

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAIS

JÉSSICA CERIOLI MUNARETTO

**ANÁLISE HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE ENXERTO ÓSSEO
ALÓGENO CONGELADO EM DEFEITO ÓSSEO ALVEOLAR.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

PORTO ALEGRE
2007

JÉSSICA CERIOLI MUNARETTO

LINHA DE PESQUISA:

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

**ANÁLISE HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE ENXERTO ÓSSEO
ALÓGENO CONGELADO EM DEFEITO ÓSSEO ALVEOLAR.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica - Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. EDUARDO SILVEIRA FERREIRA
ORIENTADOR

Profa. Dra. EDELA PURICELLI
CO-ORIENTADORA

PORTO ALEGRE
2007

À Profa. Dra. Edela Puricelli

Pela sua grandiosa sabedoria e serenidade,
por ter me proporcionado uma oportunidade ímpar, confiando e acreditando no
meu desempenho, contribuindo muito para o meu crescimento pessoal e
profissional.

Agradeço por saber reconhecer minhas limitações.

Por mostrar o caminho da determinação,
tornando viável a execução desta pesquisa e sendo uma verdadeira mestra.

À senhora dedico este trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Silveira Ferreira

Por sua amizade e fundamental apoio e incentivo durante todas as fases deste
trabalho.
Pelo conhecimento, confiança e entusiasmo oferecidos no decorrer de toda esta
caminhada.

Agradeço pela orientação deste trabalho.

A Deus, pela sua presença constante na minha vida, pelo auxílio nas minhas escolhas e por ter me dado uma vida cheia de alegrias e oportunidades.

Aos meus pais, Hilário e Gelcy, por serem pessoas tão maravilhosas. Por todo amor e carinho dedicados a mim todos estes anos. Pela confiança e apoio a mim oferecidos, meu eterno reconhecimento e gratidão.

Aos meus irmãos Anderson e Gerson, minhas cunhadas Marlene e Lisiane e sobrinhas Vitória e Lívia, pelo carinho, amizade e apoio constantes.

Ao meu namorado Fernando Carlos Widholzer, por todo o carinho, paciência, incentivo permanente, e torcida para que tudo desse certo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFRGS,
na pessoa do Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho e Prof. Dr. Pantelis Varvaki Rados e
seus funcionários, em especial à Adriana e ao Leandro.

À Profa. Deise Ponzoni,
pela atenção, ensinamentos e especial colaboração neste trabalho.

Ao Prof. João Julio e Prof. Marcel
pela amizade e conhecimentos a mim transmitidos dentro e fora desta instituição.

Ao Prof. João Batista Burzlaff,
pela amizade e pelo gentil auxílio na leitura das lâminas histológicas deste trabalho.

À Profa. Heloísa e Prof. Heraldo pela orientação na parte radiográfica.

Ao Prof. Alcione Luiz Scur pela disponibilização do aparelho e pontas do ultra-som.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação pelos conhecimentos a mim
transmitidos durante a realização deste curso.

Ao Laboratório de Patologia da FO-UFRGS, principalmente à Isabel e à Luciana pela
realização do processo histológico deste trabalho.

Às Bibliotecárias Eloísa Futuro Pfitscher e Norma Ataíde, pela orientação e ajuda na
correção das referências bibliográficas.

À Mári Estela e Isabela Kenner pela revisão final deste trabalho.

Ao colega Henrique, pela amizade e convívio.

Aos ex-colegas do Programa de Capacitação em CTBMF da FO-UFRGS, Vivian,
Thiago e Marcos pela amizade e ajuda na realização da parte experimental.

Aos meus colegas de mestrado, em especial Camila, Karine, Anderson, Tiago e Mezomo, pela amizade e convívio durante o curso.

Ao Instituto Puricelli e Associados e seus funcionários, em especial Germa, Denise, Jane e Ana pelos ensinamentos e dedicação oferecidos a mim.

À Isabel Pucci, pelo estímulo e por me dar força para que eu pudesse finalizar este trabalho. Pela sua visão profissional, por acreditar e incentivar o meu crescimento.

Aos colegas do Instituto Puricelli, Gustavo, Carlos Cardoso, Baraldi, Mauro e Adriana pela amizade e coleguismo no convívio profissional.

À Laurení, pela amizade e apoio constante.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Galia, Coordenador Técnico do Banco de Tecidos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), e à Srta. Tielle Müller de Mello, pela orientação e gentil colaboração na obtenção dos enxertos.

Aos funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Bárbara, Sadi, Eroni, Maciel, e pela amizade e bons momentos de convívio.

Aos professores e funcionários da ULBRA, instituição onde obtive minha formação acadêmica, em especial ao Prof. Sérgio Augusto Miguens Jr. e Prof. Dr. Pedro Antônio González Hernández que incentivaram-me a realizar a capacitação em CTBMF na FO-UFRGS em 2003.

À Dona Vera, Seu Lopes, Dona Marli, Dona Lurdes, Eduardo e Eliane, pela disponibilidade e amizade.

Aos funcionários do Biotério da UFRGS, em especial à Dona Geni, Seu Carmona, Paula, Irene e Márcio, pela dedicação nos cuidados aos animais deste teste.

Meus sinceros agradecimentos.

*"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende."
(Leonardo da Vinci)*

RESUMO

Proposição: avaliar radiograficamente e histologicamente o comportamento do incisivo inferior de rato frente à realização de uma solução de continuidade em sua porção radicular mediana quanto ao comportamento do tecido pulpar e dos enxertos ósseos alógenos congelados à -80°C e a evolução do seu processo eruptivo dentário em alvéolos quando expostos aos efeitos da ação do ultra-som.

Metodologia: estudo experimental *in vivo*, amostragem randomizada, com um grupo teste e outro controle. Constou de 29 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, machos, divididos em quatro grupos, correspondendo aos tempos de sete, 14, 21 e 45 dias. Em cada grupo, cinco animais foram teste e dois animais foram controle. Em cada animal foi removido, cirurgicamente, o segmento medial do incisivo inferior direito. Entretanto, nos animais do grupo experimental foram realizados enxertos de osso alógeno congelado a -80°C , nos 2,0mm distais do total da cavidade alveolar cirurgicamente obtida com ultra-som.

Resultados: aos sete dias observou-se estrutura tecidual desorganizada e ricamente vascularizada em ambos os grupos avaliados e início da integração do enxerto ósseo no grupo teste. Aos 14 dias seguem as mesmas observações descritas aos sete dias com progressão da incorporação do enxerto ósseo. Aos 21 dias, observa-se intensa neoformação óssea, ricamente vascularizada em ambos grupos. Aos 45 dias, existe também uma intensa neoformação óssea alveolar, fechando o alvéolo e a completa integração dos enxertos ósseos. Em todos os grupos observou-se que houve mínimo crescimento do segmento dentário proximal e que o mesmo manteve sua vitalidade pulpar. **Conclusão:** Após a realização deste estudo foi possível concluir que: o tecido pulpar, contido no segmento proximal manteve sua vitalidade, reagindo na forma de reparação dentinária compatível com o dente humano; o enxerto ósseo alógeno congelado evoluiu favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário e que o incisivo inferior do rato, submetido à odontosseção com ultra-som não seguiu com o processo de crescimento e erupção em seu segmento proximal, podendo estar relacionado com o reparo do alvéolo devido à intensa neoformação óssea, provavelmente por efeito do ultra-som.

Palavras-chave: enxerto ósseo alógeno, ultra-som, erupção dentária.

ABSTRACT

Proposition: This study aimed to evaluate, both radiographically and histologically, the behaviour of a rat's inferior incisor concerning the realization of a continuous solution in its medial radicular portion, regarding the behaviour of the pulpal tissue and allogeneic freezing bone grafts, at -80°C , as well as the evolution in its dental eruptive process in alveoli exposed to ultrasound effects. **Methodology:** An *in vivo* experimental study, using randomized samples, including a study group and a control group. Twenty-nine Wistar strain male rats, *Rattus norvegicus albinus* species, divided into 4 groups, corresponding to 7, 14, 21, and 45 days. From each group, five animals were considered as the test group, and two of them as the control group. Each animal had the medial segment of the right inferior incisor surgically removed. However, the animals from the test group underwent allogeneic freezing bone grafts, at -80°C , in a range of 2.0 mm distal of the total alveolar cavity, surgically performed by ultrasound. **Results:** In seven days a disorganized and well-vascularized tissue structure in both assessment groups as well as the beginning of the integration of the bone graft in the experimental group could be observed. In 14 days similar observations to day 7 and progression in the incorporation of the bone graft were found. In 21 days intense, well-vascularized, bone neoformation was observed in both groups. In 45 days an intense neoformation of the alveolar bone could also be observed, with the closure of the alveolus, and the complete integration of the bone grafts. All groups had a minimum growth of the dental proximal segment, which maintained its pulpal vitality. **Conclusion:** The study concluded that the pulpal tissue contained in the proximal segment maintained its vitality, providing a reaction compatible with human tooth regarding dental repairing. The allogeneic freezing bone graft evolved favorably in the incorporation process from a receiver layer created inside the dental alveolus. It was also concluded the rat's inferior incisor which underwent ultrasonic dental cutting did not follow the growth and eruption process in its proximal segment, what might be related to the alveolus repair due to intense bone neoformation, probably caused by the ultrasound effect.

Key Words: bone allograft, ultrasound, tooth eruption.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fêmures de ratos doadores, preparados por congelação -80°C para enxertia alógena. Osso congelado na forma particulada para enxerto alógeno..... 44
- Figura 2:** Imagem do ultra-som utilizado para a ostectomia e odontosseção do segmento mediano do incisivo. **A** – Aparelho de ultra-som. **B** – Caneta e ponta diamantada em forma de cunha paralela ao plano da dobra. **C** – Pontas diamantadas..... 45
- Figura 3:** Vista lateral da hemimandíbula de um rato de aproximadamente quatro meses. Observar-se a demarcação da área para ostectomia (→), a linha oblíqua externa (**LO**) e o limite dento-alveolar (**L**). Em relação ao plano anatômico sagital, foram consideradas as regiões proximal (**A**) e distal (**B**)..... 45
- Figura 4:** Desenho esquemático com dimensões finais da osteotomia alveolar. Em preto observa-se os limites da ostectomia. Em vermelho destaca-se o enxerto ósseo congelado..... 45
- Figura 5:** Imagem transcirúrgica. **A**- Região do corpo mandibular direito, após a incisão e divulsão por planos teciduais. **B**- Nervo mentoniano. **C**- Ultra-som (→)..... 46
- Figura 6:** Desgaste incisal no incisivo inferior direito, ao nível da papila interdental, tirando-o de oclusão com motor elétrico com 12.000rpm 46
- Figura 7:** Incisivo (**I**), área de fibrose (**F**) e osso alveolar (**O**), grupo controle aos sete dias. Observa-se a presença do segmento dentário distal, área ostectomizada, solução de continuidade com presença de tecido fibroso, coágulo e tecido não organizado preenchendo o alvéolo. H.E. Aumento original 100X..... 52
- Figura 8:** Incisivo (**I**) e enxerto ósseo (**E**), grupo teste aos sete dias. Observa-se a presença do segmento dentário distal, área ostectomizada, solução de continuidade com presença de tecido fibroso e enxerto ósseo congelado particulado. H.E. Aumento original 250X..... 52
- Figura 9:** Enxertos ósseos (**E**), grupo teste aos sete dias. Presença de área ostectomizada, solução de continuidade, presença de tecido fibroso, coágulo e enxerto ósseo congelado particulado. H.E. Aumento original 400X..... 52
- Figura 10:** Incisivo (**I**), polpa (**P**) e enxerto ósseo (**E**), grupo teste aos sete dias. Segmento dentário proximal, presença de coágulo, vasos sangüíneos corte longitudinal, ausência sinais inflamatórios, ausência necrose pulpar, tampão dentina terciária (→), presença de

enxerto ósseo particulado. H.E. Aumento original 250X.....	53
Figura 11: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo controle aos 14 dias. Presença do segmento distal, área ostectomizada com início de neoformação óssea exuberante, ricamente vascularizado. H.E. Aumento original 250X.....	54
Figura 12: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo controle aos 14 dias. Presença do segmento proximal, área ostectomizada com início de neoformação óssea exuberante próxima ao osso alveolar, ricamente vascularizado. H.E. Aumento original 250X.....	54
Figura 13: Incisivo (I), enxerto ósseo (E) e osso alveolar (O), grupo teste aos 14 dias. Presença de fragmentos de enxerto ósseo congelado, reação alveolar fechando o alvéolo em direção medial, áreas de reabsorção do enxerto, área basófila quase acelular, presença de área superior osso alveolar celular com invasão trabéculas ósseas, tecido conjuntivo organizado mais maduro que o sem enxerto. H.E. Aumento original 100X.....	55
Figura 14: Enxerto ósseo (E) e osso alveolar (O), grupo teste aos 14 dias. Área ostectomizada em maior aumento, observa-se a presença de fragmentos de enxerto ósseo congelado, reação alveolar fechando o alvéolo, reabsorção do enxerto (→), área basófila quase acelular. Presença de área superior, próxima ao osso alveolar, celular com invasão trabéculas ósseas, matriz osteóide e tecido conjuntivo organizado.H.E. Aumento original 250X.....	55
Figura 15: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo controle aos 21 dias. Presença do segmento proximal, área ostectomizada, intensa formação óssea, presença de áreas hemorrágicas. H.E. Aumento original 250X.....	56
Figura 16: Incisivo (I) e polpa (P), grupo teste aos 21 dias. Segmento dentário proximal fechado, paredão pulpar fechando dentina terciária (→), atresia pulpar, neoformação óssea alveolar. H.E. Aumento original 250X.....	56
Figura 17: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo controle aos 45 dias. Tecido fibroso reacional invadindo a polpa, coto proximal fechado, tampão dentina terceária, paredão pulpar fechando dentina terciária, atresia pulpar, neoformação óssea alveolar. H.E. Aumento original 100X.....	57
Figura 18: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Coto distal, neoformação óssea alveolar, reação alveolar fechando o alvéolo e perda da individualização do enxerto. H.E. Aumento original 100X.....	58
Figura 19: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Presença	

do segmento distal, área ostectomizada, tecido fibroso, tecido ósseo maduro, crescimento ósseo exuberante no interior do alvéolo. H.E. Aumento original 250X.....	58
Figura 20: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Presença do segmento distal, área ostectomizada, tecido fibroso, tecido ósseo maduro. H.E. Aumento original 400X.....	58
Figura 21: Osso alveolar (O) e área de fibrose (F), grupo teste aos 45 dias. Alvéolo coberto por tecido ósseo maduro, tecido fibroso. H.E. Aumento original 400X.....	59
Figura 22: Osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Integração do enxerto ósseo, alvéolo coberto por tecido ósseo maduro. H.E. Aumento original 400X.....	59
Figura 23: Radiografia de perfil, grupo controle aos sete dias. Pode-se identificar a segmentação do incisivo inferior do rato (→), dividindo-o em segmento proximal e distal.....	60
Figura 24: Radiografia de perfil, grupo teste aos sete dias. Pode-se observar área ostectomizada, fragmentos do enxerto ósseo alógeno congelado próximo ao segmento distal (→).....	61
Figura 25: Radiografia de perfil, grupo controle aos 45 dias. Observa-se na visão sagital área radiolúcida próxima ao segmento dentário distal (→), sugestiva de extrusão do mesmo. Área de maior radiopacidade em direção ao interior do alvéolo.....	62
Figura 26: Radiografia de perfil, grupo teste aos 45 dias. Não se individualizam os fragmentos do enxerto ósseo alógeno congelado próximo ao segmento distal. Observa-se na visão sagital área radiolúcida próxima ao segmento dentário distal, sugestiva de extrusão do mesmo. Observa-se também uma maior radiopacidade em toda a extensão do alvéolo (→), sugestiva de neoformação óssea.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

atm – atmosfera

°C – grau(s) Celsius

et al – *et alli* (e colaboradores)

cm – centímetro(s), 10^{-2} metros

cm² - centímetro(s) quadrado(s)

CTBMF – Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais

CVD® - CVDentus

g – grama(s)

GaAIAs - Arseneto de Gálio e Alumínio

GPPG – Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HE – hematoxilina e eosina

J – joule(s)

kg – quilograma(s), 10^3 gramas

kHz - kilohertz, 10^3 hertz

kv – quilovolt, 10^3 volts

mA – miliampère 10^{-3} ampères

mg – miligrama 10^{-3} gramas

MHz – Megahertz, 10^6 hertz

min – minutos

ml – mililitro(s), 10^{-3} litros

mm – milímetro 10^{-3} metros

MW – megawatt, 10^6 watts

mW – miliwatt, 10^{-3} watts

n° - número

rpm – rotações por minuto

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Watt - watt

μm – micrometro(s), 10^{-6} metros

SUMÁRIO

RESUMO	09
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	16
1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 ENXERTOS ÓSSEOS.....	22
2.2 ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO CONGELADO.....	23
2.3 OSSO ALVEOLAR.....	25
2.4 REPARO ÓSSEO ALVEOLAR.....	26
2.5 DESENVOLVIMENTO DO TECIDO DENTÁRIO DO RATO.....	28
2.6 ULTRA-SOM.....	32
3 PROPOSIÇÃO	39
4 METODOLOGIA	40
4.1 PARADIGMA.....	40
4.2 MODELO DE ESTUDO.....	40
4.3 LOCAL.....	40
4.4 AMOSTRA.....	40
4.5 MATERIAL.....	41
4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	42
4.7 MÉTODO RADIOGRÁFICO.....	47
4.8 MÉTODO HISTOLÓGICO.....	48
4.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	49

5 RESULTADOS.....	50
6 DISCUSSÃO.....	63
7 CONCLUSÃO.....	69
8 REFERÊNCIAS.....	70
ANEXOS.....	79

1 INTRODUÇÃO

Os defeitos ósseos na região buco-maxilo-facial resultam de etiologias diversas. As deformidades congênitas poderão ou não estar associadas a síndromes, apresentando sinais particularizados ou múltiplos, tanto regionais quanto sistêmicos. Dentre as adquiridas pode-se citar as ablações por tumores, seqüelas de traumas, infecções e a complexa patogenicidade dentária (PURICELLI; BARALDI; PARIS, 2005).

Os meios para restabelecer a forma e a função dos tecidos duros humanos perdidos no tratamento de processos patológicos e lesões traumáticas têm sido amplamente estudados.

A disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais (CTBMF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) tem desenvolvido vários trabalhos de pesquisa buscando técnicas para reconstrução de defeitos ósseos e um melhor entendimento do comportamento destes. As pesquisas experimentais e clínicas utilizando enxertos ósseos livres e vascularizados (PURICELLI; CHEM, 1985) evoluíram juntamente com a pesquisa de biomateriais (VEECK; PURICELLI; SOUZA, 1995; PURICELLI, 1997; PURICELLI, 1999; PURICELLI *et al*, 1999; PURICELLI; PESCHKE; CARDOSO, 1999; PURICELLI, 2002; PARIS *et al*, 2003; CORSETTI, 2005; LEITE, 2005) até as observações de estimulação do reparo ósseo através de campos magnéticos permanentes sepultados *in vivo* (ULBRICH, 2003; DUTRA, 2005; PURICELLI *et al*, 2006).

Para LEITE (2005), a presença dentária no osso alveolar altera os conceitos lineares quanto à neoformação e remodelamento ósseo. A estrutura dentária, pelas particularidades teciduais que compõem o dente, seu processo de erupção e sua relação com as estruturas de suporte, interfere na recuperação de defeitos ósseos. Especialmente a erupção dentária, por ser um processo contínuo, pode ser vista como uma força dinâmica para teste da integração de enxertos ósseos.

A enxertia óssea compreende o transporte de tecido ósseo de uma localidade para outra (MARTINEZ; WALKER, 1999; CAICOYA, 2004). Dentre os enxertos ósseos avasculares, como tecido de reconstrução, cada vez mais busca-

se encontrar nas diferentes formas, liofilizado e congelado, um aproveitamento com altos índices de sucesso.

Durante anos têm-se estudado diferentes meios para estimular o reparo ósseo. Estas variações envolvem enxertos ósseos, materiais cerâmicos (hidroxiapatita, fosfato tricálcico), substâncias bioquímicas (fatores de crescimento e proteína morfogenética óssea) e estimulações elétricas e ultra-sônicas (AARON; CIOMBOR, 1993).

O ultra-som permite, entre outros, uma variedade de procedimentos cirúrgicos. Possui a capacidade de um corte tecidual micrométrico, agindo de forma precisa e segura para limitar os danos ao tecido. Apresenta um corte seletivo, devido a vibração da ponta em frequências ultra-sônicas diferentes, afetando apenas os tecidos mineralizados, o que permite ao clínico cortar tecidos duros e poupar as estruturas anatômicas de possíveis injúrias.

Este estudo tem por objetivo avaliar radiograficamente e histologicamente o comportamento do incisivo inferior de rato frente à realização de uma solução de continuidade em sua porção radicular mediana quanto ao comportamento do tecido pulpar e dos enxertos ósseos alógenos congelados à -80°C e a evolução do seu processo eruptivo dentário em alvéolos quando expostos aos efeitos da ação do ultra-som.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENXERTOS ÓSSEOS

Com o enxerto ósseo, viabiliza-se o transporte deste tecido calcificado para outro sítio a fim de reparar um defeito (MARTINEZ; WALKER, 1999; CAICOYA, 2004; PURICELLI, *et al* 2006).

Para Masters (1988), Misch e Dietsh (1993) e outros autores, os enxertos ósseos podem ser classificados como autógeno, alógeno ou xenógeno.

O enxerto quando autógeno é considerado “padrão ouro”, podendo ser transferido de um para outro sítio no mesmo indivíduo (CAICOYA, 2004). Trata-se da única forma de enxerto que permite uma enxertia vascular ou avascular (PURICELLI; CHEM, 1985).

Entretanto, a busca de uma menor morbidez cirúrgica, eliminando a necessidade de um sítio doador, assim como a queixa da possível limitação da quantidade de material ofertado para reconstrução de grandes defeitos, quando utilizados os enxertos autógenos, impulsionam a pesquisa para o desenvolvimento de fórmulas alternativas para estas enxertias teciduais (LAND *et al*, 2000).

O aloenxerto é obtido a partir de doadores da mesma espécie, mas com genótipos diferentes. Sua obtenção a partir de cadáveres doadores necessariamente não impõe limites na quantidade de tecido a ser requerida (MASTERS, 1988).

O tecido ósseo retirado de uma para outra espécie é denominado enxerto xenógeno (STEVENSON, 1999). Os xenoenxertos, especialmente os de origem bovina, são, no momento, os mais utilizados em humanos. Isto se deve a sua fácil obtenção, disponibilidade e similaridade (OLIVEIRA *et al*, 1999).

As propriedades dos enxertos ósseos envolvem osteogênese, osteoindução e osteocondução (MOY; LUNDGERN; HOLMES, 1993; LORENZETTI *et al*, 1998; CAICOYA, 2004).

Na osteogênese a formação óssea se faz a partir de células osteoblásticas, transferidas juntamente com o enxerto (MARX; SAUNDERS, 1986). A osteoindução ocorre através da transformação das células mesenquimais indiferenciadas em

osteoblastos ou condroblastos, aumentando o crescimento ósseo ou mesmo formando osso em áreas extra-ósseas (URIST, 1965, 1980). O processo de osteocondução do enxerto, semelhante ao proporcionado pelos materiais inorgânicos biocompatíveis, caracteriza-se pela deposição e proliferação celular osteoblástica num suporte ou arcabouço condutor, permitindo a neoformação óssea (OLIVEIRA *et al*, 1999; BEZERRA; LENHARO, 2002; CAICOYA, 2004).

Os enxertos ósseos avasculares poderão ser de estrutura cortical, esponjosa ou córtico-esponjosa. Ao contrário do enxerto trabecular ou esponjoso os enxertos ósseos corticais e córtico-esponjosos propiciam um bom suporte mecânico na área do defeito ósseo, enquanto atuam dentro de suas propriedades conjugadas ou únicas de gênese, indução e condução. A incorporação do enxerto cortical depende da vascularização, reabsorção e aposição de novo tecido ósseo. Após seis dias nesta enxertia óssea inicia-se a invasão dos vasos sanguíneos e aproximadamente em um a dois meses após ocorre sua revascularização (PURICELLI; BARALDI; CARDOSO, 2004; PURICELLI; BARALDI; PARIS, 2005).

Segundo Syftestad e Urist (1982), nos enxertos ósseos, tanto a idade do doador quanto a do receptor influenciam a produção do osso neoformado. Para os autores, o envelhecimento está associado a um declínio do agente indutor ou da atividade morfogenética óssea da própria matriz, indicando um envelhecimento tecidual e podendo influenciar a redução da massa óssea que normalmente ocorre com a idade.

2.2 ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO CONGELADO

Os enxertos ósseos alógenos ou xenógenos necessitam de tratamentos laboratoriais que permitam seu armazenamento para futura utilização. Foi Albee, em 1915, quem desenvolveu um processo de armazenamento de enxertos ósseos em locais refrigerados. Progressivamente outras técnicas foram testadas e utilizadas para viabilizar as enxertias ósseas. Os processos mais divulgados são os de congelação, cocção, conservação em solução anti-séptica, desproteínização, desmineralização e liofilização (ALBEE, 1915; GAZDAG *et al*, 1995; DUARTE; SCHAEFFER, 2000).

A partir de temperatura inferior a -60°C , na forma de congelação profunda, busca-se diminuir a degradação enzimática, diminuindo a resposta imune sem mudanças das propriedades biomecânicas (GAZDAG *et al*, 1995). Empregada para enxertos ósseos alógenos e xenógenos, a técnica de congelação profunda possui como vantagem sua praticidade, pois requer poucos recursos físicos e financeiros (GALIA *et al*, 2005). Entretanto, suas desvantagens são: o risco de transmissão bacteriana e viral ao receptor, a inutilização de enxertos, se houver contaminação dos mesmos, e até o momento a baixa disponibilidade de doadores (ALBEE, 1915; DUARTE; SCHAEFFER, 2000, GALIA *et al*, 2005).

Em 1987, Friedlander observou a influência benéfica do frio na preservação das qualidades osteogênicas do enxerto. Posteriormente, Masters (1988) descreve o osso alógeno congelado como um excelente “space filler” com algum potencial de indução osteogênica, entretanto com potencial significativamente menor se comparado ao enxerto autógeno.

Em estudo experimental comparativo de enxerto ósseo alógeno e xenógeno congelado e liofilizado, em diáfise femural de ratos, Galia *et al* (2005) utilizaram o enxerto ósseo xenógeno humano congelado como padrão de controle. Nos resultados observados não houve uma reação inflamatória mais intensa junto à enxertia do osso congelado. Segundo os autores o resultado pode estar relacionado ao fato de o enxerto ter sido submetido ao congelamento profundo, o que reduziria a sua antigenicidade.

Pelker *et al* (1984), em estudo experimental em ratos, avaliaram as propriedades biomecânicas do osso congelado a -20°C , -70°C e -196°C e liofilizado. Concluíram que não houve diferença significativa no teste de força e compressão mecânica em ossos longos.

Segundo Kluger *et al* (2003) os osteoclastos possuem um papel fundamental no processo de incorporação dos enxertos ósseos, sendo os responsáveis pela remodelação através da reabsorção óssea. Para os autores, o processo e o tempo de armazenamento afetam a qualidade do enxerto ósseo, reduzindo a atividade osteoclástica e conseqüentemente podendo ser causa da falha na integração do enxerto. Os autores relatam que aproximadamente metade dos enxertos ósseos congelados são armazenados por um período de no máximo cinco anos e sugerem que os aloenxertos devem ser armazenados por um período inferior a um ano.

Para Goldenberg e Stevenson (1987) aproximadamente 25% dos enxertos ósseos congelados falham na sua integração. Segundo os autores, isto ocorre por causa da reação imunológica, inadequada revascularização e da sua taxa de mineralização.

Martinez e Walker (1999) sugerem que mais estudos sejam realizados para compreender de que forma o enxerto ósseo alógeno pode ser melhor incorporado nos tecidos. Segundo os mesmos autores as complicações estão relacionadas à má adaptação do enxerto ao leito receptor, fraturas e infecção.

2.3 OSSO ALVEOLAR

Denomina-se de processo alveolar a porção da maxila ou da mandíbula que sustenta e protege os dentes. Assim como o osso em outros sítios, o osso alveolar também funciona como um tecido mineralizado de suporte, oferecendo inserção aos músculos e promovendo um arcabouço para a medula óssea. Possui grande resistência como propriedade biológica devido a sua plasticidade, permitindo que seja remodelado conforme suas demandas funcionais. Requer estímulos funcionais para manter a massa óssea, dependendo da presença de dentes para seu desenvolvimento e manutenção (BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004b).

Na estrutura alveolar, uma fina camada de osso cortical reveste o alvéolo dentário e fornece inserção às fibras principais do ligamento periodontal. O osso é uma forma de tecido de sustentação especializada no qual os componentes extracelulares são mineralizados. Quimicamente cerca de 60% de seu peso úmido é composto de material inorgânico, 25% de matriz orgânica e 15% de água. Cerca de 90% da matriz orgânica é composta por colágeno tipo I secretado por osteoblastos (BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004b).

O tecido ósseo pode ser classificado de diversas formas. De acordo com sua origem embriológica como osso endocondral, quando é precedido por um modelo cartilaginoso que posteriormente é substituído por osso e medula, e osso intramembranoso quando o osso é formado diretamente no interior de uma membrana vascular (BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004b).

A maioria dos ossos longos, as vértebras, a pelve e os ossos da base do crânio são formados por ossificação endocondral. A maxila e os ossos da calvária são formados por ossificação intramembranosa. Já a mandíbula, possui origem mista (JEE, 1998).

De acordo com seu desenvolvimento pode ser classificado como osso entrelaçado e osso lamelar. O osso entrelaçado é uma forma imatura e é caracterizado por uma organização irregular de fibras colágenas. Durante o desenvolvimento ósseo, o osso entrelaçado é a primeira forma de osso produzida; a seguir é remodelado para formar o osso lamelar, constituindo a maior parte do osso maduro. O osso lamelar é composto de camadas sucessivas, podendo ser formado por uma massa sólida, quando é descrito como osso compacto (cortical) ou como uma rede de placas finas e irregulares, descrita como osso trabecular (esponjoso). Os espaços intratrabeculares são preenchidos por medula óssea contendo as células tronco primitivas das quais são derivados todos os elementos do sangue. As trabéculas são revestidas pelo endóstio que contém células osteogênicas, as quais são responsáveis pelo crescimento, remodelamento contínuo e reparo ósseo (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994).

Nas estruturas ósseas, células distintas são especialmente responsáveis pela formação, reabsorção e manutenção da osteoarquitetura. Classicamente, três tipos de células ósseas são descritas, cada qual com sua função específica: osteoblastos, que formam matriz óssea; osteócitos, os quais, juntamente com osteoblastos inativos, mantêm a matriz óssea; osteoclastos, que reabsorvem matriz óssea (TEN CATE, 2001a).

A nutrição do osso dá-se através do sistema vascular do perióstio, que entra no tecido ósseo e pelo sistema externo ao perióstio, que passa através deste. Uma irrigação centrífuga parte, então, da cavidade medular, passando pelo tecido ósseo e saindo através dos vasos do perióstio (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993).

2.4 REPARO ÓSSEO ALVEOLAR

Quando há perda de substância de qualquer natureza, ocorrerá um mecanismo biológico para a sua restauração ou regeneração. Entende-se como

regeneração uma neogênese, ou seja, a reprodução ou reconstituição de uma parte perdida ou lesada. Para a regeneração deverá ocorrer inicialmente o reparo ósseo. Este, por definição, envolve naturalmente a restauração de tecidos mortos ou lesados. A remodelação é o processo cíclico pelo qual o osso mantém um estado de equilíbrio dinâmico. Este processo envolve a reabsorção e neoformação seqüenciais de pequenas quantidades de osso num mesmo local. Na estrutura alveolar, especialmente no alvéolo dentário, diante da realização de um procedimento exodôntico, o tecido ósseo alveolar responde com um processo de reparo. Morfologicamente, podem ser consideradas quatro fases fundamentais na evolução do processo de reparo alveolar: proliferação celular, desenvolvimento do tecido conjuntivo, maturação do tecido conjuntivo e diferenciação óssea ou mineralização (SYFTESTAD; URIST, 1982; CARVALHO; OKAMOTO, 1987; CASADO *et al*, 2004).

A proliferação celular inicia imediatamente após a extração dentária. O coágulo sangüíneo é gradualmente invadido por fibroblastos, originados por mitose dos fibroblastos pré-existentes e por diferenciação de células adventícias, ambas presentes nos remanescentes do ligamento periodontal que permanece aderido às paredes alveolares. Ao mesmo tempo, ocorre a proliferação de células endoteliais, originando novos capilares. Na fase do desenvolvimento do tecido conjuntivo, o tecido neoformado exibe uma grande quantidade de células, notadamente fibroblastos, e de capilares neoformados. Ao mesmo tempo, os fibroblastos sintetizam fibras e substância fundamental amorfa. Já na fase de maturação do tecido conjuntivo, o aumento da quantidade de fibras colágenas e diminuição do número de células e de vasos sangüíneos, caracterizam a maturação do tecido conjuntivo. Já na fase de diferenciação óssea ou de mineralização, os osteoblastos originados de células osteoprogenitoras depositam matriz orgânica nas proximidades das paredes alveolares e no fundo da cavidade alveolar, formando um tecido osteóide. Os osteócitos, juntamente com os osteoblastos inativos, mantêm a matriz óssea. As trabéculas ósseas são constituídas a partir deste osteóide (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

Segundo Gregori (1996) o estudo do processo de reparo em nível microscópico permite entender os fenômenos de reposição estrutural e as possibilidades de controlá-las quanto a sua velocidade, quantidade e qualidade.

Pelker *et al* (1984) relatam que o processo de remodelação óssea no homem e no rato é similar.

No homem, o reparo alveolar inicia-se por volta do sétimo dia pós-operatório; aproximadamente no quadragésimo dia, cerca de 2/3 do alvéolo já está preenchido por trabéculas ósseas. No alvéolo de ratos, estas fases desenvolvem-se em torno do sétimo dia após a exodontia. Considera-se completa a reparação do alvéolo quando este se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado e com a crista alveolar remodelada. Isto ocorre por volta de 64 dias no homem e 21 dias pós-operatórios no rato. Nesta etapa já há um equilíbrio dinâmico osteoclástico-osteoblástico, e o novo osso encontra-se em condições de suportar novos estímulos (CARVALHO; OKAMOTO, 1987).

Abreu, Valdrighi e Vizioli (1974) avaliaram o reparo ósseo alveolar em presença de raízes remanescentes e observaram que pequenos fragmentos de raízes dentárias com vitalidade não provocam distúrbios na cicatrização do alvéolo e são envolvidos por cemento neoformado. Segundo os autores, o reparo completo só poderá ser impedido se, ocorrendo a fratura alveolar, houver infiltração salivar e constante contaminação da ferida.

2.5 DESENVOLVIMENTO DO TECIDO DENTÁRIO DO RATO

Em estudos com animais, os ratos são os preferidos por serem criados em grandes quantidades com menor custo, quando comparados a cães e gatos (KIRK; LIM; KHAN, 1989). Além disso, eles enquadram-se nos conceitos atuais da bioética (KARAHARJU-SUVANTO, 1994; GOLDIM; RAYMUNDO, 1997; GOLDIM, 2003; GOLDIM; RAYMUNDO, 2003).

No rato, o dente formado por estruturas do epitélio oral e da derivação do tubo neural mesenquimal associa-se com as formas ósseas rudimentares da mandíbula e da maxila. O processo de formação dentária inicia-se a partir do décimo segundo dia gestacional. O epitélio ectodérmico da cavidade oral é invaginado na forma de órgão do esmalte que está agregado e subjacente ao mesênquima que originará a papila dentária. A união entre o epitélio da cavidade

oral e o prolongamento do esmalte ocorre no décimo terceiro dia de gestação, eventualmente degenera e finalmente desaparece. Durante a fase de capuz, a lâmina dentária, juntamente com o mesênquima, envolve a papila dentária e irá diferenciar-se na forma de vários componentes definitivos dentários, condensada na forma de saco dentário. Assim que a papila dentária começa gradualmente a invaginar dentro da lâmina dentária dá origem a polpa dentária, constituindo o estágio de sino. Após este estágio, as primeiras evidências, vascular e nervosa, dentro da polpa podem ser observadas. A polpa inicia com a invasão vascular pelo tecido, enquanto que a raiz dentária está envolvida no osso alveolar. A camada interna celular do folículo dentário diferencia-se em cementoblastos que secretam cimento que irão proteger a dentina radicular. A maioria das células nesta região está envolvida na formação do ligamento periodontal que estabiliza o dente dentro do alvéolo dentário. A camada interna do epitélio do esmalte diferencia-se na forma de uma camada de ameloblastos que produzem esmalte, enquanto que a camada externa da papila dentária diferencia-se na forma de odontoblastos que irão produzir pré-dentina. Esta irá se calcificar posteriormente produzindo dentina (KAUFMAN; BARD, 1999).

Nos ratos, os dentes que mostram os melhores graus de diferenciação são os incisivos superiores e inferiores. Até o momento do nascimento nenhuma câmara pulpar está presente. Os incisivos erupcionam por volta do décimo dia pós-natal. Ao contrário do humano, há apenas uma seqüência dentária formada, o que equivale à dentição decídua em humanos. Os incisivos apresentam erupção contínua. Por falhas na aposição dentária normal, o dente pode tornar-se menor, o que normalmente ocorre, ou significativamente alongado. Nesses casos o animal acaba morrendo por inanição, porque sua alimentação fica prejudicada (KAUFMAN; BARD, 1999).

Segundo Melcher e Furseth (1990) o incisivo inferior do rato erupciona em média 2,8 mm por semana, e aproximadamente duas vezes essa média se for mantido fora de oclusão através de desgastes repetidos.

A polpa é um tecido conjuntivo frouxo e especializado. É considerada de natureza imatura e indiferenciada. As entidades estruturais básicas da polpa dentária são: células de tecido conjuntivo, fibras e substância fundamental amorfa (MJÖR, 1990). As células principais da polpa são os odontoblastos, fibroblastos,

células ectomesenquimais indiferenciadas, macrófagos e células imunocompetentes (BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004a).

A ruptura ou estiramento grave do tecido pulpar no humano desencadeia um processo de revascularização da polpa. Entretanto, na presença de contaminação pulpar, haverá necrose, com acúmulo de tecido de granulação inflamado entre os dois fragmentos radiculares (ANDREASEN; ANDREASEN, 2001).

Diante de uma injúria à estrutura radicular como, por exemplo, uma fratura radicular, ocorrerá um processo de reparo. Os eventos de reparo após uma fratura radicular em humanos iniciam-se no local da lesão com o envolvimento da polpa e do ligamento periodontal. Durante os estágios iniciais, o tecido pulpar e os tecidos dentários duros traumatizados podem estimular uma resposta inflamatória e, assim, desencadear a liberação de uma série de fatores de ativação dos osteoclastos. As alterações observadas representam reabsorção radicular interna ou externa (ANDREASEN; ANDREASEN, 2001).

Burn-Murdoch (1999) avaliou a velocidade de erupção e comprimento dos dentes incisivos em ratos após um ou mais deles estarem fora de oclusão. Os animais foram sedados com éter duas vezes ao dia, para a realização de uma marca na região vestibular dos incisivos. O trabalho avaliou quatro grupos: os incisivos inferiores fora de oclusão, os incisivos superiores fora de oclusão, incisivos unilaterais fora de oclusão e finalmente todos em oclusão. Os incisivos fora de oclusão retornaram aos valores do controle imediatamente após o período de erupção terminado. Entretanto, houve mudança em seus comprimentos e velocidade de erupção. Tanto os incisivos superiores quanto os inferiores fora de oclusão tiveram seu crescimento mais lento. Os incisivos unilaterais fora de oclusão tiveram uma velocidade de erupção mais rápida e se tornaram mais longos que seus vizinhos. Os dentes em oclusão resultaram em uma erupção mais lenta. Para o autor, a erupção em dentes fora de oclusão é estimulada pelo contato oclusal dos dentes adjacentes e inibida quando estes estão em oclusão.

Os dentes erupcionam independentemente um do outro, mas formam uma superfície contínua na boca, o plano oclusal. Se os dentes são ausentes ou foram extraídos, os dentes antagonistas podem erupcionar além do plano oclusal, sugerindo que a oclusão dentária inibe a erupção e é responsável pela formação do plano. Entretanto, não se sabe como a função impede a erupção. A erupção

contínua dos incisivos dos ratos é afetada pela erupção nesse particular, pois eles erupcionam mais rapidamente quando são encurtados a fim de impedi-los de ocluir (desimpedidos) do que quando eles não são encurtados (impedidos) e podem ser um modelo apropriado para o estudo deste aspecto da erupção. Quando um ou mais dos incisivos dos ratos estão desimpedidos, a função dos outros incisivos é alterada, modificando seus comprimentos e velocidades de erupção (BRYER, 1957).

Taylor e Butcher (1951) relataram que os incisivos mais curtos erupcionavam mais rapidamente do que os longos e atribuiu isto ao fato de que os incisivos mais curtos estavam desimpedidos por algum tempo. Sugeriram que o contato oclusal estimulava a erupção dos incisivos curtos e inibia a erupção dos incisivos longos.

Law *et al* (2003) investigaram as mudanças na erupção dos incisivos do rato em oclusão e fora de oclusão e determinaram o relacionamento entre a erupção e o comprimento da coroa clínica. Os autores avaliaram o comprimento dos incisivos mandibulares de 23 ratos *Sprague Dawley* fêmeas, com dois meses de vida, através da análise de um esteromicroscópio acoplado em um vídeo. Durante quatro semanas, os incisivos direitos mandibulares dos 11 ratos no grupo experimental foram desgastados a cada dois dias. Os ratos eram anestesiados através de injeção intraperitoneal de Ketamina e Xylasina. Na sua superfície vestibular foi realizada uma demarcação, com o auxílio de um disco diamantado. O outro grupo de 12 ratos serviu como o controle. Os autores observaram que a taxa média de erupção dos dentes fora de oclusão foi de $1,0 \pm 0,1$ mm/dia, enquanto que a taxa de erupção dos dentes em oclusão foi de $0,6 \pm 0,1$ mm/dia. No segundo dia, a taxa de erupção dos incisivos mandibulares fora de oclusão acelerou a 163,9% quando comparada aos controles. Os incisivos mandibulares em oclusão aumentaram o seu comprimento de 8,8% no grupo experimental e 12,1% no grupo controle. Os autores concluíram que houve uma relação inversa entre a erupção e crescimento da coroa clínica dos incisivos fora de oclusão.

Leite (2005) num estudo experimental *in vivo* idealizado por Puricelli em 2003 avaliou radiográfica e histologicamente o comportamento do incisivo inferior de rato após a remoção da sua porção radicular mediana. O autor avaliou o trajeto de erupção, a reação tecidual pulpar, a capacidade do espaço alveolar como leito ósseo para estudo de enxertias e o comportamento do enxerto ósseo liofilizado quanto à integração e reparo em relação ao processo físico de compressão

provocado por uma força dinâmica resultante da erupção dentária. A amostragem constou de 21 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, machos, divididos em três grupos, correspondendo aos tempos de sete, 14 e 45 dias, randomizados. Em cada grupo, cinco animais foram teste e dois animais foram controle. Em cada animal foi removido, cirurgicamente, com o uso de brocas, o segmento medial do incisivo inferior direito. No segmento distal, composto coronário, nenhum desgaste incisal foi realizado, mantendo-se a oclusão. No grupo experimental foram compactados enxertos de osso alógeno liofilizado nos 2,0mm distais do total da cavidade alveolar cirurgicamente obtida. O autor observou que aos sete e 14 dias houve a continuada erupção do segmento proximal, em ambos os grupos avaliados e início da integração do enxerto ósseo no grupo teste. Aos 45 dias, no grupo experimental, o segmento radicular proximal ultrapassou a área do enxerto sendo desviado por este para vestibular. No grupo controle o segmento radicular seguiu o seu trajeto eruptivo obedecendo à anatomia e direção do espaço alveolar incisivo mandibular. Concluiu que após a remoção do segmento medial da raiz do incisivo inferior do rato, mesmo submetido à odontosseção a estrutura radicular proximal segue um processo de crescimento e erupção; o tecido pulpar, contido no segmento proximal manteve sua vitalidade, reagindo na forma de reparo dentinário compatível com o dente humano; o enxerto ósseo alógeno liofilizado evoluiu favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário e a dinâmica da erupção dentária pôde criar força em padrão fisiológico para testar a resistência e estabilidade do enxerto ósseo integrado.

2.6 ULTRA-SOM

A tecnologia do ultra-som permite aplicações clínicas em diversas áreas da Odontologia. Para compreender a ação do ultra-som é necessário entender suas propriedades físicas, juntamente com os possíveis efeitos biológicos (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006). O princípio básico do ultra-som é a criação de uma vibração ultra-sônica por piezoelectricidade. O sistema piezoelétrico é baseado na propriedade que algumas estruturas cristalinas, como o quartzo, têm de mudar sua

forma quando submetidas a um campo elétrico. Quando uma frequência ultrassônica é aplicada a um cristal de quartzo, ele oscila na mesma frequência do sinal original, passando, esta vibração, à ponta de trabalho do equipamento (ARAÚJO; ROSSI; TANJI, 2005; KUNERT, 2006).

Aaron e Ciombor (1993), publicaram um artigo de revisão bibliográfica discutindo os efeitos terapêuticos de campos eletromagnéticos na estimulação do reparo de tecidos conjuntivos, assim como o papel da matriz óssea extracelular na adaptação, remodelação, reconstituição e reparo destes tecidos. A proposta de utilização de campos elétricos partiu de observações sobre a deformação óssea. Quando o tecido ósseo era submetido a cargas mecânicas, resultava numa deformação acompanhada por um sinal elétrico. Podendo a origem do sinal elétrico, segundo os autores, estar relacionada à deformação da matriz extracelular, conhecida como efeito piezoelétrico.

Os geradores piezoelétricos são mais eficientes operando em frequências da ordem Megahertz. Para uso odontológico são contruídos equipamentos operantes em kilohertz (ARAÚJO; ROSSI; TANJI, 2005; KUNERT, 2006).

Poucos estudos examinaram os efeitos da estimulação através de ultra-som em defeitos ósseos, estando esta modalidade terapêutica amplamente relacionada com a promoção de reparo tecidual. Possíveis mecanismos de ação do sistema piezoelétricos para estimular a osteogênese incluem a promoção de vascularização, produção de colágeno e diferenciação de células osteogênicas (AARON; CIOMBOR, 1993).

Segundo Mesquita, Lobato e Martins (2006), os efeitos do ultra-som nos tecidos são: térmico, mecânico vibratório, químico, reflexivo, fenômeno da cavitação, microvaporização acústica e forças de radiação.

Quando uma onda de ultra-som passa através do tecido, a sua energia é reduzida e dissipada na forma de calor, causando uma elevação de temperatura nos mesmos. Este efeito será diretamente proporcional à elevação da temperatura, do tempo de exposição e da sensibilidade térmica tecidual (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

Com a reação fisiológica haverá alteração do fluxo sanguíneo na região através da vasodilatação reflexa das arteríolas controlando os efeitos do calor e com um ínfimo aumento na taxa metabólica local (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

O efeito mecânico vibratório do sistema piezoelétrico se dá através de um trajeto retilíneo de vaivém com vibração lateral. Este movimento oferece um potencial de desgaste e penetração bastante efetivo (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

O efeito químico ocorre através das mudanças no pH de alguns líquidos quando submetidos ao ultra-som (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

Como reflexivo entende-se a propriedade que o ultra-som tem de liberar energia que ao chocar-se com um anteparo, tende a retornar ao seu ponto de origem. Este efeito, por exemplo, é importante na abertura e conseqüente limpeza dos túbulos dentinários e na conseqüente adesão de materiais resinosos (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

A cavitação está freqüentemente condicionada ao emprego de potências elevadas. Contudo, Williams e Charter (1980) relataram a ocorrência de cavitações em baixas potências quando se utilizam freqüências de 20 a 30KHz.

A atividade cavitacional do ultra-som compreende um espectro de atividade contínua de bolhas em um meio líquido. Varia de leve pulsação linear de corpos gasosos, em um campo de som de baixa amplitude (cavitação estável), a um intenso e destrutivo efeito de cavidade com vapor (cavitação transitória) em campos sonoros de alta amplitude. A energia gerada dentro dessas bolhas pode resultar em ondas de choque ou em campos de corte hidrodinâmico, rompendo tecidos biológicos. A redução no sangramento transoperatório durante o uso de instrumentos cirúrgicos ultra-sônicos, resulta em cavitações que ocorrem no sangue, causando a destruição de eritrócitos e plaquetas (MESQUITA; LOBATO; MARTINS, 2006).

O início do processo de coagulação depende da exposição do sangue a componentes que, normalmente, não estão presentes no interior dos vasos. Suas presenças decorrem de lesões estruturais, como uma injúria vascular, ou alterações bioquímicas como a liberação de citocinas. Há, portanto, uma vasoconstrição inicial dos vasos lesados, o que reduz o fluxo sangüíneo promovendo a coagulação. Após, substâncias como a histamina e prostaglandinas, sintetizadas pelas células brancas do sangue, promovem uma vasodilatação e abrem pequenas fenestrações entre as células endoteliais, o que permite extravasamento do plasma. A fibrina proveniente do exudato plasmático deposita-se sobre o agregado plaquetário permitindo o bloqueio da perda de sangue pelo vaso. A ativação plaquetária e a

formação do coágulo de fibrina determinam uma fase celular com invasão do sítio da lesão por mastócitos, células endoteliais, neutrófilos, linfócitos, macrófagos e fibroblastos. Os neutrófilos e macrófagos são as primeiras células a chegar no sítio da lesão. O papel principal destas células é prevenir infecção do tecido agredido, bem como eliminar detritos da matriz extracelular e corpos estranhos. As citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos provocam o influxo de neutrófilos, bem como migração e a proliferação de células endoteliais, fibroblastos e células indiferenciadas que se depositarão no sítio da lesão (SIQUEIRA JÚNIOR; DANTAS, 2000; SÁ FILHO, 2004).

Em 1964, Macfarlane propôs a hipótese da “cascata” para explicar a fisiologia da coagulação do sangue. Nesse modelo, a coagulação ocorre por meio de ativação proteolítica, por proteases do plasma, resultando na formação de trombina que, então, converte a molécula de fibrinogênio em fibrina.

A cascata de coagulação é um mecanismo complexo de reações seqüenciais. Desordens na cascata de coagulação conferem ao animal uma coagulopatia (SÁ FILHO, 2004).

Por outro lado a destruição dos eritrócitos e das plaquetas implica numa diminuição na hemostasia local (SÁ FILHO, 2004).

Ondas ultra-sônicas são, essencialmente, a propagação mecânica da energia através de um determinado meio. As ondas ocorrem quando as partículas do meio são energizadas causando a vibração e transferindo a energia para partículas adjacentes. A propagação das ondas se dá de forma longitudinal ou transversal. No corpo humano, os tecidos duros transmitem tanto ondas longitudinais quanto as transversais. Os tecidos moles podem conduzir apenas ondas longitudinais, sendo as transversais dissipadas na forma de calor (ARAÚJO, 2005).

Mesquita, Lobato e Martins (2006), relatam que o ultra-som pode ser de alta ou baixa intensidade.

As aplicações do ultra-som de baixa intensidade têm, como propósito, transmitir a energia através de um meio e com isso obter informações do mesmo. Como exemplo dessas aplicações Mesquita, Lobato e Martins (2006) citam: a diagnose médica e o ensaio não destrutivo de materiais. Já as aplicações do ultra-som de alta intensidade objetivam produzir alteração do meio através do qual a onda se propaga. Como exemplo os mesmos autores citam a terapia médica,

atomização de líquidos, limpeza por cavitação, ruptura de células biológicas, solda e homogeneização de materiais.

Segundo Araújo (2005), considera-se que os bioefeitos provocados pelo ultra-som ocorrem a partir de potências de $100\text{mW}/\text{cm}^2$ sendo basicamente de duas categorias: térmicos e não-térmicos. Os efeitos térmicos decorrem do aquecimento seletivo de diferentes interfaces quando o ultra-som atravessa tecidos com diferentes índices de refração sendo mais pronunciado nos tecidos pobres em água como o osso. Tecidos ricos em colágeno absorvem grandes quantidades de energia enquanto que água, sangue e gordura têm efeito térmico discreto devido à pequena absorção. Os efeitos não térmicos do ultra-som são: aumento da permeabilidade da membrana celular, variação do diâmetro arteriolar, deslocamento de fluidos tissulares, formação de bolhas de gás (cavitação) e efeitos químicos. O processo de cavitação ocorre quando alguns líquidos são submetidos a ultra-sons de alta intensidade, resultando em pequenas áreas de vácuo e focos de baixa pressão.

Em relação às pontas diamantadas CVD®, Valera *et al* (1996) relatam que essas têm a vantagem de proporcionar o corte em toda a sua superfície. O filme de diamante depositado sobre a haste forma uma superfície de corte única, o que contribui na obtenção de um corte mais uniforme em todo o corpo da ponta diamantada. A perda da capacidade de corte das pontas diamantadas confeccionadas através do método CVD® foi comparada com as convencionais em estudo experimental *in vitro* pelos mesmos autores. Foram realizadas 50 perfurações em placa de vidro, sendo que a cada 10 perfurações as pontas eram observadas em microscópio óptico. Os autores observaram que a capacidade de corte das brocas convencionais foi menor e as pedras de diamante estavam sendo quebradas ou arrancadas permitindo que a solda metálica tivesse contato com a superfície a ser desgastada, enquanto que as em diamante CVD®, mantiveram sua capacidade de corte inalterada. Testes de perfuração para a ponta de diamante CVD® foram continuados até cerca de 1000 perfurações, não apresentando desgaste e nem diminuição da eficiência do corte.

Segundo Xavier e Duarte (1983) existem fortes evidências teóricas e experimentais de que os potenciais elétricos são os responsáveis pelo desencadeamento dos processos de crescimento e reparo do tecido ósseo.

Galvão, Jorgetti e Silva (2006), através de um estudo experimental em ratos, avaliaram a ação da terapia laser de baixa intensidade e do ultra-som pulsado de baixa intensidade no reparo ósseo. Realizaram uma osteotomia na tibia de 48 ratos machos da linhagem Wistar. Um grupo, após osteotomia, teve a aplicação de laser de baixa intensidade (laser de GaAlAs, 780 nanômetros, 30 mW, 112.5 J/cm²). O segundo grupo foi submetido a aplicação de ultra-som pulsado de baixa intensidade (1,5 MHz, 30 mW/cm²). Foram realizadas 12 sessões em ambos os grupos. Um terceiro grupo foi mantido como controle. Após 20 dias, os ratos foram sacrificados. As tíbias do teste foram submetidas ao teste mecânico e a análise histomorfométrica. No teste mecânico, a carga máxima utilizada no grupo de laser foi significativamente mais elevada ($p < 0,05$). A análise histomorfométrica óssea revelou um aumento significativo no número dos osteoblastos e do volume do osteóide no grupo laser. No grupo do ultra-som houve um aumento significativo nas superfícies reabsorvidas e de osteoclastos. Os autores concluíram que o ultra-som potencializou o reparo ósseo, promovendo reabsorções na área osteotomizada. O laser acelerou este processo de reparo com a neoformação óssea.

Padua (1990), através de um estudo experimental em ratos, avaliou a evolução do processo de reparo de fraturas do arco zigomático sob estimulação ultra-sônica de alta frequência e baixa intensidade. Utilizou 32 ratos adultos jovens, divididos em quatro períodos experimentais, seis, 11, 31 e 45 dias. Com o auxílio de uma cisalha realizou, bilateralmente, fraturas por esmagamento, no sentido transversal ao longo eixo do arco zigomático em sua porção mais anterior. O lado esquerdo como grupo teste, recebeu aplicações diárias de ultra-som com radiofrequência de 1,50MHz e frequência de repetição dos pulsos de 1kHz. Como grupo controle foi utilizado o lado direito do mesmo animal. O autor concluiu através dos resultados histomorfológicos que a evolução do processo de reparo obedeceu à seqüência normal em todos os casos. Entretanto verificou aceleração de todas as fases de processo de reparo no grupo tratado com ultra-som.

El-Bialy, El-Shamy e Graber (2004), através de um estudo experimental *in vivo*, selecionaram doze pacientes que procuravam o tratamento ortodôntico com indicação de extração dos primeiros pré-molares. Cada dente recebeu uma força de 50g, sendo as molas controladas semanalmente, para assegurar níveis contínuos da força. Durante 20 minutos por dia, num período de quatro semanas, o ultra-som pulsado de baixa-intensidade (30MW/cm²) foi aplicado do lado esquerdo de cada

paciente, sendo o lado direito usado como um controle. Após quatro semanas, os referidos dentes foram extraídos. Os quatro primeiros pré-molares de cada um dos seis primeiros pacientes foram examinados histologicamente, enquanto que os outros quatro pré-molares de cada um dos outros seis pacientes foram examinados em microscopia de varredura eletrônica. Comparou-se o número e área total de lacunas de reabsorção examinadas na microscopia de varredura eletrônica entre o grupo teste e o controle mostrando uma diminuição estatisticamente significativa nas áreas de reabsorção e no número de lacunas de reabsorção nos pré-molares expostos ao ultra-som pulsado de baixa-intensidade. A análise histológica mostrou que houve reparo da superfície radicular reabsorvida por hiper cementose. Segundo os autores, os resultados deste estudo sugerem um método não invasivo de redução da reabsorção radicular em seres humanos, respondendo na forma de reparo.

Segundo Callegari e Belangero (2004) a forma como o tecido ósseo reage ao estímulo piezoelétrico, transformando-o em atividade biológica, é pouco esclarecido na literatura. Tal fato deve-se tanto a dificuldade de mimetizar as reais condições ambientais do tecido ósseo, como pelo fato de que o conhecimento dos mecanismos de comunicação intra e extracelular ainda é um tema relativamente recente.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo se propõe a descrever através de análises radiográficas e histológicas:

1 O comportamento do tecido pulpar frente à realização de uma solução de continuidade pós odontosseção com ultra-som;

2 O comportamento dos enxertos ósseos alógenos congelados em áreas ostectomizadas com ultra-som;

3 A evolução do processo eruptivo dentário, em alvéolos expostos aos efeitos da ação do ultra-som.

4 METODOLOGIA

4.1 PARADIGMA

Este trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma quantitativo descritivo.

4.2 MODELO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental *in vivo*, em ratos, amostragem randomizada, com um grupo experimental e outro controle.

4.3 LOCAL

As cirurgias foram realizadas no Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de CTBMF da Faculdade de Odontologia da UFRGS, coordenado pela Profa. Dra. Edela Puricelli.

4.4 AMOSTRA

A amostra total utilizada neste estudo foi de 29 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, machos, advinda do Biotério Central da UFRGS. No momento da cirurgia, os animais contavam quatro meses de idade e peso médio de 350g. Foram sorteados sete ratos para cada grupo, conferindo, desta forma, a aleatoriedade de cada uma das amostras. Cada grupo foi submetido à intervenção cirúrgica num mesmo dia, dentro da idade e peso previstos.

Durante todo o período do teste estes animais foram mantidos nas dependências do Biotério Central da UFRGS, acomodados em gaiolas de polietileno com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas.

Os ratos foram divididos em quatro grupos, correspondendo aos tempos experimentais de sete, 14, 21 e 45 dias. Em cada grupo, cinco animais destinaram-se para o teste e dois animais para o controle. Para mapeamento radiográfico e histológico da técnica, foi utilizado um rato com as mesmas características de idade e peso. Este animal, morto imediatamente após a realização do método, denominou-se controle zero dia.

4.5 MATERIAL

A remoção dos fêmures foi obtido de um rato doador cadáver da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, macho, com quatro meses de idade e peso médio de 350g, advindo do Biotério Central da UFRGS. Todo o procedimento foi realizado em laboratório, utilizando-se rigorosa técnica de assepsia ambiental. Igualmente, as manipulações técnicas foram realizadas dentro dos protocolos de controles de esterilização do instrumental. Após a remoção das peças anatômicas, estas foram preparadas por métodos de dissecação resultando apenas a estrutura óssea anatomicamente íntegra e livre. As mesmas foram acondicionadas em embalagens triplas, seladas individualmente e etiquetadas com dados técnicos. Num período controlado de uma hora, este material foi enviado ao Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), sendo

armazenado em ultracongeladores com temperatura de -80°C , sob monitorização técnica constante, por dois meses.

No dia de cada procedimento cirúrgico, o enxerto ósseo em estado de congelação foi transportado contido em uma caixa de isopor com gelo. Somando-se o período de transporte e início da cirurgia transcorreram 30min. Após a abertura das embalagens, em condições estéreis, o enxerto ósseo foi colocado em uma solução de 1g de Cefazolina Sódica¹, diluída em 100ml de Cloreto de Sódio a 0,9%², onde permaneceu durante o tempo de trabalho. Para a enxertia, cada porção óssea destacada, foi comprimida e particulada com o auxílio de dois portagulhas³ (Figura1).

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental realizado neste trabalho foi idealizado por Puricelli em 2003 (LEITE, 2005).

Durante todos os procedimentos cirúrgicos, foram mantidos os critérios de biossegurança. Os profissionais estavam devidamente paramentados com avental cirúrgico, luvas cirúrgicas estéreis, propés, máscara, gorro e óculos de proteção. O instrumental cirúrgico utilizado foi esterilizado em autoclave à 132°C com 1atm de pressão durante 4min.

Para a anestesia de cada animal, foram utilizadas injeções intramusculares de Xylazina⁴ e Ketamina⁵, nas dosagens de 0,01ml/Kg e de 0,1ml/Kg, respectivamente. Este procedimento anestésico foi realizado após orientação e treinamento por Médica Veterinária.

¹ Kefazol, Eurofarma Laboratórios Ltda.. São Paulo, SP, Brasil.

² Solução Fisiológica, Agafarma, Sidepal Indl. E Coml. Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

³ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

⁴ Anasedan, Sespo. Indústria e Comércio Ltda. Jundiaí, SP.

⁵ Ketamina, Anger. União Química Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, SP, Brasil..

Uma vez anestesiados, estes animais foram submetidos à tricotomia na região submandibular direita, colocados individualmente sobre um colchão térmico, em uma mesa plana de trabalho de 30x30cm, em posição de decúbito-lateral e cabeça sobre estendida. Para antissepsia do campo operatório, utilizou-se uma solução aquosa de iodo à 2% e, após, isolamento da região com campo cirúrgico estéril.

Como anestesia infiltrativa local, foi injetada a solução de mepivacaína a 2% e adrenalina em concentração de 1:100.000⁶, não excedendo 0,3ml, que corresponde à dose máxima para um animal de 350g.

Com bisturi tipo Bard-Parker⁷ e lâmina nº15⁸, realizou-se a incisão linear, na pele, com aproximadamente 15mm de comprimento. Esta, após incisada foi divulsionada em seus planos musculares com o auxílio de uma tesoura Matzenbaum⁹. O periósteo foi incisado e descolado junto a borda lateral da mandíbula. Com o auxílio de afastadores, mantidos pelo cirurgião assistente, os tecidos moles foram retraídos, permitindo a exposição, a visibilidade e o acesso ao campo cirúrgico. O campo cirúrgico estendeu-se da borda inferior da mandíbula até o rebordo alveolar e próximo-distal do corpo mandibular.

Com a utilização de uma sonda periodontal milimetrada¹⁰, foram demarcados os limites da ostectomia. Esta etapa permitiu a manutenção da reprodutibilidade das mesmas. A partir da demarcação, com o auxílio do ultra-som¹¹ operado na frequência de trabalho de 29kHz, potência de 3w/cm² e 70% da potência do aparelho, com ponta diamantada¹² em forma de cunha com extremidade de 1,6x0,4mm e cunha paralela ao plano da dobra, foi realizada uma ostectomia na face lateral externa do corpo mandibular, sob irrigação constante do próprio sistema do aparelho (Figura 2). A seguir, realizou-se a odontosseção, atingindo transversalmente a raiz do incisivo inferior direito. A demarcação distal da odontosseção foi determinada a partir do limite ósseo-cérvico-dental do alvéolo, localizando-se a 3,0mm deste. O mais proximal, a 10,0mm, conferindo, assim,

⁶ DFL Indústria e Comércio Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁷ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

⁸ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

⁹ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

¹⁰ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹¹ Laxys Easy II, D.M.C. equipamentos LTDA, São José dos Campos, SP, Brasil.

¹² CVDentus 9.5107-9 (1,6 x 0,4 x 4,0mm) São José dos Campos, SP, Brasil.

7,0mm de comprimento à cavidade alveolar (Figura 3). Após as odontosseções limítrofes, para remoção atraumática do segmento radicular, foi realizada uma odontosseção longitudinal no mesmo. Nesse tempo cirúrgico, manteve-se a função de corte sob irrigação e aspiração constantes. Tal manobra, além de evitar o aquecimento, permitiu a lavagem da cavidade e a coleta dos resíduos teciduais.

Após a remoção do fragmento radicular, a cavidade, em forma retangular, apresentava as seguintes dimensões: altura 2,0mm, profundidade 2,0mm e comprimento 7,0mm. O enxerto de tecido ósseo congelado particulado foi impactado com o auxílio de uma cureta¹³, ocupando os 2,0mm do total da cavidade alveolar cirurgicamente obtida, ficando o mais justaposto possível do segmento distal (Figura 4).

As suturas internas, do periósteo e dos músculos, foram realizadas a pontos isolados, com fio reabsorvível de poliglactina 910 5x0¹⁴. Na pele, para a sutura a pontos isolados, o fio utilizado foi o mononylon 5x0¹⁵.

Completado o ato cirúrgico, com o auxílio de uma broca cilíndrica diamantada, em motor elétrico¹⁶ com 12.000rpm, sob irrigação constante com água destilada, foi realizado o desgaste no incisivo inferior direito, ao nível da papila interdental, tirando-o de oclusão (Figura 6).



Figura 1: Fêmures de ratos doadores, preparados por congelação -80°C para enxertia alógena. Osso congelado na forma particulada para enxerto alógeno.

¹³ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹⁴ Vicryl® Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

¹⁵ Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

¹⁶ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

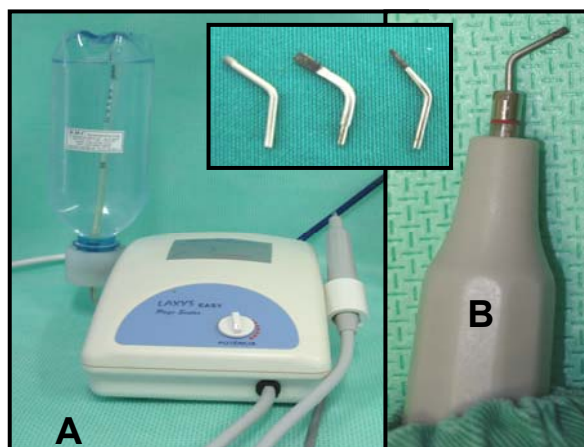


Figura 2: Imagem do ultra-som utilizado para a osteotomia e odontosseção do segmento mediano do incisivo. **A** – Aparelho de ultra-som. **B** – Caneta e ponta diamantada em forma de cunha paralela ao plano da dobra. **C** – Pontas diamantadas.

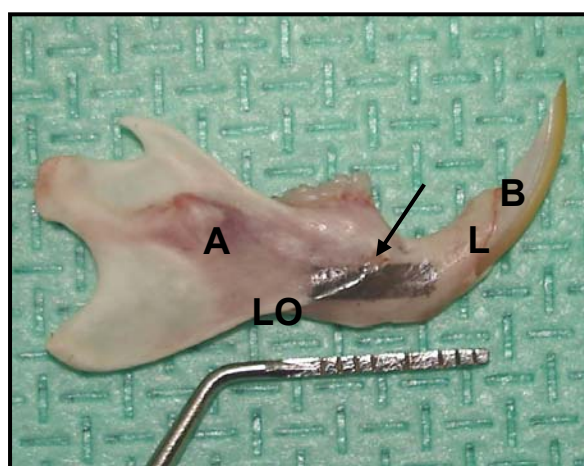


Figura 3: Vista lateral da hemimandíbula de um rato de aproximadamente quatro meses. Observar-se a demarcação da área para osteotomia (→), a linha oblíqua externa (LO) e o limite dento-alveolar (L). Em relação ao plano anatômico sagital, foram consideradas as regiões proximal (A) e distal (B).

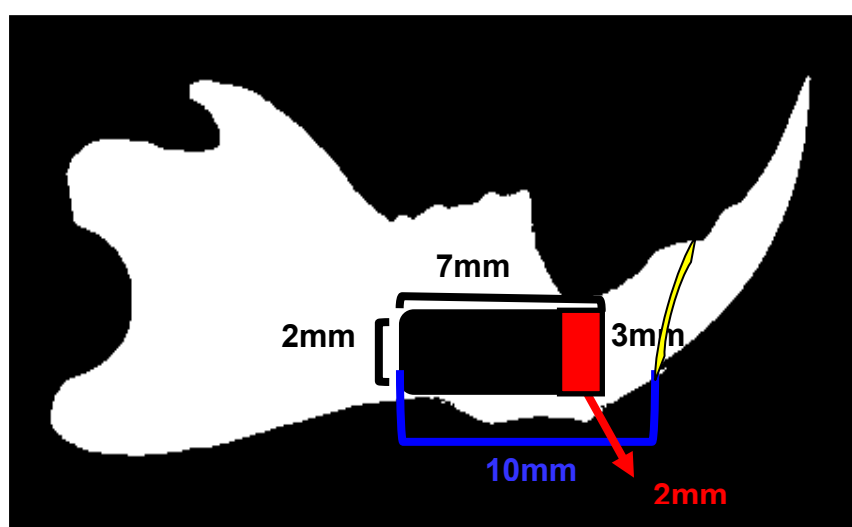


Figura 4: Desenho esquemático com dimensões finais da osteotomia alveolar. Em preto observa-se os limites da osteotomia. Em vermelho destaca-se o enxerto ósseo congelado.

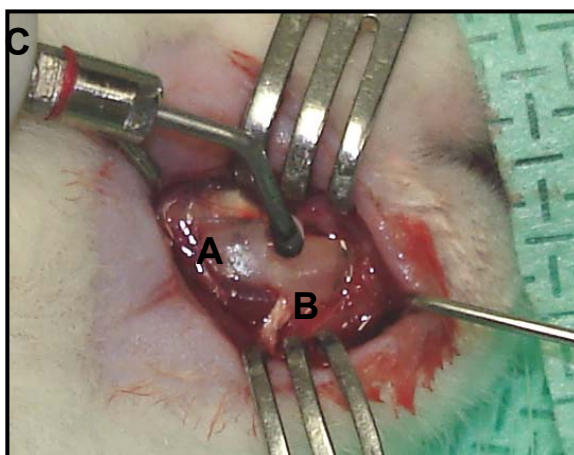


Figura 5: Imagem transcirúrgica. **A-** Região do corpo mandibular direito, após a incisão e divulsão por planos teciduais. **B-** Nervo mentoniano. **C-** Ultra-som.

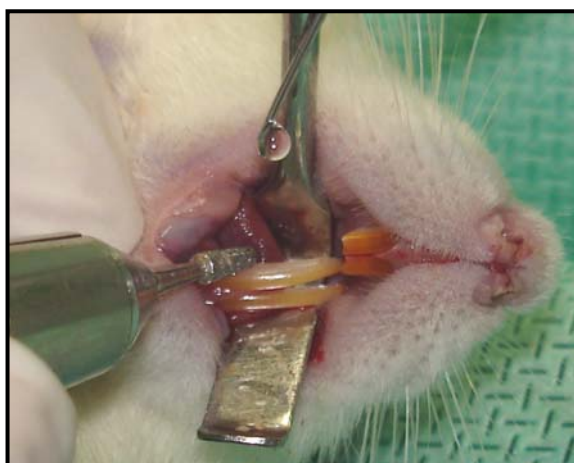


Figura 6: Desgaste incisal no incisivo inferior direito, ao nível da papila interdental, tirando-o de oclusão com motor elétrico com 12.000rpm.

A mesma técnica cirúrgica foi repetida no grupo controle, porém sem a inserção do enxerto ósseo alógeno congelado particulado.

Como analgesia, foi administrada, via oral, no pós-operatório, uma gota de paracetamol¹⁷ para cada 200mg de peso do animal.

Antes e após a morte dos ratos, foram realizadas observações clínicas e macroscópicas da região mandibular operada.

Para a coleta das amostras dos animais correspondentes a cada grupo, seguiu-se o cronograma de sete, 14, 21 e 45 dias pós-operatórios. Segundo orientação do Comitê de Bioética, a morte foi realizada em câmara de dióxido de carbono. Após constatada a morte, procedeu-se a necropsia, com a remoção total

¹⁷ Laboratório Teuto Brasileiro s/a, Anápolis, GO, Brasil.

da mandíbula de cada animal. Tal manobra foi realizada com auxílio do bisturi de cabo nº3¹⁸, lâmina de aço descartável nº15¹⁹, pinça de Adson²⁰ com dentes, tesouras reta e curva Matzembraum²¹.

As peças operatórias, uma vez removidas, foram macroscopicamente examinadas, com o objetivo de avaliar a integridade e presença ou não do incisivo inferior direito em relação ao esquerdo. Seguiu-se a divisão das mesmas; cada hemimandíbula foi imediatamente colocada em um recipiente plástico, devidamente identificado, individualizado e numerado, caracterizando o grupo experimental e o grupo controle. Para evitar as alterações *post mortem* dos tecidos, o material foi conservado em formalina a 10%.

4.7 MÉTODO RADIOGRÁFICO

Para avaliação por imagem, além de todas as peças operatórias descritas, acrescentou-se no material de estudo a hemimandíbula obtida ao zero dia. Estas peças pós-operatórias foram, seqüencialmente, radiografadas pela autora no Setor de Radiologia da Faculdade de Odontologia da UFRGS. Para tal, utilizou-se um aparelho de Raios-X Spectro 70x²², com um regime elétrico de 70kV e 8mA, e filmes periapicais *ultra-speed*, de uso odontológico, da marca Kodak. Cada hemimandíbula foi radiografada em dois planos, de forma a obter-se radiografias de perfil e súpero-inferiores (oclusais) das mesmas. O posicionamento obedeceu à ordem de manter seu marcador (irregularidade em auto-relevo presente no filme) no mesmo sentido. Uma folha de papel fixada a uma mesa registrava a posição correta do filme. Um paquímetro digital, calibrado em 7mm, foi posicionado centralizado junto ao bordo inferior do filme. O aparelho para emissão do raio perpendicularmente mantinha a distância foco-filme padronizada em 30cm. O

¹⁸ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

¹⁹ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

²⁰ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

²¹ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

²² Dabi Atlante S.A. Indústria Médica Odontológica, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

tempo de exposição foi regulado em 0,3s. As 59 radiografias resultantes, sendo duas de cada hemimandíbula, foram processadas automaticamente²³.

4.8 MÉTODO HISTOLÓGICO

O material para estudo histológico foi descalcificado em solução de ácido nítrico²⁴ a 5% (10ml), aproximadamente durante oito dias. Foram realizadas avaliações de textura e exame macroscópico para comprovação da descalcificação de cada peça.

O material recebeu processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Seguiram-se os cortes em micrótomo²⁵, no sentido axial ao corpo mandibular, com espessura de 3 μ m, desde a base óssea até os ápices dentários. Deste material, foram selecionadas duas lâminas de cada peça perfazendo um total de 56 lâminas.

As lâminas com material montado foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), e fixadas em bálsamo de Canadá e lamínula.

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico²⁶ com objetiva 10, 25, 40, 60 e 100 vezes. Foram utilizados microcâmera e monitor de TV, acoplados ao microscópio óptico, para facilitar a observação e discussão das mesmas. Estes estudos foram realizados no Setor de CTBMF da Faculdade de Odontologia da UFRGS, sob a orientação do professor orientador, da professora co-orientadora e de professores adjuntos da Disciplina de CTBMF.

Como última etapa, foi realizada a descrição histológica das lâminas. Estas foram avaliadas pela autora, após calibração da mesma pela professora co-orientadora, Profa Dra Edela Puricelli e pelo Prof. João Batista Burzlaff.

²³ Processadora automática 9000[®] (DENT-X, Nova York - EUA), com ciclo seco a seco de 4,5 minutos.

²⁴ Nuclear, Casa do Químico, Porto Alegre, RS, Brasil.

²⁵ Leica, Germany.

²⁶ Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.

Para a colocação das imagens histológicas nos resultados, estas foram fotografadas e montadas objetivando a melhor visualização e entendimento pelos leitores deste trabalho.

4.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este trabalho segue as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA (Anexos A e B). O projeto de pesquisa para realização deste trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFRGS (Anexo C).

5 RESULTADOS

A observação macroscópica objetivou a análise da integridade da peça, possibilidade de crescimento do segmento proximal e de perda ou expulsão do segmento dentário distal mandibular direito ostectomizado.

Os resultados histológicos estão apresentados em ordem crescente dos períodos experimentais: sete, 14, 21 e 45 dias. A descrição destes segue a seqüência: grupo controle e grupo teste.

No exame histológico, buscou-se observar a reação tecidual alveolar ostectomizada, frente à presença ou não do enxerto, progressiva erupção do segmento dentário proximal, assim como a possibilidade de perda ou expulsão do segmento dentário distal. Também foi observado o comportamento do tecido pulpar em ambas as estruturas radiculares quanto à necrose, revascularização e atresia do conduto.

Os resultados radiográficos estão apresentados em ordem crescente dos períodos experimentais: sete e 45 dias. A descrição destes segue a seqüência: grupo controle e grupo teste.

Os exames radiográficos, através de imagens de perfil, em filmes periapicais, permitiram avaliar a estrutura mandibular direita na sua total extensão, a área ostectomizada, a presença do espaço alveolar, a possibilidade de crescimento do segmento dentário proximal, a estabilidade do segmento radicular coronário distal e a presença do enxerto ósseo congelado. Como não houve alterações significativas nos resultados radiográficos no período de 14 e 21 dias, optou-se por não descrevê-las neste estudo. Na porção inferior do filme radiográfico, pode-se observar a presença de uma imagem radiopaca, referente à ponta de um paquímetro com abertura de 7mm, que será utilizado para futuras mensurações em outros trabalhos.

SETE DIAS

Análise Histológica

Grupo Controle

Pode-se observar o segmento dentário distal no seu trajeto alveolar. Identifica-se a área de solução de continuidade dentária, onde se interpõe uma estrutura tecidual desorganizada, provavelmente compatível com restos teciduais e coágulo. Na cortical óssea vestibular, pode-se observar os limites da área ostectomizada (Figura 7).

Grupo Teste

Pode-se observar a presença do segmento dentário distal. Identifica-se a área de solução de continuidade preenchida por tecido conjuntivo fibroso exuberante, altamente vascularizado, advindo das estruturas ósseas e periodonto. Enxerto ósseo congelado particulado, em continuidade com o coto distal, apresenta-se facilmente identificável (Figura 8).

Em maior aumento, pode-se identificar o enxerto ósseo congelado particulado (Figura 9).

No segmento dentário proximal, observa-se o tecido pulpar ricamente celular e com intensa proliferação vascular. Observa-se ausência de sinais inflamatórios e de necrose pulpar. Observam-se projeções de tecido dentinário, sugestivo de dentina reparadora (Figura 10).

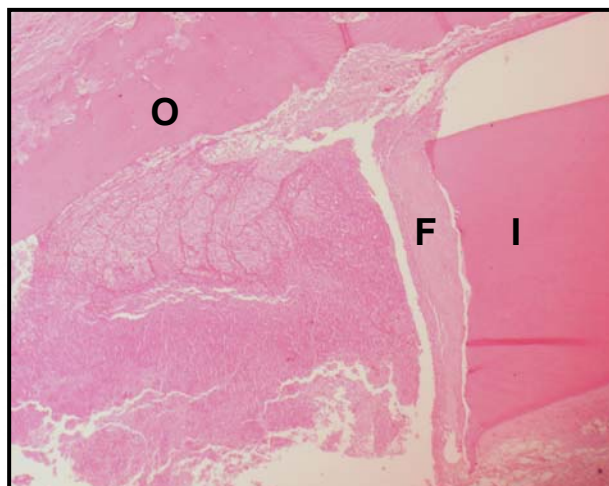


Figura 7: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo controle aos sete dias. Observa-se a presença do segmento dentário distal, área ostectomizada, solução de continuidade com presença de tecido fibroso, coágulo e tecido não organizado preenchendo o alvéolo. H.E. Aumento original 100X.

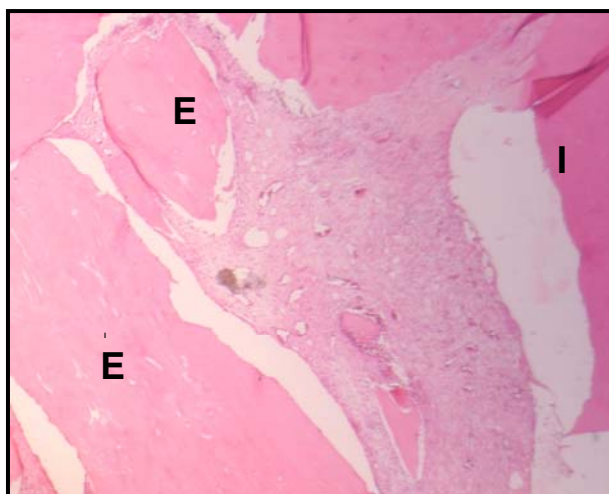
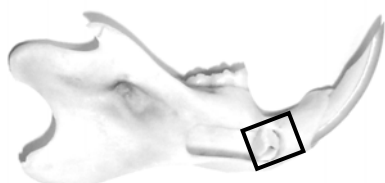


Figura 8: Incisivo (I) e enxerto ósseo (E), grupo teste aos sete dias. Observa-se a presença do segmento dentário distal, área ostectomizada, solução de continuidade com presença de tecido fibroso e enxerto ósseo congelado particulado. H.E. Aumento original 250X.

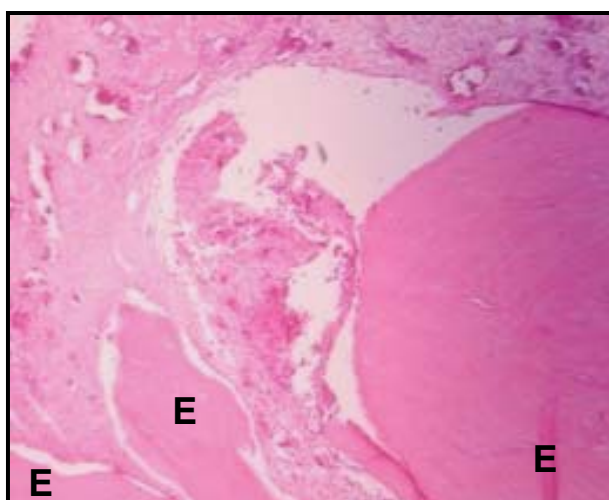
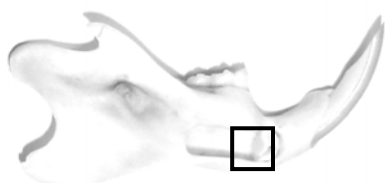


Figura 9: Enxertos ósseos (E), grupo teste aos sete dias. Presença de área ostectomizada, solução de continuidade, presença de tecido fibroso, coágulo e enxerto ósseo congelado particulado. H.E. Aumento original 400X.

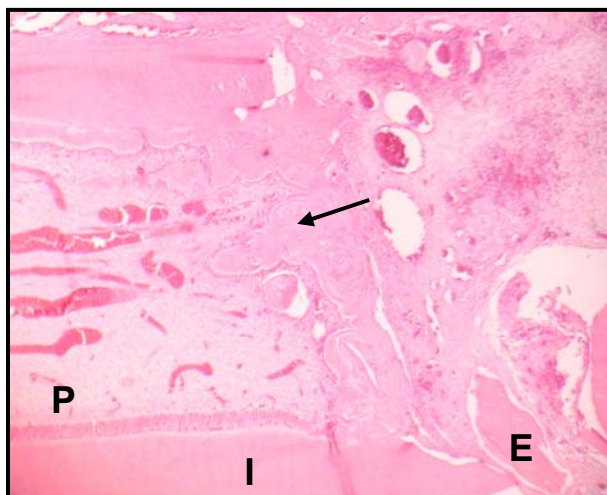


Figura 10: Incisivo (**I**), polpa (**P**) e enxerto ósseo (**E**), grupo teste aos sete dias. Segmento dentário proximal, presença de coágulo, vasos sangüíneos corte longitudinal, ausência sinais inflamatórios, ausência necrose pulpar, odontoblastos, tampão dentina terciária (→), presença de enxerto ósseo particulado. H.E. Aumento original 250X.

14 DIAS

Análise Histológica

Grupo Controle

Na área da ostectomia vestibular, observa-se reação do tecido conjuntivo com presença de exuberante neoformação óssea, ricamente vascularizada, próxima ao osso alveolar, ao segmento dentário distal (Figura 10) e ao segmento proximal (Figura 11).

Grupo Teste

Observa-se a presença do segmento dentário distal e a presença de tecido conjuntivo organizado. Presença de fragmentos do enxerto ósseo congelado no interior do alvéolo com áreas de reabsorção. Observa-se ainda uma intensa neoformação óssea em direção medial, fechando o alvéolo (Figura 12). A mesma área pode ser observada em maior aumento, onde evidencia-se uma área basófila

quase acelular. Presença de área próxima ao osso alveolar bastante celular com invasão trabéculas ósseas e matriz osteóide (Figuras13 e 14).

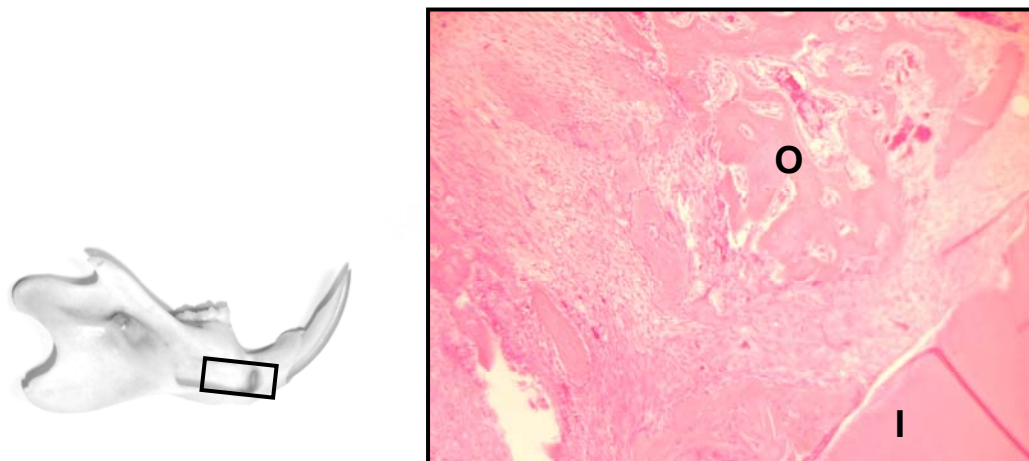


Figura 11: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo controle aos 14 dias. Presença do segmento distal, área ostectomizada com início de neoformação óssea exuberante, ricamente vascularizado. H.E. Aumento original 250X.

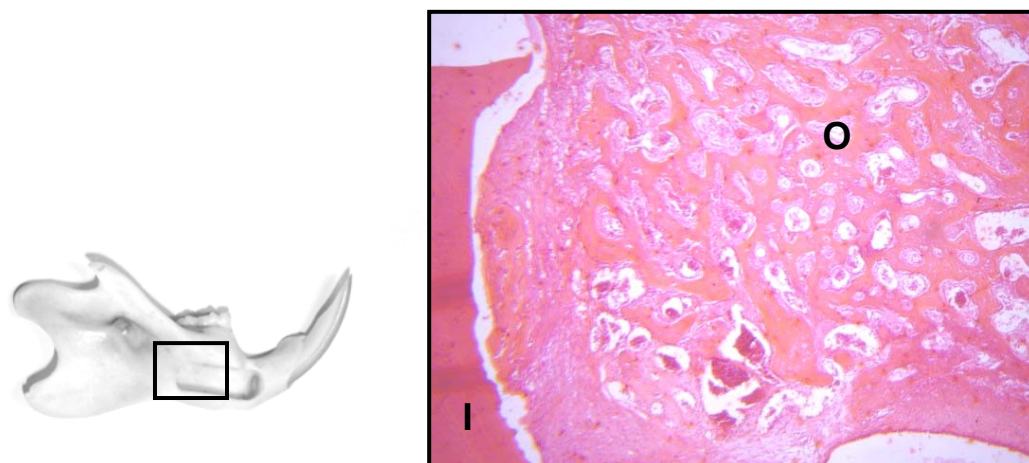


Figura 12: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo controle aos 14 dias. Presença do segmento proximal, área ostectomizada com início de neoformação óssea exuberante próxima ao osso alveolar, ricamente vascularizado. H.E. Aumento original 250X.

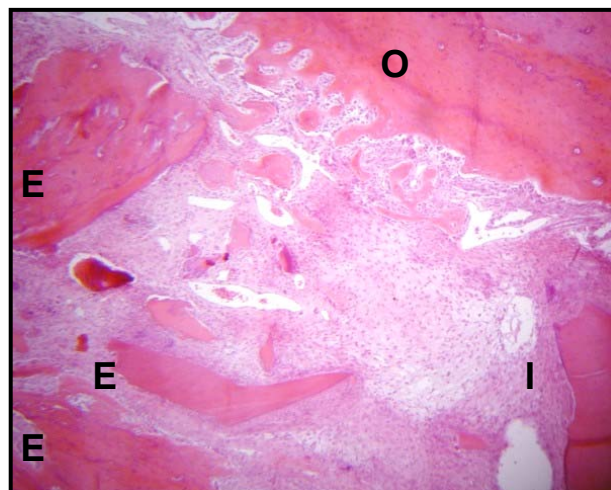


Figura 13: Incisivo (I), enxerto ósseo (E) e osso alveolar (O), grupo teste aos 14 dias. Presença de fragmentos de enxerto ósseo congelado, reação alveolar fechando o alvéolo em direção medial, áreas de reabsorção do enxerto, área basófila quase acelular, presença área superior osso alveolar celular com invasão trabéculas ósseas, tecido conjuntivo organizado mais maduro que o sem enxerto. H.E. Aumento original 100X.

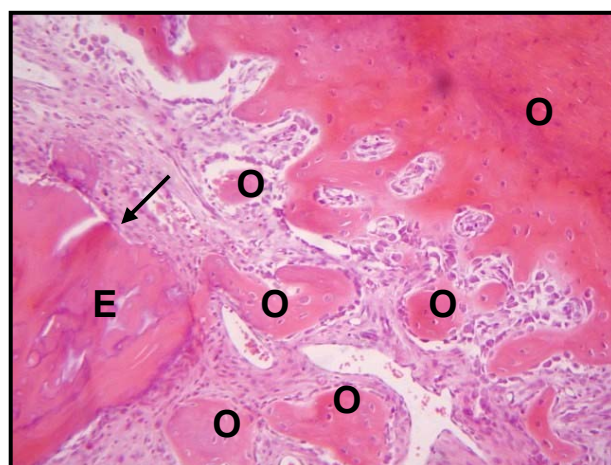


Figura 14: Enxerto ósseo (E) e osso alveolar (O), grupo teste aos 14 dias. Área ostectomizada em maior aumento, observa-se a presença de fragmentos de enxerto ósseo congelado, reação alveolar fechando o alvéolo, reabsorção do enxerto (→), área basófila quase acelular. Presença de área superior, próxima ao osso alveolar, celular com invasão trabéculas ósseas, matriz osteóide e tecido conjuntivo organizado. H.E. Aumento original 250X.

21 DIAS

Análise Histológica

Grupo Controle

A presença do segmento dentário proximal apresenta-se intimamente próximo a um tecido conjuntivo na porção seccionada. Na área da ostectomia

vestibular, observa-se intensa formação óssea, ricamente vascularizada (Figura 15).

Grupo Teste

Observa-se o tecido pulpar do segmento dentário proximal apresentando um tampão de dentina terciária junto à área ostectomizada. Observa-se, ainda, um início de atresia do conduto pulpar pela formação marginal de tecido dentinário junto a uma polpa ricamente vascularizada (Figura 16).

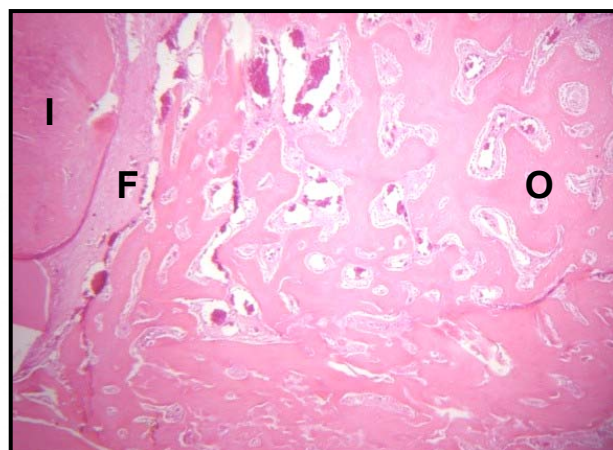
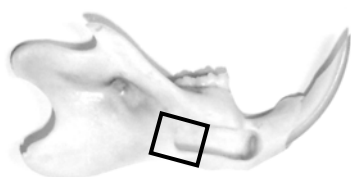


Figura 15: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo controle aos 21 dias. Presença do segmento proximal, área ostectomizada, intensa formação óssea, presença de áreas hemorrágicas. H.E. Aumento original 250X.

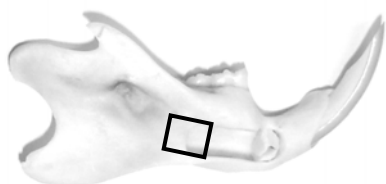


Figura 16: Incisivo (I) e polpa (P), grupo teste aos 21 dias. Segmento dentário proximal fechado, paredão pulpar fechando dentina terciária (→), atresia pulpar, neoformação óssea alveolar. H.E. Aumento original 250X.

45 DIAS

Análise Histológica

Grupo Controle

O segmento dentário distal apresenta-se com tecido fibroso reacional invadindo a polpa e um tampão de dentina terciária, resultando numa importante atresia pulpar. Observa-se também uma intensa neoformação óssea alveolar (Figura 17).

Grupo Teste

A imagem do grupo teste de 45 dias com enxerto ósseo denota a presença de irregularidade alveolar compatível com a aposição de tecido ósseo proveniente das margens do osso alveolar em direção medial, próximo ao segmento dentário distal (Figuras 18 e 19). Em maior aumento, observa-se a presença de um tecido ósseo alveolar maduro e exuberante, bem como a completa integração dos enxertos ósseos congelados alógenos (Figuras 20, 21 e 22).

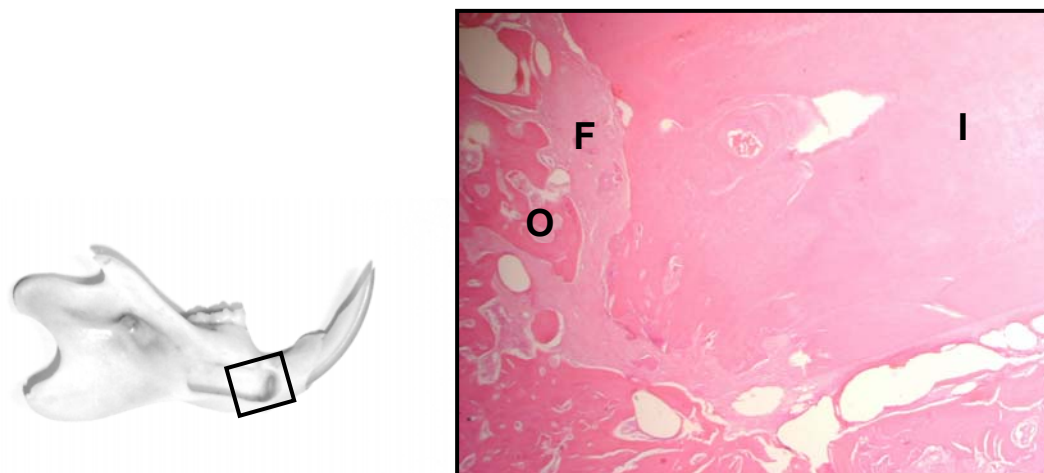


Figura 17: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo controle aos 45 dias. Tecido fibroso reacional invadindo a polpa, coto proximal fechado, tampão dentina terciária, paredão pulpar fechando dentina terciária, atresia pulpar, neoformação óssea alveolar. H.E. Aumento original 100X.

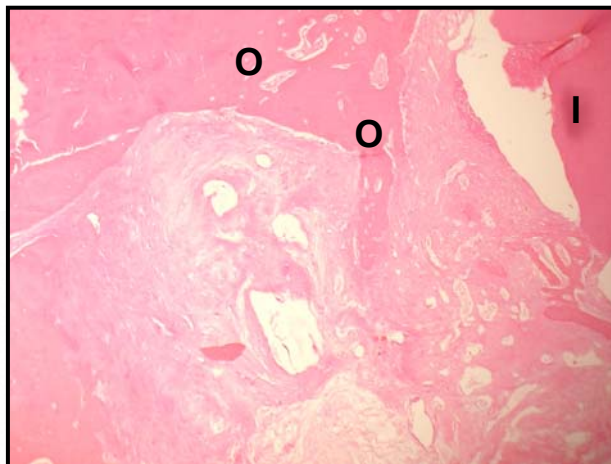


Figura 18: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Coto distal, neoformação óssea alveolar, reação alveolar fechando o alvéolo e perda da individualização do enxerto. H.E. Aumento original 100X.

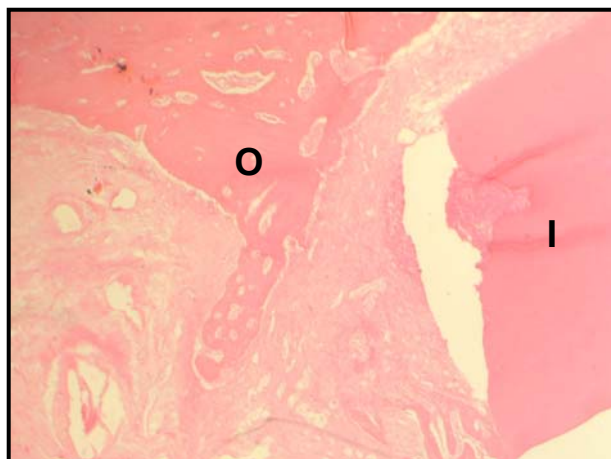


Figura 19: Incisivo (I) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Presença do segmento distal, área osteotomizada, tecido fibroso, tecido ósseo maduro, crescimento ósseo exuberante no interior do alvéolo. H.E. Aumento original 250X.

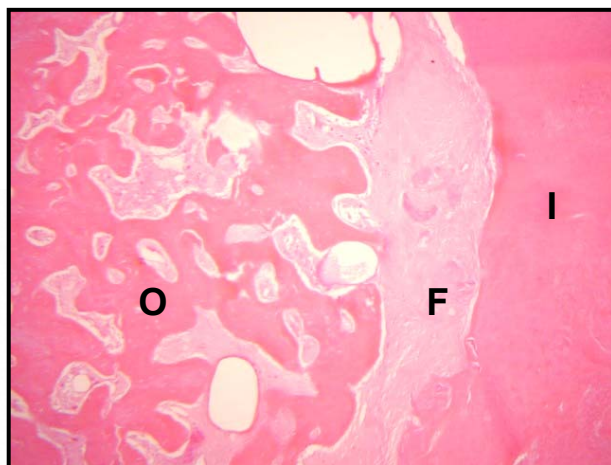


Figura 20: Incisivo (I), área de fibrose (F) e osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Presença do segmento distal, área osteotomizada, tecido fibroso, tecido ósseo maduro. H.E. Aumento original 400X.

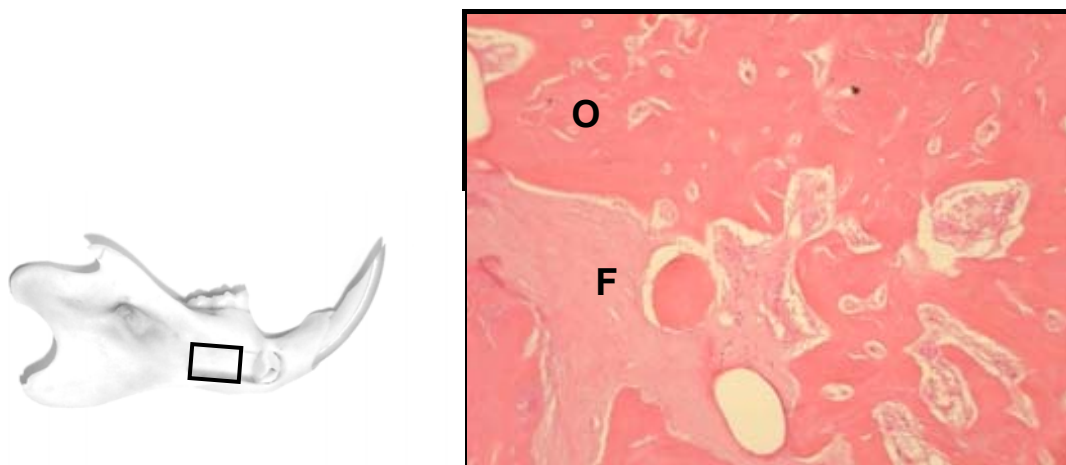


Figura 21: Osso alveolar (O) e área de fibrose (F), grupo teste aos 45 dias. Alvéolo coberto por tecido ósseo maduro, tecido fibroso. H.E. Aumento original 400X.

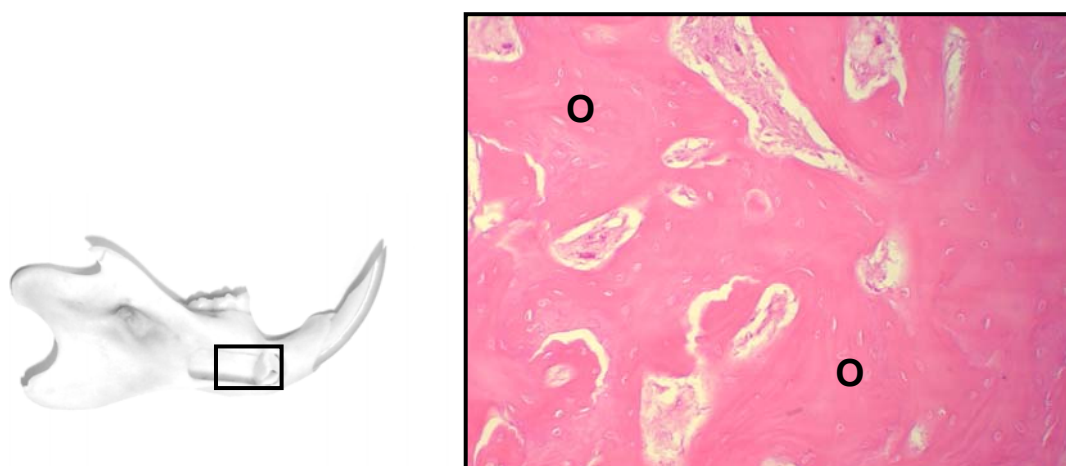


Figura 22: Osso alveolar (O), grupo teste aos 45 dias. Integração do enxerto ósseo, alvéolo coberto por tecido ósseo maduro. H.E. Aumento original 400X.

SETE DIAS

Análise Radiográfica

Grupo Controle

Na radiografia de perfil pode-se observar a estrutura completa mandibular envolvendo a apófise coronóide, articulação têmporo-mandibular e ângulo mandibular no limite proximal da peça. Observa-se ainda uma área radiolúcida no

corpo mandibular, compatível com a área ostectomizada, dividindo o incisivo inferior em segmento proximal e distal e a presença dos molares inferiores. Identificam-se ainda imagens radiopacas no bordo inferior do filme referente ao paquímetro (Figura 23).

Grupo Teste

Observa-se o espaço alveolar preenchido por enxerto ósseo na posição mais distal (Figura 24).

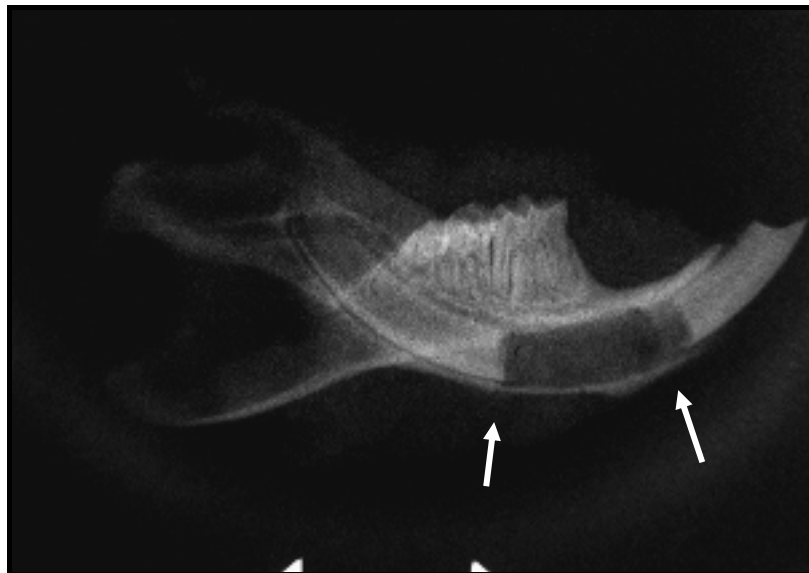


Figura 23: Radiografia de perfil, grupo controle aos sete dias. Pode-se identificar a segmentação do incisivo inferior do rato (→), dividindo-o em segmento proximal e distal.



Figura 24: Radiografia de perfil, grupo teste aos sete dias. Pode-se observar área osteotomizada, fragmentos do enxerto ósseo alógeno congelado junto ao segmento distal (→).

45 DIAS

Análise Radiográfica

Grupo Controle

Nas diferentes radiografias estudadas observou-se ausência ou pouco crescimento do segmento dentário proximal. Na radiografia de perfil, observa-se a área radiolúcida no corpo mandibular, compatível com a área osteotomizada substituída por uma área de maior radiopacidade, compatível com neoformação óssea, fechando o alvéolo dentário. Observa-se ainda, na visão sagital, uma área radiolúcida próximo ao segmento dentário distal, sugestiva de extrusão do mesmo (Figura 25).

Grupo Teste

Radiografia de perfil, grupo teste aos 45 dias. Há ausência dos fragmentos do enxerto ósseo alógeno congelado próximo ao segmento distal. Observa-se uma área de maior radiopacidade em direção ao interior do alvéolo, sugestiva de intensa neoformação óssea e uma área radiolúcida próxima ao segmento dentário distal, sugestiva de extrusão do mesmo (Figura 26).



Figura 25: Radiografia de perfil, grupo controle aos 45 dias. Observa-se na visão sagital área radiolúcida próxima ao segmento dentário distal (→), sugestiva de extrusão do mesmo. Área de maior radiopacidade em direção ao interior do alvéolo.



Figura 26: Radiografia de perfil, grupo teste aos 45 dias. Não se individualizam os fragmentos do enxerto ósseo alógeno congelado próximo ao segmento distal. Observa-se na visão sagital área radiolúcida próxima ao segmento dentário distal, sugestiva de extrusão do mesmo. Observa-se também uma maior radiopacidade em toda a extensão do alvéolo (→), sugestiva de neoformação óssea.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho seguiu a metodologia elaborada por PURICELLI em 2003 (LEITE, 2005). Entretanto, algumas modificações foram realizadas, a fim de possibilitar futuras comparações. Utilizou-se o ultra-som ao invés de brocas de baixa rotação como instrumento de corte na ostectomia e odontosseção. O tipo de enxertia óssea foi alterado e o incisivo mandibular do lado operado foi retirado de oclusão.

Diversos estudos (PURICELLI; CHEM, 1985; VEECK; PURICELI; SOUZA, 1995; PURICELLI, 1997; PURICELLI, 1999; PURICELLI *et al*, 1999; PURICELLI; PESCHKE; CARDOSO, 1999; PURICELLI, 2002; PARIS *et al*, 2003; ULBRICH, 2003; CORSETTI, 2005; LEITE, 2005; DUTRA, 2005; PURICELLI *et al*, 2006) foram sendo desenvolvidos na disciplina de CTBMF da Faculdade de Odontologia da UFRGS, buscando técnicas para reconstrução de defeitos ósseos. Entretanto, até o presente momento, nenhum trabalho havia pesquisado os efeitos do ultra-som e o comportamento do enxerto ósseo congelado.

Os defeitos ósseos são freqüentes no dia-a-dia do cirurgião buco-maxilo-facial. Os mesmos podem variar quanto à etiologia e à complexidade, desde a atrofia do rebordo alveolar desdentado, até as grandes deformidades relacionadas às seqüelas de trauma facial, ou ressecções para tratamento de neoplasias. A dificuldade para a reabilitação funcional e estética é um ponto comum a todas estas situações. Assim como LAND *et al* (2000), concordamos que os esses enxertos acabam resultando num aumento da morbidade no paciente, uma vez que se requer uma área doadora. Entretanto, a limitação até agora apresentada pelos materiais aloplásticos estimula a pesquisa com enxertos ósseos.

Os enxertos ósseos podem ser autógenos, alógenos ou xenógenos (MASTERS, 1988; MISCH; DIETSH, 1993; CAICOYA, 2004; STEVENSON, 1999). No presente estudo utilizou-se o enxerto ósseo alógeno, obtido de fêmures de rato, na forma particulada, assim como Leite (2005). Entretanto, há diversas formas de processamento e armazenamento dos enxertos ósseos alógenos (ALBEE, 1915; GAZDAG *et al*, 1995; DUARTE; SCHAEFFER, 2000). Nesta pesquisa, foi utilizado o enxerto ósseo alógeno congelado, obtido de fêmures de um rato doador. Após, o mesmo foi submetido a um processo de congelação a -80°C , seguindo o protocolo

do Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Ao contrário de Leite (2005), cujo enxerto ósseo foi liofilizado.

O final do processo de congelação resultou num enxerto ósseo predominantemente cortical. Segundo Puricelli, Baraldi e Cardoso (2004) e Puricelli, Baraldi e Paris (2005), a incorporação do enxerto cortical depende da vascularização, reabsorção e aposição de novo tecido ósseo. Após seis dias nesta forma de enxertia óssea inicia-se a invasão dos vasos sangüíneos e aproximadamente em um a dois meses após deverá ocorrer a sua revascularização. Nesta pesquisa, realizada em ratos, observou-se a completa integração dos enxertos ósseos congelados a -80°C alógenos aos 45 dias pós-operatórios.

Assim como demonstraram os resultados de Galia *et al* (2005), através de um estudo experimental em ratos, não houve reação inflamatória mais intensa no grupo com enxertia óssea congelada em comparação ao grupo controle, fortalecendo a idéia de redução da antigenicidade estar relacionada ao resultado do congelamento profundo. Pelo mesmo motivo, associado à excelente vascularização, não foram encontradas falhas na integração dos enxertos, bem como ausência de infecção, como possíveis causas de insucesso na incorporação dos enxertos, descritos por Goldberg e Stevenson (1987) e Martinez e Walker (1999).

O enxerto ósseo obtido de ratos doadores possuía a mesma idade do rato receptor, não havendo, portanto, a influência da idade (SYFTESTAD; URIST, 1982). Assim como preconizado por Kluger *et al* (2003), os enxertos ósseos congelados permaneceram armazenados por um período inferior a um ano. Foram armazenados no *freezer*, por um período de 60 dias, em que se esperou os ratos receptores completarem a idade de quatro meses para a realização do procedimento cirúrgico, assim como Leite (2005).

Visto a grande exigência da Odontologia, principalmente na área de CTBMF, em restaurar enxertos ósseos perdidos, é de fundamental importância os estudos com enxertos ósseos e de técnicas que se propõe a substituir ou estimular o reparo ósseo.

O tecido ósseo apresenta uma extraordinária capacidade de crescimento, remodelação interna contínua e regeneração durante toda a vida pós-fetal. É o

único tecido presente nos vertebrados que sofre diferenciação, regeneração e remodelação após injúria (SYFTESTAD; URIST, 1982).

Neste trabalho, nos grupos controles, o processo de reparo ocorreu dentro dos padrões normais já citados por Carvalho e Okamoto (1987) e Burkitt, Young e Heath (1994).

Para Carvalho e Okamoto (1987), as fases do reparo alveolar nos ratos desenvolvem-se em torno do sétimo dia após a exodontia e se completam por volta dos 21 dias pós-operatórios, concordando com os resultados obtidos.

Autores como Xavier e Duarte (1983), Friedlander (1987), Padua (1990), Aaron e Ciombor, (1993), Callegari e Belangero (2004), El-Bialy, El-Shamy e Graber (2004), Galvão, Jorgetti e Silva (2006) relatam através de evidências teóricas e experimentais que os potenciais elétricos são os responsáveis pelo desencadeamento dos processos de crescimento e reparo do tecido ósseo.

No nosso teste pode-se observar que o efeito sobre a neoformação óssea ocorreu positivamente se comparado a Leite (2005).

Segundo Aaron e Ciombor (1993) os possíveis mecanismos de ação dos sistemas piezoelétricos para estimular a osteogênese incluem a promoção de vascularização, produção de colágeno e diferenciação de células osteogênicas. Entretanto, para os mesmos autores, poucos estudos examinaram os efeitos da estimulação através de ultra-som em defeitos ósseos.

Para Callegari e Belangero (2004) esse assunto ainda é pouco esclarecido na literatura, estando tal fato associado à dificuldade de mimetizar as reais condições ambientais do tecido ósseo e por ser este um tema relativamente recente.

Araújo, Rossi e Tanji (2005) consideram que os bioefeitos provocados pelo ultra-som ocorrem a partir de potências de 100mw/cm². Segundo Mesquita, Lobato e Martins (2006) a potência máxima deve ser de 80% da total do aparelho. Neste estudo a potência utilizada foi de 3w/cm², ou seja 30 vezes maior que a descrita por Araújo, Rossi e Tanji (2005), utilizando apenas 70% da potência do aparelho conforme preconizado por Mesquita, Lobato e Martins (2006).

Segundo Mesquita, Lobato e Martins (2006), a ponta CVDentus 9.5107-9, em forma de cunha com extremidade de 1,6mmx0,4mm e cunha paralela ao plano da

dobra tem indicação para corte de osso na ampliação da loja cirúrgica, o que foi plenamente efetivo neste trabalho.

Friedlander (1987) afirmou que a aplicação de estimulação eletromagnética pode influenciar as células do leito receptor do enxerto. Contudo, o autor supõe que não ocorram interferências sobre os enxertos ósseos não-vascularizados.

Para Leite (2005), o enxerto ósseo alógeno liofilizado evoluiu favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário e a dinâmica da erupção dentária pôde criar força em padrão fisiológico para testar a resistência e estabilidade do enxerto ósseo integrado. Nesse estudo, o enxerto ósseo alógeno congelado também evoluiu positivamente, resultando num processo final de total incorporação do enxerto. Entretanto, este teste fisiológico de integração não pôde ser verificado, uma vez que não houve o crescimento do segmento dentário proximal.

Alguns trabalhos têm sido realizados a fim de melhor compreender o processo de erupção dentária em incisivos de ratos (TAYLOR; BUTCHER, 1951; BRYER, 1957; BURN-MURDOCH, 1999; LAW, *et al*, 2003).

Leite (2005) concluiu que após a remoção do segmento medial da raiz do incisivo inferior do rato, mesmo submetido à odontosseção, este manteve a estrutura radicular proximal em um processo de crescimento e erupção contínuos.

Melcher e Furseth (1990) relataram que o incisivo inferior do rato erupciona em média 2,8 mm por semana, e aproximadamente duas vezes essa média se for mantido fora de oclusão através de desgastes repetidos.

Kaufman e Bard (1999) consideram a permanência de um dos incisivos inferiores do rato como sendo de fundamental importância para a manutenção da funcionalidade roedora do animal.

Nesse trabalho não houve crescimento do segmento dentário proximal, podendo estar associado a exuberante neoformação óssea alveolar, fechando o alvéolo e impedindo assim a erupção dentária. A presença da raiz remanescente do incisivo inferior no interior do alvéolo não provocou distúrbio na cicatrização do mesmo, tanto no grupo controle quanto no grupo experimental.

Assim como no trabalho de pesquisa de Leite (2005) o tecido pulpar, contido no segmento proximal, manteve sua vitalidade, reagindo na forma de reparo dentinário compatível com o dente humano. A presença de dentina terciária

resultante de estímulos ao tecido pulpar após a fratura radicular reportam as observações de Andreasen e Andreasen (2001) e Ten Cate (2001a).

Segundo Abreu, Valdrighi e Vizioli (1974) a vitalidade pulpar do remanescente radicular no interior do alvéolo é fundamental para o reparo ósseo alveolar completo. Para os autores a fratura alveolar, a infiltração salivar e a constante contaminação da ferida podem comprometer esse reparo.

Ao contrário de Leite (2005), neste estudo, o incisivo mandibular do lado operado foi retirado de oclusão. Leite (2005) observou um deslizamento intrusivo do segmento dentário distal em praticamente todos os animais, tanto no grupo controle quanto no experimental. A intrusão do segmento dentário provocou leve deslizamento do osso enxertado também para a parede lingual do alvéolo, o que pôde ser observado pela autora na radiografia oclusal. O desgaste incisal do incisivo central do lado operado foi ao nível da papila interdental, com o objetivo de tirá-lo de oclusão, durante todo o período do teste, evitando assim um processo de intrusão com a força mastigatória.

Assim como descrito nos trabalhos de Taylor e Butcher (1951), Bryer (1957), Burn-Murdoch (1999) e Law, *et al* (2003), verificou-se que a ausência do dente antagonista interfere num processo de crescimento dentário, estimulando-o. Radiograficamente, aos 45 dias, tanto no grupo controle, quanto no experimental, observou-se uma imagem radiolúcida próximo ao segmento dentário distal ostectomizado, sugestivo de extrusão dentária.

Para a obtenção das imagens radiográficas, seguiu-se o protocolo realizado por Leite (2005), previamente determinado por um estudo piloto, o que possibilitará futuras comparações. Entretanto, no presente trabalho, utilizou-se de um paquímetro, posicionado no bordo inferior do filme radiográfico, aberto em 7mm, comprimento da ostectomia mandibular inicial, a fim de possibilitar futuras mensurações do crescimento dentário.

Na radiografia de perfil, assim como Leite (2005), aos sete dias, tanto no grupo controle quanto no grupo experimental, observam-se características semelhantes, com a presença do espaço alveolar vazio, área ostectomizada, presença dos segmentos dentários proximal e distal. No grupo experimental, pôde-se visualizar a presença de enxerto ósseo próximo ao segmento distal.

Na radiografia de perfil, aos 45 dias, no grupo controle, Leite (2005) confirmou o crescimento e a erupção continuada do elemento dentário, ultrapassando o limite distal da área ostectomizada. A imagem revelou, ainda, um alto grau de reprodutibilidade quanto ao trajeto e forma curvilínea do incisivo. Já nos resultados radiográficos aos 45 dias, conforme já observado na análise histológica, tanto no grupo controle quanto no experimental, não se observou o crescimento dentário do segmento proximal.

Os ratos foram escolhidos para este estudo como modelo animal por vários motivos. Primeiro por serem freqüentemente utilizados em estudos sobre incorporação dos enxertos ósseos e imunogenicidade, apresentando um processo de remodelação óssea semelhante ao do homem (PELKER *et al*, 1984; CARVALHO; OKAMOTO, 1987). Segundo, pela facilidade de manipulação, apresentando instalações adequadas para sua manutenção, resultando num menor custo de manutenção, quando comparados com animais de médio porte (KIRK; LIM; KHAN, 1989). Terceiro, por enquadrarem-se nos conceitos atuais da bioética (KARAHARJU-SUVANTO, 1994; GOLDIM; RAYMUNDO, 1997; GOLDIM, 2003; GOLDIM; RAYMUNDO, 2003). Por fim, por seguir o modelo experimental idealizado por Puricelli em 2003 (LEITE, 2005), sendo um modelo experimental adequado para os objetivos propostos.

Esta pesquisa seguiu os princípios da bioética. A morte dos animais deu-se através da câmara de dióxido de carbono, obedecendo a Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA.

Concordamos com Leite (2005) que o modelo proposto por Puricelli em 2003 estimula a realização de novos trabalhos por seu ineditismo. Assim como sugerimos que mais estudos sejam realizados para determinar a ação do ultra-som sobre o tecido ósseo.

7 CONCLUSÃO

Após a realização deste estudo foi possível concluir que:

1 O tecido pulpar, contido no segmento proximal, manteve sua vitalidade, reagindo na forma de reparação dentinária compatível com o dente humano;

2 O enxerto ósseo alógeno congelado evolui favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário;

3 O incisivo inferior do rato submetido à odontosseção com ultra-som não seguiu com o processo de crescimento e erupção em seu segmento proximal, podendo estar relacionado com o reparo do alvéolo devido à intensa neoformação óssea, provavelmente por efeito do ultra-som.

8 REFERÊNCIAS

AARON, R.K.; CIOMBOR, D.M. Therapeutic Effects of Eletromagnetic Fields in the Stimulation of Connective Tissue Repair. **J. Cell. Biochem.**, New York, v. 52, no. 1, p. 42-46, May 1993.

ABREU, E.M. ; VALDRIGHI, L.; VIZIOLI, M.R. The Healing of Extraction Wound in the Presence of Retained Root Remnants. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, São José dos Campos, v. 3, n. 2, p. 97-106, jul./dez. 1974.

ALBEE, F.H. Discussion of Preservation of Tissues and Application in Surgery by Alex Carrel. **JAMA**, Chicago, v. 149, no. 3, p. 313-325, Mar. 1915.

ANDREASEN, J.O.; ANDREASEN, F.M. **Texto e Atlas Colorido de Traumatismo Dental**. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2001. 770 p.

ARAÚJO, M.S.; ROSSI, W.; TANJI, E.Y. **Estudo Comparativo de Temperatura e Morfologia do Esmalte e Dentina Preparados com Laser de Er, Cr:YSGG ou Sono – Abrasão com Pontas CVD**. 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado em Lasers em Odontologia)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 2005.

BERKOVITZ, B.K.B.; HOLLAND, G.K.; MOXHAM, B.J. Osso Alveolar. In:_____. **Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal**. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2004a. Cap. 13, p. 205-219.

BERKOVITZ, B. K. B., HOLLAND, G. K., MOXHAM, B. J. Polpa Dentária. In:_____. **Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal**. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2004b. Cap. 10, p. 149-167.

BEZERRA, F.J.B.; LENHARO, A. **Terapia Clínica em Implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 2002. 329 p.

BRYER, L.W. An Experimental Evaluation of the Physiology of Tooth Eruption. **Int. Dent. J.**, London, v. 7, no. 3, p. 432-478, Sept. 1957.

BURKITT, H.G.; YOUNG, B.; HEATH, J.W. **Wheater Histologia Funcional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409 p.

BURN-MURDOCH, R.A. The Length and Eruption Rates of Incisor Teeth in Rats After One or More of Them Had Been Unimpeded. **Eur. J. Orthod.**, Oxford, v. 21, no. 1, p. 49-56, Feb. 1999.

CAICOYA, S.O. Bases Biológicas Del Injerto Óseo. In: VILA, C.N.; MARÍAN, F.G.; CAICOYA, S.O. (Org.). **Tratado de Cirugía Oral e Maxilofacial**. Madrid: Arán Ediciones, 2004. V. 2, cap. 32, p. 539-548.

CALLEGARI, B.; BELANGERO, W.D. Análise da Interface Formada entre o Polifluoreto de Vinilideno (Piezelétrico e Não Piezelétrico) e o Tecido Ósseo de Ratos. **Acta Ortop. Bras.**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 160-165, jul./set. 2004.

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. Reparação do Alvéolo Dental. In: _____. **Cirurgia Bucal: Fundamentos Experimentais Aplicados à Clínica**. São Paulo: Panamericana, 1987. Cap. 5, p. 55-80.

CASADO, R.S. Regeneración Ósea. In: VILA, C.N.; MARÍAN, F.G.; CAICOYA, S.O. (Org.). **Tratado de Cirugía Oral e Maxilofacial**. Madrid: Arán Ediciones, 2004. V. 2, cap. 33, p. 549-558.

CORSETTI, A. **Avaliação do Reparo Ósseo em Fêmures de Ratos após Implante de Blocos de Cimento de Fosfato de Cálcio, Enxerto Ósseo Autógeno**. 2005. 111 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica-Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

DUARTE, L.S.; SCHAEFFER L. Comparação da Resistência à Compressão de Ossos Bovinos Congelados e Liofilizados. **Rev. Bras. Eng. Bioméd.**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 89-93, maio/ago. 2000.

DUTRA, N. B. **Avaliação Histológica da Aplicação de um Campo Magnético em Enxertos Ósseos Autógenos em Ratos.** 2005. 111 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica-Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

EL-BIALY, T.; EL-SHAMY, I.; GRABER, T. M. Repair of Orthodontically Induced Root Resorption by Ultrasound in Humans. **Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop.**, St. Louis, v. 126, no. 2, p. 186-193, Aug. 2004.

FRIEDLANDER, G.E. Current Concepts Review Bone Grafts. The Basic Science Rationale for Clinical Applications. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 69, no. 5, p. 786-790, June 1987.

GALIA, C.R. et al. Uso de Enxerto Ósseo Homólogo e Heterólogo em Diáfise Femoral de Ratos: Comparação entre Enxerto Ósseo Congelado e Liofilizado. **Rev. Bras. Ortop.**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p. 141-146, mar. 2005.

GALVÃO, L.A.P.; JORGETTI, V.; SILVA, O.L. da. Comparative Study of How Low-Level Laser Therapy and Low-Intensity Pulsed Ultrasound Affect Bone Repair in Rats. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, NY, v. 24, no. 6, p. 735-740, Dec. 2006.

GAZDAG, M.D. et al. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.**, Rosemont, v. 3, no. 1, p. 1-8, Jan./Feb. 1995.

GOLDBERG, V.M.; STEVENSON, S. Natural History of Autografts and Allografts. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, no. 225, p. 7-16, Dec. 1987.

GOLDIM, J.R. **Código Estadual de Proteção aos Animais. 2003.** Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioetica/11915an.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2007.

GOLDIM, J.R.; RAYMUNDO, M.M. **Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa. 1997.** Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioetica/res497hc.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2007.

GOLDIM, J.R.; RAYMUNDO, M.M. **Projeto de Lei sobre Pesquisa em Animais. 2003.** Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioetica/pl1153.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2007.

GREGORI, C. Reparação Tecidual. In:_____. **Cirurgia Bucal-Dento-Alveolar.** São Paulo: Sarvier, 1996. Cap. 11, p. 104-108.

JEE, W. The Skeletal Tissues. In: WEISS, L. (Ed.). **Cell and Tissue Biology: A Textbook of Histology.** Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1998. P. 218-247.

KARAHARJU-SUVANTO, T. Cephalometric Changes After Gradual Lengthening of the Mandible: An Experimental Study in Sheep. **Dentomaxillofac. Radiol.,** Houndsmills, v. 23, no. 3, p. 159-162, Aug. 1994.

KAUFMAN, M. H.; BARD, J. B. L. The Mouth and de Nose Region. In:_____. **The Anatomical Basis of Mouse Development.** San Diego: Academic Press, 1999. Cap. 4.5, p. 157-170.

KIRK, E.E.; LIM, K.C.; KHAN, M.O. Comparison of Dentinogenesis on Pulp Capping With Calcium Hydroxide in Paste and Cement Form. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.,** St. Louis, v. 68, no. 2, p. 210-219, Aug. 1989.

KLUGER, R. et al. Removal of the Surface Layers of Human Cortical Bone Allografts Restores In Vitro Osteoclast Function Reduced by Processing and Frozen Storage. **Bone,** New York, v. 32, no. 3, p. 291-296, Mar. 2003.

KUNERT, I.R. Tecnologia Sônica e Ultra-Sônica. In:_____. **Ultra Som na Prática Odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, 2006. Cap. 1, p. 25-45.

LAND, L. et al. Maxillary Sinus Floor Elevation Using a Combination of DFDBA and Bovine-Derived Porous Hydroxyapatite: A Preliminary Histologic and Histomorphometric Report. **Int. J. Periodontics Rest. Dent.**, Chicago, v. 20, no. 6, p. 574-583, June 2000.

LAW, K.T. et al. The Relationship Between Eruption and Length of Mandibular Incisors in Young Rats. **Med. Sci. Monit.**, Warsaw, v. 9, no. 1, p. BR47-BR53, Jan. 2003.

LEITE, M. **Avaliação Radiográfica e Histológica do Defeito de Osso Alógeno Liofilizado Enxertado em Área Dentada em Crescimento**: Estudo Experimental em Ratos. 2005. 111 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica-Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

LORENZETTI, M. et al. Bone Augmentation of the Inferior Floor of the Maxillary Sinus With Autogenous Bone or Composite Bone Graft: A Histologic-Histomorphometric Preliminary Report. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Lombard, v. 13, no. 1, p. 69-76, Jan./Feb. 1998.

MACFARLANE, R.G. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and its Function as a Biochemical Amplifier. **Nature**, Basingstoke, no. 202, p. 498-499, May 1964.

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone Grafts. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v. 29, no. 5, p. 1207-1219, Sept. 1999.

MARX, R.E.; SAUNDERS, T.R. Reconstruction and Rehabilitation of Cancer Patients. In: FONSECA, R.J.; DAVIS, W.H. **Reconstructive Preprosthetic Oral and Maxillofacial Surgery**. Philadelphia: Saunders, 1986. P. 347-428.

MASTERS, D.H. Implants. Bone and Bone Substitutes. **CDA J.**, Los Angeles, v. 16, no. 1, p. 56-65, Jan. 1988.

MELCHER, A.A.; FURSETH, R. Erupção Dentária e Exfoliação dos Dentes Decíduos. In: MJÖR, I.A.; FEJERSKOV, O. **Embriologia e Histologia Oral Humana**. São Paulo: Panamericana, 1990. Cap. 4, p. 177-201.

MESQUITA, E.; LOBATO, M.R.; MARTINS, A.B. Efeitos Biológicos do Uso do Ultra-Som em Odontologia. In: MESQUITA, E. **O Ultra-Som na Prática Odontológica**. Porto Alegre: Artmed, 2006. Cap. 3, p. 59-64.

MISCH, C.E.; DIETSH, F. Bone-Grafting Materials in Implant Dentistry. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 2, no. 3, p. 158-167, Mar. 1993.

MJÖR, I.A. Dentina e Polpa. In: MJÖR, I.A.; FEJERSKOV, O. **Embriologia e Histologia Oral Humana**. São Paulo: Panamericana, 1990. Cap. 2, p. 90-129.

MOY, P.K.; LUNDGERN, S.; HOLMES, R.E. Maxillary Sinus Augmentation: Histomorphometric Analysis of Graft Materials for Maxillary Sinus Floor Augmentation. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 51, no. 8, p. 857-862, Aug. 1993.

OLIVEIRA, R.C. et al. Efeito da Temperatura de Desproteção no Preparo de Osso Cortical Bovino Microgranular. Avaliação Microscópica e Bioquímica da Resposta Celular em Subcutâneo de Ratos. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, Bauru, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, jul./dez. 1999.

PADUA, J.M. **Efeito do Ultra-Som no Processo de Reparo de Fraturas do Osso Zigomático de Ratos**: Avaliação Histomorfológica. 1990. 78 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial)-Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 1990.

PARIS, M.F. et al. Reconstrução de Osso Alveolar, em Área Dentada, com uso de Hidroxiapatita, Análise Histológica: Estudo Experimental. **Rev. Odonto Ciênc.**, Porto Alegre, v. 18, n. 39, p. 89-98, jan./mar. 2003.

PELKER, R.R. et al. Effects of Freezing and Freeze-Drying in the Biomechanical Properties of Rat Bone. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 1 no. 4, p. 405-411, 1984.

PURICELLI, E. Artroplastia Biconvexa para Tratamento da Anquilose da Articulação Têmporo Mandibular. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 38, n. 1, p. 23-27, jul. 1997.

PURICELLI, E. Avaliação Histológica de Implantes de Hidroxiapatita em Defeito Ósseo Alveolar Dentado em Humano: Relato de Caso. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 43, n. 1, p. 34-36, jul. 2002.

PURICELLI, E.; CHEM, R.C. Reconstrução de Mandíbula com Fíbula. **RGO**, Porto Alegre, v. 33, n. 2, p. 124-127, abr./jun. 1985

PURICELLI, E.; BARALDI, C.E.; CARDOSO, C.F.R. Princípios Cirúrgicos para Enxertos nas Reconstruções Alveolares. In: GONÇALVES, E.A.N; GENTIL, S.N. (Org.). **Atualização Clínica em Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2004. Cap. 2, p. 13-35.

PURICELLI, E.; BARALDI, C.E.; PARIS, M.F. Reconstruções Ósseas Alveolares. In: NET ODONTO. **Da Construção à Expressão**: Livro Virtual 23º CIOSP. São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://www.netodonto.com.br/lmsbuilder/ciosp/indice.asp>>. Acesso em: 01 maio 2005.

PURICELLI, E.; PESCHKE, R.; CARDOSO, C.F.R. Possibilidade de Ossificação Intracondral Dirigida a Partir de uma Matriz Óssea com Titânio. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 40, n. 1, p. 32-36, set. 1999.

PURICELLI, E. et al. Estudo Histológico do Polímero Poliuretano da Mamona Implantado no Ângulo Mandibular de Ratos. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 40, n. 1, p. 37-41, set. 1999.

PURICELLI, E. et al. Histological Analysis of the Effects of a Static Magnetic Field on Bone Healing Process in Rat Femurs. **Head Face Med.**, London, v. 2, p. 43, Nov. 2006.

ROSS, M.H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J. Osso. In:_____. **Histologia: Texto e Atlas**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993. Cap. 8, p. 141-180.

SÁ FILHO, F.P.G. de. Sangue, Respiração, Coração e Vasos. In:_____. **Fisiologia Oral**. São Paulo: Liv. Santos, 2004. Cap. 3, p. 103-155.

SIQUEIRA Jr, J.F.; DANTAS, C.J.S. **Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação**. 1. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000. 240p.

STEVENSON, S. Biology of Bone Grafts. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 30, no. 4, p. 543-552, Oct. 1999.

SYFTESTAD, G.T.; URIST, M.R. Bone Aging. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, no. 162, p. 288-297, Jan./Feb. 1982.

TAYLOR, A.C.; BUTCHER, E.O. The Regulation of Eruption Rate in the Incisor Teeth of the White Rat. **J. Exp. Zool.**, New York, v. 117, no. 1, p. 165-188, June 1951.

TEN CATE, A.R. Osso. In:_____. **Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001a. Cap. 7, p. 101-122.

TEN CATE, A.R. Reparo e Regeneração do Tecido Dentário. In:_____. **Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001b. Cap. 18, p. 379-392.

ULBRICH, L. M. **Avaliação do Efeito de um Campo Magnético Permanente na Cicatrização Óssea em Fêmures de Ratos**. 2003. 96 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica-Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.

URIST, M.R. Bone: Formation by Autoinduction. **Science**, New York, v. 150, no. 698, p. 893-899. Nov. 1965.

URIST, M.R. Bone Transplants and Implants. In:_____. **Fundamental and Clinical Bone Physiology**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1980. P. 331-368.

VALERA, M.C. et al Pontas de Diamantes-CVD. **RGO**, Porto Alegre, v. 44, n. 2, p. 104-108, mar./abr. 1996.

VEECK, E.B.; PURICELLI, E.; SOUZA, M.A.L. Análise do Comportamento do Osso e da Medula Hemopoética em Relação a Implantes de Titânio e Hidroxiapatita: Estudo Experimental em Fêmur de Rato. **Rev. Odonto Ciênc.**, Porto Alegre, v. 10, n. 19, p. 235-291, jun. 1995.

WILLIAMS, A.R.; CHARTER, B.V. Mammalian Platelet Damage In Vitro by an Ultrasonic Therapeutic Device. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 25, no. 3, p. 175-179, 1980.

XAVIER, C.A.M.; DUARTE, L.R. Estimulação Ultra-sônica do Calo Ósseo. **Rev. Bras. Ortop.**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 73-80, maio/jun. 1983.

ANEXOS

ANEXO A

Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA
Resolução Normativa 04/97

A Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, credenciada junto a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde como Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), vinculada ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o objetivo de estabelecer normas para a utilização de animais em projetos de pesquisa submetidos à apreciação desta Comissão, com base nos princípios e normas internacionalmente aceitas, dispõe que:

- a) a utilização de animais em pesquisas científicas deve ocorrer somente após ser provada a sua relevância para o avanço do conhecimento científico, considerando-se a impossibilidade de utilização de métodos alternativos como: modelos matemáticos; simulações computadorizadas; sistemas biológicos “in vitro” ou outro método adequado;
- b) a espécie utilizada e o cálculo do tamanho da amostra devem ser adequados para a obtenção de resultados válidos;
- c) deve ser oferecido alojamento, transporte, alimentação e cuidados adequados à espécie através de assistência qualificada;
- d) procedimentos que possam causar dor ou angústia devem ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia, salvo quando forem os mesmos o objetivo da pesquisa. Devem ser, igualmente, observados cuidados com assepsia e prevenção de infecções, assim como cuidados para minimizar o desconforto e estresse dos animais em estudo;

- e) necessitando de imobilização física e/ou de privação alimentar ou hídrica, os pesquisadores devem procurar manter estas condições pelo menor período de tempo possível, evitando prolongar a angústia, desconforto e dor;
- f) quando for necessário ao estudo, ou após o mesmo, se indicado, que os animais devam ser sacrificados, este procedimento deve ser realizado de forma rápida, indolor e irreversível;
- g) as técnicas aceitas para o sacrifício de animais são as seguintes: hipóxia por barbitúricos, anestésicos inalatórios, dióxido de carbono e monóxido de carbono (engarrafado), metanesulfonato de tricaína, benzocaína e irradiação por microondas;
- h) as técnicas aceitas, de forma condicional, são as seguintes: hipóxia por deslocamento cervical, por nitrogênio ou argônio, decapitação, concussão cerebral e dano medular;
- i) não serão aceitas, salvo exceções extremamente justificadas, as seguintes técnicas de sacrifício de animais: sangramento, descompressão, congelamento rápido, embolismo gasoso, afogamento, atordoamento, uso isolado de estriquinina, nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio, agentes curariformes, clorofórmio e cianeto.

ANEXO B

Código Estadual de Proteção aos Animais

Lei Estadual Nº 11.915

21 de maio de 2003

Rio Grande do Sul

Art. 17 - VETADO

TÍTULO II

CAPÍTULO I

Dos Animais de Laboratório

Seção I

Da Vivissecção

Art. 18 - Considera-se vivissecção os testes realizados com animais vivos em centros de pesquisas.

Art. 19 - Os centros de pesquisas deverão ser devidamente registrados no órgão competente e supervisionados por profissionais de nível superior, nas áreas afins.

Art. 20 - É proibida a prática de vivissecção sem uso de anestésico, bem como a sua realização em estabelecimentos escolares de ensino fundamental e médio.

Parágrafo único - Os relaxantes musculares parciais ou totais não serão considerados anestésicos.

Art. 21 - Com relação ao teste de vivissecção é proibido:

I - realizar experiências com fins comerciais, de propaganda armamentista e outros

que não sejam de cunho científico humanitário;

II - utilizar animal já submetido a outro teste ou realizar experiência prolongada com o mesmo animal.

Art. 22 - Nos locais onde está autorizada a vivisseção, deverá constituir-se uma comissão de ética, composta por, no mínimo, 03 (três) membros, sendo:

I - um (01) representante da entidade autorizada;

II - um (01) veterinário ou responsável;

III - um (01) representante da sociedade protetora de animais.

Art. 23 - Compete à comissão de ética fiscalizar:

I - a habilitação e a capacidade do pessoal encarregado de prestar assistência aos animais;

II - verificar se estão sendo adotados os procedimentos para prevenir dor e o sofrimento do animal, tais como aplicação de anestésico ou analgésico;

III - denunciar ao órgão competente qualquer desobediência a esta Lei.

Art. 24 - Todos os centros de pesquisas deverão possuir os recursos humanos e materiais necessários a fim de zelar pela saúde e bem-estar dos animais.

Seção II

Das Disposições Finais

Art. 25 - As penalidades e multas referentes às infrações definidas nesta Lei serão estabelecidas pelo Poder Executivo, em espécie.

Art. 26 - O Poder Executivo definirá o órgão estadual encarregado de fiscalizar o cumprimento das disposições desta Lei.

Art. 27 - O Poder Executivo regulamentará esta Lei no prazo de 30 (trinta) dias da data de sua publicação.

Art. 28 - Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 29 - Revogam-se as disposições em contrário.

PALÁCIO PIRATINI, em Porto Alegre, 21 de maio de 2003.

ANEXO C

Anexo C: Aprovação da Comissão de Pesquisa e do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

RESOLUÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisaram o Projeto:

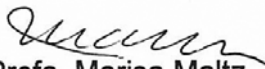
Número: 49/06

TÍTULO - ANÁLISE DE DEFEITO ÓSSEO EM ÁREA DENTADA EM DESENVOLVIMENTO COM E SEM ENXERTO ÓSSEO CONGELADO APÓS ABLAÇÃO POR LASER DE Er: YAG. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

Investigador(es) principal(ais): Professores Eduardo S. Ferreira, Edela Puricelli e C.D. Jéssica C. Muneratto

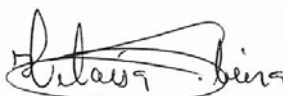
O Projeto foi aprovado na reunião do dia 12/09/06, Ata nº 09/06 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme a Resolução 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde GPPG/HCPA.

Porto Alegre, 24 de outubro de 2006.



Prof. Marisa Maltz

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa



Prof. Heloísa Emília Dias da Silveira
Coordenadora da Comissão de Pesquisas