZ et al., 1999; STANTON; CHOU; CARRASCO, 2004). A pasta resultante é uma mistura de componentes de fosfato de cálcio amorfos e cristalinos que ao tomar presa produzem HA (KURASHINA et al., 1998; SCHMITZ et al., 1999). Contudo, Knabe et al. (2000) acrescentam que o produto final de presa pode produzir DCPD, HA deficiente em cálcio (CDHA), hidroxiapatita ou fosfato de cálcio amorfo, de tal forma, que até o momento quatro tipos de cimento são conhecidos, dependendo do tipo de fosfato de cálcio produzido durante a presa.

Segundo Schmitz et al. (1999), o reagente final determinará se o produto final será, ou não, minimamente ou completamente reabsorvível. A reação físico-química que ocorre

durante a mistura dos componentes sólidos e líquidos é complexa, resumidamente, quando os diferentes sais de fosfato de cálcio são misturados em ambiente aquoso, dissolução, precipitação, e finalmente ocorre a fase de transformação. O processo que leva a transformação da fase final das diferentes formas de sais de fosfato de cálcio é resultante da solubilidade constante do produto e pH. A natureza da apatita faz a forma biocompatível final e promove a união química ao osso hospedeiro (JANSEN et al., 2005).

Recentemente muita atenção tem sido dada ao desenvolvimento do CFC, isto é atribuído ao fato que estes materiais são biocompatíveis e podem ser usados para uma variedade de aplicações clínicas. Estes provêm um arcabouço osseocondutivo para deposição óssea, servem para estabilizar fraturas e estudos, sinalizam no sentido de servir como transportadores para proteínas e células (NIEDHART et al., 2003; RUHE et al., 2004) e agentes farmacêuticos (JOOSTEN et al., 2004; RATIER et al., 2004). Polímeros hidrossolúveis são acrescentados ao líquido da mistura para o controle da viscosidade e injetabilidade do cimento, assim como adição de fibras, no afã de aumentar a resistência mecânica (KOBAYASHI et al., 1999; SANTOS et al., 1999; XU; EICHMILLER; GUISEPPETTI, 2000). O cimento de fosfato de cálcio atrai um aumento de interesse em traumatologia, ortopedia e cirurgia maxilofacial para o tratamento de defeitos ósseos (GÓMEZ et al., 2005; WENZ et al., 1998; WILTFANG et al., 2004).

No corrente estágio de desenvolvimento, o CFC pode ser um substituto efetivo para pequenos defeitos (menores que 25 mm<sup>2</sup>) na cavidade oral, tais como locais de extração ou como preenchedor de espaços em torno de implantes imediatos, assim como o aumento de assoalho de seio maxilar, (LEW et al., 2000; MAZOR et al., 2000; SHIRAKATA et al., 2002).

Ressalta-se que os CFC não atuam como substitutos permanentes do osso; apenas temporário, sendo lentamente substituídos por tecido ósseo de nova formação. Este comportamento típico tem sido denominado osseotransdutividade. A osseotransdução implica em biodegradação e substituição por novo osso de forma simultânea. A velocidade em que este fenômeno ocorre, depende fortemente do tipo de CFC, do sítio de implantação e da idade do paciente receptor, entre outros fatores, como mostra o estudo de Driessens et al. (1998) e comprovados por Comuzzi; Ooms e Jansen (2002) e Ooms et al. (2002).

Infelizmente, cimentos de Fosfato de Cálcio têm sido relatados por sofrer de alguns problemas como prolongado tempo de cura e inabilidade de instalar-se na presença de sangue (BROWN et al., 1998). Segundo Gadaleta; Sapiieszko; Erbe (1998), o desafio do desenvolvimento de um cimento ósseo a base de Fosfato de cálcio, situa-se no balanceamento das características de reabsorção/remodelação com as propriedades mecânicas do cimento. Um material com alta propriedade mecânica provavelmente terá pobre característica de reabsorção/remodelação e vice-versa. Isto pode ser atribuído ao fato que os materiais com propriedades mecânicas superiores, tipicamente possuem alta energia de fixação contribuindo para retardar o processo de reabsorção/remodelação do material.

## 2.5 Ação do Cimento Fosfato de Cálcio sobre os Tecidos Biológicos

Fujikawa et al. (1995), por meio de exames histopatológicos avaliaram a osseocondutividade do CFC comparando seu comportamento biológico ao da hidroxiapatita em defeitos periodontais cirurgicamente formados nas mandíbulas de cães. No pós-operatório de um mês, foram observadas leves reações inflamatórias nas áreas adjacentes ao CFC e HA. Três meses após a intervenção cirúrgica, os defeitos preenchidos com massa de CFC foram cobertos por perióstio e tecido ósseo. A massa de CFC nos defeitos foi parcialmente substituída por osso recém formado. Nos defeitos preenchidos com HA houve maior formação de tecido conjuntivo. Após seis meses, os defeitos contendo CFC foram cobertos com perióstio e osso neoformado e maior quantidade do cimento foi substituída por osso. Os autores concluíram que o CFC é mais efetivo que a hidroxiapatita como material para tratamento periodontal devido a sua excelente biocompatibilidade e osseocondutividade.

Miyamoto et al. (1997), testaram as respostas do tecido ósseo ao CFC de presa rápida (aproximadamente 5-6 min) comparando ao CFC Convencional (presa em 30-60 min). Neste estudo, os cimentos foram implantados em tíbias de ratos para avaliar a respostas teciduais e a biocompatibilidade do material. O CFC tipo presa rápida foi convertido a HA em osso mais rápido que o CFC convencional nas primeiras seis horas. Em vinte e quatro horas, significativas variações de ambos CFC tinham sido convertidos a HA. A conversão de CFC presa rápida em HA procedeu de forma gradual, atingindo 100% em até oito semanas. Histologicamente, o CFC presa rápida mostrou uma resposta similar

àquela do CFC convencional, inclusive quanto a leve reação inflamatória, que foi comum aos dois cimentos testados. Novo osso foi formado ao longo da superfície do CFC do tipo presa rápida no osso adjacente. Não foi observada, no entanto, a reabsorção do cimento pelos osteoclastos ou macrófagos em até oito semanas. Concluíram que a recente formulação do CFC é superior ao CFC convencional em aplicações clínicas, demonstrando presa mais rápida e maior força mecânica sem, contudo, deixar de apresentar as propriedades confirmadas do antigo cimento: osseocondutividade e biocompatibilidade.

Kurashina et al. (1998) testaram em coelhos um tipo de CFC consistindo de  $\alpha$ -TCP, DCPD e TeCP em defeitos criados cirurgicamente em osso do crânio (defeito ósseo de reconstrução) e diretamente no osso embaixo do periósteo (defeito ósseo de aumento). Após três meses, a biópsia foi executada removendo-se o enxerto juntamente com tecidos em volta. Histologicamente, o cimento implantado estava quase na sua totalidade envolto por novo osso e este, unido à superfície do cimento de forma direta. Houve perda de material de enxerto em quatro espécimes e dificuldade da hemostasia no momento da implantação do CFC. Estes exames também demonstraram a nova formação óssea no espaço entre o cimento e o leito ósseo e sobre o cimento em contato com o periósteo. Deste estudo preliminar, os autores concluíram que o CFC é um material promissor para cranioplastia e aumento esquelético por ter se mostrado osseocondutivo. Em adição, os autores inferem com este estudo, e estudo anterior em mandíbulas de ratos (1997), que a completa hemostasia e a secagem do local a ser enxertado são importantes fatores no sucesso de reparação óssea com o cimento de fosfato de cálcio, e que a presença de matéria orgânica inibe a formação de HA.

Brown et al. (1998) testaram um recém desenvolvido cimento de hidroxiapatita usado principalmente na regeneração de defeitos craniofaciais. Para tanto, confrontaram a ação reparadora do cimento de HA ao uso do DFDBA no tratamento de defeitos ósseos periodontais em humanos. Foram incluídos no estudo dezesseis pacientes com doença periodontal moderada a severa. Relataram que em onze dos dezesseis pacientes tratados com o cimento, houve esfoliação de todo ou quase todo o enxerto através do sulco gengival. Também foi constatado que a redução da profundidade de sondagem foi mínima em relação aos locais tratados com o DFDBA. Em relação aos materiais testados e aos resultados apresentados neste estudo, os pesquisadores concluíram que o Cimento de Hidroxiapatita não teria indicação para o uso em tratamentos de defeitos periodontais verticais.

Wenz et al. (1998) testaram o efeito osseocondutivo e a aplicação clínica de um cimento então recém desenvolvido à base de Fosfato de Cálcio (Biocement D ®) em defeitos ósseos criados cirurgicamente em fêmures de oito coelhos. Os autores atestaram que dois meses após a inserção do cimento nos defeitos não houve sinais clínicos de inflamação. Fato este, confirmado posteriormente pelos exames histológicos; e que a taxa de reabsorção, e concomitante neoformação óssea através dos osteoblastos, pareceu imitar a natural remodelação do osso. O cimento testado, portanto, possui boas propriedades de trabalho, alta força mecânica e gradual reabsorção sendo um biomaterial ideal para o uso em traumatologia e ortopedia.

Neste mesmo ano, Gadaleta; Sapieszko; Erbe (1998) descreveram a avaliação histológica e físico-química de um novo CFC injetável. O cimento foi injetado em defeitos ósseos de ambos os fêmures de seis coelhos. Os animais foram eutanizados e os

espécimes coletados em quatro e oito semanas. As análises destes espécimes revelaram direto contato ósseo entre o cimento e o osso hospedeiro sem fibras de tecido conjuntivo na interface osso-cimento. Não foram notados sinais de inflamação; observou-se reabsorção do cimento seguido por osteoblastos secretando novo ostéide, contudo, o material pareceu estar intacto em todos os espécimes histológicos. A inspeção dos espécimes após oito semanas revelou melhor cicatrização do defeito com crescimento ósseo em volta do cimento. O pó usado na formulação resultou em um cimento com tamanho uniforme de partículas; o cimento endureceu em pH fisiológico, sem reação exotérmica. Em adição, não foram notadas mudanças químicas nas análises sanguíneas dos animais.

Camerino et al. (1999), publicaram um estudo in vitro do efeito do CFC sobre os osteoblastos humanos. Este trabalho sugere que o CFC é capaz de aumentar o número de osteoblastos sendo útil em locais de fraturas, onde se requer um alto número de células formadoras de osso. Definiram o material como um biomaterial promissor para os tratamentos de fraturas cominutivas que são difíceis de tratar por métodos ortopédicos padrão.

Por meio de exames histológicos e radiográficos, Miyamoto et al. (1999) avaliaram, por um período pós-cirúrgico de uma semana, as respostas dos tecidos moles a três tipos de CFC consistindo de mistura equimolar de TTCP e DCPA quando implantados um minuto após a mistura em tecidos subcutâneos de quinze ratos. Os tipos de cimentos testados foram CFC-c (cimento de fosfato de cálcio convencional), um CFC de presa rápida e um CFC com presa rápida e resistente à degradação e deslocamento frente aos fluidos. Os animais foram sacrificados uma semana após a cirurgia. Radiograficamente, O CFC convencional estava completamente esmigalhado e não mais apresentava a forma original;

enquanto o CFC presa rápida e o CFC de presa rápida resistente à degradação mantiveram a mesma forma do momento em que foram inseridos. Clinicamente foi aparente edema severo com flutuação à palpação em torno do CFC convencional nos abdomens dos ratos, enquanto não foi observado em torno dos CFC presa rápida. Histologicamente foram formadas subcutaneamente em torno do CFC convencional, grandes vesículas com abundante efusão inflamatória, muitas células gigantes de corpo estranho e moderado infiltrado celular inflamatório. Em contraste, os dois CFC de presa rápida estiveram cobertos com uma fina camada de tecido de granulação que incluíam poucas células gigantes e leve infiltrado celular inflamatório. Os autores concluíram que o CFC nem sempre mostra excelentes resultados teciduais. Quando o CFC convencional é implantado subcutaneamente em ratos imediatamente após a mistura, este fracassa ao tomar presa e causa uma severa resposta inflamatória. Comentam que o tipo de CFC deveria ser escolhido de acordo com a aplicação e também ser usado de uma maneira que assegurasse sua reação de presa, recomendando o uso de CFC de presa rápida para ortopedia, cirurgia plástica, cirurgia reconstrutiva, cirurgia oral e maxilofacial.

A proposta do artigo de Schmitz et al. (1999) foi revisar através da literatura, as propriedades químicas e físicas dos CFC, com referências específicas às suas aplicações em Odontologia e em cirurgia craniofacial. Dentre as informações destacam-se o fato de que embora possa parecer que todos os CFC tenham os mesmos usos clínicos, suas propriedades físicas sugerem o contrário. Um material com alta porosidade, que automaticamente apresenta baixa força compressiva, poderia ser utilizado em fraturas cominutivas ou para cranioplastia; e os materiais com alta força compressiva, ou seja, com porosidade baixa, teriam uso como preenchedores de pequenos defeitos ósseos, obturação

de condutos endodônticos e como método para reconstrução de defeitos periodontais infra-ósseos. Salientando que a porosidade do material é dependente das taxas de pó e líquido usado no início da mistura. Noticiam também, que apesar dos apelos dos fabricantes, a reabsorção do cimento ósseo Bone Source ® é minimamente documentada na literatura. Dependendo do fim a que se destina, não poderia ser interpretado como uma falta, pois em determinadas intervenções cirúrgicas há necessidade de um material de reconstrução que se integre com o osso hospedeiro e mantenha o molde e a forma indefinitivamente. Assim como, não tem sido substanciada em literatura as reivindicações dos fabricantes dos materiais  $\alpha$ - BSM® e Norian® SRS/CRS quanto a osseocondutividade por estes apresentada. Ainda questionam se as respostas locais da periferia do material regulam a osseocondução, pois o CFC é um material mineralizado denso que funciona como uma barreira para a livre difusão de hormônios circulantes, fatores de crescimento e citocinas. Os autores concluem que os CFC oferecem utilidade clínica promissora, e se, muitas das propriedades pretendidas destes biomateriais forem documentadas e publicadas, estes podem revolucionar totalmente o direcionamento cirúrgico de fraturas e defeitos ósseos.

O objetivo do estudo de Yuan et al. (2000) foi examinar as respostas teciduais *in vivo* do CFC, na forma pré-endurecida e em pasta, após a implantação intra-ósseo e intramuscular em cães. O tempo de avaliação para a forma de pasta ocorreu entre três e seis meses, enquanto para a forma pré-endurecida entre um, dois e seis meses. Histomorfologicamente foi observado nas amostras do cimento formações ósseas nos poros e superfícies ásperas profundas, nas formas pré-endurecidas e em pastas implantadas em músculos de cães. Ainda em alta magnificação, observaram-se células tipo osteoclastos nas lacunas de reabsorção do cimento com partículas do cimento intracelular.

Tanto nos ossos, como nos músculos, não foram observadas reação de corpo estranho, inflamação ou necrose e camadas de tecido entre o osso e o cimento. Histologicamente, os resultados sugeriram que o CFC usado neste estudo é biocompatível, reabsorvível, osseocondutivo e osseoindutivo, indicando que um substituto ósseo ideal poderá ser desenvolvido pelo uso deste tipo de CFC.

Pioletti et al. (2000) realizaram trabalho para quantificar a reação dos osteoblastos em contato com diferentes tipos de partículas de CFC ( $\beta$ -TCP, Brushita e partículas do cimento). Os achados demonstraram que as partículas do CFC tiveram efeito dose-dependente sobre a viabilidade dos osteoblastos, proliferação e produção de fosfatase alcalina, como também sobre a proliferação dos fibroblastos. Salientaram, ainda, que as partículas menores tiveram efeitos negativos mais fortes sobre a função dos osteoblastos que as maiores. Os resultados deste estudo claramente estabelecem que partículas de CFC podem ser prejudiciais para os osteoblastos, especialmente quando seu tamanho for menor que 10  $\mu\text{m}$ . Uma taxa de cinquenta partículas de CFC por osteoblasto pode ser considerada o máximo que um osteoblasto é capaz de suportar. A presença de partículas de CFC pode interferir na capacidade dos osteoblastos de neoformação óssea. E ainda alertam sobre a importância de minimizar, no futuro, a fabricação de CFC com partículas menores que 10  $\mu\text{m}$ .

Frayssinet et al. (2000) investigaram a integração histológica de um CFC baseado em DCPD em côndilos de dez coelhos na forma de pasta injetável ou em forma de blocos pré-endurecidos. Foram feitos orifícios de 4 mm de diâmetro e 10 mm de altura no côndilo de coelhos. No orifício esquerdo foi inserido o material em forma de bloco pré-curado e no orifício direito foi utilizado o cimento na forma de pasta. Cinco animais foram sacrificados

após oito e dezesseis semanas. Os resultados histológicos da avaliação das amostras em oito semanas mostraram que na forma de pasta, o cimento formado foi envolto por cápsula fibrosa, demonstrando superfície altamente irregular e rugosa a que foi atribuída à degradação; enquanto que quase todas as superfícies das amostras pré-endurecidas foram cobertas com uma camada fina de osso não apresentando fragmentação dos implantes. As amostras em dezesseis semanas na forma de pasta ainda demonstraram cápsula fibrosa e não foram visualizados osteoblastos na superfície do material. Na forma pré-endurecida, alguns blocos tinham sido parcialmente reabsorvidos. Encontraram-se ocasionalmente alguns osteoblastos sobre a superfície do material; embora o material seja osseocondutivo, uma reação de corpo estranho pôde ser observada nos primeiros estágios de implantação e a melhor osseocondutividade e biocompatibilidade foi demonstrada nos materiais pré-endurecidos (sólidos).

Lew et al. (2000) investigaram a possibilidade do cimento de hidroxiapatita (Bonesource®) ser usado para suportar crescimento ósseo adjacente a implantes instalados imediatamente em locais de exodontias. Extraíram-se os primeiros molares bilaterais em mandíbulas de três cães Mongrel. Os alvéolos de extrações foram preparados para servir como defeitos de quatro paredes. Implantes do tipo Branemark (3.75mm de diâmetro e 10mm de altura) foram instalados de tal forma que aproximadamente metade do implante esteve verticalmente embebido em osso. O cimento foi misturado e inserido nos locais de extração, após a inserção do implante, e então foram executadas cooptações dos bordos cirúrgicos com suturas biodegradáveis (vicril 4.0) ou em combinação com cimento cianocrilato. Os três cães foram sacrificados em um, dois e três meses respectivamente. Determinou-se que o cimento foi biocompatível na cavidade oral, mas propenso a

deslocamento em locais de cicatrização sujeitos à carga. Não houve significativa indicação de resposta inflamatória causada pela presença do CHA ou infecção do local implantado. Ainda que nenhum dos locais implantados estivesse exposto, houve perda do CHA em vários locais, o que contribuiu para o variável nível de contato ósseo. Quando o CHA esteve imóvel no local cirúrgico, a natureza bioativa do cimento levou a reabsorção do cimento e deposição óssea. Os autores concluíram que o CHA tem potencial para ser um substituto ósseo efetivo, para o uso em cavidade oral e especialmente para suportar o reparo ósseo adjacente a implantes. Descreveram que a perda do cimento foi associada a largos locais de extração, usada neste estudo, e que o CHA poderia ser um substituto efetivo para pequenos defeitos (menores que  $25 \text{ mm}^2$ ) na cavidade oral, tais como: locais de extração ou como preenchedor de espaços em implantes imediatos. Para alcançar os benefícios clínicos esperados do cimento, relataram a importância do desenvolvimento de novas formulações do cimento que resistam à degradação frente aos fluidos ou a diferentes técnicas de inserção e proteção do cimento das forças de mastigação durante a presa do cimento nos períodos de estágios iniciais da cicatrização da ferida.

Mazor et al. (2000) avaliaram por meio de exames radiológicos (radiografias panorâmicas, periapicais e tomografia computadorizada) e histológicos do uso de cimento ósseo de hidroxiapatita, como material de enxerto de seio maxilar, com inserção simultânea de implantes em maxila atrófica em humanos. Foram inseridos vinte e seis implantes cilíndricos com cobertura de HA em dez seios maxilares de dez pacientes. Relataram estabilidade primária e paralelismo dos implantes durante a inserção. Não houve relatos de complicações clínicas. Radiograficamente, os implantes estavam embebidos em uma densa massa radiopaca homogênea. Durante a exposição dos implantes, não houve evidências

clínicas de perda óssea ao seu redor e os mesmos encontravam-se clinicamente osseointegrados. Não se observaram respostas adversas ao material enxertado e nem sinais de infecções. A avaliação histológica confirmou formação de novo osso vital sem evidência de reação de corpo estranho ou infecção. Todos os pacientes receberam prótese fixa implanto-suportada e foram seguidos por dezoito meses (média de doze a vinte e quatro meses). Segundo os autores, apesar da necessidade de mais estudos clínicos e histológicos futuros para que o material seja recomendado como rotina em procedimentos de enxertia em seio maxilar, o CHA pareceu ser um material de enxerto aloplástico promissor para este fim.

Comuzzi; Ooms e Jansen (2002) avaliaram a aplicação clínica e o comportamento biológico do então recém desenvolvido CFC injetável como preenchedor ósseo para diastases em torno de implantes orais. Através de espaços de 1 e 2 mm criados em osso trabecular em fêmures de cabras, inseriram vinte e quatro implantes nestes preparos. Quatro diferentes situações foram testadas: - implantes com diastases; - implantes, diastases e membranas; - implantes, diastases preenchidos com CFC; - implantes, diastases preenchidas com CFC e membrana. Os autores deixaram os implantes no local por doze semanas e através de mensurações histológicas e quantificações histomorfométricas, demonstraram que implantes com diastases presentes tiveram, de forma generalizada, pobre contato ósseo em sua base e no espaço, ainda foi observado encapsulação fibrosa. Em contraste, a presença de uma membrana promoveu crescimento ósseo dentro do espaço e também no contato ósseo na base do implante. Injeções do CFC resultaram em completo preenchimento das diastases em volta destes implantes. Notaram ainda, que a superfície do cimento foi completamente coberta por osso e que apresentava

ativa reabsorção e remodelação das partículas do cimento, sugerindo, desta forma, um modelo padrão de lenta reabsorção associada a uma substituição completa por osso recém formado. O uso adicional de uma membrana sobre o CFC não se converteu em benefícios em relação aos resultados encontrados. Puderam então concluir que o CFC usado mostrou excelentes propriedades de manuseio clínico combinado com um comportamento ósseo superior. Apesar de o cimento mostrar potencial de reabsorção, a taxa de degradação do material foi muito lenta, esta característica poderia prejudicar a aplicabilidade clínica do uso do CFC como preenchedor de diastases ao redor de implantes ou defeitos periodontais.

Morio et al. (2002) avaliaram as respostas ósseas qualitativas através de exames histológicos do cimento de fosfato de cálcio com três diferentes composições: Bone Source® misturados à água como controle (CHA-A), fosfato de sódio (CHA-FS), e hidroxipropimetil celulose (CHA-HPMC), durante três, sete e quatorze dias. Criaram-se defeitos em fêmures e tíbias de dezoito ratos machos Sprague Dailey. Osseocondução esteve presente nas três formulações do cimento de hidroxiapatita. Não foram observadas lacunas de reabsorção ou outras características de atividade celular de degradação osteoclástica do cimento de hidroxiapatita. Observou-se em alta magnificação a deposição de material osteóide por abundante infiltrado de osteoblastos na periferia e dentro do corpo do CHA. Os autores relataram que houve total aceitação biológica do CHA em todas as formulações testadas. A mistura CHA-HPMC foi mais estável estruturalmente quando usada em áreas que são de natureza mais vascular. Acrescentaram que outros processos que não a atividade celular osteoclástica, leva a degradação inicial do CHA. Estes processos são provavelmente de natureza físico-químico e ocorre antes do completo endurecimento do cimento em que o material é vulnerável a dissociação.

Clokie et al. (2002), avaliaram a regeneração óssea de defeitos de 15 mm em trinta coelhos New Zealand brancos usando substitutos ósseos disponíveis comercialmente: Osteoset (sulfato de cálcio), Dynagraft Putty (matriz óssea desmineralizada carregada em um excipiente poloxmer), Norian CRS e Bone Source (dois tipos de cimentos de fosfato de cálcio). A cicatrização óssea foi avaliada clínica, radiográfica e histomorfometricamente. Foram sacrificados cinco animais de cada grupo em seis e doze semanas de pós-operatório. Todos os defeitos não preenchidos cicatrizaram com fibrose, assim como nos enxertados com o gesso paris e gel de polaxmer. Deformidades reconstruídas com matriz óssea desmineralizada cicatrizaram com formação óssea demonstrada, clínica e radiograficamente. Ambos os grupos de cimentos de fosfato de cálcio (Norian CRS® e Bone Source®) tiveram idênticos padrões de cicatrização. Embora microporoso, comportaram-se como blocos de HA. De fato, os cimentos pareceram como blocos sólidos, tanto histologicamente como radiograficamente, e com pouca evidência de neoformação óssea em doze semanas. Em discussão, incitam o desenvolvimento de CFC com aumento da porosidade e adição de fatores osseoindutivos, a fim de melhorar a taxa de reabsorção do cimento enquanto que, ao mesmo tempo, estimula a neoformação óssea.

Ooms et al. (2002), investigaram em três dias, duas, oito, dezesseis, e vinte quatro semanas, as propriedades clínicas, biológicas e físico-químicas de um CFC recém desenvolvido quando implantado em osso medular de fêmures de vinte e cinco ovelhas. O pó continha 61% de  $\alpha$ -TCP, 26% de  $\text{CaHPO}_4$ , 10% de  $\text{CaCO}_3$  e 3% de hidroxiapatita precipitada. O líquido uma solução aquosa de fosfato de sódio. Clinicamente o cimento foi testado usando três taxas relevantes pó-líquido. O cimento ósseo controle foi o polimetilmetacrilato usado rotineiramente em ortopedia. Os autores relataram que o cimento

testado apresentou facilidade de manipulação e teve endurecimento rápido com boa coesão quando em contato com os fluidos corporais. Radiografias tomadas em diferentes períodos de implantação mostraram que o cimento permaneceu estável. Avaliação histológica após duas semanas mostrou abundante aposição óssea sobre a superfície do cimento, sem qualquer reação inflamatória ou encapsulação fibrosa. Osteoclastos estiveram associados à reabsorção do cimento e nestes locais onde foi reabsorvido, novo osso foi formado sem perda de integridade entre o leito ósseo e o cimento, demonstrando, assim, sua propriedade osteotransdutiva, que pode ser explicada pela reabsorção do cimento por osteoclastos, seguido diretamente pela formação de novo osso. A avaliação histológica e histomorfométrica não mostraram qualquer diferença significativa entre os cimentos implantados nas diferentes taxas de pó-líquido. Os resultados indicaram que o CFC investigado é biocompatível, osseocondutivo e osteotransdutivo sendo um material candidato como substituto ósseo.

Lu et al. (2002), investigaram os mecanismos de biodegradação dos biomateriais à base de fosfato de cálcio, com diferentes cristalinizações, implantadas em cavidades ósseas preparadas em fêmures e cêndilos de tibia de coelhos. Foram testados a HA,  $\beta$ -TCP e CFC injetável baseado em  $\beta$ -TCP, MCPM que transforma brushita em solução aquosa. Os biomateriais testados foram sinterizados à altas temperaturas 1100°C e 1270°C para  $\beta$ -TCP e cerâmica de HA, respectivamente, apresentando mesma porosidade e mesmo tamanho de microporos (100-300 $\mu$ m). Os resultados histomorfométricos mostraram que a biodegradação foi rápida com o  $\beta$ -TCP e o CFC, mas muito lenta com a HA. Houve diminuição do volume do CFC da periferia para o centro causada por fagocitose por numerosos macrófagos e células gigantes multinucleadas, porém osteoclastos não estavam

presentes. No  $\beta$ -TCP, houve uma diminuição do volume na periferia e na região central do material, como também ausência de formação de partículas ou visível fagocitose. Clínica e histologicamente, os biomateriais à base de fosfato de cálcio foram bem tolerados. O tecido ósseo em torno do implante mostrou morfologia normal, sem sinais de rejeição, necrose ou infecção.

Sugawara et al. (2002) avaliaram a possibilidade do uso do CFC na reconstrução de uma crista alveolar defeituosa em conjunção com a instalação de implantes. O CFC testado consistiu de uma quantidade equimolar de TTCP e DCPA. Inicialmente, foram extraídos os pré-molares inferiores de cães Beagles. Após um mês de cicatrização, os cães foram submetidos a uma nova cirurgia em que o osso alveolar foi reduzido cirurgicamente com o objetivo de formar um espaço para um bloco de CFC; e neste momento, o osso alveolar exposto foi moldado com alginato. Em laboratório, preparou-se um bloco de resina auto-ativado com altura máxima de quatro milímetros sobre o modelo de gesso. Este bloco de resina (20-25 mm de comprimento mesio-distal e 10-15 mm vestibulo-lingual) tinha orifícios (3.5-4 mm em diâmetro) que seriam usados como guia cirúrgico no momento da instalação do implantes. Um bloco de CFC foi duplicado a partir do bloco de resina através do material de impressão (silicona) após a injeção da pasta de CFC dentro do modelo do bloco de resina. A pasta de CFC foi mantida no modelo de impressão por 24h em 100% de umidade a 23<sup>o</sup>C. No mês seguinte, os retalhos mucoperiostais foram rebatidos e o bloco de CFC foi colocado diretamente sobre o local definido previamente. Instalaram-se implantes com cobertura de HA com altura de 8mm, de tal modo que a metade apical dos implantes estivesse embebida em osso alveolar e na metade coronal no bloco pré-formado de CFC. Os cães foram sacrificados e biópsias foram obtidas em um, três e seis meses após a

cirurgia. As secções que incluíram os implantes foram avaliadas quanto à integração do bloco de CFC no osso alveolar e do implante ao osso alveolar. Secções adicionais sem os implantes serviram como controle. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o CFC usado no procedimento de aumento da crista alveolar foi substituído gradualmente por osso natural. Seis meses após a cirurgia, as características histológicas da área aumentada foram similares àsquelas do osso alveolar natural. A metade coronal dos implantes, previamente envolto pelo bloco de CFC, estava firmemente fixada por osso natural. Os autores concluíram que o método utilizado pode ser usado para aumento da altura da crista alveolar.

O trabalho de Shirakata et al. (2002) avaliou a possibilidade da aplicação do CFC na cicatrização de defeitos periodontais. Foram criadas fenestrações e defeitos periodontais de três paredes em primeiros molares e caninos bilateralmente em cinco cães beagles. O CFC testado consistiu de pó de MCPM,  $\alpha$ -TCP e carbonato de cálcio, misturado com solução de fosfato de sódio (Norian PDC). O CFC foi aplicado no defeito de um lado da mandíbula e os defeitos sem tratamento do lado contralateral serviram como controle. Na maxila o CFC foi aplicado em todos os defeitos. Doze semanas após a cirurgia, os animais foram sacrificados e os espécimes preparados para avaliações histológicas e histomorfométricas. O cimento foi parcialmente substituído por novo osso. Novo cimento e tecido como ligamento periodontal foram observados entre o CFC destacado e a superfície da raiz. A cicatrização ocorreu sem intercorrências em todos trinta locais seguintes ao tratamento cirúrgico. Não foram visíveis reações adversas, tais como: exposição do material, infecção ou supuração. Concluíram que não houve diferenças significativas entre os dois grupos de tratamento; observações histológicas indicaram que o CFC pareceu atuar

como um arcabouço para formação óssea e promoveu cicatrização histocompatível aos tecidos periodontais neste estudo, encorajando os autores a indicarem o CFC para ser aplicado em terapia periodontal, apesar da necessidade de futuras investigações.

Niedhart et al. (2003) tiveram como objetivo, determinar os efeitos da regeneração óssea de um cimento de fosfato tricálcico de presa in situ combinado com rhBMP-2 e comparar com enxerto ósseo autógeno. Para tanto, foram criados defeitos de 1.5mm em fêmures de cento e vinte ratos machos Sprague-Dawley. O cimento foi implantado na sua composição usual ou em combinação com 0,0.25, 2.5 ou 25 µg de rhBMP-2. Como controle, foram usados fragmentos de enxerto ósseo autógeno removidos dos defeitos, ou simplesmente, o defeito foi deixado vazio. Os ratos foram eutanizados após uma e três semanas e examinados por radiografia, histologia, histomorfometria. Todos os grupos dos cimentos de TCP, com ou sem BMP-2, mostraram um bom crescimento ósseo com íntimo contato cimento-osso. Formação do calo ósseo do grupo TCP + 25 µg rhBMP-2 foi superior ao enxerto ósseo autógeno. Segundo os autores, provou-se, então, que a combinação de TCP/rhBMP-2 é um substituto efetivo para enxerto ósseo autógeno.

Komath e Varma (2003) descreveram o desenvolvimento, as propriedades e testes biológicos, de uma nova formulação de um CFC injetável que teria aplicações ortopédicas e odontológicas. Para alcançar o fim desejado, modificaram um CFC convencional composto de TTCP e DCPD com um agente geleificante biocompatível para induzir propriedades de fluidez e coesão. A nova formulação teve o tempo de presa em vinte minutos e força de compressão de 11Mpa. O cimento não mostrou qualquer mudança térmica e dimensional apreciável durante a presa. Os estudos de citotoxicidade com culturas de células foram feitos pelo método de contato direto, usando células de fibroblastos de ratos. As células de

fibroblastos de ratos em torno do material permaneceram com a morfologia normal, mostrando a natureza não tóxica dos cimentos testados. O cimento foi aprovado nos testes de biocompatibilidade; então os autores puderam concluir que as propriedades de coesão e injetabilidade foram alcançadas pela incorporação do agente geleificante. A adição deste, não alterou as características do cimento, a não ser o tempo de presa que foi prolongado. O cimento endurecido teve força mecânica comparável àquela do osso trabecular. Com base nas características apresentadas, o material pôde ser indicado para aplicações clínicas como preenchedor ósseo, como fixação de fratura in situ em ortopedia, preenchimento de condutos radiculares e selamento de perfurações endodônticas em odontologia.

Hoshikawa et al. (2003) desenvolveram um CFC em que o tempo de presa foi abreviado para aproximadamente dez minutos em relação aos CFC convencionais. Objetivando as aplicações clínicas, avaliaram histologicamente as respostas biológicas a longo prazo do osso ao cimento. Analisaram quantitativamente o processo de reabsorção e osseocondução e ainda, a efetividade biomecânica desta substância. Em termos comparativos, usaram a HA sinterizada. O CFC foi implantado em orifícios criados em côndilos de fêmures de oitenta e dois coelhos e acompanhados por um período superior a cinquenta e duas semanas. Histologicamente, o novo osso foi formado após uma semana sobre a superfície do CFC implantado e a reabsorção do CFC foi evidente em três semanas. Em adição, de maneira significativa mais osso mineralizado foi recém formado em torno do CFC em relação a HA sinterizada, sugerindo que o CFC tem melhor osseocondutividade que a HA. Conclui-se que o cimento desenvolvido mostrou boa biodegradação e osseocondução sem relatos de reação inflamatória adversa. Os testes

biomecânicos mostraram a utilidade do CFC para enxerto de fixação parafusada em ossos de qualidade pobre.

Ooms et al. (2003b) investigaram sobre as propriedades biológicas e físico-químicas de um CFC injetado em defeitos ósseos cortical em tíbias de vinte e nove ovelhas em um período de três dias, duas, oito, dezesseis e vinte e quatro semanas. Neste experimento, foi investigado o cimento injetável da MERCK Biomaterial GmbH (Darmstadt, Germany) com composição do pó do cimento  $\alpha$ -TCP,  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$  e HA precipitada e no líquido uma solução aquosa a 4% de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$ . Clinicamente não houve evidências de infecção ou inflamação da ferida cirúrgica. Os autores notaram que a apatita resultante tinha uma baixa cristalinidade, em termos de estrutura, que reconhecidamente favoreceu a reabsorção comparada com os materiais de fosfato de cálcio com alta cristalinidade. A avaliação de microscópica de luz e eletrônica após duas semanas revelaram que o CFC estava em íntimo contato com o osso sem qualquer reação inflamatória ou encapsulação fibrosa. Em avaliações nos períodos posteriores, o CFC estava coberto por uma fina camada de osso e osteoclastos puderam ser claramente visualizados reabsorvendo o cimento; e nos locais reabsorvidos, novo osso foi depositado. Relataram ainda, que embora o cimento em sua quase totalidade estivesse presente após vinte e quatro semanas, a progressiva reabsorção por osteoclastos seguida pela nova formação óssea sugeriu que todo o material poderia ser substituído eventualmente. Em contraste, o cimento ósseo de PMMA usado como controle, esteve sempre envolto por uma fina cápsula fibrosa. Os resultados deste trabalho indicaram que o CFC investigado é biocompatível, osseocondutivo e osteotransdutivo, sendo um material candidato para uso como substituto ósseo.

Ooms et al. (2003a) também avaliaram as reações de tecido mole a dois CFC injetáveis recém desenvolvidos (Merck Biomaterial GmbH, Darmstadt, Germany) implantados na coluna vertebral de oito cabras. Também compararam a reação de um destes cimentos após variação da concentração do acelerador no líquido. O cimento usado foi aplicado dez minutos após a mistura enquanto estava ainda moldável e plástico. Trinta e dois implantes de cada formulação do cimento foram inseridos e deixados no local por uma, duas, quatro e oito semanas. Análises histológicas mostraram que após oito semanas de implantação foram formadas em torno de todos os materiais uma fina camada de tecido mole (espessura variando de cinco a quinze camadas de células) com quase completa ausência de células inflamatórias. Não houve quase reabsorção do material após oito semanas de implantação. Em poucas amostras de quatro e oito semanas, pequenas áreas de calcificação foram encontradas na cápsula fibrosa circundando os implantes. Baseado nestas observações, concluíram que os cimentos testados foram biocompatíveis e podem ser usados próximo aos tecidos moles.

Cancian et al. (2004) avaliaram resultados histológicos dos biomateriais: Perioglass, FillerBone e Bone Source e osso autógeno em cavidades ósseas que foram criadas cirurgicamente com diâmetro de 5mm em mandíbulas de quatro macacos *Cebus apella*. Os animais foram divididos em grupos: (grupo 1) cavidades preenchidas com osso autógeno cortico-medular; (Grupo 2) cavidades preenchidas com cimento de fosfato de cálcio (BoneSource); (Grupo 3 e Grupo 4) foram preenchidos com vidros bioativos, FillerBone e Perioglass, respectivamente. Em termos adicionais, foram avaliadas reações teciduais, neoformação óssea, características ósseas e a presença ou ausência de material implantado. Os animais foram sacrificados em cento e oitenta dias. As análises histológicas

mostraram que o osso autógeno permitiu reparo total do defeito ósseo; os vidros bioativos testados, permitiram reparo total dos defeitos com íntimo contato dos grânulos remanescentes e o osso recém formado e as cavidades preenchidas com CFC (BoneSource) foram preenchidas geralmente por tecido conjuntivo fibroso; o material foi quase totalmente reabsorvido. Os animais não apresentaram quaisquer complicações seguintes à implantação até o sacrifício e nenhum material sofreu rejeição. Os autores concluíram que os materiais de enxerto sintéticos demonstraram biocompatibilidade. Os biovidros sugeriram atividade osseocondutiva que não ocorreu com o BoneSource; este não permitiu reparo dos defeitos cirúrgicos e os defeitos foram preenchidos com tecido conjuntivo.

Moraes et al. (2004) avaliaram a biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no osso rádio de oito coelhos. Também tiveram como objetivo, verificar a eficácia deste cimento como possível substituto ósseo. Os coelhos foram separados em dois grupos (GI e GII) referentes aos tempos de observação de doze e vinte e seis semanas pós-operatória. No afã de observar as reações ósseas ao biomaterial, foram feitas análises radiográficas e de densitometria óptica, além de microscopia óptica e eletrônica de varredura. Em seus achados, identificaram osteoclastos ao redor dos implantes na microscopia óptica, o que sugere a reabsorção do mesmo durante o período de observação. No entanto, não foram encontrados osteoblastos no local, o que explica a ausência de neoformação óssea. Na microscopia eletrônica de varredura, verificou-se recobrimento dos implantes por tecido ósseo e ausência de reação inflamatória. Concluíram que o CFC foi biocompatível e parcialmente reabsorvido em vinte e seis semanas de observação.

Stanton; Chou e Carrasco (2004), usaram um cimento ósseo (Norian<sup>®</sup>) que apresenta composição de MCPM, CC e TCP com uma solução tampão de fosfato de sódio com a finalidade de reconstruir um defeito extenso na mandíbula proveniente de um ceratocisto odontogênico em uma criança de dez anos. O tratamento executado foi a enucleação do cisto, extração de todos os dentes envolvidos pela lesão e osteotomia periférica. Após lavagem e irrigação, o CFC foi injetado para preencher o espaço vazio criado. Radiografias pós-operatórias revelaram bom preenchimento pelo cimento. Clinicamente, um quarto do cimento extravasou através da mucosa, na qual os autores atribuíram a uma oclusão traumática pelo excesso de material enxertado. Radiografias panorâmicas sucessivas mostram reabsorções progressivas do cimento e substituição por osso, preservação da forma mandibular, alveolar e altura óssea. Os autores concluíram que o CFC pode ser usado para preenchimento de defeito ósseo extenso e que houve um bom resultado clínico e integração radiológica após segmento do caso por três anos, demonstrando ser biocompatível e osseocondutivo. Lançam ainda a hipótese de que o cimento provê suporte estrutural para o periósteo circundante e previne o crescimento de tecido mole com a ação semelhante ao uso de uma membrana em regeneração tecidual guiada.

Okada; Maruyama e Hayashi (2004) descreveram uma técnica simples para rinoplastia usando cimento de fosfato de cálcio em deformidades nasais. O biomaterial foi usado para corrigir uma deformidade óssea nasal traumática em um paciente e para rinoplastia para aumento nasal após a remoção de implantes em dois pacientes. Os pacientes tiveram acompanhamento, no mínimo de seis meses e no máximo por vinte e seis meses. Os resultados estéticos foram satisfatórios e sem complicações. O cimento

utilizado foi Biopex (Mitsubishi Pharma Corporation, Japan). A pasta endurece em dez a quinze minutos. Os autores relataram que a técnica demonstrou ser fácil e segura; e que parece ser um material satisfatório em rinoplastia. Concluíram que o cimento foi osseocondutivo e biocompatível, capacitou a realização de cirurgias menos invasivas, tornando-o um material promissor como substituto ósseo.

Ratier et al. (2004) acrescentaram tetraciclina ao CFC injetável (cementek®) e avaliaram seu comportamento para aplicações odontológicas através de microscopia eletrônica de varredura, análise radiográfica, e avaliação do tempo de presa. A tetraciclina hidrocloreídrica não permitiu a maturação do cimento e teve que ser tratada com solução de sulfato de cálcio, permitindo assim, a maturação do cimento para hidroxiapatita. O tempo de presa, contudo, foi maior e as propriedades mecânicas diminuíram. Estudo em fluido celular mostrou que a tetraciclina foi lançada em uma maneira contínua. Deste modo, após seis dias, 60% do antibiótico foi liberado dentro do meio circundante. Estudo da cinética da liberação mostrou que o cimento preparado permitiu progressiva liberação da tetraciclina.

Soresen et al. (2004) avaliaram o cimento de fosfato de cálcio, Ceredex™, como um candidato a ser usado como carreador para rhBMP-2 em um modelo de defeito com limitado potencial osteogênico. Criaram-se defeitos periodontais de tamanho crítico (6 mm) bilateralmente, em seis cães labradores machos. Assim, três animais receberam rhBMP-2/Ceredex (rhBMP em 0.20 e 0.40mg/ml) no quadrante contralateral da mandíbula e nos três animais remanescentes foram usados Ceredex sem rhBMP-2 (controle). Os animais foram eutanizados em doze semanas após a cirurgia para análises histológicas e histomorfométricas. O osso recém formado era uma mistura de osso lamelar e osso neoformado em tecido fibrovascular, circunscrito relativamente por grandes porções de

biomaterial residual. Lesões inflamatórias foram associadas à limitada formação óssea em alguns locais. Da perspectiva periodontal, locais que receberam rhBMP-2/Ceredex™ exibiram aumento da formação do cimento comparado com o controle, mas sem ligamento periodontal orientado funcionalmente e aumento de anquilose e reabsorção radicular. Nos locais controles houve perda do biomaterial Ceredex e limitada formação óssea. Concluíram que o estudo não aprovou o uso do Ceredex™ combinado ao rhBMP-2 para indicações periodontais, apesar de parecer ser um material carreador promissor.

Joosten et al. (2004) realizaram estudo *in vitro* e *in vivo* para investigar a efetividade do cimento de hidroxiapatita (CHA) como novo sistema carreador no tratamento de osteomielite crônica pós-traumática. O pó do cimento de HA (Biobon®, Biomet Merck, Germany) foi misturado com gentamicina em três diferentes concentrações (16, 32 e 48 mg/g). A liberação da gentamicina foi observada por um período de sessenta dias. Após seis semanas, todos os animais foram sacrificados e realizadas investigações hematológicas, radiológicas, microbiológicas e histológicas. Nos animais tratados com CHA/gentamicina, não houve evidências histopatológicas de infecção. Em todos os outros grupos foram encontrados diferentes estágios de osteomielite crônica. A mistura de CHA com gentamicina na concentração usada não alterou a integridade do cimento. Os testes biomecânicos em relação à força à compressão dos cilindros padrões, não tiveram qualquer diferença significativa entre os cilindros com ou sem antibiótico. Concluindo que o CHA foi considerado um carreador efetivo para antibióticos no tratamento de osteomielite crônica pós-traumática.

Boix et al. (2004) avaliaram através de estudos histológicos e histomorfométricos, a eficácia de um substituto injetável para regeneração óssea em torno de implantes dentários

em alvéolos de extração. Extraíram-se os terceiros e quartos pré-molares mandibulares de três cães beagles. Os septos inter-radulares foram reduzidos cirurgicamente para induzir um defeito ósseo mesial e após este procedimento, foram instalados os implantes de titânio. Do lado esquerdo da mandíbula, um substituto ósseo injetável (IBS) preencheu defeitos ósseos mesiais; este substituto foi obtido por meio da combinação de um polímero e grânulos de cerâmica de fosfato de cálcio bifásica, que é uma mistura de HA e  $\beta$ -TCP. Os defeitos do lado direito foram deixados sem preenchimento como controle. Não foram observadas complicações pós-cirúrgicas. Observações histológicas revelaram formação de osso lamelar em contato com o implante, concluindo que o (IBS) aumentou significativamente a regeneração do osso em volta de implantes imediatamente colocados. Lançam a hipótese que o cimento desenvolvido pode ser uma alternativa a enxertos autógenos ou ROG e ainda propõem uso para aplicações clínicas tais como; preenchimento de alvéolos para preservação da crista alveolar, reconstrução das deficiências ósseas periimplantares ou elevação do seio maxilar.

Wiltfang et al. (2004) apresentaram novo método para reconstrução de defeitos de calvárias causados por trauma ou tumores. A pesquisa consistiu de quarenta e um pacientes. Para reconstrução primária dos defeitos ósseos de cérebro, enxertos divididos de calvária foram usados para cobrir os defeitos. As camadas monocorticais de calvárias foram fixadas com mini-placas de titânio. Defeitos irregulares circundando as regiões transplantadas foram preenchidos com CHA. Em um caso de perda óssea pós-traumática, apenas o uso do CHA foi suficiente para reconstrução do defeito. O tamanho dos defeitos reconstruídos variaram de 68 a 112 mm<sup>2</sup> para reconstruções tumorais; casos de traumas variaram de 54 a 148 mm<sup>2</sup>. O seguimento clínico e radiográfico do pós-operatório foi

realizado por um período de seis meses. Neste ínterim, não foram relatadas complicações cicatriciais. Após trinta e oito meses, as áreas de defeitos reconstruídas estavam estáveis em forma e tamanho, apresentando um excelente contorno ósseo nas áreas cerebrais reconstruídas. Concluíram que o CHA sozinho ou em combinação com enxertos divididos de calvária apresentaram clinicamente resultados estéticos estáveis na reconstrução de defeitos de crânio, enfatizando que o cimento pode ser usado para muitas possibilidades em cirurgia craniofacial.

Ruhe et al. (2004) compararam as propriedades osseointegrativas de um cimento de fosfato de cálcio poroso carregado com proteína óssea morfogenética à esponja de colágeno absorvível (ACS) carregada com rhBMP-2 após a implantação em crânios de cinquenta e quatro coelhos por um período de dez semanas. Para execução do trabalho foram confeccionados discos Calcibon® (Biomet Merck, Darmstadt, Germany) de 8 mm carregados com ou sem 10 µg rhBMP-2 e inseridos em defeitos do mesmo diâmetro. Após o sacrifício dos animais e no momento da retirada dos espécimes, os enxertos estavam totalmente cobertos por periosteio; não foram observados sinais de inflamação ou reação tecidual adversa. Formação óssea pôde ser vista macroscopicamente na maioria dos espécimes. Análises histológicas revelaram excelentes propriedades osseointegrativas do CFC. O cimento manteve sua forma e estabilidade durante o tempo de implantação melhor que ACS, em contrapartida, não manifestou qualquer degradação como ACS. Quantificação dos implantes do CFC mostrou que a formação óssea aumentou significativamente pela administração de rhBMP-2. Os autores concluíram que o CFC poroso é um candidato apropriado como arcabouço para engenharia óssea, pois a formação óssea pode ser melhorada pela liofilização de rhBMP-2 sobre o cimento.

Jansen et al. (2005) descreveram as propriedades do CFC observadas por vários estudos para aplicações ortopédicas e odontológicas. Os CFC têm força compressiva inerente após a presa final que pode governar sua utilidade. Força compressiva pode ser alterada pela variação da cristalinidade do precipitado formado ou do tamanho da partícula do material usado na fase sólida. Os CFC são insolúveis em pHs neutros e alcalinos; sua porosidade é relatada pela taxa pó-líquido usado no início da mistura. Obviamente, espera-se que um material com uma porosidade alta tenha baixa força à compressão. Os materiais que apresentam força compressiva elevada teriam utilidade em estabilização de fraturas ou implantes metálicos, em cranioplastia, em regiões que requerem uma grande quantidade de suporte de tecido mole. Em contrapartida, os materiais com baixa força à compressão funcionariam igualmente como preenchedores de pequenos defeitos ósseos, como material de preenchimento de canais radiculares ou ainda como método de reconstrução de defeitos periodontais infra-ósseos. Relatam que a presa do cimento é baseada na supersaturação de um líquido com os sais de cálcio e fosfato para formar um precipitado. Quando o cimento torna-se diluído demais pelos fluidos do corpo, a precipitação dos cristais fracassa ao se emaranhar e então o cimento não endurece. Para prevenir a desintegração do cimento, adição de promotores de coesão, tais como: alginato de sódio, derivados de celulose ou derivados de quitosana, podem ser usados no futuro para aperfeiçoar as propriedades do cimento. Em relação à reabsorção do cimento, os autores relatam que é vagarosa e levar anos para o cimento desaparecer completamente. Se o defeito ósseo não necessita de uma segunda cirurgia, como exemplo, colocação de implantes metálicos, os autores não vêem isto como problema, apesar de que a substituição completa por osso pelo paciente ainda é preferida. O modo de reabsorção observado é semelhante a do osso hospedeiro pela

junção osteoclasto-osteoblasto (osseotransdução). Enfocam sobre a integridade da interface osso-biomaterial que permanece intacta, tanto que não parece ocorrer afrouxamento do implante. Isto é especialmente importante quando o cimento é usado como preenchedor de diastases em volta de implantes metálicos. Caso contrário, a reabsorção do material pode significar em diminuição da estabilidade do implante com aumento do risco de perda. A reabsorção do cimento tem sido mostrada como dependente do contato com o osso hospedeiro, tanto que osteoclastos podem reabsorver o material. Ao aumentar o contato da superfície do cimento com o osso pode ter um efeito positivo sobre o comportamento de reabsorção.

Baseado na hipótese que o DCPD-CFC degrada por uma combinação de dissolução e decomposição celular, sendo substituído por novo osso, enquanto o CFC-HA degrada mais vagarosamente e, principalmente, através de mecanismo de reabsorção celular, Theiss et al. (2005) tiveram como objetivo descrever as reações teciduais ósseas e celulares após a implantação de um CFC (chronOS™ Inject), e seu mecanismo da decomposição, levando em consideração diferentes localizações e características dos defeitos. Para realização do experimento, foram realizados dois tipos de defeitos: um em côndilos e outro em tíbias de oito ovelhas fêmeas. As amostras ósseas de cada dois animais foram coletadas após duas, quatro, seis e oito semanas e avaliadas por investigações macroscópicas, radiológicas, histológicas e histomorfométricas. Em ambos os defeitos a matriz brushita foi reabsorvida mais rápido que os grânulos de  $\beta$ -TCP. A reabsorção do cimento ocorreu através [1] dissolução por líquido extracelular com desintegração do cimento e formação de partículas, e [2] fagocitose das partículas do cimento por macrófagos. Conseqüentemente, deve ser assumido que combinação de

dissolução, com degradação do cimento, formação de partícula seguida pela fagocitose através de macrófagos são responsáveis pela reabsorção do cimento investigado. Os cimentos de brushita, embora exibam uma mais baixa força à compressão que os cimentos baseados em apatita, sua mais rápida substituição por novo osso formado pode ser benéfica dependendo da indicação.

Kuemmerle et al. (2005) avaliaram a conveniência de um novo cimento de fosfato de cálcio (cronOS<sup>TM</sup> Inject) para cranioplastia e compararam os resultados com um CFC disponível comercialmente (Biobon<sup>®</sup>). Foram criados defeitos (23 mm de diâmetro) nos ossos parietais bilateralmente em ovelhas. Realizaram-se avaliações macroscópicas, radiológicas, histológicas e histomorfométricas em intervalos de dois, quatro e seis meses. A neoformação óssea foi moderada e não diferiu significativamente entre os biomateriais. A reabsorção do cimento ocorreu de forma centrípeta no grupo cronOS<sup>TM</sup> Inject ocorrendo, de maneira significativa mais rápido que o processo de degradação do Biobon<sup>®</sup>. A implantação do cronOS<sup>TM</sup> Inject foi associado com a mais alta taxa de formação de tecido fibroso. A reabsorção do cimento foi mediada por macrófagos no grupo cronOS<sup>TM</sup> Inject, enquanto osteoclastos foram predominantemente os tipos celulares envolvidos na degradação do Biobon<sup>®</sup>. Encontraram osteoblastos adjacentes ao cimento residual em ambos os grupos. Segundo os autores, os cimentos demonstraram propriedades osseocondutivas, boa biocompatibilidade e reabsorção; mas nenhum preencheu satisfatoriamente os largos defeitos de crânio, devido a alta taxa de formação de tecido fibroso e insuficiente regeneração óssea. Os resultados indicam que na presente formulação, os cimentos testados não são inteiramente satisfatórios para cranioplastia.

Gomez et al. (2005) apresentaram a experiência clínica do uso de CFC (Norian® SRS) em cirurgias reconstrutivas pediátricas no hospital de La Paz, Madrid. A escolha deste material, em detrimento ao uso de placas e parafusos de titânio, deve-se ao fato que o cimento não interferiria no crescimento craniofacial. Foram tratados cinco pacientes com má formação craniofacial diferentes. Relatou-se que um paciente sofreu deiscência de sutura com subsequente infecção do material, enquanto que as outras cirurgias lograram bons resultados. Os autores revelam que estes cimentos não devem ser enxertados em campos infectados, tampouco em locais em que o osso circunvizinho não é viável e áreas sujeitas à carga. Outras indicações são: metabolismo de cálcio anormal, doença óssea metabólica, anormalidades imunológica e em locais com feridas com cicatrização atrasada. O trabalho teve seguimento de vinte e um meses e neste período o cimento não mostrou sinais de reabsorção; assim como não houve perda do contorno, oferecendo aos pacientes uma melhor aparência estética. Concluindo que o Norian® SRS pode ser uma alternativa no tratamento de pacientes pediátricos com diversas malformações craniofaciais.

### 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo da presente pesquisa foi investigar clínica e histologicamente o efeito osseocondutivo do Cimento de Fosfato de Cálcio à base no  $\alpha$ -fosfato tricálcico em alvéolos pós-exodontia em humanos.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Material Permanente

1 kit cirúrgico da marca Conexão<sup>1</sup>; 1 motor para instalação dos implantes<sup>2</sup>; 1 contra-ângulo redutor de 1/16<sup>3</sup>; 1 contra-ângulo redutor de 1/256<sup>3</sup>; 1 jogo de instrumental cirúrgico<sup>4</sup>; 1 bomba à vácuo para sucção<sup>5</sup>;

#### 4.1.2 Material de Consumo

Foram utilizados 26 implantes da marca Conexão de hexágono externo<sup>6</sup>; 50 pares de luvas estéreis para cirurgião e auxiliar<sup>7</sup>; 60 pacotes com compressas estéreis<sup>8</sup> ;

---

<sup>1</sup> Conexão sistema de prótese- São Paulo- Brasil

<sup>2</sup> Aseptico Model Aeu-707, Woodinville, U.S.A

<sup>3</sup> Anthogyr, FRANCE

<sup>4</sup> Duflex © São Paulo- Brasil

<sup>5</sup> NSR Ind. Com. Resp Ltda, Barueri, SP –Brasil

<sup>6</sup> Conexão sistema de prótese- São Paulo- Brasil

<sup>7</sup> Embramac®, Bangalore – Índia

60 lâminas de bisturi nº-15 C<sup>9</sup>; 60 fios de sutura VYCRIL<sup>®</sup> 4.0<sup>10</sup>; 20 kits de campos cirúrgicos descartáveis<sup>11</sup>; 30 sugadores cirúrgicos estéreis descartáveis<sup>12</sup>; 30 sugadores plásticos descartáveis esterilizados em autoclave<sup>13</sup>; VITALE 12L<sup>13</sup>; solução à base de clorexidina<sup>14</sup>; 20 embalagens de soro fisiológico estéril<sup>15</sup>; 40 escovas descartáveis estéreis embebidas em clorexidina a 2%<sup>16</sup>

#### 4.2 Atendimento aos Princípios da Bioética

Esta pesquisa obedeceu às normas preconizadas pela Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS sobre diretrizes e normas reguladoras de pesquisa envolvendo seres humanos e também à Declaração de Helsinque, tendo sido aprovada pela Comissão de Ética da Universidade de Santo Amaro, UNISA sob número 86/2002 (anexo A). A pesquisa foi prospectiva, comparativa, controlada e randomizada. Suas fases clínicas (cirurgias, acompanhamento pós-operatório e avaliações clínicas) foram executadas em pacientes atendidos nas clínicas do Curso de Mestrado em Implantodontia da UNISA. Após a avaliação dos pacientes, forneceram-lhes informações detalhadas a respeito dos procedimentos que seriam realizados (Carta de Informação - anexo C) e a respeito do termo

---

<sup>8</sup> Polar Fix Mat. Hosp. Ltda, Ribeirão Pires, SP – Brasil

<sup>9</sup> SurgiBlade<sup>™</sup> Miami, Florida –U.S.A

<sup>10</sup> Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP – Brasil

<sup>11</sup> STERILENO, Sorocaba, São Paulo, Brasil

<sup>12</sup> Indusbello®, Ind., Odont. LTDA, Londrina, Pr- Brasil

<sup>13</sup> Fiesta DFL, Jacarepaguá, RJ- Brasil

<sup>14</sup> Periogard®, Colgate Palmolive. São Paulo, Brasil

<sup>15</sup> Lab. Sanobiol Ltda, Pouso Alegre, Mg- Brasil

<sup>16</sup> Sommacare L.M FARMA LTDA, São José dos Campos- Brasil

de consentimento (anexo B). Os dados da anamnese foram colocados em uma ficha clínica (anexo D).

### **4.3 Seleção dos Pacientes**

#### **4.3.1 Critérios de Inclusão**

Os pacientes foram selecionados de acordo com os seguintes critérios:

- Indicação de no mínimo duas exodontias na mesma arcada, para posterior reabilitação com implantes dentários;
- Entendimento do propósito da pesquisa e aceitação em assinar o termo de consentimento;
- Ausência de infecções orais ou sistêmicas;
- Ausência de periodontite;
- Bom estado de saúde geral.

Para atender aos dois últimos quesitos os candidatos foram submetidos à avaliação por anamnese geral e específica; assim como por exames pré-operatórios que consistiram em hemograma completo, coagulograma e glicemia.

### 4.3.2 Critérios de Exclusão

- Ausência de entendimento dos fatores de inclusão acima mencionados;
- Desistência, abandono ou falta de colaboração;
- Gravidez;
- Pacientes tabagistas;
- Ocorrência de qualquer estado de enfermidade que pudesse interferir nos procedimentos propostos;
- Diabéticos;

Desta forma, a amostragem foi constituída por dez pacientes com idades entre vinte e sessenta e cinco anos, de ambos os sexos, totalizando 24 alvéolos (Quadro 1), levando-se em conta os critérios de seleção e exclusão estabelecidos e a voluntariedade do paciente.

### 4.3.3 Delineamento do Estudo

Dez pacientes sofreram no mínimo, duas intervenções cirúrgicas para exodontia (0 dias) e uma segunda cirurgia para instalação de implantes (120 dias), sendo que no primeiro procedimento cirúrgico o alvéolo foi preenchido com o cimento de fosfato de cálcio e o pós-operatório acompanhado até o momento da instalação dos implantes.

Portanto a amostra foi constituída por 24 alvéolos (n=24), sendo doze usados como testes (preenchidos com CFC) e doze como controles (coágulo sangüíneo). A escolha dos alvéolos teste e controle foi determinada por sorteio.

AMOSTRA	TESTE	CONTROLE
Paciente 1	13	22
Paciente 2	25	14
Paciente 3	21	12
Paciente 4	22	11
Paciente 5	15	25
Paciente 6	23	25
Paciente 7	21	12
Paciente 8	24	14
Paciente 9	44	34
Paciente 9	43	33
Paciente 9	42	41
Paciente 10	35	33

**Quadro 1** - Distribuição dos dentes com necessidade de exodontia de acordo com cada paciente.

#### 4.4 Biomaterial Sintético

O biomaterial utilizado foi o cimento de fosfato de cálcio baseado no  $\alpha$ -fosfato tricálcico (85%) com adição de sulfato de cálcio (15%)<sup>17</sup>. As amostras esterilizadas por Raios Gama 25 KGy<sup>18</sup>.

<sup>17</sup> Confeccionado no laboratório de Biomateriais (Biomat) do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>18</sup> EMBRARAD São Paulo- SP Brasil.

#### 4.5 Procedimento Pré-Cirúrgico

Os pacientes selecionados foram submetidos a radiografias iniciais (periapicais e panorâmicas) para localização exata de restos radiculares, número de raízes, presença de lesões infecciosas. A este exame adicionou-se a percepção clínica para planejamento da técnica cirúrgica a ser executada.

#### 4.6 Procedimento Cirúrgico

Após anti-sepsia extra e intra-oral (com digluconato de Clorexidina a 0,12%), fez-se uso do anestésico indicado para bloqueio da condução nervosa da área a ser operada. Iniciou-se a fase cirúrgica propriamente dita; fez-se uso do periótomo<sup>19</sup> para a desinserção dos ligamentos periodontais do elemento dentário a ser removido de forma atraumática (Figura 1). Consequente, procedeu-se à remoção do elemento dentário do seu alvéolo, utilizando-se preferencialmente, de um fórceps apropriado para cada grupo de dentes, evitando manobras intempestivas, que pudessem levar à fratura da crista óssea alveolar, pois além da perda óssea considerável, esta agiria com corpo estranho prejudicando o período de cicatrização (Figura 1b). O interior do alvéolo foi curetado e irrigado com solução

---

<sup>19</sup> FRIADENT Mannheim Germany

salina para remoção de possíveis lesões infecciosas e tecidos necróticos que poderiam prejudicar o processo de reparação tecidual.

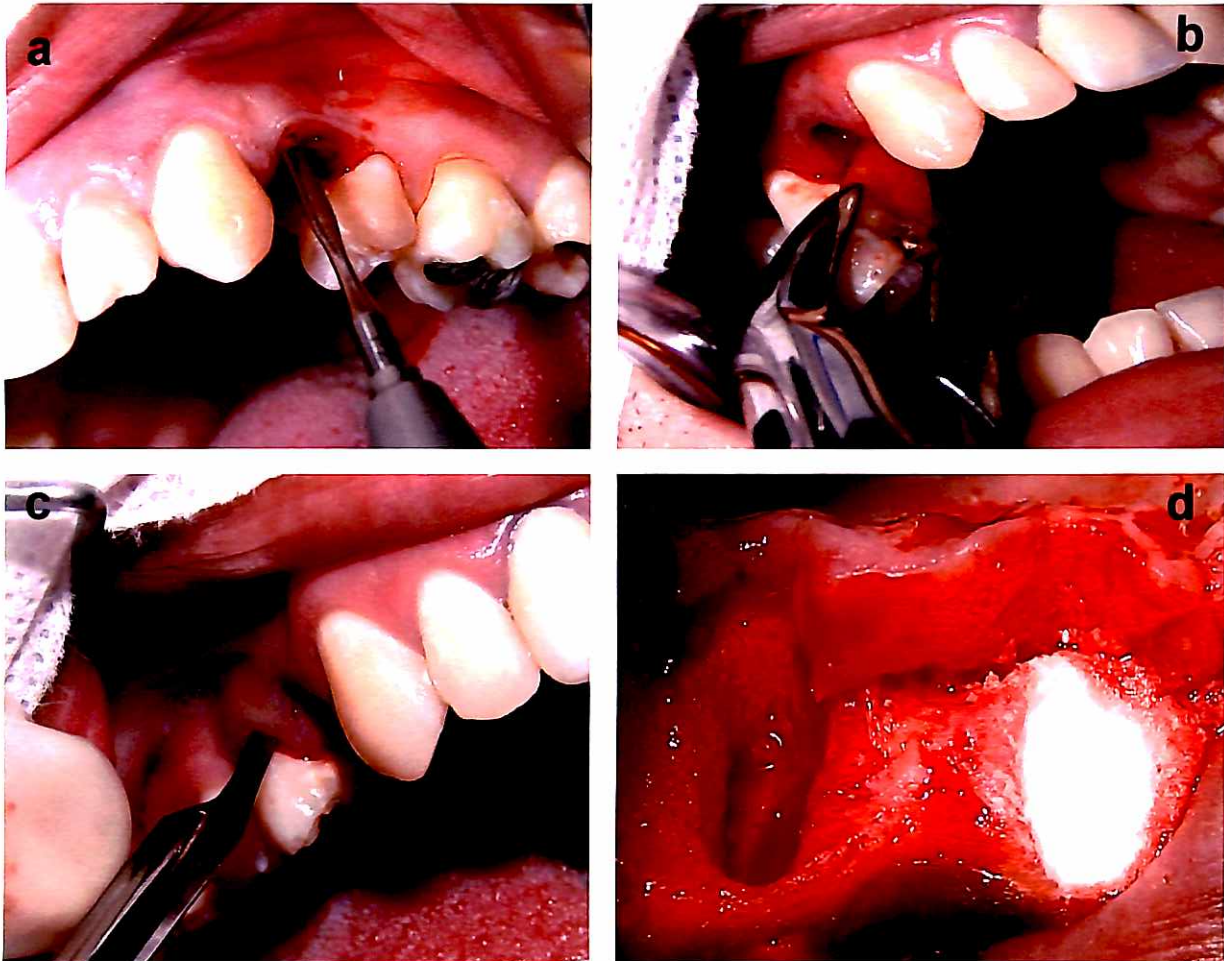
Em seguida, realizou-se retalho de espessura total na face vestibular do rebordo alveolar, iniciando-se com uma incisão intra-sulcular nas áreas dos dentes adjacentes e relaxantes verticais (Figura 1c), que se estenderam a partir da gengiva marginal além do limite mucogengival. A opção por este tipo de incisão teve como objetivo melhorar a visibilidade do campo operatório, principalmente para garantir o fechamento total da ferida cirúrgica, proporcionando uma cicatrização por primeira intenção.

Após o divulsionamento do retalho, procederam-se as mensurações alveolares propostas. A distância da borda coronária do osso alveolar vestibular à borda coronária do osso lingual ou palatina foram mensuradas com uma sonda periodontal padronizada<sup>20</sup>. E em profundidade por inserção da sonda no interior do alvéolo. E se presentes, imperfeições ósseas foram regularizadas para que houvesse posteriormente boa cooptação dos bordos cirúrgicos. Para prevenir a dissolução do material implantado, os alvéolos testes foram irrigados e tamponados com gaze estéril para reduzir sangramento.

Após o preparo do alvéolo, o Cimento de Fosfato de Cálcio foi manipulado com solução aquosa de composto de pega baseado no  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . O pó e o líquido foram manipulados segundo recomendações do fabricante. A fase líquida foi derramada em um recipiente de vidro, enquanto foi acrescentada a fase sólida em  $t=0$ .

---

<sup>20</sup> Hu-Friedy PCPUNC15BR Y4



**Figura 1** - Etapas cirúrgicas a) Desinserção fibras periodontais; b) Remoção do dente de seu alvéolo; c) Incisão intra-sulcular; d) Demonstração clínica alvéolos teste e controle.

A mistura foi manipulada com espátula por trinta segundos para se obter um mistura homogênea. O cimento foi inserido moldando-se à loja cirúrgica (Figura 1d ) permitindo endurecer por volta de sete minutos sem qualquer manipulação durante este período.

Fechamento primário foi executado em todos os casos experimentais por manipulação cirúrgica dos retalhos e assim, os tecidos moles reposicionados e imobilizados

por meio de suturas com fio reabsorvível 4.0, evitando a contaminação do meio e possível extravasamento do material.

Os pacientes receberam instruções dos cuidados preconizados pós-exodontia e procedimentos complementares de higienização. Foram prescritos Antibióticos<sup>21</sup>, Analgésicos<sup>22</sup>, antiinflamatórios<sup>23</sup> e Colutórios bucais<sup>24</sup> no pós-operatório. Próteses removíveis provisórias foram aliviadas e reembasadas<sup>25</sup>.

#### 4.7 Registros Clínicos

Observações dos locais dos experimentos com relação à saúde mucogengival, manutenção da linha de incisão, exposição do enxerto, dor, edema e evidência de necrose tecidual ou infecção foram feitas durante o pós-operatório imediato até a remoção de sutura com oito dias, quinzenalmente durante o primeiro mês e mensalmente até a segunda cirurgia para instalação dos implantes.

---

<sup>21</sup> Amoxicilina 500mg

<sup>22</sup> Lisador® gotas FARMASA

<sup>23</sup> Tilatil® 20 mg Roche

<sup>24</sup> Periogard® Colgate Palmolive, São Paulo, Brasil

<sup>25</sup> Densell Dentusoft Indústria Argentina

Os parâmetros usados para averiguação dos sinais e sintomas descritos acima seguiram os seguintes critérios:

Dor:

Pós-operatório até oito dias – Quanto à ausência ou presença de dor. Se presente, avaliada quanto à intensidade, ou seja leve, moderada ou severa.

Acompanhamento quinzenal e mensal - Presença de dor ao toque e ao uso de próteses ou mesmo espontaneamente.

Exposição do Enxerto: Quanto à presença ou ausência

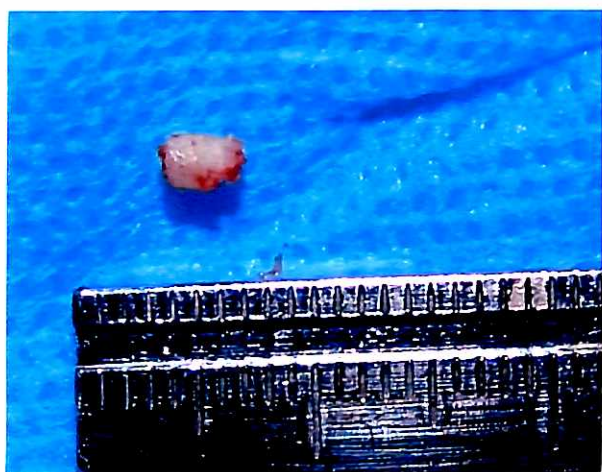
Infecção: Quanto à presença ou ausência

#### **4.8 Avaliações Macroscópicas**

Após 120 dias, no momento da instalação dos implantes e após o descolamento dos retalhos, os alvéolos foram avaliados clinicamente quanta a visibilidade macroscópica do cimento, quantidade de preenchimento do material, reabsorção e integração do cimento, neoformação óssea e sinais de inflamação.

## 4.9 Biópsia

Aproveitou-se o instante cirúrgico da instalação dos implantes<sup>26</sup>, após quatro meses para efetuar a biópsia em quatorze alvéolos. Vale ressaltar que novas mensurações alveolares foram executadas neste momento cirúrgico, antes da coleta do material nos alvéolos teste e controle (Figura 7). Para remover a quantidade óssea necessária, fez-se uso de trefina cirúrgica<sup>27</sup> de pequeno diâmetro (2mm) correspondente às brocas iniciais de fresagem em Implantodontia. A coleta do material para as biópsias foi realizada pelo mesmo cirurgião. As amostras ósseas coletadas foram fixadas em solução de Boin e enviadas para procedimento histológico (Figura 3).



**Figura 2 –** Mensuração espécime



**Figura 3 -** Espécime fixada em Boin.

<sup>26</sup> Conexão Sistema de prótese São Paulo- Brasil

<sup>27</sup> Derig, São Paulo, Brasil

Após a coleta dos espécimes, e quando possível, aproveitando as perfurações realizadas pela broca trefina, foram realizadas as inserções de implantes osseointegráveis, escolhidos pelo planejamento radiográfico prévio e de acordo com a quantidade de osso disponível em cada área. A estabilidade primária dos implantes foi alcançada na região apical dos alvéolos originais.

#### **4.10 Histologia**

O preparo das peças foi realizado no Laboratório de Histologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro.

Após terem permanecido dois dias em solução de Boin, os fragmentos ósseos foram embebidos em solução desmineralizadora de EDTA a 10% tamponado, por aproximadamente quatro semanas. O controle da desmineralização foi feito pela técnica do estilete. Posteriormente à desmineralização, prepararam-se as amostras para estudos histológicos, procedendo-se a inclusão do material conforme as etapas abaixo:

a) desidratação: executada em séries crescentes de álcool (70%, 80%, 90%, 95%, absoluto I, absoluto II, absoluto III), com um tempo de trinta minutos em cada banho;

b) diafanização: procedida em três banhos de xilol, com duração de quinze minutos cada;

c) infiltração: foram realizados três banhos em parafina a 60°C, com duração de vinte minutos cada. Após o último banho, o material foi incluído em parafina.

Em seguida, os blocos de parafina foram cortados em micrótomo, em cortes transversais seriados com 6µm de espessura, fixados em lâminas de vidro e mantidos em estufa por três horas. Após este procedimento, foram corados com HE.

Todas as amostras previamente codificadas foram enviadas para análise em duplo cego, sem identificação das amostras com relação ao grupo a que pertenciam e analisadas por dois examinadores que não estavam cientes de quais sítios eram teste e controle.

#### **4.11 Método Estatístico**

Para a análise estatística dos dados obtidos por meio das mensurações alveolares foi aplicado o teste t de student, duas amostras em par para médias, com nível de significância de 0,05.

Para a análise histológica em duplo cego, realizou-se descrição percentual por meio de gráficos.

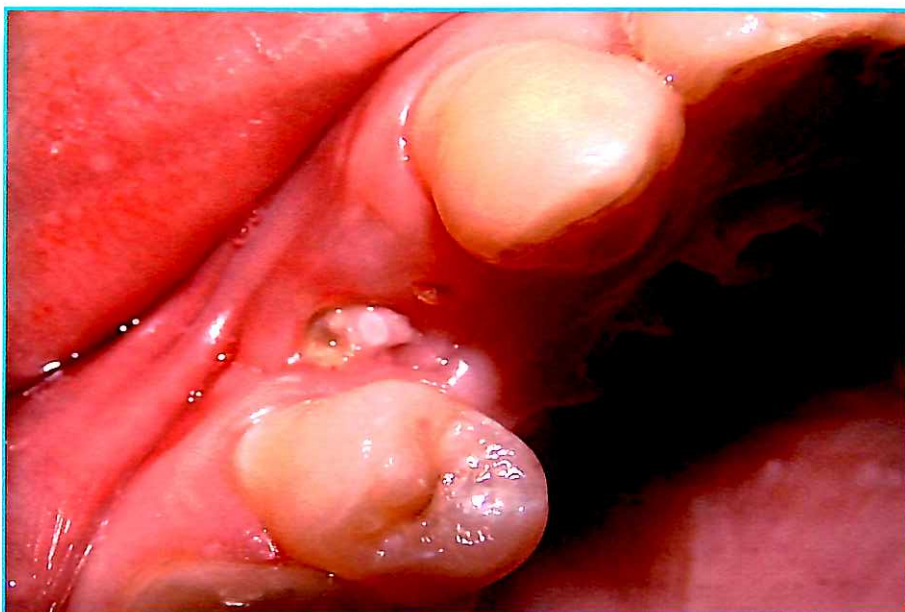
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Acompanhamento Clínico

O pós-operatório foram realizados aos três, oito, 15, 30, 90 e 120 dias. Deste período, nas áreas de enxertia destaca-se a presença de edema nos pacientes P1, P3, P6 e P7 que regrediu por volta do terceiro ao quarto dia de pós-operatório. Não houve relatos de outros sinais clínicos de processo inflamatório associado ao edema. Houve exposição do enxerto nos pacientes P5, P6, P8 e P9 (Figura 4). O paciente P1 relatou dor ao toque na área enxertada durante o terceiro e quarto mês (Tabela 1). Os alvéolos controles não apresentaram clinicamente, sinais de inflamação ou infecção, como também não houve registros de deiscência de sutura ou alveolite do pós-operatório imediato até o segundo tempo cirúrgico.

**Tabela 1** - Demonstrativo dos resultados clínicos do pós-operatório imediato ao quarto mês dos alvéolos testes enxertados com CFC.

	PÓS-OPERATÓRIO PACIENTES CFC						
	3 dias	8 dias	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
DOR						P1	P1
EDEMA	P1;P3;P6;P7						
DEISCÊNCIA SUTURA		P9					
EXPOSIÇÃO ENXERTO		P9	P6;P8;P9	P6;P8;P9	P6;P8;P9	P6;P8;P9	P5;P8;P9
INFECCAO							



**Figura 4 - Exposição clínica do CFC.**

## **5.2 Avaliação Radiográfica**

Após o período cicatricial proposto (120 dias), foram solicitadas tomadas radiográficas (tomografia computadorizada e panorâmica) para planejamento das fixações osseointegradas. A área enxertada com CFC apresentou-se radiograficamente distinguível por mais alta radiopacidade que o osso com o formato do alvéolo original (Figuras 5 e 6)

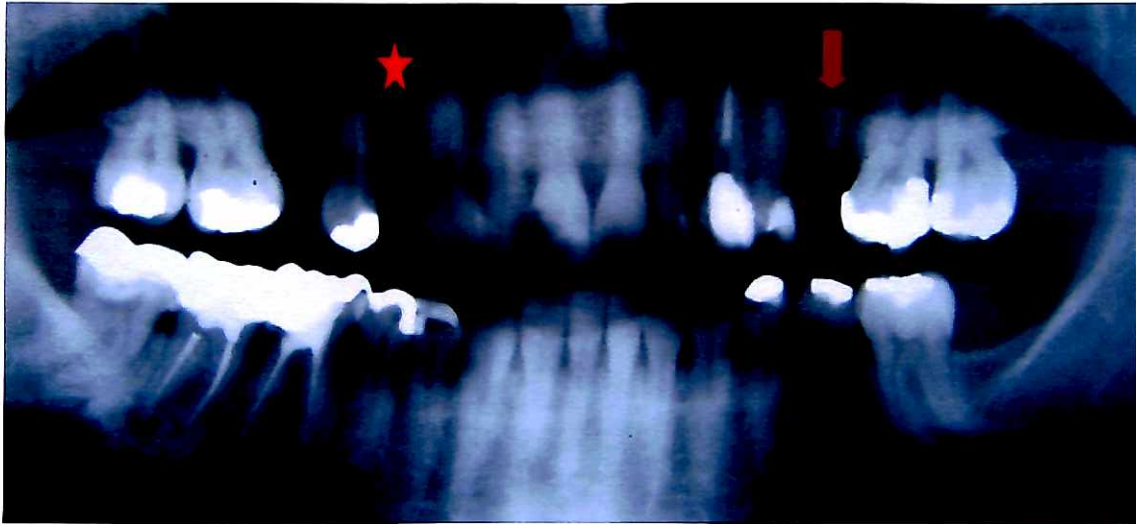


Figura 5 - Radiografia panorâmica após quatro meses do enxerto com CFC. Destaque aos alvéolos teste (seta) e controle(estrela) .

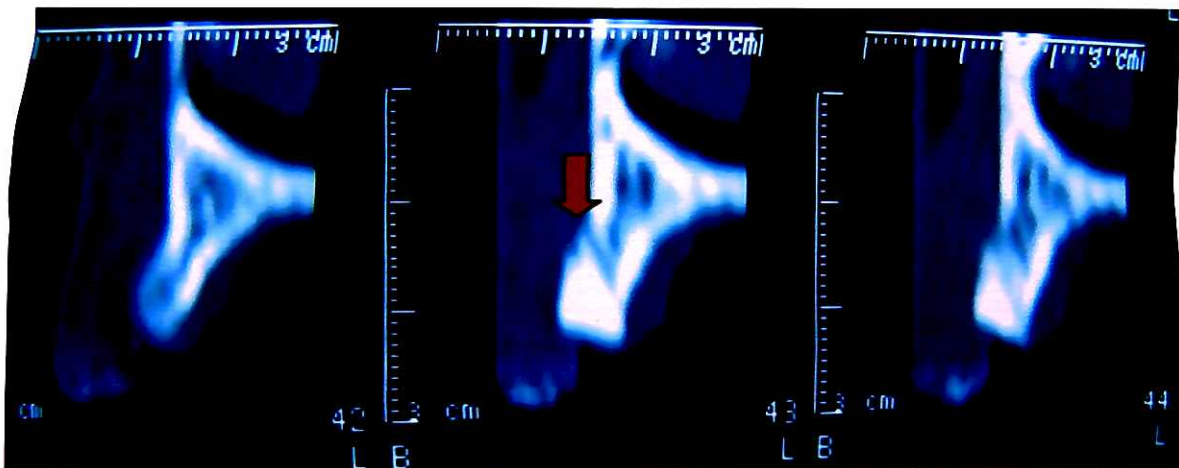


Figura 6 - CFC visível no corte 42 da tomografia computadorizada.

## 5.3 Avaliação Macroscópica

### 5.3.1 Mensurações Clínicas Alveolares

As mensurações clínicas alveolares foram executadas como descrita previamente, ou seja, a distância da borda coronária do osso alveolar vestibular à borda coronária do osso lingual ou palatina foram mensuradas com uma sonda periodontal padronizada, no instante cirúrgico após a remoção do dente de seu alvéolo e previamente à instalação dos implantes (Figura 7).

**Tabela 2 - Medidas tomadas durante a primeira e segunda Cirurgia dos alvéolos controles**

MENSURAÇÕES ALVÉOLOS CONTROLE		
	1ª cirurgia	2ª cirurgia
Alvéolo 1	5 mm	4mm
Alvéolo 2	9 mm	7mm
Alvéolo 3	6 mm	5 mm
Alvéolo 4	6 mm	3 mm
Alvéolo 5	10 mm	7 mm
Alvéolo 6	10 mm	7 mm
Alvéolo 7	6 mm	3 mm
Alvéolo 8	10 mm	5 mm
Alvéolo 9	6 mm	4 mm
Alvéolo 10	6 mm	4 mm
Alvéolo 11	7 mm	3.5 mm
Alvéolo 12	8 mm	4 mm

**Tabela 3 - Medidas tomadas durante a primeira e segunda cirurgia dos alvéolos teste.**

MENSURAÇÕES ALVÉOLOS TESTE		
	1a cirurgia	2a cirurgia
Alvéolo 1	6,5 mm	5 mm
Alvéolo 2	9 mm	9 mm
Alvéolo 3	9 mm	7 mm
Alvéolo 4	6 mm	6 mm
Alvéolo 5	10 mm	8 mm
Alvéolo 6	8 mm	7 mm
Alvéolo 7	9 mm	8 mm
Alvéolo 8	9,5 mm	6 mm
Alvéolo 9	6 mm	5 mm
Alvéolo 10	7 mm	5 mm
Alvéolo 11	8 mm	6 mm
Alvéolo 12	7 mm	6 mm



**Figura 7 - Mensurações após reabertura e previamente à instalação do implante.**

### 5.3.2 Análise estatística

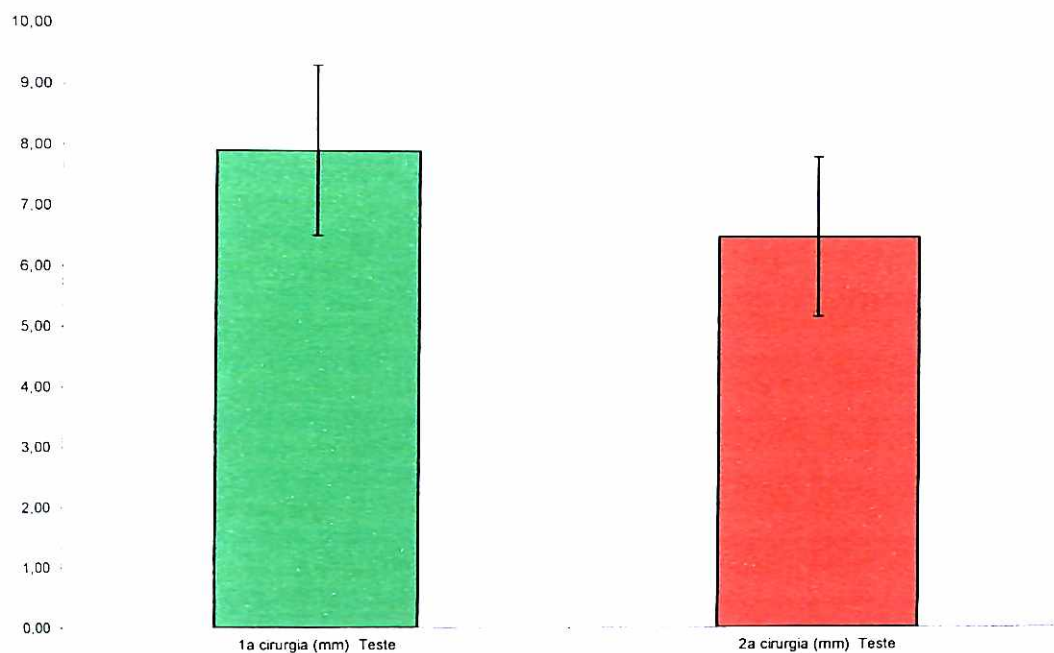
Os resultados obtidos nesse estudo levaram em conta as diferenças significativas entre as médias analisadas em que foram aplicados os testes t de student para os parâmetros: Controle e controle (1ª e 2ª cirurgia); teste e teste (1ª e 2ª cirurgia); teste e controle (1ª e 2ª cirurgia) devidamente expressos nas tabelas e gráficos a seguir.

**Tabela 4:** Teste-t: duas amostras em par para médias

	<i>1a cirurgia (mm) Teste</i>	<i>2a cirurgia (mm) Teste</i>
Média	7,92	6,50
Variância	1,95	1,73
Desvio Padrão	1,40	1,31
Observações	12	12
Correlação de Pearson		0,74
Gl		11
Stat t		5,04
Valor p		0,000376179
t crítico bi-caudal		2,20

Analisando a tabela, podemos observar que existe diferença significativa entre as médias analisadas para  $p < 0,05$ , sendo que  $p = 0,000376179$

A seguir apresentamos o gráfico onde podemos observar e evidenciar a normalidade entre a primeira e segunda cirurgia (alvéolos testes-coágulo).



**Gráfico 1** - Gráfico de normalidade entre as primeiras e segundas cirurgias (alvéolos testes - CFC)

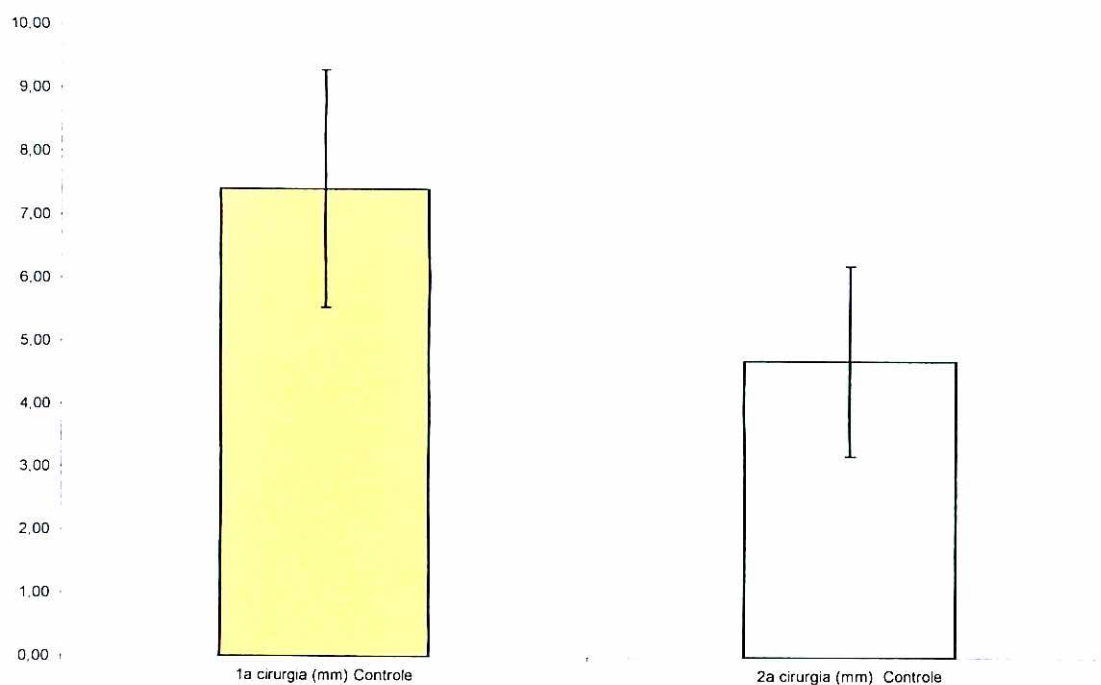
Existe diferença significativa entre a primeira e segunda cirurgia, valor médio é menor na segunda cirurgia. Valor  $p = 0,000376179$  (1ª cirurgia teste=7,92; 2ª-cirurgia teste=6,50)

**Tabela 5** - Teste-t: duas amostras em par para médias

	1a cirurgia (mm) Controle	2a cirurgia (mm) Controle
Média	7,42	4,71
Variância	3,54	2,29
Desvio Padrão	1,88	1,51
Observações	12	12
Correlação de Pearson		0,78
GI		11
Stat t		7,97
Valor p		0,0000067
t crítico bi-caudal		2,20

Analisando a tabela 5, podemos observar que existe diferença significativa entre as médias analisadas para  $p < 0,05$ . Sendo que  $p = 0,0000067$

A seguir apresentamos o Gráfico 2, onde podemos observar e evidenciar a normalidade entre as primeiras e segundas cirurgias dos alvéolos controle.



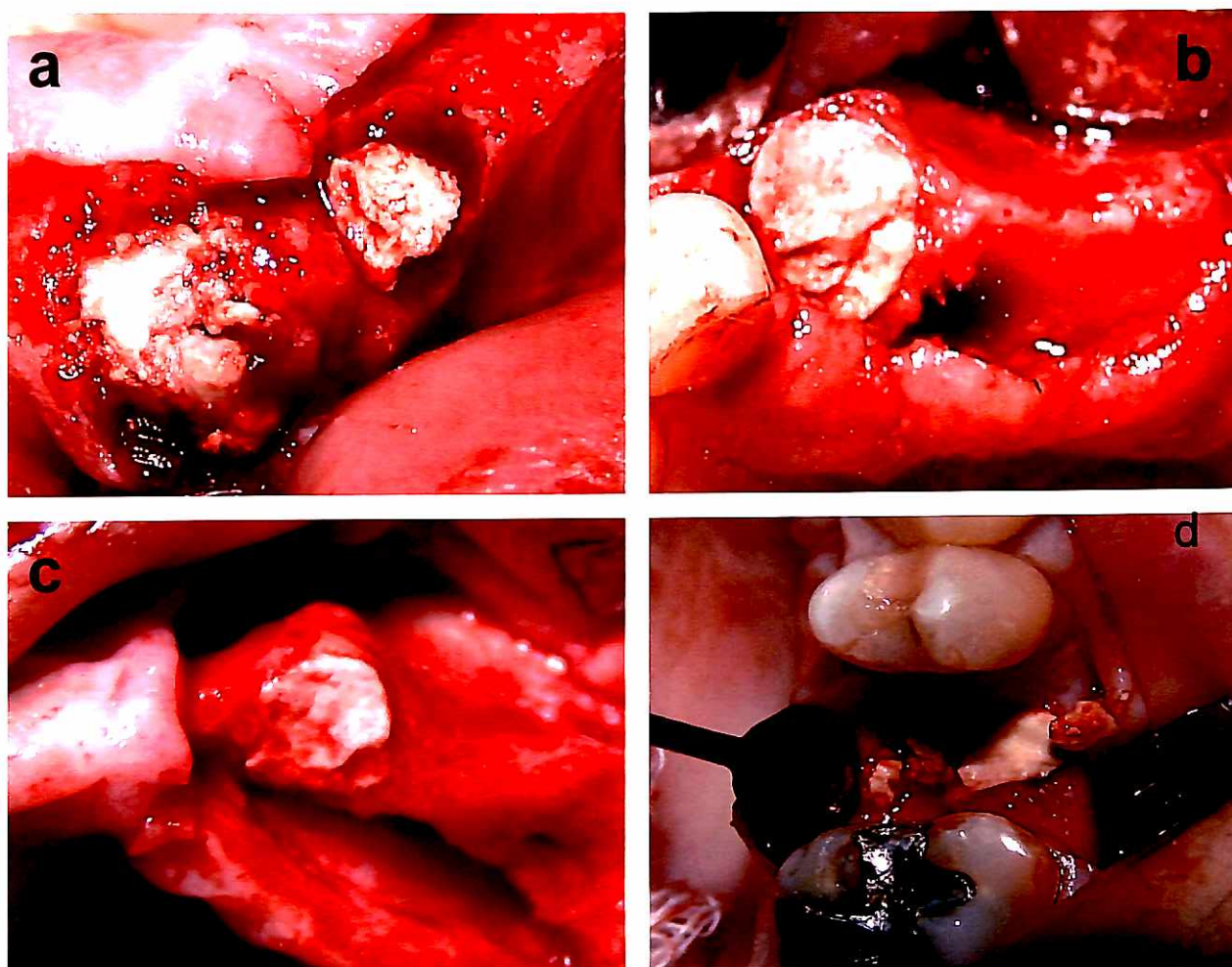
**Gráfico 2** - Gráfico de normalidade entre as primeiras e segundas cirurgias (alvéolos controle-coágulo)

Existe diferença significativa entre a primeira e segunda cirurgia. Valor médio é menor na segunda cirurgia. Valor  $p=0,0000067$  ( 1ª cirurgia controle=7,42; 2ª cirurgia controle=4,71).

### 5.3.3 Descrição Macroscópica dos Espécimes

No instante cirúrgico da instalação dos implantes e realização das biópsias, observou-se que o cimento de fosfato de cálcio enxertado permanecia *in situ* aparentemente sem reabsorção (Figuras 11,13,14). Alguns espécimes apresentavam a forma original do alvéolo (Figuras 13,14) e outras amostras mostravam colapso na região cervical do alvéolo, apresentando forma fragmentada (Figuras 11,12). O cimento de fosfato de cálcio esteve circundado por uma cápsula fibrosa em quase todos os espécimes observados, variando apenas em espessura (Figuras 12,14,15).

Ressalta-se que a maior parte do cimento no alvéolo tornou-se envolto por cápsula fibrosa, impedindo conexão direta ao osso em sua parte média e cervical. Na região apical do alvéolo, porém, após a remoção do cimento e cápsula fibrosa remanescente, macroscopicamente tornou-se visível o contato do osso ao cimento.



**Figura 8** - Aspectos macroscópicos alvéolos testes a) CFC remanescente envolto por cápsula fibrosa (seta) b) CFC remanescente envolto por cápsula fibrosa c) CFC remanescente apresentando forma original do alvéolo d) CFC remanescente apresentando colapso ou fragmentação do cimento na região cervical).

### 5.3.4 Análise Histológica

Quatorze espécimes foram enviados para a análise histológica, sendo sete correspondente aos alvéolos controles e sete aos alvéolos testes. Apresentavam forma cilíndrica, onde eram estudadas as características da região central do osso alveolar por varredura longitudinal, utilizando-se microscópio óptico.

Para análise da osseocondutividade, utilizamos os critérios de reparação do tecido ósseo, a fim de comparar os grupos teste e controle, fez-se necessário criar parâmetros de reparação óssea para determinar o nível de desenvolvimento em que se encontrava o tecido ósseo alveolar em reparação.

O primeiro parâmetro analisado foi a presença e intensidade de osteoblastos e osteoclastos. A presença e o nível de atividade destas células refletem diretamente o grau de maturação óssea, pois a partir da quarta semana, inicia-se o processo de reabsorção e reposição óssea.

Finalmente, avaliou-se a presença ou ausência de osso imaturo e osso lamelar. Conforme Evian et al. (1982), por volta da décima segunda a décima sexta semana, o trabeculado ósseo está maduro com pouca matriz osteóide e osteoblastos.

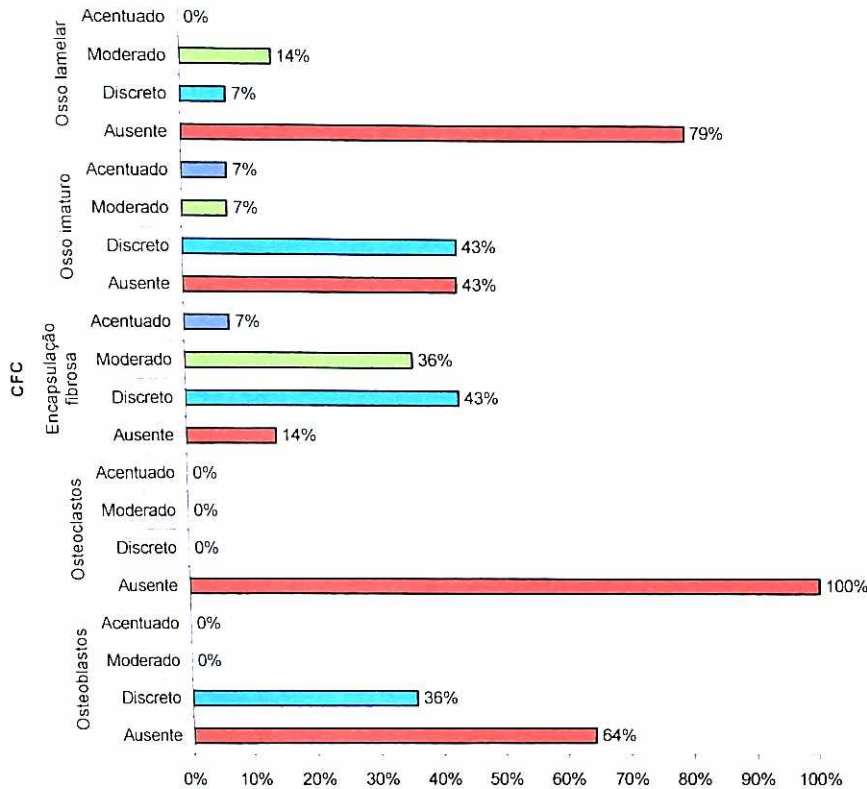
Na análise histológica foram divididos escores de zero a três para quantificar os parâmetros analisados acima descritos (Tabela 7).

**Tabela 6** - Escores utilizados na quantificação dos parâmetros analisados para verificação do reparo ósseo em 120 dias (atividade de osteoblastos e osteoclastos, fibrose, presença de osso imaturo e presença de osso lamelar).

Escores	Análise qualitativa
0	Ausente
1	Discreto
2	Moderado
3	Acentuado

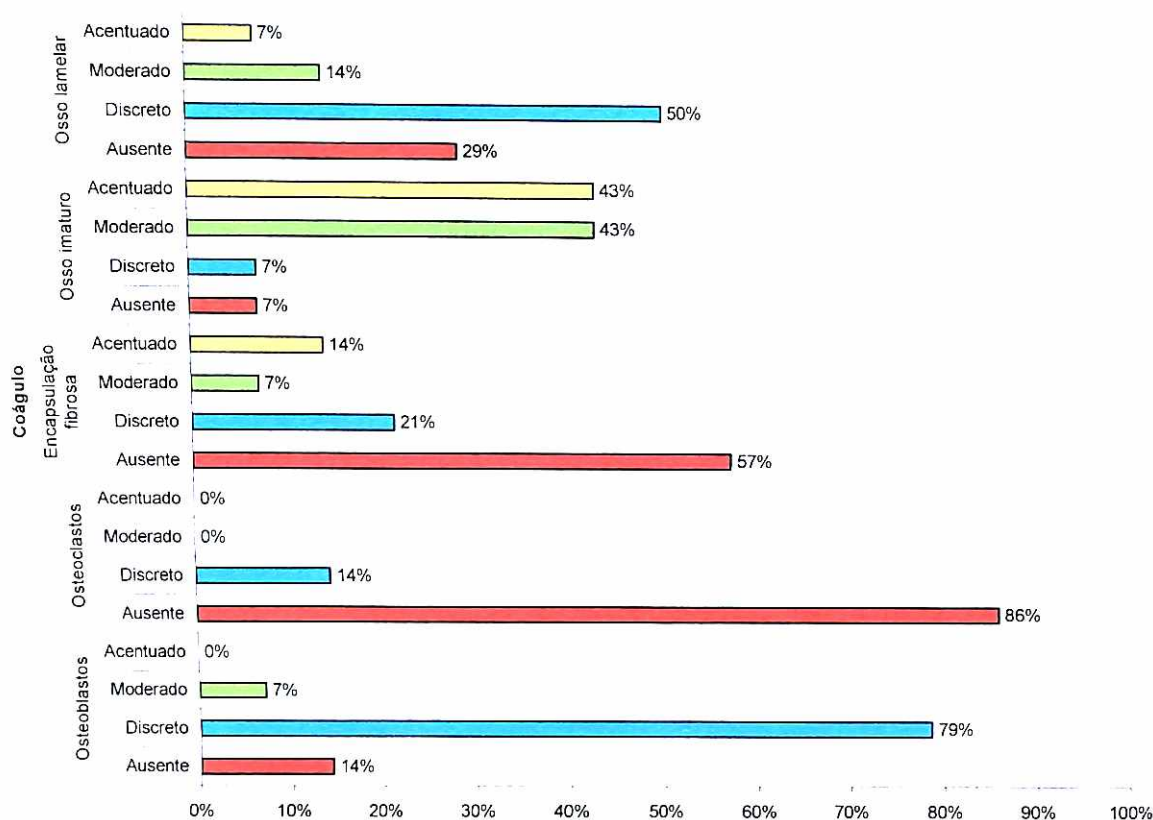
### 5.3.5 Análise do Reparo Ósseo Alveolar

Estes resultados são advindos das avaliações duplo cego das leituras das lâminas dos alvéolos teste e controle previamente codificadas e avaliadas segundo os escores previamente estabelecidos. Ficha para avaliação histológica das amostras codificadas (duplo cego)- Apêndice B. Os resultados encontrados pelos dois examinadores foram expressos graficamente por meio de uma descrição percentual.



**Gráfico 3** - Histológico percentual dos escores encontrados para cada parâmetro analisado (CFC).

Da análise do gráfico representando os alvéolos testes preenchidos com CFC, ressalta-se a concordância dos avaliadores quanto a ausência de osteoclastos e discreta presença de osteoblastos. Detectou-se cápsula fibrosa (tecido conjuntivo fibroso) nas amostras, com presença variando entre discreta a acentuada. E ainda, a neoformação óssea esteve ausente em sua quase totalidade.



**Gráfico 4** - Histológico percentual dos escores encontrados para cada parâmetro analisado (coágulo)

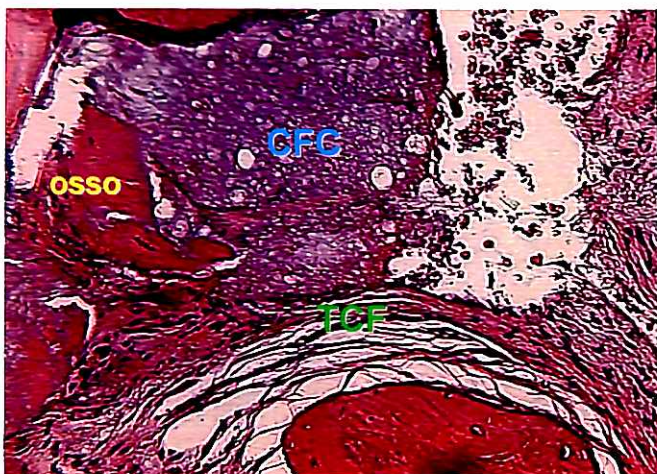
Da análise do gráfico representando os alvéolos testes preenchidos com coágulo, ressalta-se a presença discreta osteoblastos, porém percentualmente em maior quantidade que os alvéolos testes. Relata-se presença discreta de osteoclastos. Cápsula fibrosa esteve predominantemente ausente e a formação óssea pôde ser melhor indentificada percentualmente, apesar da não demonstração evidente dos resultados quanto a presença de osso imaturo e osso lamelar.

### 5.3.6 Análise Histológica



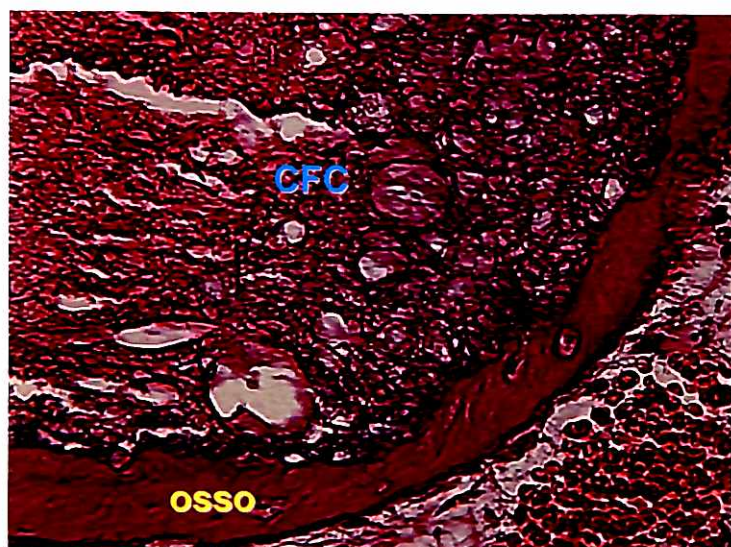
**Figura 9** Amostra CFC

Fotomicrografia demonstrando o aspecto amorfo e acelular da amostra do CFC. Destaque ao que se distingue como microporos no cimento. Material corado com HE e aumento 10x.



**Figura 10** CFC, tecido conjuntivo fibroso e osso

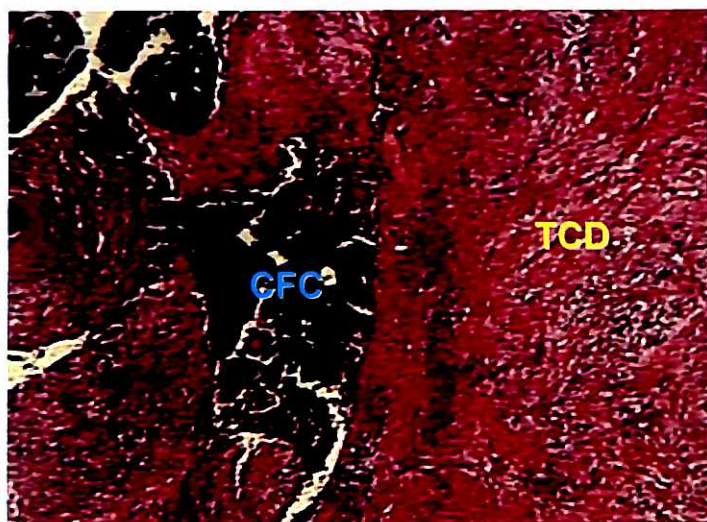
Observa-se nesta fotomicrografia, remanescente de CFC em contato tanto com osso quanto com tecido conjuntivo fibroso (TCF). Material corado em HE e aumento de 10x.



**Figura 11** CFC em contato com osso

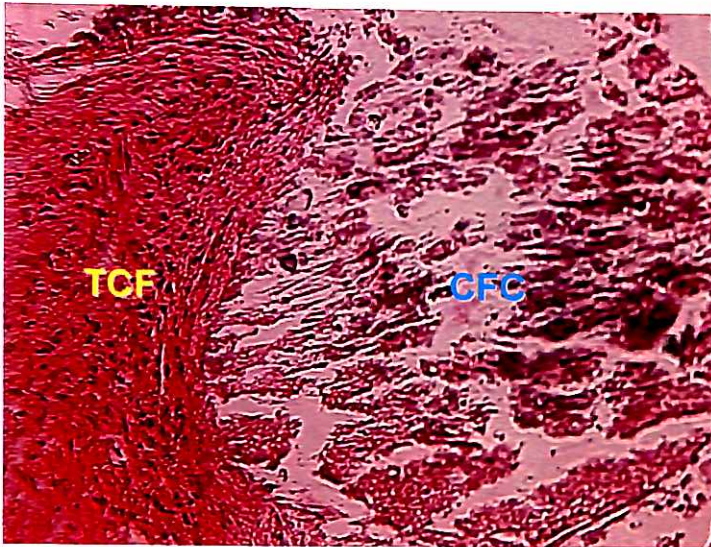
A fotomicrografia demonstra presença de CFC em contato direto com o osso.

Material corado com HE e aumento de 20x.



**Figura 12** CFC envolto por tecido conjuntivo

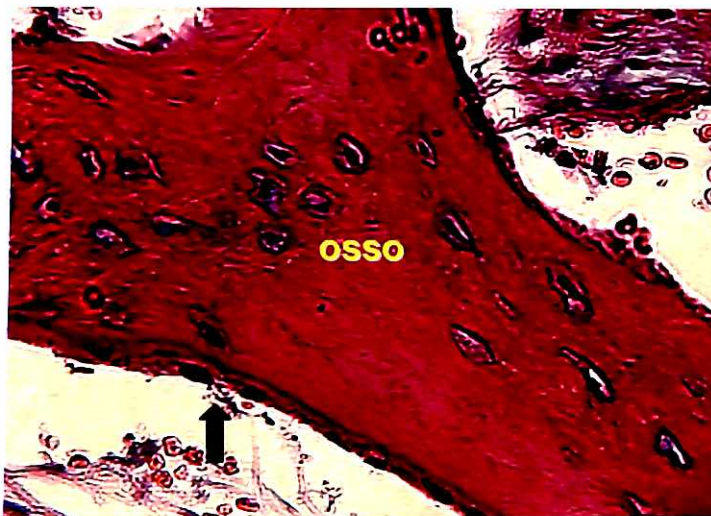
Na fotomicrografia visualizam-se partículas não reabsorvidas do CFC envoltas por tecido conjuntivo denso (TCD). Material corado com HE e aumento de 1,6x



**Figura 13** CFC e tecido conjuntivo fibroso

A fotomicrografia revela o CFC parcialmente envolto por tecido conjuntivo fibroso.

Material corado com HE e aumento de 10x.



**Figura 14** Histológico alvéolo controle

A fotomicrografia demonstra tecido ósseo neofomado no alvéolo controle, e osteoblastos dispostos em fileiras na superfície óssea (seta). Material corado com HE e aumento de 20x.

## 6 DISCUSSÃO

A excelência estética dos implantes osseointegrados instalados tardia ou imediatamente é um dos objetivos cultuados pelos implantodontistas e almejados pelos leigos. Para alcançar tal fim, faz-se necessário entre outros, de suporte ósseo. Suporte este, que é perdido em magnitude maior após a perda dentária. Kan e Rungcharassaeng (2001), inferem que 23% da reabsorção alveolar ocorre nos primeiros seis meses. Especificamente para a região posterior, Misch (2000) relata perda óssea alveolar de 50% no mesmo período.

Os resultados estatísticos das mensurações alveolares demonstraram que existe diferença significativa no processo de reabsorção alveolar com ou sem enxerto de CFC entre as primeiras e segundas cirurgias. Os resultados das mensurações alveolares encontrados neste estudo demonstraram quantidade de reabsorção substancial logo após quatro meses nos alvéolos controles (36,65%). Sendo assim, torna-se iminente a necessidade de técnicas de enxertia que possibilitem a manutenção do volume do processo alveolar após a perda dentária, evitando assim reconstruções mais complexas e de custo biológico maior.

Com o intuito da preservação do rebordo alveolar prévio à instalação de implantes, os alvéolos testes foram enxertados com o cimento de fosfato de cálcio reconhecido por apresentar propriedades de osseocondutividade, biocompatibilidade e osseotransdutividade.

O presente estudo, contudo, demonstrou que as mensurações da distância vestibulo-lingual encontradas para os alvéolos enxertados com o CFC poderiam ser estatisticamente promissoras por preservar a espessura alveolar, demonstrando reabsorção de 17,92%, entretanto os alvéolos mantiveram o mesmo contorno e espessura inicial porque o material não foi reabsorvido em 120 dias. O material pareceu preencher o alvéolo e prevenir a formação óssea dentro do defeito por atuar com uma barreira física. Esta teoria é suportada pelo fato que os alvéolos não preenchidos apesar de sofrerem reabsorção, apresentaram processo de remodelação demonstrando um osso qualitativamente melhor histológica e clinicamente no instante da estabilização primária dos implantes.

Os resultados da não substituição do CFC por osso após quatro meses neste estudo possivelmente estão relacionados ao fato do material não induzir a adequada atividade osseocondutiva ou, ainda por deslocar do alvéolo, após seu endurecimento como resultado do sangramento local. Kurashina et al. (1998) propuseram que um campo cirúrgico livre do acúmulo de sangue é necessário para prevenir o deslocamento do cimento após seu endurecimento. Como protocolo no nosso estudo, gazes estéreis embebidas em soro fisiológico foram usadas para tamponamento dos alvéolos testes a fim de auxiliar na hemostasia local, porém um campo cirúrgico livre do acúmulo de fluidos idealizado por autores, nem sempre é possível em cirurgias. Desta forma, torna-se contestável a vantagem do CFC de ser moldável e contornável ao defeito no momento da cirurgia; se ele é vulnerável aos fluidos sangüíneos, perdendo rapidamente a forma anatômica.

Em revisão de literatura, Moore; Graves e Bain (2001) explicam que durante o período de conversão ou de presa, o CFC deve ser mantido livre do acúmulo de fluidos evitando sua dissolução, tendo como resultante, a presa do material na forma particulada. O

mais comum problema no trans e pós-operatório associado com procedimentos de enxertia são a imediata, parcial ou completa, esfoliação do material enxertado. Kurashina et al. (1998), relatam a perda do material do enxerto em quatro espécimes do experimento devido à inabilidade do estancamento sanguíneo no momento da implantação do material. Jansen et al. (2005), inferem que a reação de presa é baseada na supersaturação de um líquido com os sais de cálcio e fosfato para formar um precipitado. Quando o cimento torna-se diluído pelos fluidos do corpo, a precipitação dos cristais fracassa ao se emaranhar e então o cimento não endurece. O material, conseqüentemente, pode ser perdido através do local da ferida. Estas afirmações poderiam explicar a taxa elevada de exposição do enxerto de CFC ao meio bucal nesta pesquisa, e conseqüentemente, esfoliação do material através da ferida cirúrgica relatada por alguns pacientes.

Ao contrário das partículas de cerâmica de fosfato de cálcio, que se fundem firmemente após sinterização à altas temperaturas, as partículas de apatita no CFC são emaranhadas uma a outra. Assim, a força de ligação das partículas de apatita é fraca e as partículas podem facilmente se destacar do corpo do cimento, especialmente após a sua dissolução. O lançamento de numerosas partículas dentro dos tecidos circundantes pode produzir um ataque de macrófagos na vizinhança do implante e a demora na ossificação pode ser causada pela produção de fatores pelos macrófagos que afetam os osteoblastos (FRAYSSINET et al., 2000). Se partículas de CFC afetam adversamente a função dos osteoblastos, como este estudo sugere, a formação óssea é atrasada até as partículas do cimento serem completamente reabsorvidas. Nesta pesquisa, relata-se a presença de osteoblastos nos alvéolos testes, porém de forma discreta, contribuindo assim, com a escassa atividade osteogênica nestes locais em relação aos alvéolos controle.

Assim, a osseocondutividade do cimento fosfato de cálcio não pôde ser demonstrada clínica e histologicamente neste estudo, pois quando implantado em alvéolos de extração o osso não se conectou ao CFC diretamente; quase sempre houve intervenção de camada conjuntiva fibrosa. Miyamoto et al. (1999) descreveram que a reabsorção do cimento é dependente do contato com o osso hospedeiro. Interessante relatar que a maior parte do cimento no alvéolo tornou-se envolto por cápsula fibrosa, impedindo conexão direta ao osso em sua parte média e cervical, fato este, confirmado histologicamente. Na região apical do alvéolo, porém, após a remoção do cimento remanescente e cápsula fibrosa, macroscopicamente tornou-se visível o contato do osso ao cimento, demonstrada de igual forma em análise histológica em alguns espécimes. Talvez a presença dos fluidos biológicos conduziu o cimento localizado nas áreas mais expostas do alvéolo à desintegração, formação de macropartículas e conseqüentemente encapsulação.

Assim, as reações adversas observada em alguns pacientes nos primeiros estágios do pós-operatório com o CFC encontrada neste estudo cogitou-se, ser a causa, o fracasso da reação de presa. Concorda-se com Ooms et al. (2003b) quando afirmam que a reação de presa não é estabelecida pelas seguintes razões: a transformação reduzida da HA ou fragmentação do cimento por contato prematuro com sangue ou variação do pH. Miyamoto et al. (1999), relataram que a severidade da reação de tecido mole é dependente da característica de presa do cimento. E a ocorrência de resposta imunológica ou inflamatória do tecido hospedeiro ao material implantado também levaria a um atraso na nova formação óssea (THEISS et al., 2005).

Em geral, cicatrização de ferida pode ser dividida em duas fases: a fase inflamatória e a fase de reparo; a presença de um implante promove um contínuo estímulo inflamatório.

Como resultado, a fase inflamatória pode ser prolongada. A mudança na escala de tempo e extensão da cicatrização da ferida é determinada pela biocompatibilidade do material. Junto às características químicas do material solúvel (íons ou moléculas) e insolúvel (fragmentos) agentes liberados pelo material implantado podem interferir no processo de cicatrização da ferida (OOMS et al., 2003b). Propriedades geométricas do implante como forma, assim como, o tamanho e topografia de superfície afetam a reação tecidual (JANSEN et al., 2005; MIYAMOTO et al., 1999). Grânulos grandes de cerâmicas de fosfato de cálcio, por exemplo, tornam-se encapsuladas por tecido fibroso (MIYAMOTO et al., 1999; OOMS et al., 2003b). Em contraste, pequenas partículas evocam uma intensa reação inflamatória localizada, caracterizada pela presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas (COMUZZI; MIYAMOTO et al., 1999; OOMS; JANSEN, 2002; YUAN et al., 2000). Pequenos fragmentos insolúveis separados da massa total podem ativar macrófagos. Eles em troca, liberam citocinas pró-inflamatórias, como fatores de crescimento de fibroblastos e fatores de crescimento derivado de plaquetas que influenciam comportamento dos fibroblastos; estas citocinas podem também induzir o espessamento da cápsula fibrosa (OOMS et al., 2003b).

As apresentações macroscópicas do CFC nos alvéolos testes demonstraram padrões distintos. Alguns espécimes apresentaram a forma original do alvéolo e outras, aparência fragmentada, entretanto a presença de cápsula fibrosa foi uma constante quase que invariável nesta pesquisa, levando a crer que condições locais ou processos físico-químicos indesejáveis tiveram efeitos deletérios sobre a presa do cimento testado. Analogamente, em sua pesquisa, Frayssinet et al. (2000) relataram que o CFC estudado foi envolto por cápsula fibrosa demonstrando superfície altamente irregular e rugosa a que atribuíram à degradação do material no momento da presa.

Estudos não têm revelado que estes materiais causam reações de corpo estranho ou outras formas de respostas inflamatórias crônicas (OOMS et al., 2003b; RUHÉ et al., 2004; THEISS et al., 2005; WILTFANG et al., 2004). Ocasionalmente, contudo, é descrita uma desfavorável cicatrização óssea do CFC, como caracterizada por encapsulação fibrosa e presença de células inflamatórias (FRAYSSINET et al., 2000; MYAMOTO et al. 1999; OOMS et al., 2003b). Corroborando, desta forma, os resultados clínicos e histológicos apresentados neste presente trabalho. Vale ressaltar ainda, que a presença de encapsulação fibrosa é uma tendência natural do sistema imune para isolar substâncias estranhas (TANAG; YANG; HOSOKAWA, 2004). E a extensão da reação inflamatória e a espessura da cápsula fibrosa circundando o implante, é uma indicação disponível da biocompatibilidade do material testado. Parece haver, entretanto, uma correlação entre a taxa de encapsulação e a taxa de reabsorção, pois este processo tenderia a diminuir a magnitude da biodegradação (OOMS et al., 2003b). Presume-se que a ocorrência de tais reações surgem devido ao uso de cimentos ácidos ou suplementos de aditivos para aperfeiçoar as propriedades clínicas do cimento (OOMS et al., 2002).

Segundo Frayssinet et al. (2000) a reação de pega do cimento é obtida através de uma reação ácido-base entre um pó e um líquido. Esta resposta de presa pode levar a uma modificação físico-química imediata do ambiente resultando, em particular, a uma dramática diminuição do pH no local implantado. O pH baixo durante a presa pode ser outro motivo para a presença de reação de corpo estranho, que por sua vez levaria a uma diminuição do processo de reabsorção do material *in situ*. Logo, problemas relacionados à compatibilidade podem surgir da liberação de ácidos dentro do tecido circundante. Desta forma, o pH do meio em que o CFC está inserido também pode afetar a reabsorção do material, pois os

CFC são relativamente indissolúveis em soluções neutras ou alcalinas e prontamente solúveis em soluções ácidas (CHOW; MARKOVIC; TAKAGI, 2003; JANSEN et al., 2005). Sabe-se que o processo de presa continua por várias semanas até que a força do material aumente sobre o mesmo período. Isto indica que modificações iônicas continuam a ocorrer no microambiente em torno do implante por algum tempo (FRAYSSINET et al., 2000).

Ainda não são totalmente elucidados os mecanismos de biodegradação do cimento de fosfato de cálcio, contudo, presume-se que a reabsorção ocorre por dois mecanismos: um é o processo solução mediada em que o material do implante dissolve em um meio fisiológico, outro é um processo mediado por células (osteoclastos, células gigantes) em que ocorre a fagocitose. Conseqüentemente, Segundo Lu et al. (2002); Ooms et al. (2003b), a biodegradação dos CFC é um processo de dissolução associado a um processo celular.

De igual relevância, Lu et al. (2002), acrescentam que a degradação celular dos biomateriais de fosfato de cálcio pode ser mediada por osteoclastos, células gigantes multinucleadas, monócitos e macrófagos. Segundo Ooms et al. (2002) osteoclastos estão associados à reabsorção do cimento. A degradação do cimento de fosfato de cálcio pode também ser processada por macrófagos (THEISS et al., 2005). Assim inferimos que os tipos de células envolvidas na degradação do CFC diferem entre a variedade do cimento usado. Conforme Ooms et al (2002) geralmente, para a rápida degradação do cimento, macrófagos e células gigantes são os tipos de celulares envolvidos; e isto contrasta com a reabsorção do cimento que leva meses, ou anos, que são reabsorvidos por osteoclastos. No entanto, histologicamente, por meio das análises em duplo cego, não foram visualizados osteoclastos ou quaisquer tipos celulares que estivessem relacionados à reabsorção do CFC no presente estudo.

Este trabalho difere do estudo preliminar, utilizando a mesma composição do cimento como preenchedor de alvéolos previamente à instalação de implantes. O estudo preliminar apresentou apenas um diferencial, que foi a utilização de membrana de colágeno sobre o cimento espatulado e inserido no alvéolo. Neste presente trabalho experimental, optou-se pela eliminação desta membrana, uma vez que os trabalhos de Shirakata et al. (2002) e Stanton; Chou e Carrasco (2004) descreveram que o cimento atuaria como a uma barreira (membrana) como as utilizadas em terapia de regeneração tecidual guiada. Tornando-se a priori, desnecessário a sua utilização.

Contudo, faz-se mister futuras investigações, a fim de exaurir as dúvidas correntes sobre a biocompatibilidade e osseocondutividade expostas com a presente composição do cimento, e assegurar indicações precisas para sua utilização. Desta forma, avaliar se condições locais como: presença exacerbada de fluidos no momento cirúrgico, alterações do pH do material ou do meio, bem como condições de fabricação ou armazenamento do material influenciariam negativamente sobre os resultados apresentados pelo CFC nesta pesquisa.

## 7 CONCLUSÕES

- Baseado nas condições experimentais utilizadas neste estudo, conclui-se que o cimento testado não demonstrou efeito osseocondutivo.
- Histologicamente, os alvéolos controles demonstraram processo de remodelação óssea superior aos alvéolos preenchidos com o CFC.
- Reações clínicas adversas estiveram associadas aos alvéolos testes no pós-operatório imediato até o segundo tempo cirúrgico, em detrimento aos alvéolos controles que demonstraram padrão clínico de normalidade.

REFERÊNCIAS<sup>28</sup>

AMLER, M. H. Age factor in human alveolar bone repair. **J. Oral Implantol.**, Abington, v. 19, n. 2, p. 138-42, 1993

\_\_\_\_\_. The lag phase factor in bone healing and suggested application to marrow grafting. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 16, n. 6, p. 617-27, Nov. 1981.

BECKER, W.; BECKER, B. E.; CAFFESSE, R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 65, n.12, p. 1128-33, Dec. 1994.

BOIX, D. et al. Alveolar bone regeneration for immediate implant placement using an injectable bone substitute: an experimental study in dogs. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 75, n. 5, p. 663-71, May 2004.

BROWN, G. D. et al. Hydroxyapatite cement implant for regeneration of periodontal osseous defects in humans. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 69, n. 2, p. 146-57, Feb. 1998.

BYRD, H. S.; HOBAR, P. C.; SHEWMAKE, K. Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hydroxyapatite granules. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 15-22, Jan. 1993.

CAMERINO, C. et al. In vitro effect of a calcium phosphate cement on human osteoblasts. **Bone**, New York, v. 25, n. 1, p. 169, July 1999.

CANCIAN, D. C. et al. Utilization of autogenous bone, bioactive glasses, and calcium phosphate cement in surgical mandibular bone defects in *Cebus apella* monkeys. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 19, n. 1, p. 73-9. Jan-Feb. 2004.

<sup>28</sup> De acordo com a NBR 14724 e NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), 2002. Abreviaturas dos Periódicos segundo "Index to Dental Literature" e SECS (Seriadados em Ciências da Saúde).

CHOW, C. L. Calcium phosphate cements: chemistry and application. **Bioceramics**, New York, v. 11, p. 45-49, Nov. 1998.

\_\_\_\_\_ Calcium phosphate materials: Reactor response **Adv. Dent Res.** Gaithersburg, v.2, n.1,p.181-4, Aug,1988

CHOW, L. C.; MARKOVIC, M.; TAKAGI, S. A dual constant-composition titration system as an in vitro resorption model for comparing dissolution rates of calcium phosphate biomaterials. **J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.**, New York, v. 5, n. 2, p. 245-51, May 2003.

CLAFLIN, R. S. Healing of disturbed and undisturbed extraction wounds. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 23, n. 6, p. 945-959, June 1936.

*CLOCKIE, C. M. et al. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. J. Craniofac. Surg.*, Boston, v. 13, n. 1, p. 111-21, Jan. 2002.

COMUZZI, L.; OOMS, E.; JANSEN, J. A. Injectable calcium phosphate cement as a filler for bone defects around oral implants: an experimental study in goats. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 13, n. 3, p. 304-11, June 2002 .

CORNU, O. H. et al. Tibial tubercle elevation with bone grafts. A comparative study of autograft and allograft. **Arch. Orthop. Trauma Surg.**, v. 114, n. 6, p. 324-9, 1995.

COUTINHO, V. B. **Avaliação clínica e histológica do efeito osseocondutivo do cimento de fosfato de cálcio em alvéolos pós-exodontias.** 2004. 60 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Implantodontia), Faculdade de Odontologia, Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2004.

DELLOYE, C.; CNOCKAERT, N.; CORNU, O. Bone substitutes in 2003: an overview. **Acta Orthop. Belg.**, Bruxelles, v. 69, n. 1, p. 1-8, 2003.

DRIESSENS, F. C. et al. Osteotransductive bone cements. **Proc. Inst. Mech. Eng.**, London, v. 212, n. 6, p. 427-35, 1998.

EVIAN, C. I. et al. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 53, n. 2, p. 81-5., Feb. 1982.

FRAYSSINET, P. et al. Tissue reaction against a self-setting calcium phosphate cement set in bone or outside the organism. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 11, n. 12, p. 811-5, Dec. 2000.

FUJIKAWA, K. et al. Histopathological reaction of calcium phosphate cement in periodontal bone defect. **Dent. Mater. J.**, Tokyo, v. 14, n. 1, p. 45-57, June 1995.

GADALETA, J. S.; SAPIESZKO, S. R.; ERBE, M. E. In vivo evaluation of a novel calcium phosphate cement for use in repair and reconstruction of bone tissue. **Bioceramics**, New York, v. 11, p. 435-438, Nov. 1998.

GISEP, A. et al. Resorption patterns of calcium-phosphate cements in bone. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, New York, v. 66, n. 3, p. 532-40, Sept. 2003.

GOMEZ, E. et al. Clinical applications of Norian SRS (calcium phosphate cement) in craniofacial reconstruction in children: our experience at Hospital La Paz since 2001. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 63, n. 1, p. :8-14, Jan. 2005.

GREENWALD, A. S. et al. Bone-graft substitutes: facts, fictions, and applications. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 83A, n. 2 pt 2, p. 98-103, Feb.-Mar. 2001. Suplemento.

HOSHIKAWA, A. et al. Quantitative analysis of the resorption and osteoconduction process of a calcium phosphate cement and its mechanical effect for screw fixation. **Biomaterials**, Guildford, v. 4, n. 27, p. 4967-75, Dec. 2003.

JANSEN, J. et al. Injectable calcium phosphate cement for bone repair and implant fixation. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 36, n. 1, p. 89-95, Jan. 2005.

JOOSTEN, U. et al.. Evaluation of an in situ setting injectable calcium phosphate as a new carrier material for gentamicin in the treatment of chronic osteomyelitis: studies in vitro and in vivo. **Biomaterials**, Guildford, v. 5, n. 18, p. 4287-95, Aug. 2004.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: \_\_\_\_\_. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Cap. 8, p. 136-153.

KAN, J. Y.; RUNGCHARASSAENG, K. Site development for anterior single implant esthetics: the dentulous site. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 2, n. 3, p. 221-6, 228, 230-1, Mar. 2001.

KNABE, C. et al. Evaluation of calcium phosphates and experimental calcium phosphate bone cements using osteogenic cultures. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 52, n. 3, p. 498-508, Dec. 2000 .

KOBAYASHI, M. et al. Effect of bioactive filler content on mechanical properties and osteoconductivity of bioactive bone cement. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 46, n. 4, p. 447-57, Sept. 1999 .

KOMATH, M.; VARMA, H. K. Development of a fully injectable calcium phosphate cement for orthopedic and dental applications. **Bull. Mater. Sci.**, India, v. 26, n. 4, p. 415-422, June 2003.

KUEMMERLE, J. M. et al. Assessment of the suitability of a new brushite calcium phosphate cement for cranioplasty - an experimental study in sheep. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, Stuttgart, v. 33, n. 1, p. 37-44, 2005.

KURASHINA, K. et al. Experimental cranioplasty and skeletal augmentation using an alpha-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement: a preliminary short-term experiment in rabbits. **Biomaterials**, Guildford, v. 9, n. 7-9, p. 701-6, Apr-May. 1998.

\_\_\_\_\_. In vivo study of calcium phosphate cements: implantation of an alpha-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste. **Biomaterials**, Guildford, v. 18, n. 7, p. 539-43, Apr. 1997.

\_\_\_\_\_. In vivo study of a calcium phosphate cement consisting of alpha-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide. **Biomaterials**, Guildford, v. 18, n. 2, p. 147-51, Jan. 1997.

LEE, Y. K.; LIM, B. S.; KIM, C. W. Mechanical properties of calcium phosphate based dental filling and regeneration materials. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 418-25, Apr. 2003.

LEGEROS, R. Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 15, n. 1-201, 1991.

LEMAITRE, J.; MUNTING, E.; MIRTCHI, A. A. Setting, hardening and resorption of calcium phosphate hydraulic cements. **Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.**, Paris, v. 3, n. 3, p. 163-5, 1992.

LEW, D. et al. Use of hydroxyapatite cement to support implants in extraction sockets. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 9, n. 1, p. 45-50, 2000.

LIN, W. L.; MCULLOCH, C. A.; CHO, M. I. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. **Anat. Rec.**, Philadelphia, v. 240, n. 4, p. 492-506, Dec. 1994.

LU, J. et al. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 3, n. 4, p. 408-12, 2002.

MAZOR, Z. et al. The use of hydroxyapatite bone cement for sinus floor augmentation with simultaneous implant placement in the atrophic maxilla. A report of 10 cases. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 1, n. 7, p. 1187-94, July 2000.

MISCH, C. E.; DIETSCH, F. Bone-grafting materials in implant dentistry. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 2, n. 3, p. 158-67, Fall 1993 .

MISCH, E. C. Base lógica dos implantes dentários. In: \_\_\_\_\_. **Implantes Dentários Contemporâneos**. São Paulo: Santos, 2000. cap.1, p.1-12.

MIYAMOTO, Y. et al. Histological and compositional evaluations of three types of calcium phosphate cements when implanted in subcutaneous tissue immediately after mixing. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 48, n. 1, p. 36-42, Spring 1999.

\_\_\_\_\_. Tissue response to fast-setting calcium phosphate cement in bone. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 37, n. 4, p. 457-64, Dec. 1997.

MOORE, W. R.; GRAVES, S. E.; BAIN, G. I. Synthetic bone graft substitutes. **ANZ. J. Surg.**, Melbourne, v. 71, n. 6, p. 354-61, June 2001.

MORAES, P. C. et al. Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no rádio de coelhos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 311-317, jul.-ago, 2004.

MOREIRA, A. et al. Estudo experimental da influência das dimensões dos grânulos de hidroxiapatita na integração óssea. **Acta Ortop. Bras.**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 240-250, out.-dez 2003.

MORIO, D. et al. Short-term bone responses to hydroxyapatite cement. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 11, n. 4, p. 376-82, 2002

NIEDHART, C. et al. Stimulation of bone formation with an in situ setting tricalcium phosphate/rhBMP-2 composite in rats. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, New York, v. 65, n. 1, p. 17-23, Apr. 2003.

OKADA, E.; MARUYANA, Y; HAYASHI, A. Nasal augmentation using calcium phosphate cement. **J Craniofac Surg.**, Boston, v. 15, n. 1, p. 102-5, Jan 2004.

OOMS, E. M. et al. Histological evaluation of the bone response to calcium phosphate cement implanted in cortical bone. **Biomaterials**, Guildford, v. 24, n. 6, p. 989-1000, Mar. 2003.

\_\_\_\_\_. Soft-tissue response to injectable calcium phosphate cements. **Biomaterials**, Guildford, v. 4, n. 5, p. 749-57, Feb. 2003.

\_\_\_\_\_. Trabecular bone response to injectable calcium phosphate (Ca-P) cement. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 61, n. 1, p. 9-18, July 2002.

OHTA, Y. Comparative changes in microvasculature and bone during healing of implant and extraction sites. **J. Oral Implantol.**, Abington, v. 19, n. 3, p. 184-98, 1993.

PIOLETTI, D. P. et al. The effects of calcium phosphate cement particles on osteoblast functions. **Biomaterials**, Guildford, v. 21, n. 11, p. 1103-14, June 2000.

RATIER, A. et al. Behaviour of an injectable calcium phosphate cement with added tetracycline **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 274, n. 1-2, p. 261-8, Apr. 2004.

ROBERTS, W. E. et al. Implants: Bone physiology and metabolism. **CDA J.**, Los Angeles, v. 15, n. 10, p. 54-61, Oct. 1987.

ROBERTS, W. E.; GARETTO, L. P. Fisiologia e metabolismo ósseos. In: MISCH, C. E. **Implantes dentários contemporâneos**. São Paulo: Santos, 2000. cap. 17, p. 225-237.

ROSSA JUNIOR, C. et al. Cytotoxicity of two novel formulations of calcium phosphate cements: a comparative in vitro study. **Artif. Organs**, v. 29, n. 2, p. 114-21, Feb. 2005.

RUHE, P. Q. et al. Bone inductive properties of rhBMP-2 loaded porous calcium phosphate cement implants in cranial defects in rabbits. **Biomaterials**, Guildford, v. 25, n. 11, p. 2123-32, May 2004.

SANTOS, L. A. **Cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica**. 2002. 249 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SANTOS, L. A. et al. Influence of polymeric additives on the mechanical properties of alpha-tricalcium phosphate cement. **Bone**, New York, v. 5, n. 2, p. 99S-102S, Aug. 1999. Suplemento.

SCHMITZ, J. P. et al. Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 7, n. 9, p. 1122-6, Sept. 1999

SENDYK, W. Enxertos ósseos no assoalho do seio maxilar. In: DOTTO, C. A.Ç  
ANTONIAZZI, J. H. **Opinion makers: implantes, cirurgia e prótese**. São Paulo: VM, 2002. p. 92-101.

SHIRAKATA, Y. et al. Histocompatible healing of periodontal defects after application of an injectable calcium phosphate bone cement. A preliminary study in dogs. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 73, n. 9, p. 1043-53, Sept. 2002.

SODEK, J.; MCKEE, M. D. Molecular and cellular biology of alveolar bone. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 24, n. 1, p. 99-126, Oct. 2000.

SORESEN, R. G. et al. Periodontal repair in dogs: evaluation of a bioresorbable calcium phosphate cement (Ceredex) as a carrier for rhBMP-2. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 31, n. 9, p. 796-804, Sept. 2004.

STANTON, D. C.; CHOU, J. C.; CARRASCO, L. R. Injectable calcium-phosphate bone cement (Norian) for reconstruction of a large mandibular defect: a case report. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 62, n. 2, p. 235-40, Feb. 2004.

SUGAWARA, A. et al. Histopathological reactions of calcium phosphate cement. **Dent. Mater. J.**, Tokyo, v. 11, n. 1, p. 11-6, June 1992.

\_\_\_\_\_. Histopathologic reaction of a calcium phosphate cement for alveolar ridge augmentation. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 1, n. 1, p. 47-52, July 2002.

TAKAGI, S.; CHOW, L. C.; ISHIKAWA, K. Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements. **Biomaterials**, Guildford, v. 19, n. 17, p. 1593-9, Sept. 1998.

TANAG, M. A.; YANG, K.; HOSOKAWA, K. Orbital floor reconstruction using calcium phosphate cement paste: an animal study. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 114, n. 7, p. 1826-31, Dec. 2004.

THEISS, F. et al. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. **Biomaterials**, Guildford, v. 26, n. 1, p. 4383-94, July 2005.

WENZ, F. C. et al. In vivo evaluation of resorption, bone matrix osteoclastic and deposition and estimation of osteoblastic activity of biocement D in A cancellous bone defect. **Bioceramics**, New York, v. 11, p. 363-65, Nov. 1998.

WILTFANG, J. et al. Reconstruction of skull bone defects using the hydroxyapatite cement with calvarial split transplants. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 62, n. 1, p. 29-35, Jan. 2004.

YOSHIMINE, Y. et al. Biocompatibility of tetracalcium phosphate cement when used as a bone substitute. **Biomaterials**, Guildford, v. 14, n. 6, p. 403-6, May 1993.

YUAN, H. et al. Tissue responses of calcium phosphate cement: a study in dogs. **Biomaterials**, Guildford, v. 21, n. 12, p. 1283-90, June 2000.

XU, H. H.; EICHMILLER, F. C.; GIUSEPPETTI, A. A. Reinforcement of a self-setting calcium phosphate cement with different fibers. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 52, n. 1, p. 107-14, Oct. 2000.

## ANEXO A - COMITÊ DE ÉTICA



**MINISTÉRIO DA SAÚDE**  
**Conselho Nacional de Saúde**  
**Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP**



**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO**  
**Comitê de Ética em Pesquisas**  
**Registro CONEP n.º 306**  
**Aprovado em 16/05/2000**

**PARECER N.º 64/2002**

**REGISTRO CEP UNISA N.º 86/2002 – Apresentado em 25/11//2002**

**Projeto de Pesquisa :** “Eficácia do Efeito Osteocondutivo do Cimento Fosfato de Cálcio.”

**Pesquisador Responsável :** Dra. Vânia Barbosa Coutinho

**Área Temática Especial:** Implantodontia

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais das Resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas – CEP UNISA, de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto a ser desenvolvido e conduzido no Departamento de Implantodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, sob a orientação do Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

**Situação: Aprovado em 25/11/2002**

São Paulo, 27 de Novembro de 2002

**PROF. DR. LIBERATO JOHN ALPHONSE DI DIO**  
 Presidente do Comitê de Ética em Pesquisas  
 UNISA - Universidade de Santo Amaro

## ANEXO B - CARTA DE CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li descrevendo o estudo do CFC.

Eu discuti com a CD.Vânia Barbosa Coutinho sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes.Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário.Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

\_\_\_\_\_

Ass.do paciente/representante legal

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ass. da testemunha

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste paciente ou representante legal para participação neste estudo.

\_\_\_\_\_

Ass.Responsável

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## ANEXO C - CARTA DE INFORMAÇÃO

Estas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo que visa desenvolver metodologia para uso do Cimento Fosfato de Cálcio nas cavidades formadas após extrações dentárias esperando-se nova formação óssea no local.

Os procedimentos realizados serão rotineiros para exodontia e enxerto. O elemento dentário indicado para extração será removido e no local da ferida cirúrgica será inserido o Cimento Fosfato de Cálcio, o que não causa qualquer tipo de risco ou malefício para o paciente. Pequeno desconforto espera-se no local cirurgia comum a qualquer procedimento invasivo.

Não há benefício direto para o participante da pesquisa, pois se trata de um estudo experimental testando a hipótese que haverá neoformação óssea no local da exodontia, porém somente no final do estudo poderemos concluir a presença deste benefício.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimentos de eventuais dúvidas. O principal investigador é a C.D Vânia Barbosa Coutinho que pode ser encontrada na Universidade de Santo Amaro (R: Prof. Enéas Siqueira Neto,340 tel:5929 5477; fax 520 9160).

È garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade de seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgadas a identificação de nenhum paciente.

Não há despesas pessoais para o participante, como também não há compensação financeira relacionada a este estudo. Se existir qualquer despesa adicional ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como indenizações legalmente estabelecidas.

O pesquisador se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Vânia Barbosa Coutinho.

Mestranda em Implantodontia.

## ANEXO D - FICHA DE ANAMNESE

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO**  
**DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**  
**IDENTIFICAÇÃO**

Nome do paciente \_\_\_\_\_ Número: \_\_\_\_\_

Nascimento \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_ Gênero \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

Cidade \_\_\_\_\_ Cep \_\_\_\_\_ Fone: ( ) \_\_\_\_\_

Profissão \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ Estado Civil \_\_\_\_\_

R.G.: \_\_\_\_\_ C.P.F.: \_\_\_\_\_

Data da coleta \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

## ANAMNESE

Há quanto tempo foi a sua última consulta médica? \_\_\_\_\_

Qual o motivo? \_\_\_\_\_ Médico: \_\_\_\_\_

No momento está fazendo algum tratamento médico? \_\_\_\_\_

Está tomando algum medicamento?      Sim ( ) Não ( )

NOME	POSOLOGIA	TEMPO DE USO

Tem sensibilidade a algum anestésico, antibiótico(Penicilina) ou alergia a algum medicamento: \_\_\_\_\_

**Sistema Respiratório:**

Tem ou teve?

Rinite: \_\_\_\_\_

Bronquite: \_\_\_\_\_

Sinusite: \_\_\_\_\_

Asma: \_\_\_\_\_

Enfisema Pulmonar: \_\_\_\_\_

**Sistema Gastrointestinal:**

Tem ou teve?

Gastrite: \_\_\_\_\_

Úlcera: \_\_\_\_\_

**Sistema Urogenital:**

Cálculo renal: \_\_\_\_\_

Infecção Urinária: \_\_\_\_\_

**Sistema Cardiovascular:**

Tem ou teve?

Angina: \_\_\_\_\_

Infarto do Miocárdio: \_\_\_\_\_

Arritmia: \_\_\_\_\_

Prolapso: \_\_\_\_\_

Sopro: \_\_\_\_\_

Endocardite: \_\_\_\_\_

Cansaço excessivo ao esforço físico: \_\_\_\_\_

Formigamento de extremidades: \_\_\_\_\_

Hiper ou Hipotensão arterial: \_\_\_\_\_

Varizes: \_\_\_\_\_

**Sistema Endócrino**

Tem ou teve?

Diabete: \_\_\_\_\_

Hiper ou hipotireoidismo: \_\_\_\_\_

**Doenças Infecto Contagiosas:**

Tem ou teve?

AIDS: \_\_\_\_\_

Sífilis: \_\_\_\_\_

Hepatite: \_\_\_\_\_

Tuberculose: \_\_\_\_\_

**Exame Físico**

**Sinais vitais:**

P.A. .... Pulso .....

**Loco-Regional:**

Extra\_oral .....

.....

.....

Intra\_oral.....  
.....  
.....  
.....

APENDICE A - FICHA CLÍNICA E CIRÚRGICA CFC

CFC

PACIENTE		
DATA ENXERTO		
DATA REABERTURA		
PRÉ-OPERATÓRIO		
ANTIBIÓTICO		
ANTIINFLAMATÓRIO		
ANALGÉSICO		
ENXAGUATÓRIO		
	ALVÉOLO TESTE	ALVÉOLO CONTROLE
MOTIVO EXODONTIA		
INFECCÃO		
TECIDO GRANULAÇÃO		
SUPURAÇÃO		
DISTÂNCIA VEST-LINGUAL		
ALTURA CERVICO-APICAL		
DEFEITOS		
DIST. CENTRO CERV- APICAL		
DIST. CENTRO MESIO-DIST APICAL		
MÉDIO		
CERVICAL		
DEISCÊNCIA		
FENESTRAÇÃO		
ANESTESICO		
FIO SUTURA		
TIPO SUTURA		
PÓS-OPERATÓRIO		
REMOÇÃO PONTOS		
PRÓTESE PROVISÓRIA		
EDEMA		
DOR		
DEISCÊNCIA DE SUTURA		
EXPOSIÇÃO ENXERTO		
INFECCÃO		
SUPURAÇÃO		

## APÊNDICE B -ANÁLISE HISTOLÓGICA

EXAMINADOR:

MICROSCÓPIO:

**Tabela** – Escores utilizados na quantificação dos parâmetros analisados para verificação do reparo ósseo (atividade de osteoblastos e osteoclastos, encapsulação fibrosa, presença de osso maduro e presença de osso lamelar).

Escores	Análise qualitativa
0	Ausente
1	Discreto
2	Moderado
3	Acentuado

		P1		
Parâmetros	Lâmina	Lâmina	Lâmina	Lâmina
Osteoblastos				
Osteoclastos				
Cápsula fibrosa				
Osso imaturo				
Osso lamelar				

		P2		
Parâmetros	Lâmina	Lâmina	Lâmina	Lâmina
Osteoblastos				
Osteoclastos				
Cápsula fibrosa				
Osso imaturo				
Osso lamelar				

		P3		
Parâmetros	Lâmina	Lâmina	Lâmina	Lâmina
Osteoblastos				
Osteoclastos				
Cápsula fibrosa				
Osso imaturo				
Osso lamelar				

		P4		
Parâmetros	Lâmina	Lâmina	Lâmina	Lâmina
Osteoblastos				
Osteoclastos				
Cápsula fibrosa				
Osso imaturo				
Osso lamelar				

		P5		
Parâmetros	Lâmina	Lâmina	Lâmina	Lâmina
Osteoblastos				
Osteoclastos				
Cápsula fibrosa				
Osso imaturo				
Osso lamelar				