

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

MAURO GOMES TREIN LEITE

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA
DO EFEITO DE OSSO ALÓGENO LIOFILIZADO
ENXERTADO EM ÁREA DENTADA EM CRESCIMENTO:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

PORTO ALEGRE
SETEMBRO DE 2005

MAURO GOMES TREIN LEITE

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DO EFEITO DE
OSSO ALÓGENO LIOFILIZADO ENXERTADO EM ÁREA DENTADA
EM CRESCIMENTO:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

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

Profa. Dra. EDELA PURICELLI
ORIENTADORA

PORTO ALEGRE
2005

À incomparável Profa. Dra. Edela Puricelli

defensora incansável da Odontologia,

por sua enorme **dedicação, generosidade, fé e orientação,**

pela **confiança** a mim depositada,

pela idealização deste **inédito** trabalho,

Por ser **mãe** ao dizer “sim” e “não” nas horas certas

e confirmar na minha formação os princípios **éticos e morais** fundamentais para o

crescimento pessoal e profissional,

e por ensinar que **paixão, emoção, organização e disciplina**

devem estar presentes em todas as nossas **ações**.

OBRIGADO!

À senhora dedico este trabalho.

Aos meus pais, Adão e Sonia,
por me transmitirem os valores mais importantes da vida
e que só podem ser obtidos na família,
pelo exemplo de amor, carinho e dedicação
e por me ensinarem a lutar pelos meus sonhos.

À minha amada Bianca,
pelo amor, companheirismo,
ajuda irrestrita através do seu talento e
sobretudo por me fazer tão feliz.

À minha mana Tati,
pelo carinho, apoio e por entender
o meu afastamento físico nestes últimos anos.

Aos meus sogros Edgar e Rejane,
por dedicarem a mim todo amor,
carinho e apoio que se dá para um filho.

Aos meus amigos e colegas Adriana, Tatiana e Nardier
pelo convívio, pelo apoio e companheirismo
nesta etapa tão importante das nossas vidas.

Aos meus afilhados Bruno, Luiz Roberto e Leopoldo
por entenderem a minha ausência
nestes anos de formação.

Aos meus tios, tias, primos e primas,
pelo apoio e incentivo constantes
nesta etapa da minha vida.

Aos meus cunhados e cunhadas,
pelo apoio irrestrito em ajudar, apoiar
e incentivar o meu crescimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
na pessoa do Prof. Dr. Manoel Sant'Ana
e Prof. Dr. Pantelis Varvaki Rados.

À Profa. Deise Ponzoni,
pela amizade e fundamental apoio
e incentivo durante todas as fases deste trabalho.

Ao Prof. João Julio e Prof. Carlos Cardoso
pela amizade, conhecimento, encorajamento
e entusiasmo que me ofereceram no decorrer de toda esta caminhada.

Ao Prof. João Batista,
pela amizade e pela atmosfera descontraída de trabalho.

Aos colegas Baraldi, Mari, Gustavo e Marcel,
pela confiança e apoio dado em todas as etapas deste trabalho.

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

À Isabel Pucci,
por apoiar, incentivar e acreditar
no meu crescimento profissional.

Aos colegas ex-alunos do Programa de Capacitação em CTBMF da FO-UFRGS,
Jéssica e Henrique, pela amizade e disponibilidade em colaborar com este trabalho.

Aos meus colegas de mestrado,
pela amizade e convívio, durante estes dois anos de curso.

Às Bibliotecárias Norma Ataíde e Eloísa Futuro Pfitscher, pela orientação.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Galia,
Coordenador Técnico do Banco de Tecidos do
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA),
pela disponibilidade e orientação.

À srta. Tielle Müller de Mello,
pela gentil colaboração.

Aos meus Professores do Programa de Pós-Graduação,
pelo empenho em passar seus conhecimentos e elevar o nome desta Instituição.

Às Enfermeiras e Auxiliares de Enfermagem do Bloco Cirúrgico,
CME, SAC e Unidades de Internação, em especial às
Enfas. Rose, Marta, Simone e Cida e as Auxiliares Bete, Cleudi e Gilnéia,
pela dedicação prestada a nós e aos nossos pacientes.

Aos funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Bárbara, Simão, Sadi e Eroni, por toda a colaboração.

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

Ao meu amigo Rafael Karam,
pela amizade, incentivo e apoio nas horas mais importantes.

Aos meus amigos Pedro, Rodrigo e Gigi,
pela amizade e pela grande ajuda nas etapas finais deste trabalho.

Aos funcionários do Biotério da UFRGS,
em especial à Dona Geni, Seu Carmona, Paula e Márcio,
pela disponibilidade e cuidados aos animais deste experimento.

A todos, meus mais sinceros agradecimentos.

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 seu trajeto de erupção e vitalidade pulpar; a capacidade do espaço alveolar como leito ósseo para estudo de enxertias; o comportamento do enxerto ósseo liofilizado quanto à integração e cicatrização em relação ao processo físico de compressão provocado por uma força dinâmica resultante da erupção dentária. **Materiais e Métodos:** estudo experimental *in vivo*, com amostragem selecionada de forma aleatória, randomizada, com um grupo experimento e outro controle. Constou de 21 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, cepa *Wistar*, machos, subdivididos em três grupos, correspondendo aos tempos de sete, 14 e 45 dias. Em cada grupo cinco animais foram experimento e dois animais foram controle. Em cada animal foi removido, cirurgicamente, o segmento medial do incisivo inferior direito. Entretanto, nos animais experimento foram realizados enxertos de osso alógeno liofilizado nos 2,0mm distais do total da cavidade alveolar cirurgicamente obtida. **Resultados:** aos sete dias observou-se a continuada erupção do segmento proximal e início da atresia do conduto radicular, em ambos os grupos avaliados e início da integração do enxerto ósseo no grupo experimento. Aos 14 dias seguem as mesmas observações descritas aos sete dias com progressão da incorporação do enxerto ósseo e atresia radicular. Aos 45 dias o segmento dentário distal ultrapassou a área do enxerto sendo desviado por este para vestibular enquanto no grupo controle o elemento dentário segue o seu trajeto eruptivo obedecendo à anatomia do corpo mandibular. A atresia pulpar é observada quase na totalidade do conduto radicular. **Conclusão:** Após a remoção do segmento medial da raiz do incisivo inferior do rato concluímos que: o incisivo inferior do rato, mesmo submetido à odontosseção em seu segmento dentário proximal segue um processo de crescimento e erupção; o tecido pulpar, contido no segmento proximal mantém sua vitalidade, reagindo na forma de cicatrização dentinária compatível com o dente humano; o enxerto ósseo alógeno liofilizado evolui favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário e a dinâmica da erupção dentária pode criar força em padrão fisiológico para testar a resistência e estabilidade do enxerto ósseo cicatrizado.

ABSTRACT

Proposition: to evaluate, radiographically and histologically, rat's inferior incisive behavior when it's medial radicular segment is removed, related to the eruption trajectory and the pulp vitality; capacity of alveolar space as a bone layer for graft researches; the lyophilized bone graft behavior about the integration and cicatrization related to the compressive physical process created by the dynamic force o dental eruption. **Materials and Methods:** experimental "*in vivo*" study, with randomized aleatory sample, with a study group and a control group. 21 male *Wistar* strain rats, *Rattus norvegicus albinus* species, were divided in three groups, correspondent to seven, 14 and 45 days. Each group had five animals as experiment and two as control. Each animal had the right inferior incisive medial segment surgically removed. However, the experiment animals received allogenic lyophilized bone grafts in the 2,0 distal millimeters of the alveolar cavity surgically obtained. **Results:** in seven days we observed the continued eruption of proximal segment and the beginning of root atresia in both groups, and the beginning of incorporation of bone graft. In 14 days, we observed the same as seven days, increasing the incorporation of bone graft and root atresia. In 45 days, the distal dental segment trespassed the graft area, changing its route to vestibular, while in the control group the tooth maintains the eruption way following the mandibular anatomy. The pulp atresia is observed almost in the totality of root. **Conclusion:** after the removal of medial root segment of rat's inferior incisive tooth we concluded that this tooth, even when submitted to the section of proximal segment, follows a growth and eruption process; the pulp tissue inside the proximal segment maintains it's vitality, reacting by the dentinal cicatrization, compatible with human tooth; the allogeneic lyophilized bone grafts evolve favorable in the process of incorporation in a receiver layer created inside dental alveolus, and the dental eruption dynamic can created a force with physiological pattern to test the resistance and stability of cicatrized bone graft.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fêmures de ratos doadores, preparados por liofilização para enxertia alógena..... 48
- Figura 2:** Osso liofilizado de rato doador na forma particulada para enxerto alógeno, após trituração manual..... 48
- Figura 3:** Vista lateral da hemimandíbula de um rato de aproximadamente três meses. Observar a área de trabalho entre o rebordo alveolar do incisivo (**RA**) e a linha oblíqua externa (→). Em relação ao plano anatômico sagital, foram consideradas as regiões proximal (**P**) e distal (**D**). Observa-se o 1º molar inferior (**MI**) e o limite ósseo-dento-cervical do incisivo inferior (**L**)..... 49
- Figura 4:** Preparo Pré-cirúrgico. Tricotomia da região mandibular, lado direito no rato anestesiado..... 49
- Figura 5:** Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Região do corpo mandibular direito, após a incisão e divulsão por planos teciduais. **B-** Buraco e nervo mentoniano. **C-** Elemento dentário incisivo inferior. Limite ósseo-dento-cervical (→)..... 50
- Figura 6:** Imagem Trans-cirúrgica. Delimitação da ostectomia com a utilização de sonda periodontal milimetrada. Odontossecção proximal (**OP**). Odontossecção distal (**OD**). Limite ósseo-dento-cervical (→)..... 50
- Figura 7:** Brocas Cirúrgicas – Brocas utilizadas na realização das ostectomias e odontossecções. **A-** Cilíndrica topo arredondado diamantada nº. 92G. **B-** Esférica nº.3. **C-** Esférica diamantada nº. 2. **D-** Cilíndrica picotada nº. 701C..... 51
- Figura 8:** Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Porção radicular do incisivo inferior direito em seu trajeto intra-alveolar, após a realização da ostectomia..... 51
- Figura 9:** Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Raiz do incisivo inferior. **C-** Linhas da odontossecção transversal realizada nos limites distal e proximal previamente demarcadas. **P-** Proximal. **D-** Distal..... 52
- Figura 10:** Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Cavidade alveolar após a remoção cirúrgica do fragmento radicular..... 52

- Figura 11:** Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Cavidade alveolar. **C-** Enxerto ósseo liofilizado inserido nos 2,0mm distais junto ao segmento radicular distal do incisivo inferior direito..... 53
- Figura 12:** Imagem Trans-cirúrgica. Reposicionamento e sutura do periósteo e planos musculares..... 53
- Figura 13:** Imagem Trans-cirúrgica. Sutura da pele com fio mononylon 5.0, completando o fechamento da ferida por planos..... 54
- Figura 14:** Radiografia oclusal da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, sem a remoção do segmento radicular medial do incisivo..... 58
- Figura 15:** Radiografia oclusal ao zero dia pós-operatório da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, com a remoção do segmento radicular medial do incisivo..... 58
- Figura 16:** Radiografia de perfil da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, sem a remoção do segmento radicular medial do incisivo..... 59
- Figura 17:** Radiografia de perfil ao zero dia pós-operatório da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, após a remoção do segmento radicular medial do incisivo..... 59
- Figura 18:** Montagem da imagem histológica de zero dia pós-operatório da hemimandíbula, com a remoção do segmento radicular medial. Pode-se observar **A-** Espaço alveolar vazio. **B-** Limite da ostectomia proximal. **C-** Segmento radicular proximal. **D-** Segmento radicular distal. **E-** Conduto pulpar com seus tecidos preservados. **F-** Parede alveolar lingual. H.E. Aumento tamanho original 40X..... 60
- Figura 19:** Radiografia oclusal, grupo controle aos sete dias. Devido a sobreposição dos elementos dentários na área molar, torna-se restrita a visualização do alvéolo..... 64
- Figura 20:** Radiografia de perfil, grupo controle aos sete dias. A nitidez da imagem radiográfica permite identificar a segmentação do incisivo inferior do rato. O alvéolo vazio perde parte de seu espaço pela intrusão do segmento dentário distal..... 64

Figura 21: Montagem da imagem histológica, grupo controle aos sete dias. Observa-se A - Segmento radicular proximal. B - Segmento radicular distal. Osteotomia proximal (→). H.E. Aumento original 40X.....	65
Figura 22: Incisivo, coto proximal, grupo controle aos sete dias. Observa-se a polpa (P), apresentando reação inflamatória (R), crescimento tecidual centrípeto a partir da dentina (→), vasos sanguíneos (V) e o início da reação dentinária pela reação de dentina terciária (DT). H.E. Aumento original 100X.....	66
Figura 23: Incisivo, coto distal, grupo controle aos sete dias. Observa-se a estrutura tecidual pulpar desorganizada (P). H.E. Aumento original 100X.....	66
Figura 24: Radiografia oclusal, grupo experimento aos sete dias. Junto ao segmento dentário distal do incisivo inferior direito identificam-se por radiopacidade as partículas óssea enxertadas.....	67
Figura 25: Radiografia de perfil, grupo experimento aos sete dias. Apesar da sobreposição de imagem, pode-se observar as partículas de enxerto ósseo liofilizado. Registra-se, ainda, alguns sinais de intrusão do segmento dentário distal, mantido no trajeto alveolar.....	67
Figura 26: Montagem do incisivo, grupo experimento aos sete dias. Observa-se o segmento radicular proximal (A), segmento radicular distal (B), enxerto ósseo (→), tecido fibroso (TF) e a cortical óssea vestibular (C), H.E. Aumento original 40X.....	68
Figura 27: Enxerto ósseo (EO), grupo experimento aos sete dias. Observa-se a presença de vasos sanguíneos na estrutura do enxerto (→). H.E. Aumento original 250X.....	69
Figura 28: Incisivo, coto proximal, grupo experimento aos sete dias. Observam-se numerosos vasos sanguíneos (→) no interior do tecido pulpar ricamente celular. H.E. Aumento original 250X.....	69
Figura 29: Incisivo, coto distal, grupo experimento aos sete dias. Observa-se a estrutura tecidual pulpar desorganizada (P). Hematoma (H). Dentina primária (DP). H.E. Aumento original 250X.....	70

- Figura 30:** Radiografia oclusal, grupo controle aos 14 dias. A imagem permite localizar o segmento dentário proximal emergente por mesial do 1º molar inferior direito. O segmento dentário distal mantém-se inserido no alvéolo demonstrando algum processo de desvio..... 74
- Figura 31:** Radiografia de perfil, grupo controle aos 14 dias. Segmento dentário proximal com características de trajeto de erupção intra-alveolar. Na visão sagital, também o segmento dentário distal mantém-se compatível com a normalidade em seu posicionamento..... 74
- Figura 32:** Montagem do incisivo, grupo controle aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal **(A)**, a cortical óssea vestibular **(B)**, o epitélio gengival (\rightarrow) e a presença de vasos sanguíneos em proliferação na polpa **(V)** H.E. Aumento original 40X..... 75
- Figura 33:** Tecido ósseo e dentário, grupo controle aos 14 dias. Pode-se observar o tecido pulpar **(P)**, com vasos sanguíneos **(V)**, o osso alveolar **(O)**, o periodonto **(Pd)** e o processo fisiológico de reabsorção radicular durante o processo de crescimento e erupção (\rightarrow). H.E. Aumento original 100X..... 76
- Figura 34:** Radiografia oclusal, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento dentário proximal evoluindo no espaço alveolar. Em distal do alvéolo é possível identificar área parcialmente radiolúcida e radiopaca compatível com a presença de enxerto ósseo liofilizado..... 77
- Figura 35:** Radiografia de perfil, grupo experimento aos 14 dias. Além do avanço eruptivo do segmento dentário proximal no alvéolo, identifica-se grande proximidade do mesmo à área óssea enxertada..... 77
- Figura 36:** Montagem do incisivo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal **(A)**, a cortical óssea lingual **(B)** e a cortical óssea vestibular **(C)**. H.E. Aumento original 40X..... 78
- Figura 37:** Montagem do incisivo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se a polpa **(P)** e atresia do conduto radicular com dentina terciária (\rightarrow). H.E. Aumento original 40X..... 78
- Figura 38:** Incisivo e enxerto ósseo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal **(A)** e o enxerto ósseo (\rightarrow) H.E. Aumento original 40X..... 79

- Figura 39:** Enxerto ósseo, grupo experimento aos 14 dias. Observam-se a presença de vasos sanguíneos no interior da estrutura do enxerto (→). H.E. Aumento original 400X..... 79
- Figura 40:** Polpa, coto proximal, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se, no tecido pulpar a presença de um tampão inflamatório (→) junto à área da odontossecação. H.E. Aumento original 100X..... 80
- Figura 41:** Radiografia oclusal, grupo controle aos 45 dias. Segmento dentário proximal em erupção com imagens do trajeto alveolar compatível com normalidade anatômica..... 84
- Figura 42:** Radiografia de perfil, grupo controle aos 45 dias. Segmento dentário proximal repete o trajeto eruptivo dentro do conduto alveolar..... 84
- Figura 43:** Montagem do incisivo, grupo controle aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal **(A)** no seu trajeto de erupção, a cortical óssea lingual **(B)**, a cortical óssea vestibular **(C)** e a atresia quase que completa do conduto radicular **(D)**. Artefato da técnica (→). H.E. Aumento original 45X..... 85
- Figura 44:** Radiografia oclusal, grupo experimento aos 45 dias. Registra-se o segmento dentário em trajeto eruptivo para vestibular, ausentando-se do canal alveolar..... 86
- Figura 45:** Radiografia de perfil, grupo experimento aos 45 dias. Segmento dentário proximal mantém sua configuração anatômica curvilínea..... 86
- Figura 46:** Montagem do incisivo, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal desviado para vestibular **(A)**, a polpa **(P)**, a estrutura óssea exuberante compatível com enxerto **(E)** e restos alimentares (→). H.E. Aumento original 40X..... 87
- Figura 47:** Incisivo, coto pulpar proximal, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal **(A)**, a continuidade do processo de atresia **(B)** e formação de um tampão de dentina terciária na região da odontossecação (→). H.E. Aumento original 100X..... 88
- Figura 48:** Incisivo e osso alveolar, grupo controle aos 45 dias. Observa-se o osso alveolar **(O)** e o segmento radicular proximal seguindo o seu trajeto de erupção **(A)**. H.E. Aumento original 100X..... 89

Figura 49: Incisivo e osso alveolar, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o tecido ósseo enxertado (**E**) e o segmento radicular proximal sendo desviado do seu trajeto eruptivo (**B**). H.E. Aumento original 100X..... 89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Atm – atmosfera

BMP – *bone morphogenetic protein* (proteína morfogenética óssea)

EEB- Encefalite Espongiforme Bovina

et al – *et alli* (e colaboradores)

FDA - Food and Drug Administration

g – grama(s)

GC – grupo controle

GPPG – Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HE – hematoxilina e eosina

HIV – Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

HTLV – Human T cell Lymphotropic Virus (Vírus Linfotrópico de células T Humanas)

Kda - quilodáton

Kv - quilovolt

mA - miliampère

μm – micrometro(s)

rpm – rotações por minuto

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	16
INTRODUÇÃO.....	20
REVISÃO DA LITERATURA.....	22
1-TECIDO ÓSSEO.....	22
2-REPARO ÓSSEO ALVEOLAR.....	24
3- ENXERTOS ÓSSEOS.....	26
3.1- ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO	27
3.2- ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO	28
33- ENXERTO ÓSSEO XENÓGENO	29
4- ENXERTO ÓSSEO LIOFILIZADO	31
5- INCORPORAÇÃO DOS ENXETOS ÓSSEOS.....	32
6- TECIDOS DENTÁRIOS	34
7- CICATRIZAÇÃO DAS FRATURAS RADICULARES.....	35
8- MODELO ANIMAL	37
PROPOSIÇÃO	39
METODOLOGIA.....	40
1- PARADIGMA.....	40
2- MODELO DE ESTUDO.....	40
3- LOCAL.....	40
4- AMOSTRA.....	40
5- MATERIAL.....	41
6- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	42

7- MÉTODO RADIOGRÁFICO.....	45
8- MÉTODO HISTOLÓGICO.....	46
9- CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	47
RESULTADOS.....	55
DISCUSSÃO.....	91
CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
ANEXOS.....	107

INTRODUÇÃO

Os defeitos ósseos do complexo facial são um desafio para a cirurgia reconstrutiva bucomaxilofacial. As anomalias congênitas, seqüelas de traumas, doenças degenerativas, processos infecciosos, lesões tumorais podem provocar grandes perdas ósseas e, conseqüentemente, alterações funcionais e estéticas (LINDSEY, 2001).

Autores como West e Brustein (1978), Kenney e colaboradores (1985) e Puricelli (1998) relatam a utilização de diferentes formas de enxertos autógenos, alógenos, xenógenos e implantes de materiais aloplásticos (biologicamente inertes) para corrigir e reconstruir, parcial ou totalmente, os maxilares.

Esses desafios têm incentivado um significativo número de pesquisadores a desenvolver diferentes tipos de enxertos e produzir diversos materiais, com o propósito de promover uma melhor reparação de áreas ósseas lesadas. O osso autógeno é o “padrão ouro” de escolha de enxerto, agindo, simultaneamente, com propriedades osteogênica, osteoindutora e osteocondutora (MOY, LUNDGERN e HOLMES, 1993; LORENZETTI et al, 1998). Porém, a necessidade de sítio cirúrgico doador, morbidez do pós-operatório, limitação do volume ósseo exigido para reconstrução de grandes defeitos, somados ao aumento e porte cirúrgico, impulsionaram a pesquisa para o desenvolvimento de substitutos e técnicas cirúrgicas alternativas (LAND et al, 2000; MEYER, JOSS, WIESMANN, 2004; WIESMANN, JOSS e MEYER, 2004). Como opção para os enxertos autógenos pode-se indicar o uso de osso liofilizado, tanto alógeno como xenógeno.

Especialmente na Odontologia, a presença dentária no esqueleto maxilo-mandibular remete as pesquisas com tecidos ósseos a um patamar diferenciado. As

patologias alvéolo-dentárias fogem dos conceitos lineares quanto à cicatrização e remodelamento ósseo a partir de um processo fisiológico baseado ou não num enxerto autógeno ou alógeno. Assim, 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.

A erupção, por ser contínua, pode ser vista como uma força dinâmica para teste da integração de enxertos ósseos.

Este estudo tem por objetivo avaliar radiográfica e histologicamente o efeito de osso alógeno liofilizado enxertado em área dentada em crescimento.

REVISÃO DA LITERATURA

1- TECIDO ÓSSEO

Segundo Marks e Hermey (1996), o tecido ósseo é constituído por 65% de matriz mineral (principalmente hidroxiapatita). A matriz orgânica é colagênica (colágeno tipo 1) contendo proteoglicanas de baixo peso molecular e proteínas não colágenas. Este corresponde a 25% de sua massa óssea. O restante do tecido ósseo (10%) é constituído por água.

Segundo Ross, Reith e Romrell (1993) o tecido ósseo é classificado em compacto (ou cortical) e esponjoso (ou trabecular). O tecido ósseo compacto é de revestimento, podendo estar recoberto por cartilagem articular ou periósteo. O tecido ósseo esponjoso compreende a medula óssea vermelha, depositada em espaços delimitados por delgadas trabéculas ósseas, recobertas por endósteo, dando o aspecto de esponja.

No osso, 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, 2001).

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

Burkit e colaboradores (1994) assinalam que o perióstio está unido ao osso por feixes de fibras de colágeno, denominadas fibras de Sharpey, que podem penetrar em toda a espessura do osso cortical. O perióstio é ricamente suprido por vasos sangüíneos de tecidos subjacentes, que também penetram no tecido ósseo.

Segundo Junqueira e Carneiro (1995), a formação de osso durante o desenvolvimento do esqueleto ocorre por ossificação intramembranosa ou por ossificação endocondral. Na ossificação intramembranosa, o mineral é depositado diretamente em um tecido mesenquimal, enquanto na ossificação endocondral um modelo de cartilagem é substituído por osso.

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

Estruturado na forma de esqueleto, o tecido ósseo tem como função a sustentação e fixação dos músculos, o suporte para as partes moles e a proteção de órgãos vitais. Aloja a medula óssea e serve, ainda, como depósito de íons cálcio (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995; MARKS e HERMEY, 1996).

O osso, como forma especializada de tecido de sustentação, apresenta propriedades acentuadas de rigidez e força, mantendo algum grau de elasticidade. O osso, como estrutura individual, proporciona a máxima resistência contra tensões mecânicas, num mínimo de massa óssea. No processo de adaptação, todos os ossos do esqueleto estão em um estado dinâmico de crescimento e reabsorção contínuos, dentro das tensões mecânicas e homeostase cálcica (BURKITT et al, 1994).

2- REPARO ÓSSEO ALVEOLAR

O osso alveolar pode ser denominado como a estrutura que juntamente com o ligamento periodontal e cimento fornecem um suporte especializado aos elementos dentários (TEN CATE, 2001).

Segundo Carvalho e Okamoto (1987), denomina-se processo de reparo em feridas de extração dentária, ou processo de reparo alveolar, o conjunto de reações teciduais desencadeadas no alvéolo, após a exodontia. O objetivo do organismo é preencher o alvéolo dental, agora com tecido ósseo. Basicamente, este fenômeno tem a mesma seqüência das respostas reparacionais do organismo, apresentando, no entanto, algumas particularidades locais. 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.

Na fase de proliferação celular, o processo de reparo inicia-se 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, ambos presentes nos remanescentes do ligamento periodontal que permanece aderido às paredes alveolares. Ao mesmo tempo, ocorre a proliferação de células endoteliais, originando novos capilares (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

Na fase do desenvolvimento do tecido conjuntivo, o tecido neoformado exhibe 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 (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

Na fase de diferenciação óssea ou de mineralização, nas proximidades das paredes alveolares e a partir do fundo da cavidade alveolar, os osteoblastos originados de células osteoprogenitoras depositam matriz orgânica, formando um tecido osteóide. A seguir, com a calcificação deste último, são constituídas as trabéculas ósseas. Assim, para os autores, o processo de formação do tecido de granulação e do osteóide é concêntrico, principalmente às expensas dos restos do ligamento periodontal. No homem, a neoformação óssea inicia-se por volta do sétimo dia pós-operatório; por volta do quadragésimo dia, cerca de 2/3 do alvéolo já estão preenchidos por trabéculas ósseas. A esse tempo, as trabéculas ósseas são espessas ao nível do terço apical do alvéolo, estando em continuidade com a cortical alveolar. No alvéolo de ratos, estas fases desenvolvem-se em torno do sétimo dia após a exodontia (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

Considera-se completa a reparação do alvéolo quando este se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado e com a crista alveolar remodelada. Isto deve ocorrer por volta de 21 dias pós-exodônticos no rato, 48 dias no cão e 64 dias no homem. Na etapa final do processo de reparo alveolar, há um equilíbrio dinâmico osteoclástico-osteoblástico, e o novo osso encontra-se em condições de suportar novos estímulos (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

3- ENXERTOS ÓSSEOS

Define-se como enxertia óssea o transplante deste tecido para outro sítio, seja no mesmo indivíduo ou em outro, com o propósito de reparar um defeito (MARTINEZ e WALKER, 1999). O tecido ósseo assim utilizado denomina-se enxerto.

Nas suas diferentes formas e aplicações, os enxertos ósseos representam uma das primeiras abordagens utilizadas para reconstrução do sistema músculo-esquelético. Os enxertos ósseos são utilizados nos tratamentos cirúrgicos para fraturas, doenças articulares, preenchimento de defeitos císticos e para reconstruções após perdas ósseas por ablação de tumores (FRIEDLANDER et al. 1984).

Masters (1988) cita, ainda, além de cistos e neoplasmas, o restabelecimento da forma original após extrações alveolares e defeitos periodontais.

Para Misch e Dietsch (1993), os enxertos ósseos podem atuar através de três mecanismos: osteogênese, osteoindução e osteocondução.

Como osteogênese entende-se a formação de osso diretamente a partir de osteoblastos transferidos juntamente com o enxerto (MARX e SAUNDERS, 1986).

Pela osteoindução, induz-se a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos, aumentando o crescimento ósseo ou mesmo formando osso em áreas extra-ósseas (URIST, 1965 e URIST, 1980). Este processo é facilitado pela presença de fatores de crescimento no enxerto e, principalmente, por proteínas de baixo peso molecular (OLIVEIRA et al, 1999).

A osteocondução é caracterizada por uma neoformação óssea por aposição no osso enxertado ou material implantado. Geralmente inorgânicos, os materiais

osteocondutores são biocompatíveis e formam um arcabouço para deposição e proliferação celular com atividade osteoblástica, produzindo osso (OLIVEIRA et al, 1999; BEZERRA e LENHARO, 2002).

Diferentes tipos de enxertos ósseos fornecem diferentes respostas mecânicas e biológicas. O osso cortical é menos osteogênico que o esponjoso; entretanto, exibe uma melhor propriedade estrutural. A propriedade osteogênica superior do osso esponjoso é reconhecida há mais de 40 anos, o que tem estimulado sua utilização (HEIPLE et al, 1987).

Nogami e Urist (1974) relataram que proteínas de baixo peso molecular poderiam ser extraídas de matriz óssea desmineralizada, possuindo grande atividade osteogênica, e sendo denominadas proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs).

Os enxertos ósseos podem ser classificados em três categorias: autógeno, alógeno (ou aloenxerto) e xenógeno (ou xenoenxerto) (MASTERS, 1988; MISCH e DIETSH, 1993).

3.1- ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO

O enxerto ósseo retirado de um sítio para outro, num mesmo indivíduo, é denominado enxerto ósseo autógeno (STEVENSON, 1999).

O osso autógeno é o “padrão ouro” de escolha de enxerto, sendo o único disponível com propriedades osteogênicas (MISCH, 2000).

Os enxertos ósseos autógenos podem ser livres ou pediculados. Quando livres, podem ser vascularizados ou não vascularizados (PURICELLI, BARALDI e CARDOSO, 2004).

Segundo Puricelli (1981), os enxertos ósseos autógenos, obtidos de diferentes áreas doadoras, associados a modernos e eficientes sistemas de fixação interna rígida, têm grande indicação. Quando vascularizados, apresentam um resultado mais previsível nas grandes reconstruções do complexo maxilo-mandibular (PURICELLI e CHEM, 1985).

Os enxertos livres não vascularizados obtidos no complexo maxilo-mandibular podem ser classificados em bloco ou particulados. Quando em bloco, podem ser: cortical, corticoesponjoso ou esponjoso; quando em partículas, poderão ter origem cortical, medular ou ambas (PURICELLI, BARALDI e CARDOSO, 2004; PURICELLI, BARALDI e PARIS, 2005).

As vantagens dos enxertos ósseos autógenos cortical/medulares são: viabilidade osteoblástica para formação óssea e menor antigenicidade (GAZDAG et al, 1995). Nas grandes reconstruções de defeitos ósseos, a busca de sítios doadores autógenos aumenta a morbidade trans-cirúrgica. Igualmente, a busca de volumes ósseos compatíveis com a reconstrução limita, por vezes, o uso desta forma de enxerto. Estas realidades impulsionaram as pesquisas para o desenvolvimento de outras formas e tecidos para enxerto (LAND et al, 2000).

3.2- ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO

O aloenxerto é obtido de ossos de indivíduos da mesma espécie, mas com genótipos diferentes (MASTERS, 1988). Este, com propriedades osteoindutoras e osteocondutoras, é processado e estocado em banco de ossos.

Segundo Gasdag e colaboradores (1995), os enxertos alógenos estão disponíveis congelados ou liofilizados. Incluem-se a esta divisão os enxertos de osso desmineralizado (MASTERS, 1988).

O aloenxerto, quando congelado, é mantido à temperatura -60°C . Isto minimiza a atividade enzimática no processo de degradação, fornecendo uma diminuição da resposta imune sem mudanças das propriedades biomecânicas (GASDAG et al, 1995).

Segundo Gasdag e colaboradores (1995), o uso de aloenxertos ósseos pode facilitar a transmissão bacteriana, fúngica e viral. Clinicamente, nos seres humanos, chama a atenção a hepatite C e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). As regulamentações determinadas pela FDA e ANVISA, entre outras atitudes protocolares, incluem exames médicos e laboratoriais do doador, testes laboratoriais repetidos no receptor, requerimentos rotulados, longo tempo de monitorização para o enxerto e inspeções das instalações (AMERICAN ASSOCIATION OF TISSUE BANKS, 1993).

3.3- ENXERTO ÓSSEO XENÓGENO

O tecido ósseo retirado de uma para outra espécie é denominado enxerto ósseo 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).

O osso bovino orgânico é constituído principalmente de colágeno tipo I, cerca de 95%, fatores de crescimento e BMPs. Normalmente, é desprovido de células,

lipídios e proteínas imunogênicas. Já o inorgânico, constituído de hidroxiapatita natural com carbonato, apresenta uma estrutura cristalina, praticamente idêntica ao osso humano (HERCULIANI et al, 2000). Segundo o mesmo autor, os produtos derivados do osso bovino apresentam excelente biocompatibilidade, sendo fonte abundante e altamente segura de material. Ainda, para o mesmo autor, os processos de tratamento pelos quais passam (desproteínação, desmineralização e liofilização) diminuem os riscos de antigenicidade ou zoonoses.

Estes produtos de origem bovina têm sido vistos com desconfiança na Europa e EUA, devido ao risco de transmissão da encefalite espongiforme bovina (EEB - doença da vaca louca). Entretanto, no Brasil não houve, até o momento, nenhum registro dessa doença nos órgãos competentes, sendo o país considerado de baixo risco para essa zoonose (FINAL..., 2003). Além disso, o processo utilizado na liofilização e alguns métodos de esterilização parecem ter a capacidade de inativar o *prion* causador dessa doença (WENZ, OESCH e HORST, 2001; TAYLOR, 2002).

Oliveira, Britto e Fonseca (2001) avaliaram o reparo ósseo em cavidades preenchidas com osso liofilizado xenógeno bovino. Os autores utilizaram ratos como modelo animal. Como resultados, obtiveram que o material enxertado aumentou significativamente o trabeculado ósseo. O crescimento ósseo, no grupo controle, iniciou pelas corticais, enquanto no grupo experimental este crescimento desenvolveu-se ao longo do material enxertado. Os autores não observaram qualquer reação de corpo estranho provocada pelo osso liofilizado usado.

4- ENXERTO ÓSSEO LIOFILIZADO

O enxerto ósseo liofilizado caracteriza-se por manter a matriz proteica mineral. Para sua obtenção, deve passar por etapas laboratoriais de purificação, onde é lavado, descelularizado e desengordurado, diminuindo, assim, a antigenicidade (KAKIUCHI et al, 1996; KAKIUCHI e ONO, 1998).

Este método de processamento do tecido ósseo diminui a antigenicidade com pouca alteração bioquímica, fornecendo material biocompatível e estéril. Pode ser armazenado à temperatura ambiente, e sem efeitos que limitem suas propriedades osteoindutivas (GASDAG et al, 1995).

No processo de liofilização, utilizam-se reagentes químicos que desempenham importante papel na inativação dos vírus e remoção celular. Os enxertos são, metodicamente, submetidos a algum processo de esterilização (MBITHI, SPRINGTHORPE e SATTAR, 1990; ARANDA-ANZALDO, VIZA e BUSNEL, 1992).

Em humanos, as doenças virais potencialmente transmissíveis como hepatites A, B e C, Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Vírus Linfotrópico de células T Humanas (HTLV), e certos tipos de células tumorais, devem ser motivo de preocupação, apesar dos cuidados e conhecimentos atuais como controles sorológicos e outras formas de diagnóstico (GASDAG et al, 1995).

Macedo e colaboradores (1999) compararam a resistência à compressão *in vitro* do osso bovino congelado e do osso bovino liofilizado e reidratado. Após testes em máquina de compressão automática, os autores não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados. Observaram que o enxerto ósseo bovino, congelado e posteriormente descongelado durante uma hora, suporta

as mesmas cargas compressivas e possuem a mesma razão de deformação que o osso bovino liofilizado e reidratado. Verificaram, também, que o processo conjunto de liofilização e reidratação do osso não altera as suas propriedades biomecânicas de compressão.

Malletta e colaboradores (1983), *in vivo*, com análises clínicas, histológicas e por microangiografia, compararam a cicatrização e revascularização de enxertos de costela alógena liofilizada e autógena, em maxilas edêntulas de macacas. Os resultados indicaram que a cicatrização e a revascularização foram similares, mas a reabsorção dos aloenxertos ocorreu aproximadamente três meses mais tarde do que nos autoenxertos. Ambos os enxertos pareceram ter mínimo potencial osteogênico.

Isaksson e colaboradores (1992), em cranioplastias experimentais em coelhos, avaliaram a resposta regenerativa de osso alogênico liofilizado tanto de origem endocondral como membranosa. Verificaram que estes aloenxertos ósseos liofilizados apresentaram um modelo similar na sua regeneração óssea. Observaram em ambas a presença de osso medular e densidade volumétrica, sem diferenças significativas entre os intervalos observacionais, assim como entre os grupos experimentais. Os dois tipos de enxertos apresentaram baixo poder osteoindutivo.

5- INCORPORAÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS

Os eventos iniciais na incorporação dos enxertos ósseos autógenos frescos não vascularizados, seja cortical ou esponjoso, são idênticos. Têm início com a formação de um hematoma ao redor do tecido ósseo enxertado. Somente poucas células derivadas do enxerto, que estão próximas à superfície trabecular ou cortical, permanecem viáveis para difusão. Uma necrose superficial estimula a resposta

inflamatória local e, em poucos dias, ocorre, no interior do tecido ósseo enxertado, formação de um estroma fibrovascular. Esse estroma de tecido conjuntivo conduz vasos sanguíneos e células precursoras osteogênicas para o enxerto. Neste momento, tem início a atividade de osteocondução do enxerto, servindo este de estrutura ou arcabouço para a deposição de novo osso. Simultaneamente a esta atividade, fatores de crescimento presentes no enxerto estimulam as células ósseas do receptor a invadir a estrutura deste com atividade osteogênica. A fonte de estimulação pode provir, em parte, de células do enxerto, mas, mais certamente, emanam de células da matriz na forma de proteínas morfogenéticas ósseas (BMP) (URIST et al, 1967 e FRIEDLANDER, 1987).

O reparo ósseo requer a invasão vascular. No osso cortical, isso geralmente ocorre através dos canais de Volkmann ou Havers preexistentes. Esses canais são, então, alterados pela atividade osteoclástica que acompanha a neovascularização. Passa a existir uma maior reabsorção ao longo da periferia do enxerto ósseo. Disso resulta um aumento substancial na porosidade e, conseqüentemente, diminuição da massa óssea. Após o surto progressivo da atividade de reabsorção, este ativo durante meses, a subseqüente produção de novo osso torna-se maior. Gradualmente, esta massa óssea, juntamente com a resistência mecânica, retornam praticamente à normalidade (FRIEDLANDER, 1987).

Os enxertos ósseos esponjosos diferem dos corticais na velocidade e qualidade do reparo. A presença da estrutura trabecular maior nos enxertos esponjosos permite uma rápida revascularização e, subseqüentemente, uma maior incorporação do enxerto (FRIEDLANDER, 1987).

Em relação aos enxertos alógenos, Pelker e colaboradores (1984) referem que os mesmos podem ser processados em variados meios, objetivando

proporcionar um tempo maior de preservação. Entretanto, os métodos podem alterar as propriedades biológicas, mecânicas, ou ambas. Deve-se incluir especialmente o fator imunológico. Os aloenxertos podem ser apresentados nas formas frescas, congeladas ou liofilizadas. Podem, também, ser parcialmente desmineralizados.

Segundo Friedlander (1987), os aloenxertos liofilizados reduzem substancialmente a imunogenicidade. Entretanto, podem alterar suas propriedades mecânicas, produzindo, por exemplo, fraturas, inclusive durante o processo de liofilização. Os enxertos compactados sem carga ou na forma de blocos adequadamente fixados as fraturas, não são fatores de complicação clínica. Nos enxertos alógenos liofilizados, repete-se a seqüência histológica de eventos da incorporação, qualitativamente similar aos dos autógenos. Entretanto, estes eventos desenvolvem-se com maior tempo e menor extensão.

6- TECIDOS DENTÁRIOS

Segundo Ten Cate (2001), o processo de odontogênese envolve a formação da lâmina dentária, seguida pelos estágios de broto, capuz e sino. Este último é caracterizado pela histo e morfodiferenciação, onde o órgão dentário, a papila dentária e o folículo dentário vão dar origem ao esmalte, à dentina e polpa, o cemento, o ligamento periodontal e osso respectivamente. É no estágio de sino que dar-se-á a formação da bainha epitelial de Hertwig, que tem por função modelar e formar a dentina radicular.

Assim, a formação radicular é determinada pela atividade da bainha epitelial de Hertwig, e o crescimento radicular depende de uma proliferação contínua deste epitélio (SHIBATA e STERN, 1968).

Nos dentes humanos, podem ser reconhecidos três tipos de dentina. A maior parte do dente é formada pela dentina primária, que contorna a câmara pulpar. A dentina secundária é resultado da lenta e contínua deposição desta pelos odontoblastos, após a formação radicular completa. A dentina terciária, também é denominada reativa, reparativa ou secundária irregular. Resulta da reação a vários estímulos, entre eles: atrição, cárie, procedimento restaurador do dente e fraturas radiculares. Esta dentina, diferentemente das outras, é produzida apenas pelas células diretamente afetadas pelos estímulos (TEN CATE, 2001).

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 (TEN CATE, 2001).

O cemento é o tecido que recobre a raiz do dente. Trata-se de um tecido conjuntivo especializado, estruturalmente semelhante ao osso compacto. Entretanto, os dois tecidos diferem-se por um aspecto importante: enquanto o osso é vascularizado, o cemento é avascular. O conteúdo mineral é de aproximadamente 65% do peso, a matriz orgânica constitui 23%, e os 12% restantes são água. Como no osso e na dentina, a porção mineral do cemento é constituída por cálcio e fosfato, presentes, principalmente, sob a forma de hidroxiapatita (FURSETH, SELVIG e MJÖR, 1990).

7- CICATRIZAÇÃO DAS FRATURAS RADICULARES

Segundo Andreasen e Andreasen (2001), os eventos de cicatrização após uma fratura radicular, em humanos, iniciam-se no local da lesão com o envolvimento da polpa e do ligamento periodontal. A partir do tecido pulpar lesado pela fratura, podem ocorrer dois processos cicatriciais, dependendo da maior ou menor integridade pulpar resultante. Deste modo, sem uma solução de continuidade na polpa, as células progenitoras dos odontoblastos são recrutadas e criam uma ponte de união de tecido duro, ligando os fragmentos fraturados num período entre dois a três meses. Essa ponte, na forma de um calo inicial, estabiliza os segmentos radiculares. A formação do calo é seguida pela deposição de cimento, que a partir do ligamento periodontal evolui em direção a linha de fratura. A ruptura ou estiramento grave do tecido pulpar desencadeia um processo de revascularização da polpa. Ao contrário, a contaminação pulpar resulta em necrose, com acúmulo de tecido de granulação inflamado entre os dois fragmentos radiculares.

Durante os estágios iniciais da cicatrização da lesão, 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 três tipos de reabsorção: reabsorção superficial externa, reabsorção superficial interna e reabsorção em túnel interna (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

Dentro do processo de cicatrização intra-alveolar, chama atenção a possibilidade da interposição de tecido ósseo e conjuntivo entre os segmentos radiculares. Histologicamente, os dentes neste grupo de cicatrização apresentam um ligamento periodontal normal circundando ambos os fragmentos. Segundo

Andreasen e Andreasen (2001), pode-se observar tecido ósseo estendendo-se para o interior do canal radicular. Esta forma de cicatrização é, evidentemente, resultado de um traumatismo anterior ao crescimento completo do processo alveolar.

A obliteração do canal radicular pode ser parcial ou completa. Esta observação é comum após fraturas radiculares. A obliteração parcial do canal radicular é mais freqüente na região da fratura e no fragmento distal. Já a obliteração completa do canal apresenta uma redução uniforme no tamanho de toda a cavidade pulpar (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

8- MODELO ANIMAL

Ao contrário dos cães e gatos, nos estudos com animais os ratos são os preferidos por serem criados em grandes quantidades com menor custo (KIRK, LIM e KHAN, 1989). Além disso, enquadram-se nos conceitos atuais da bioética (KARAHARJU-SAVANTO, 1994; GOLDIM e RAYMUNDO, 1997; GOLDIM, 2002; GOLDIM e RAYMUNDO, 2003).

Nos humanos, a erupção, mastigação, deslocamento ortodôntico ou traumático são movimentos dentários que respondem ou não ao equilíbrio fisiológico da dentição. Especialmente, a erupção e a mastigação devem provocar forças fisiologicamente compatíveis com a saúde do órgão dental e seus tecidos de suporte (TAVERNE, 1991).

No rato, a habilidade de crescimento do incisivo inferior provoca uma calcificação e erupção contínua durante a vida do animal. Isso faz com que o rato seja um modelo quase ideal para estudo de interações teciduais durante a morfogênese. Além disso, diferentemente de outros dentes, todos os estágios do

desenvolvimento estão presentes em um único dente, independentemente da idade do animal (SHORE et al, 1992).

Na literatura, são apresentados diversos métodos para quantificação e comprovação do processo eruptivo continuado nos incisivos inferiores de ratos (SCHOUR e VAN DYKE, 1931 apud TAVERNE, 1991¹; THOMAS, 1976; TAVERNE, 1991).

Entre todos, Melcher e Furseth (1990) apresentaram uma quantificação métrica. Para os autores, o incisivo inferior do rato erupciona 2,8 mm por semana, e aproximadamente duas vezes essa média se for mantido fora de oclusão através de desgastes repetidos.

¹ SCHOUR, I; VAN DYKE, H.B. Histological Changes in the Rat Incisor Following Hypophysectomy. In: TAVERNE, A.A.R.; Reliability of Eruption Rate Measurements of the Rat Incisor. Aust. Orthod. J., Brisbane, v. 12, no.1,p.33-36,1991.

PROPOSIÇÃO

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

1 - o comportamento do incisivo inferior do rato, frente à realização de uma solução de continuidade em sua porção radicular mediana, quanto ao seu trajeto de erupção e vitalidade pulpar;

2 - a capacidade do espaço alveolar como leito ósseo para estudo de enxertias;

3 - o comportamento do enxerto ósseo liofilizado quanto à integração e cicatrização em relação ao processo físico de compressão provocado por uma força dinâmica resultante da erupção dentária;

METODOLOGIA

1- PARADIGMA

Este trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma quantitativo descritivo.

2- MODELO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental "*in vivo*", com a amostragem selecionada de forma aleatória, randomizada, com um grupo experimental e outro controle.

3- LOCAL

As cirurgias foram realizadas no Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, coordenado pela Profa. Dra. Edela Puricelli.

4- AMOSTRA

A amostra total utilizada neste estudo constou de 21 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, cepa *Wistar*, machos, advindo do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 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 experimento, estes animais foram mantidos nas dependências do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, acomodados em gaiolas de polietileno com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas. Foram mantidos à temperatura ambiente de 23°C ($\pm 1^\circ$), sendo alimentados com ração comercial e água *ad libitum*.

Os ratos foram subdivididos em três grupos, correspondendo aos tempos experimentais de sete, 14 e 45 dias. Em cada grupo, cinco animais destinaram-se para o experimento 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.

5- MATERIAL

O tecido ósseo liofilizado de ratos utilizado neste estudo foi obtido junto ao Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, processado de maneira similar ao protocolo de Kakiuchi e Ono (1998). Para este estudo, o tecido ósseo foi utilizado na forma de partículas, obtidas através do tritramento manual, durante o desenvolver da técnica cirúrgica (Figuras 1 e 2).

6- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental realizado neste trabalho foi idealizado por Puricelli (2003).

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 1 Atm de pressão durante 4 min.

Para a anestesia de cada animal, foram utilizadas injeções intramusculares de Xylazina¹ e Ketamina², nas dosagens de 0,01ml/Kg e de 0,1ml/Kg, respectivamente. Este procedimento anestésico foi realizado após orientação e treinamento por médica veterinária, que acompanhou o pré, trans e pós-operatório dos animais. Como analgesia, foi administrada, no pós-operatório imediato, uma gota de Paracetamol 750 mg por rato.

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 30x30 cm, em posição de decúbito-lateral e cabeça sobre-estendida (Figura 4). Para antissepsia do campo operatório, utilizou-se uma solução aquosa de iodo à 2% e, após, isolamento da região com campo cirúrgico estéril.

¹ Anasedan, Sespo. Indústria e Comércio Ltda. Jundiaí, SP.

² Ketamina, Anger. União Química Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, SP.

Como anestesia infiltrativa local, foi injetada a solução de mepivacaína a 2% e adrenalina em concentração de 1:100.000¹, não excedendo 0,3ml, que corresponde à dose máxima para um animal de 350g.

Com bisturi tipo Bard-Parker² e lâmina número 15³, realizou-se incisão linear, na pele, com aproximadamente 15mm de comprimento. A divulsão por planos musculares foi realizada com uma tesoura Matzenbaum⁴, até o periósteo. Este, após incisado, foi descolado junto ao bordo lateral da mandíbula. O campo cirúrgico estendeu-se do bordo inferior da mandíbula até o rebordo alveolar e próximo-distal do corpo mandibular (Figura 3). Com o auxílio de afastadores, mantidos pelo assistente, os tecidos moles foram retraídos, permitindo a exposição, a visibilidade e o acesso ao campo cirúrgico (Figura 5).

Com a utilização de uma sonda periodontal milimetrada⁵, foram demarcados os limites da ostectomia (Figura 6). Esta etapa permitiu a manutenção da reprodutibilidade das mesmas. A partir da demarcação, com o auxílio de brocas esféricas e cilíndricas (Figura 7), em motor elétrico⁶ com 12.000 rpm, foi realizada uma ostectomia na face lateral externa do corpo mandibular. A seguir, realizou-se a odontossecação, atingindo transversalmente a raiz do incisivo inferior direito (Figuras 8 e 9). Os traços de odontossecação foram determinados a partir do limite ósseo-cérvico-dental do alvéolo. O mais distal localizou-se a 3,0mm deste, e o mais proximal, a 10,0 mm, conferindo, assim, 7,0mm de comprimento à cavidade alveolar. Após as odontossecações limítrofes, para remoção atraumática do segmento radicular, foi realizada uma odontossecação longitudinal no mesmo. Nesse tempo cirúrgico, manteve-se a função de corte sob irrigação e aspiração constantes. Tal

¹ DFL Indústria e Comércio Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

³ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

⁴ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda, Canoas, RS, Brasil.

manobra, além de evitar o aquecimento, permitiu a lavagem da cavidade e a coleta dos resíduos teciduais.

Após a remoção dos fragmentos radiculares, a cavidade, em forma retangular, apresentava as seguintes dimensões: altura 2,0mm, profundidade 2,0mm e comprimento 7,0mm (Figura 10). O enxerto de tecido ósseo liofilizado particulado foi impactado com o auxílio de uma cureta¹, ocupando os 2,0mm em distal do total da cavidade alveolar cirurgicamente obtida, ficando o mais justaposto possível do segmento distal (Figura 11).

As suturas internas, do periósteo e dos músculos, foram realizadas a pontos isolados, com fio reabsorvível de poliglactina 910 5.0². Na pele, também a pontos isolados, o fio utilizado para sutura foi o mononylon 5.0³ (Figuras 12 e 13).

A mesma técnica cirúrgica foi repetida no grupo controle (GC), porém sem a inserção do enxerto ósseo particulado e liofilizado.

Antes e após a eutanásia dos ratos, foram realizadas observações clínicas e macroscópicas da região.

Para a coleta das amostras, os animais correspondentes a cada grupo foram mortos seguindo o cronograma de sete, 14 e 45 dias pós-operatórios. A eutanásia, seguindo orientação do comitê de bioética, foi obtida através de hipóxia por deslocamento cervical. Após constatada a eutanásia, procedeu-se a necropsia, com a remoção total da mandíbula de cada animal. Tal manobra foi realizada com auxílio de cabo de bisturi n° 3⁴, lâmina de aço descartável n° 15⁵, pinça de Adson⁶, tesouras reta e curva Matzembraum⁷.

¹ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

² Vicryl[®] Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

³ Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

⁴ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

⁵ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

⁶ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

As peças operatórias, uma vez removidas, foram macroscopicamente examinadas, com o objetivo de avaliar a integridade e presença ou não do incisivo inferior esquerdo em relação ao direito. Seguiu-se a divisão das mesmas, individualizando a hemimandíbula direita. Estas foram imediatamente colocadas em recipientes plásticos, devidamente identificados, individualizados e numerados, caracterizando o grupo experimental e o grupo controle. Para evitar as alterações *post mortem* dos tecidos, o material foi conservado em formalina a 10%, por um período de 48 horas.

7- MÉTODO RADIOGRÁFICO

Nesta etapa, foram utilizadas as hemimandíbulas obtidas como peças operatórias. Além dessas, foi incluída mais uma obtida ao zero dia. Cada hemimandíbula, como peça pós-operatória, foi, seqüencialmente, radiografada pelo autor no Setor de Radiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para tal, utilizou-se um aparelho de Raios-X Spectro 70x¹, 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 (ou 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. O aparelho posicionado perpendicularmente mantinha a distância foco-filme padronizada em

¹ Dabi Atlante S.A. Indústria Médica Odontológica, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

4cm. O tempo de exposição foi regulado no aparelho em 0,3s. As 42 radiografias, sendo duas de cada hemimandíbula, foram processadas automaticamente¹.

8- MÉTODO HISTOLÓGICO

O material para estudo histológico foi descalcificado em solução de ácido nítrico² a 5% (10 ml), aproximadamente durante oito dias. Foram realizados testes de textura e exame macroscópico para comprovação da descalcificação da peça.

As peças receberam processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Seguiram-se os cortes em micrótomo³, no sentido axial ao corpo mandibular, com espessura de 4 µm, desde a base óssea até os ápices dentários. Deste material, foram selecionadas duas lâminas de cada peça perfazendo um total de 42 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 óptico⁴ com objetiva 40 vezes, 100 vezes, 250 vezes e 400 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 Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob a orientação da professora orientadora.

¹ Processadora automática 9000® (DENT-X, Nova York - EUA), com ciclo seco a seco de 4,5 minutos.

² Nuclear, Casa do Químico, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Leica, Germany.

⁴ Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.

Como última etapa, foi realizada a descrição histológica das lâminas. Estas foram avaliadas pelo autor, após calibração do mesmo pela professora orientadora deste trabalho.

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

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 B e C). O projeto de pesquisa para realização deste trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Anexo A).



Figura 1: Fêmures de ratos doadores, preparados por liofilização para enxertia alógena.



Figura 2: Osso liofilizado de rato doador na forma particulada para enxerto alógeno, após trituração manual.

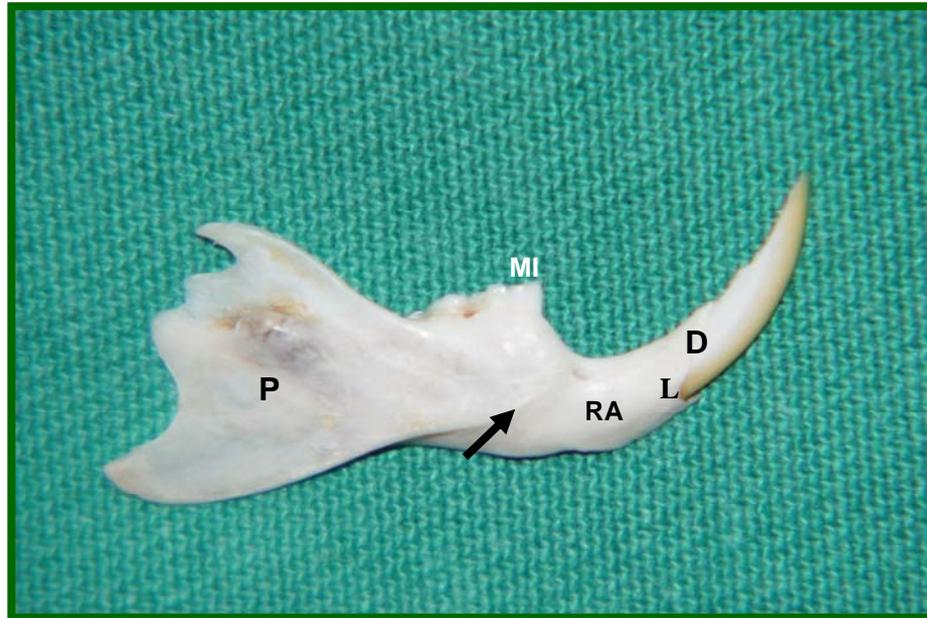


Figura 3: Vista lateral da hemimandíbula de um rato de aproximadamente três meses. Observar a área de trabalho entre o rebordo alveolar do incisivo (RA) e a linha oblíqua externa (→). Em relação ao plano anatômico sagital, foram consideradas as regiões proximal (P) e distal (D). Observa-se o 1º molar inferior (MI) e o limite ósseo-dento-cervical do incisivo inferior (L).



Figura 4: Preparo Pré-cirúrgico. Tricotomia da região mandibular, lado direito no rato anestesiado.

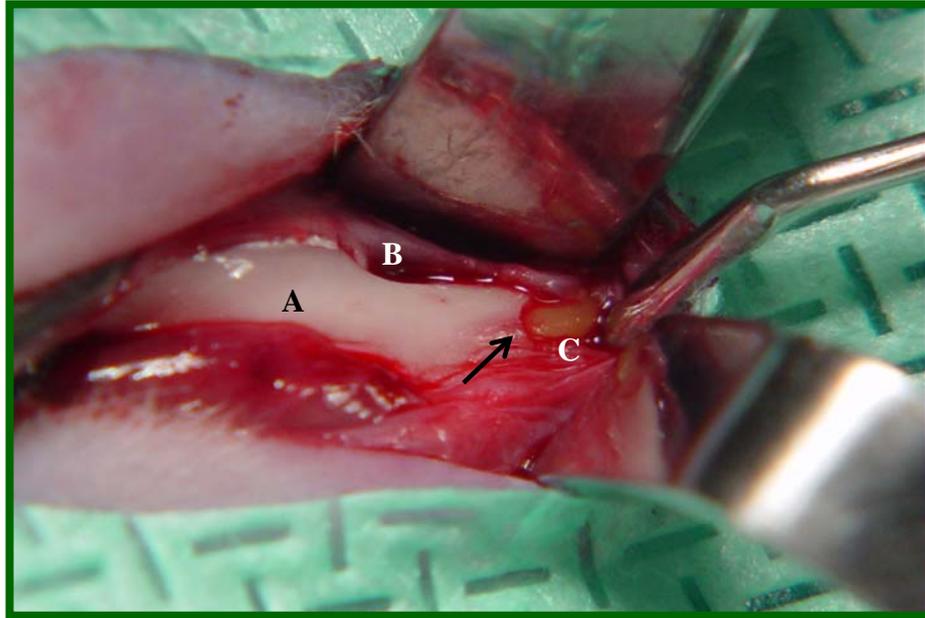


Figura 5: Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Região do corpo mandibular direito, após a incisão e divulsão por planos teciduais. **B-** Buraco e nervo mentoniano. **C-** Elemento dentário incisivo inferior. Limite ósseo-dento-cervical (→).

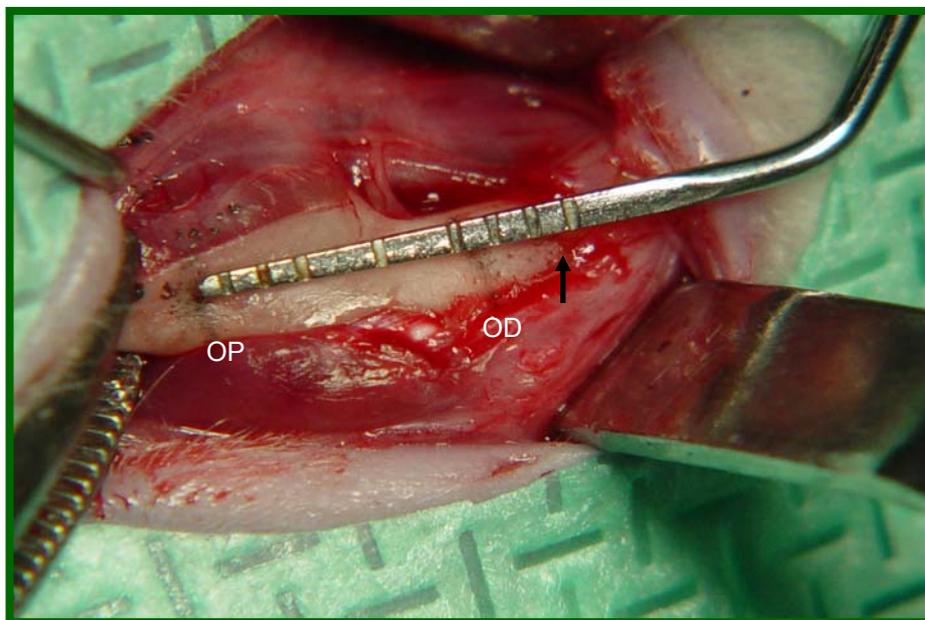


Figura 6: Imagem Trans-cirúrgica. Delimitação da osteotomia com a utilização de sonda periodontal milimetrada. Odontosseccção proximal (**OP**). Odontosseccção distal (**OD**). Limite ósseo-dento-cervical (→).

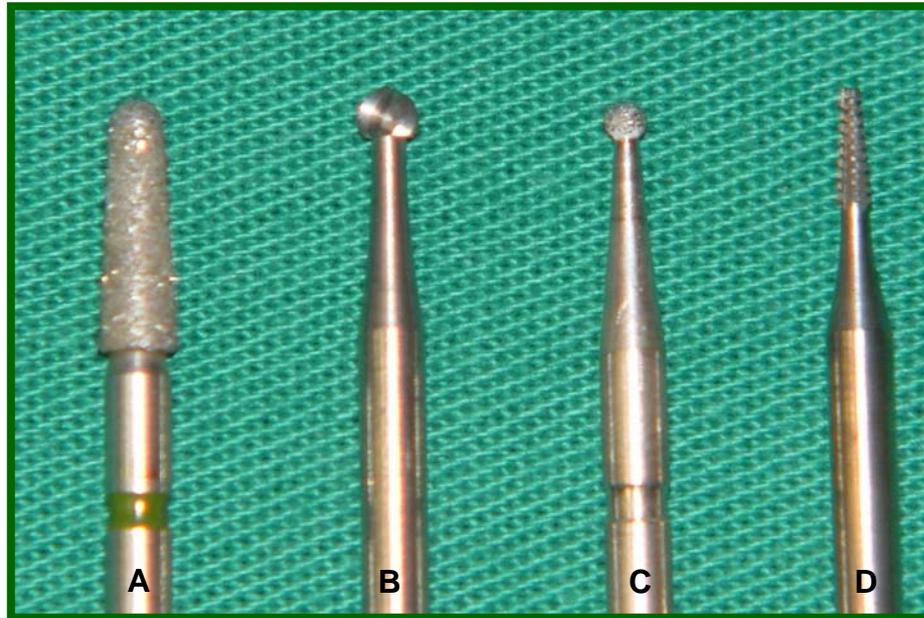


Figura 7: Brocas Cirúrgicas – Brocas utilizadas na realização das osteotomias e odontosecções. **A-** Cilíndrica topo arredondado diamantada n. 92G. **B-** Esférica n.3. **C-** Esférica diamantada n. 2. **D-** Cilíndrica picotada n. 701C.

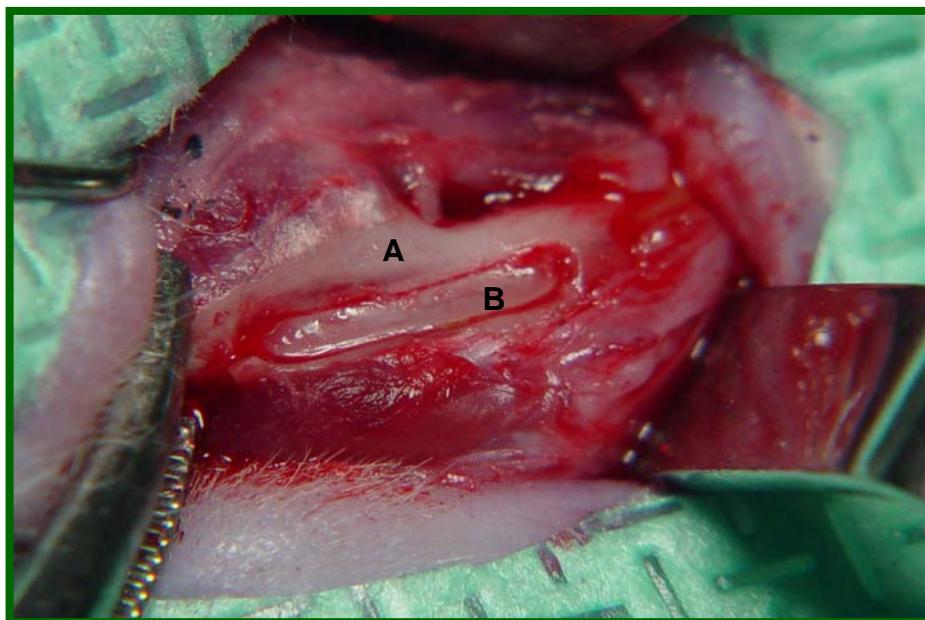


Figura 8: Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Porção radicular do incisivo inferior direito em seu trajeto intra-alveolar, após a realização da osteotomia.

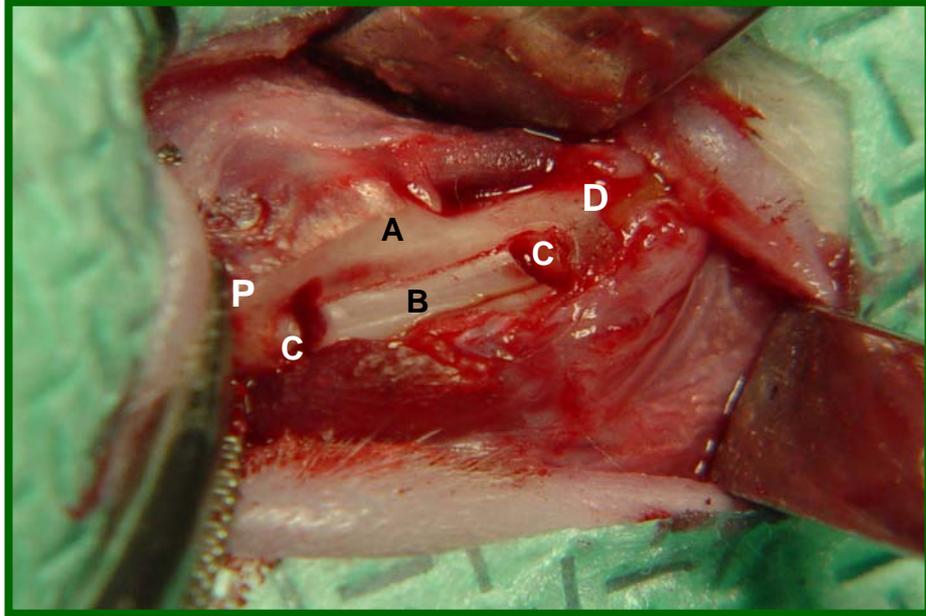


Figura 9: Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Raiz do incisivo inferior. **C-** Linhas da odontosseção transversal realizada nos limites distal e proximal previamente demarcadas. **P-** Proximal. **D-** Distal.

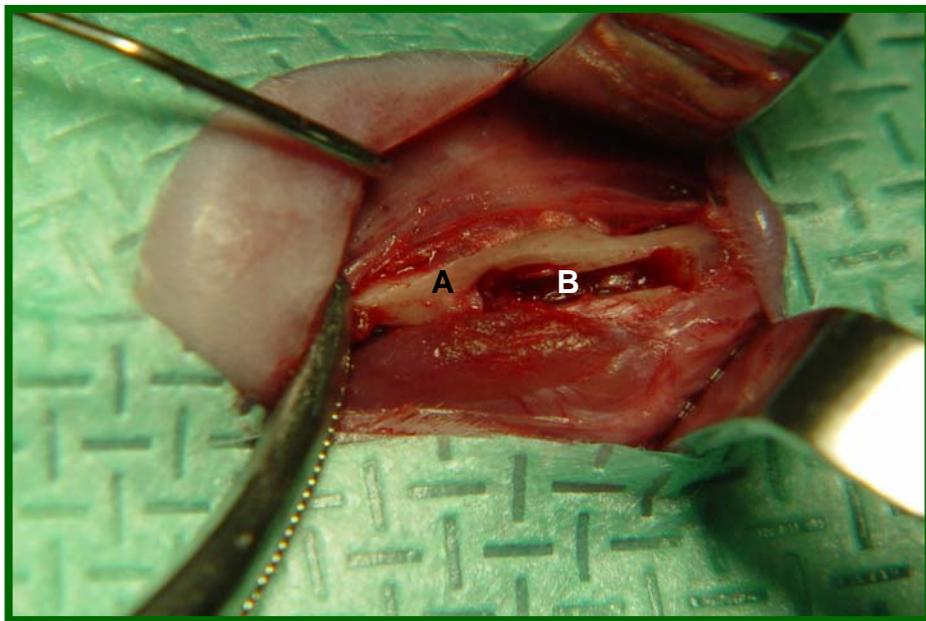


Figura 10: Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Cavidade alveolar após a remoção cirúrgica do fragmento radicular.

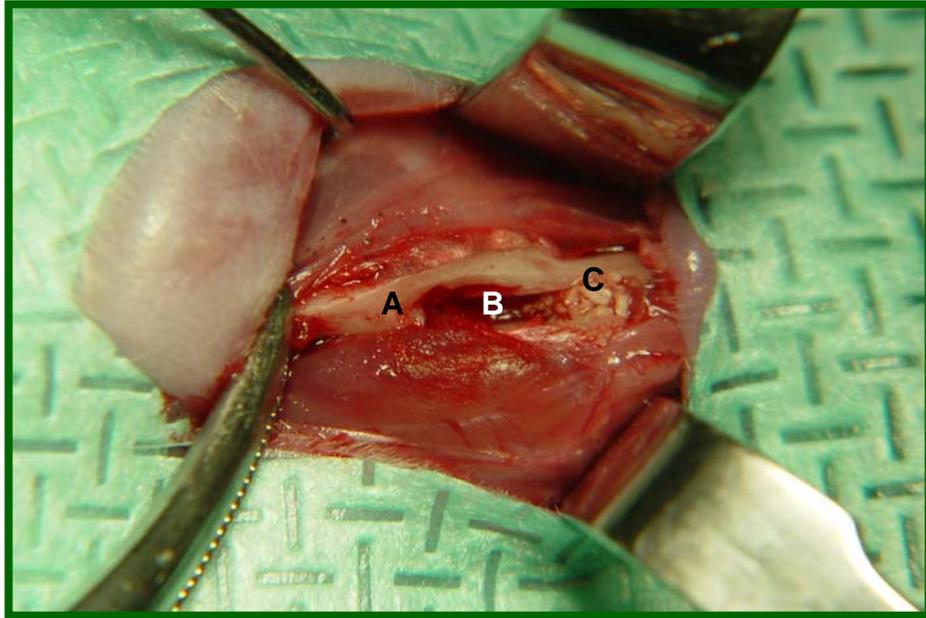


Figura 11: Imagem Trans-cirúrgica. **A-** Corpo mandibular. **B-** Cavidade alveolar. **C-** Enxerto ósseo liofilizado inserido nos 2,0mm distais junto ao segmento radicular distal do incisivo inferior direito.



Figura 12: Imagem Trans-cirúrgica. Reposicionamento e sutura do periósteo e planos musculares.



Figura 13: Imagem Trans-cirúrgica. Sutura da pele com fio mononylon 5.0, completando o fechamento da ferida por planos.

RESULTADOS

A observação macroscópica objetivou a análise focal do incisivo inferior esquerdo do rato quanto à indicação de sua manutenção e suporte funcional. Os resultados corroboraram a indicação de sua manutenção permitindo a funcionalidade roedora no lado não operado. Esta conclusão baseia-se no continuado desgaste coronário e erupção linear sem desvio do mesmo em todos os espécimes.

Os exames radiográficos, através de imagens de perfil e súpero-inferiores (oclusais), em filmes periapicais, permitiram avaliar, a partir da odontosecção, a presença do espaço alveolar, o comportamento e trajeto da erupção do coto radicular germinativo, a estabilidade do segmento radicular coronário distal e a presença do enxerto ósseo liofilizado.

Para melhor aproveitamento na visualização dos resultados, algumas imagens histológicas foram fotografadas em continuidade, permitindo a sua montagem.

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 perda ou expulsão do segmento dentário distal. Também foram observados o comportamento do tecido pulpar em ambas as estruturas radiculares quanto à necrose, revascularização e atresia do conduto.

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

Ao zero dia pós-operatório, no animal empregado como estudo guia ou mapeamento, observa-se, numa visão oclusal, a estrutura mandibular direita na sua total extensão. A sobreposição dos elementos dentários localiza-se exatamente no trajeto do alvéolo dentário do incisivo inferior. No extremo proximal deste trajeto, pode-se localizar uma área radiolúcida circunscrita, que avança e provoca leve abaulamento da cortical lateral da mandíbula. Tal imagem corresponde ao ápice radicular em permanente processo de formação dentária (Figura 14). Na região mesial do primeiro molar, então porção distal, em continuidade do elemento incisivo poderá ser perfeitamente visualizada a área da odontosseção e o espaço alveolar resultante da remoção do segmento dentário (Figura 15).

Na radiografia de perfil, pode-se acompanhar a estrutura completa da mandíbula envolvendo apófise coronóide, articulação têmporomandibular e ângulo mandibular no limite proximal da peça. O dente incisivo, respeitando forma e trajeto em curva, desliza no seu alvéolo, localizado inferiormente ao primeiro, segundo e terceiro molares. Na região mais proximal do dente, é visualizada área alveolar correspondente ao ápice radicular. Na área mais distal da peça, encontra-se o bordo incisal (Figura 16).

A radiografia da peça submetida à técnica cirúrgica proposta revela o espaço alveolar vazio com a posição original tanto do segmento dentário proximal quanto distal (Figura 17).

Na montagem da imagem histológica de zero dia, é possível identificar, no limite proximal da cavidade alveolar, a solução de continuidade do tecido ósseo e ligamento periodontal; já no limite distal, observa-se, com mais detalhe, o corte realizado no elemento dentário (Figura 18). Nas observações microscópicas, a polpa proximal, com aspecto de normalidade, apresenta as zonas anatômicas distinguindo-

se, da periferia para o centro, uma camada odontoblástica, uma camada acelular, uma camada rica em células e a porção central da polpa, caracterizada pela rica vascularização.

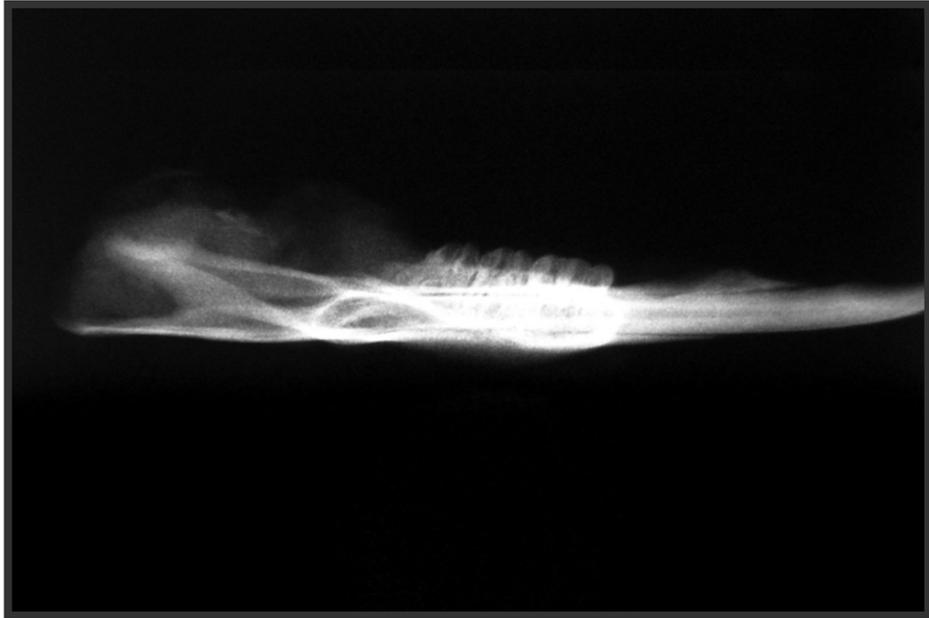


Figura 14: Radiografia oclusal da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, sem a remoção do segmento radicular medial do incisivo.



Figura 15: Radiografia oclusal ao zero dia pós-operatório da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, com a remoção do segmento radicular medial do incisivo.



Figura 16: Radiografia de perfil da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, sem a remoção do segmento radicular medial do incisivo.

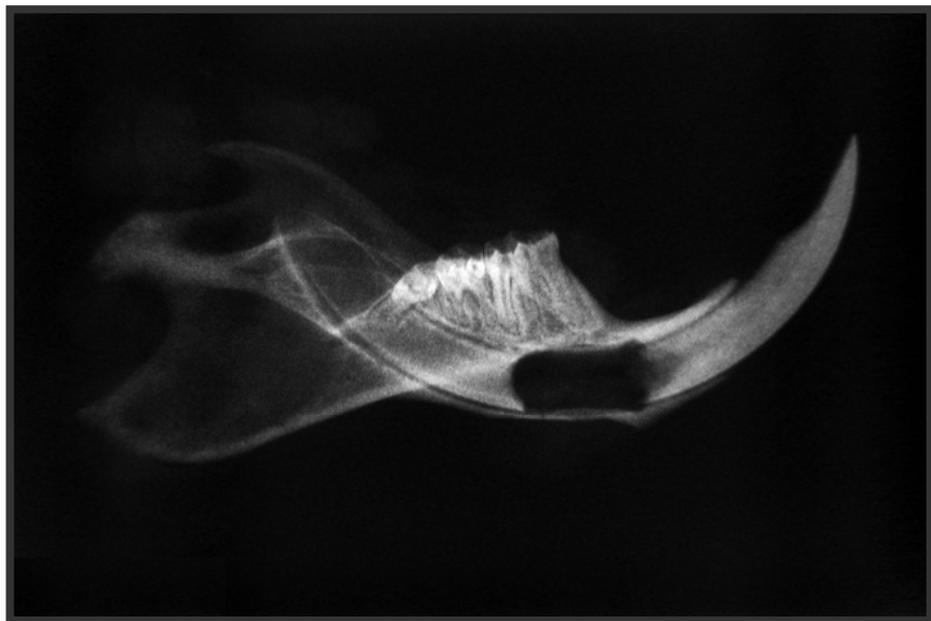


Figura 17: Radiografia de perfil ao zero dia pós-operatório da hemimandíbula do animal utilizado como guia ou mapeamento, após a remoção do segmento radicular medial do incisivo.



Figura 18: Montagem da imagem histológica de zero dia pós-operatório da hemimandíbula, com a remoção do segmento radicular medial. Pode-se observar **A**- Espaço alveolar vazio. **B**- Limite da ostectomia proximal. **C**- Segmento radicular proximal. **D**- Segmento radicular distal. **E**- Conduto pulpar com seus tecidos preservados. **F**- Parede alveolar lingual. H.E. Aumento tamanho original 40X.

SETE DIAS

Grupo Controle

Análise Radiográfica

No exame radiográfico oclusal, repetem-se as imagens já observadas na peça guia de zero dia pós-operatório, no que corresponde à porção proximal e à estrutura dento-alveolar. A porção dentária distal do incisivo inferior apresenta-se contida em seu alvéolo, porém indicando possibilidade de movimento de intrusão da mesma (Figura 19).

Na radiografia de perfil, observam-se as mesmas características, salientando-se melhor visualização, por comparação com o exame radiográfico de zero dia, do deslizamento intrusivo que, mesmo sem a precisão métrica, possibilita a afirmação do efeito relatado (Figura 20).

Análise Histológica

Pela montagem da imagem, pode-se observar o segmento dentário proximal no seu trajeto alveolar, assim como o segmento distal. 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, podem-se observar os limites da área ostectomizada. Chama atenção o crescimento do coto proximal, cujo limite da odontossecação não mais coincide com o limite da ostectomia (Figura 21).

No tecido pulpar proximal, é visível a presença de vasos sangüíneos, em proliferação. Em maior aumento, observa-se grande população de células inflamatórias advindas da ferida óssea associadas à proliferação de fibroblastos. Imagem de crescimento tecidual centrípeto a partir da dentina (Figura 22). No tecido pulpar distal, chama atenção a desorganização tecidual caracterizada pela necrose do tecido pulpar (Figura 23).

Grupo Experimento

Análise Radiográfica

Observa-se o espaço alveolar preenchido por enxerto ósseo na posição mais distal. A intrusão do segmento dentário provocou leve deslizamento do osso enxertado também para a parede lingual do alvéolo. Não se identificam fraturas nas paredes e contornos alveolares (Figura 24).

A imagem define a sobreposição da estrutura radicular sobre as partículas do enxerto ósseo. Tal aspecto confirma o mínimo deslocamento do enxerto ósseo no sentido proximal, mesmo com a pressão mecânica pela função presente (Figura 25).

Análise Histológica

Pela montagem da imagem, pode-se observar a presença, tanto do segmento dentário proximal como do segmento dentário distal, ambos em seus trajetos alveolares. Identifica-se a área de solução de continuidade preenchida por tecido conjuntivo fibroso exuberante, altamente vascularizado, advindo das estruturas

ósseas e periodonto. O enxerto ósseo, em continuidade com o coto distal, apresenta-se basófilo e facilmente identificável. O limite da ostectomia da cortical vestibular demarca a quantidade de intrusão do coto distal. Na seqüência da osteotomia vestibular, observam-se, ainda, pequenos resíduos ósseos liofilizados enxertados (Figura 26).

Em maior aumento, pode-se identificar a invasão vascular na estrutura óssea liofilizada, podendo representar a seqüência do processo de angiogênese na osteocondução (Figura 27).

No coto radicular proximal, repete-se o tecido pulpar ricamente celular e com intensa proliferação vascular. Observam-se projeções de tecido mineralizado em direção centrípeta (Figura 28). Ao contrário, o coto distal reflete desorganização do tecido comprometido por ausência de vascularização e, conseqüentemente, de nutrição, impedindo a vitalidade pulpar (Figura 29).



Figura 19: Radiografia oclusal, grupo controle aos sete dias. Devido à sobreposição dos elementos dentários na área molar, torna-se restrita a visualização do alvéolo.



Figura 20: Radiografia de perfil, grupo controle aos sete dias. A nitidez da imagem radiográfica permite identificar a segmentação do incisivo inferior do rato. O alvéolo vazio perde parte de seu espaço pela intrusão do segmento dentário distal.

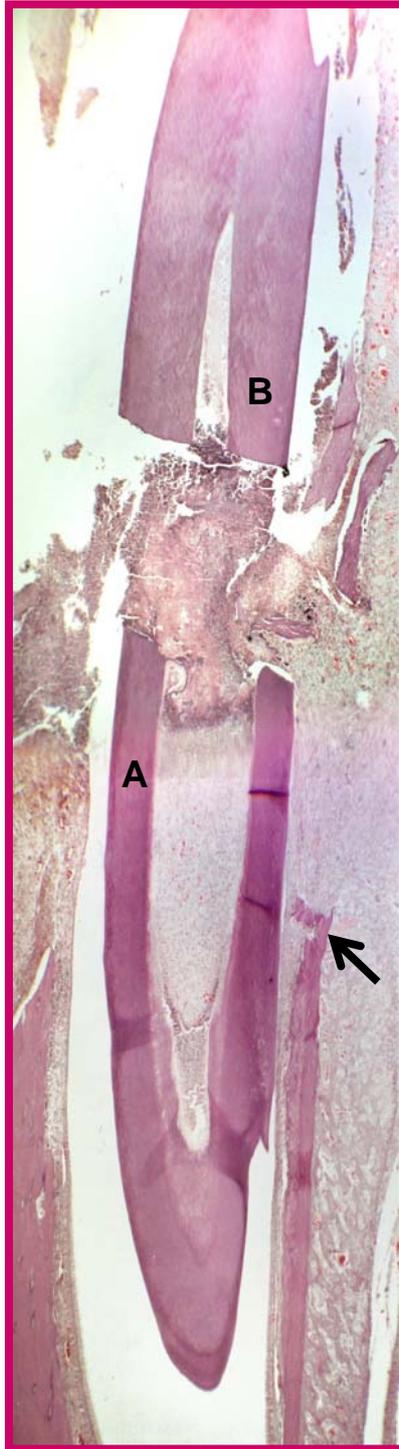


Figura 21: Montagem da imagem histológica, grupo controle aos sete dias. Observa-se **A-** Segmento radicular proximal. **B-** Segmento radicular distal. Osteotomia proximal(→). H.E. Aumento original 40X.

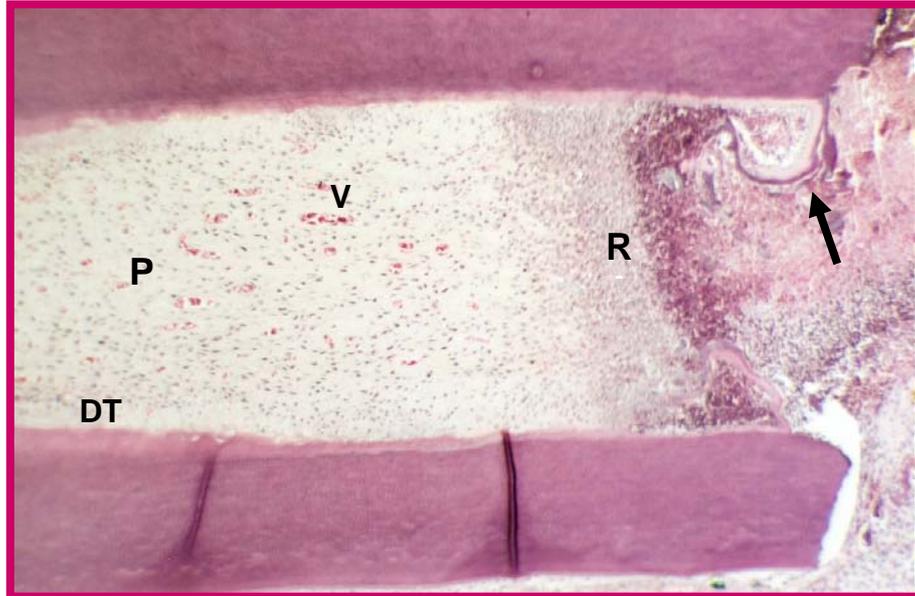


Figura 22: Incisivo, coto proximal, grupo controle aos sete dias. Observa-se a polpa (**P**), apresentando reação inflamatória (**R**), crescimento tecidual centrípeto a partir da dentina (\rightarrow), vasos sangüíneos (**V**) e o início da reação dentinária pela reação de dentina terciária (**DT**). H.E. Aumento original 100X.

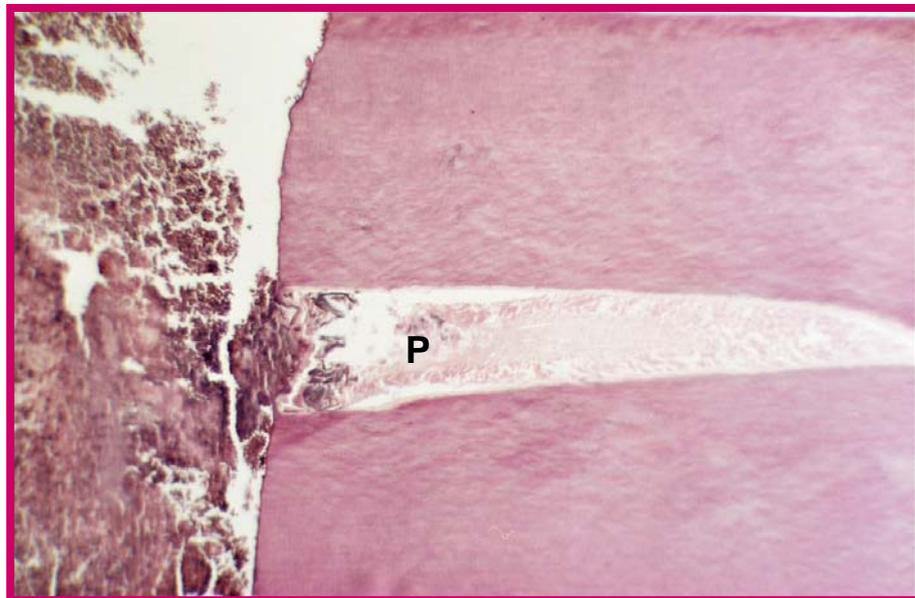


Figura 23: Incisivo, coto distal, grupo controle aos sete dias. Observa-se a estrutura tecidual pulpar desorganizada (**P**). H.E. Aumento original 100X.



Figura 24: Radiografia oclusal, grupo experimento aos sete dias. Junto ao segmento dentário distal do incisivo inferior direito, identificam-se, por radiopacidade, as partículas ósseas enxertadas.



Figura 25: Radiografia de perfil, grupo experimento aos sete dias. Apesar da sobreposição de imagem, podem-se observar as partículas de enxerto ósseo liofilizado. Registrem-se, ainda, alguns sinais de intrusão do segmento dentário distal, mantido no trajeto alveolar

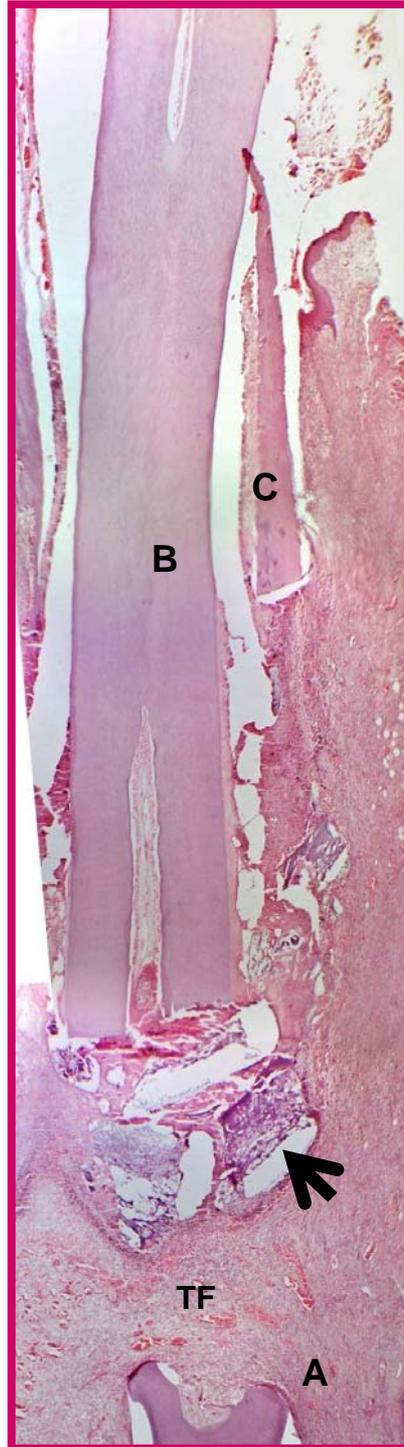


Figura 26: Montagem do incisivo, grupo experimento aos sete dias. Observa-se o segmento radicular proximal (**A**), segmento radicular distal (**B**), enxerto ósseo (\rightarrow), tecido fibroso (**TF**) e a cortical óssea vestibular (**C**), H.E. Aumento original 40X.

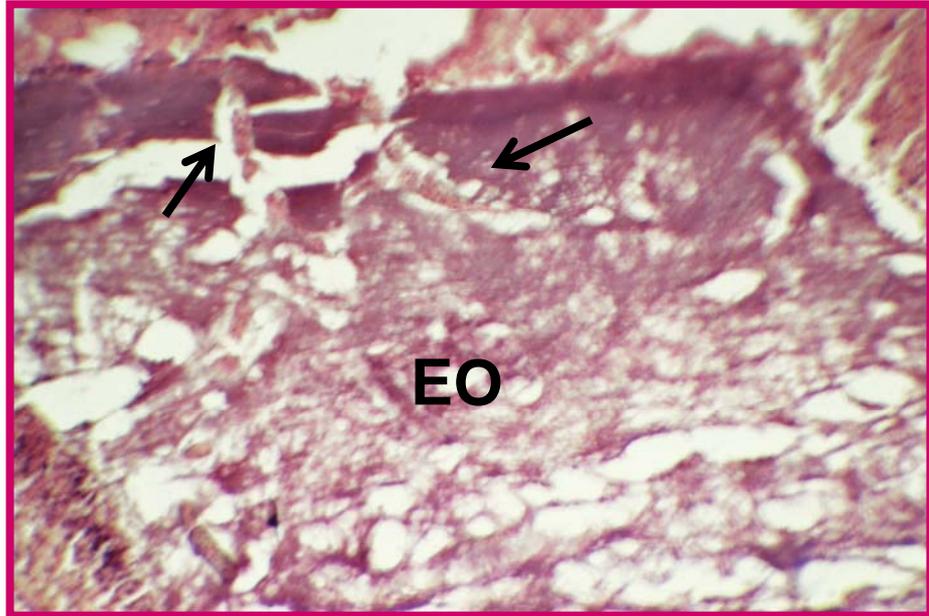


Foto 27: Enxerto ósseo (EO), grupo experimento aos sete dias. Observa-se a presença de vasos sanguíneos na estrutura do enxerto (→). H.E. Aumento original 250X.

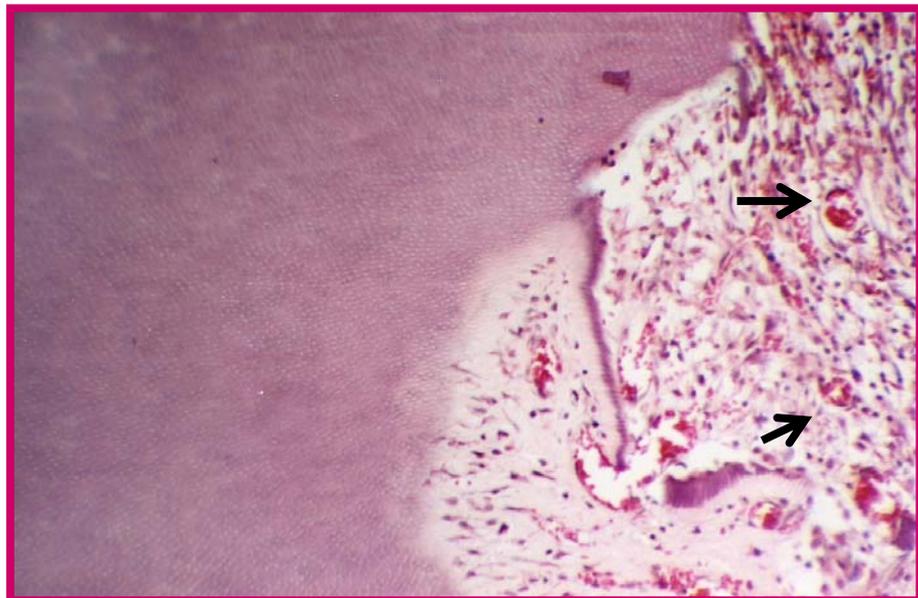


Figura 28: Incisivo, coto proximal, grupo experimento aos sete dias. Observam-se numerosos vasos sanguíneos (→) no interior do tecido pulpar ricamente celular. H.E. Aumento original 250X.

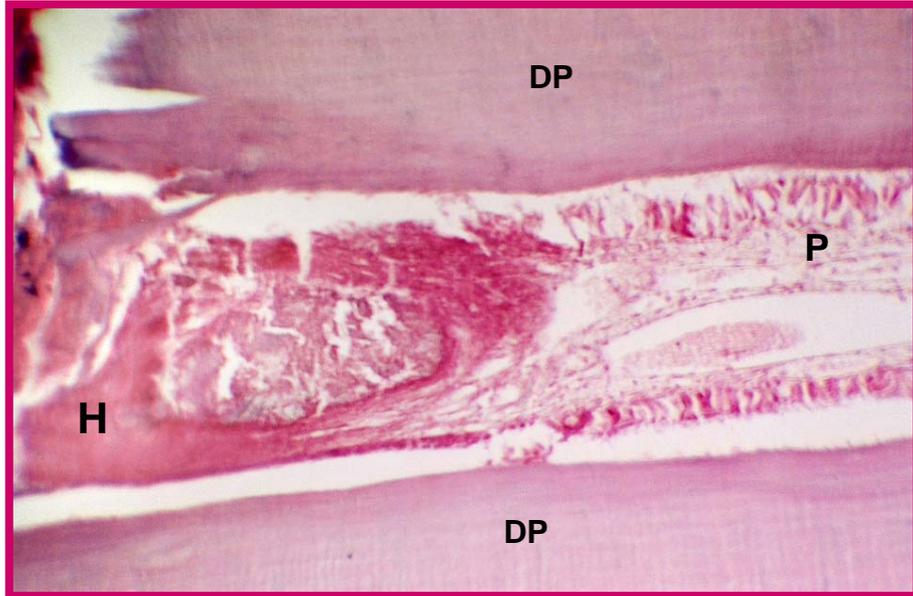


Figura 29: Incisivo, coto distal, grupo experimento aos sete dias. Observa-se a estrutura tecidual pulpar desorganizada (**P**). Hematoma (**H**). Dentina primária (**DP**). H.E. Aumento original 250X.

14 DIAS

Grupo Controle

Análise Radiográfica

Na radiografia oclusal, pode-se observar a presença da raiz levemente emergente por mesial do primeiro molar. O segmento dentário distal apresenta imagem compatível com compromisso periodontal caracterizado pelo aumento do espaço alveolar, com provável compromisso na sua inserção e estabilidade (Figura 30).

Na radiografia de perfil, observa-se a formação e erupção do coto proximal, já delimitado na prolongação vertical da face mesial do primeiro molar, se comparado com a radiografia guia (Figura 17). Por outro lado, no segmento distal nota-se uma leve tendência a horizontalização do mesmo, provavelmente pela pouca inserção no espaço alveolar. A região alveolar radiolúcida, representando a área com perda de tecido ósseo-dentário mantém ainda visível seus limites (Figura 31).

Análise Histológica

A montagem da continuidade das imagens histológicas permite relatar apenas a presença do segmento dentário proximal envolvido em sua estrutura periodontal. Na área da ostectomia vestibular, observa-se reação do tecido conjuntivo com possível cicatrização da região. O corte da peça não permite uma visualização vestibular completa, entretanto, pode-se observar o segmento distal da parede

vestibular ostectomizada compondo as normalidades anatômicas da região. A invaginação do epitélio gengival demarca a área em continuidade com o conduto alveolar, o que pode confirmar o antigo leito alveolar. Não se identifica na lâmina de estudo histológico o segmento distal, devido à altura do corte. O tecido pulpar apresenta-se altamente reacional, com odontoblastos organizados e numerosos vasos sangüíneos (Figura 32).

Em maior aumento, pode-se observar a estrutura radicular proximal submetida a um processo de reabsorção compatível com normalidade, dentro de um ligamento periodontal e seu osso alveolar estruturados (Figura 33).

Grupo Experimento

Análise Radiográfica

O exame radiográfico oclusal permite visualizar uma direção de crescimento e erupção do segmento proximal distanciando-se para vestibular do processo alveolar original. Em dois ratos do grupo representado, foi ainda possível verificar a presença do segmento dentário distal. Já nos outros três ratos do grupo, a imagem do segmento proximal se repete, entretanto, sem a presença da porção distal da estrutura dentária. No animal aqui apresentado, observa-se radiopacidade na área enxertada correspondente à semelhante intensidade da área receptora (Figura 34).

No exame de perfil, confirma-se a perda do segmento dentário distal e a presença do enxerto ósseo particulado contido no espaço alveolar. A radiopacidade comparada entre a área óssea receptora e a enxertada permite concluir pela progressiva incorporação do enxerto. Este processo parece ocorrer em tempo hábil,

antes da esperada impacção mecânica provocada pela erupção contínua do segmento dentário proximal. Chama atenção a área de radiopacidade compatível com osso alveolar invadindo a região alveolar anteriormente esvaziada (Figura 35).

Análise Histológica

Nas diferentes lâminas estudadas, repete-se a presença do segmento proximal, em franco processo de erupção, afastando-se significativamente da área vestibular ostectomizada (Figuras 36 e 37). As partículas ósseas liofilizadas enxertadas parcialmente envolvidas por tecido inflamatório apresentam, no interior de sua estrutura, numerosos vasos sangüíneos (Figuras 38, 39 e 40). Em alguns preparos, há, na proximidade do tecido ósseo receptor, grande atividade osteoclástica e de neoformação. O osso enxertado lentamente substitui sua basofilia (Figura 41).

O tecido pulpar mantém um tampão inflamatório junto à área exposta, repetindo prolongamentos centrípetos de dentina terciária. Observa-se, ainda, início de grande atresia do conduto pulpar pela formação marginal de tecido dentinário junto a uma polpa ricamente vascularizada (Figura 42).

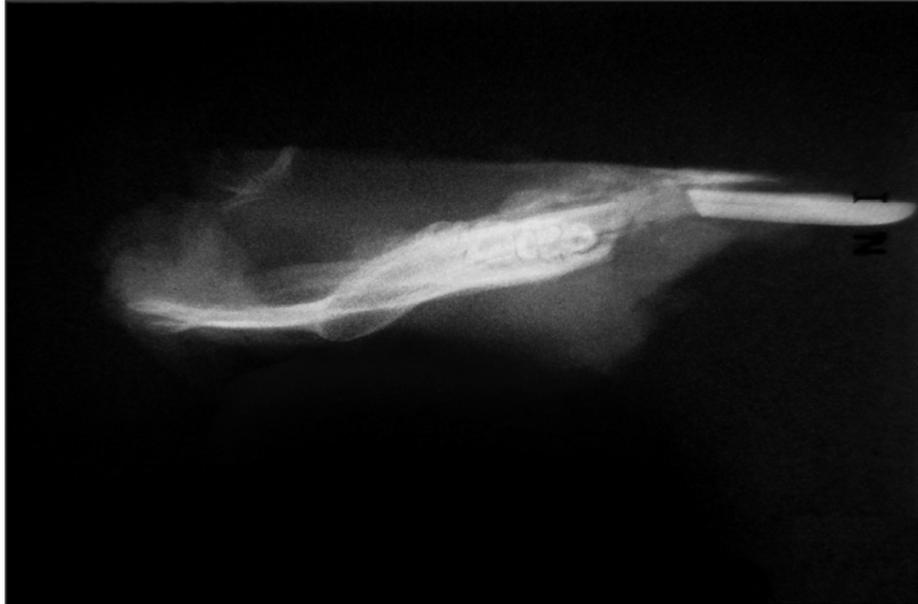


Figura 30: Radiografia oclusal, grupo controle aos 14 dias. A imagem permite localizar o segmento dentário proximal emergente por mesial do 1º molar inferior direito. O segmento dentário distal mantém-se inserido no alvéolo demonstrando algum processo de desvio.



Figura 31: Radiografia de perfil, grupo controle aos 14 dias. Segmento dentário proximal com características de trajeto de erupção intra-alveolar. Na visão sagital, também o segmento dentário distal mantém-se compatível com a normalidade em seu posicionamento.

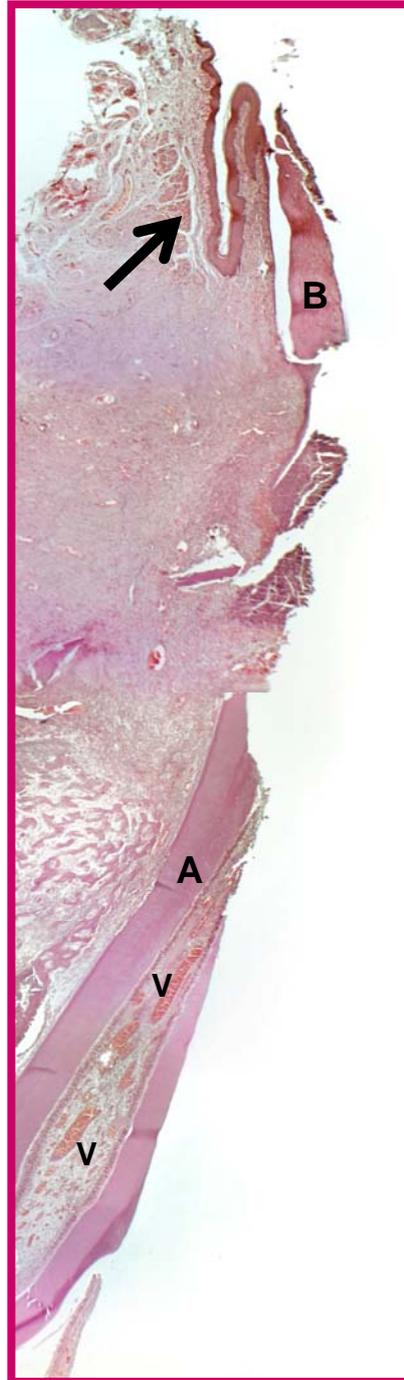


Figura 32: Montagem do incisivo, grupo controle aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal (A), a cortical óssea vestibular (B), o epitélio gengival (→) e a presença de vasos sanguíneos em proliferação na polpa (V) H.E. Aumento original 40X.

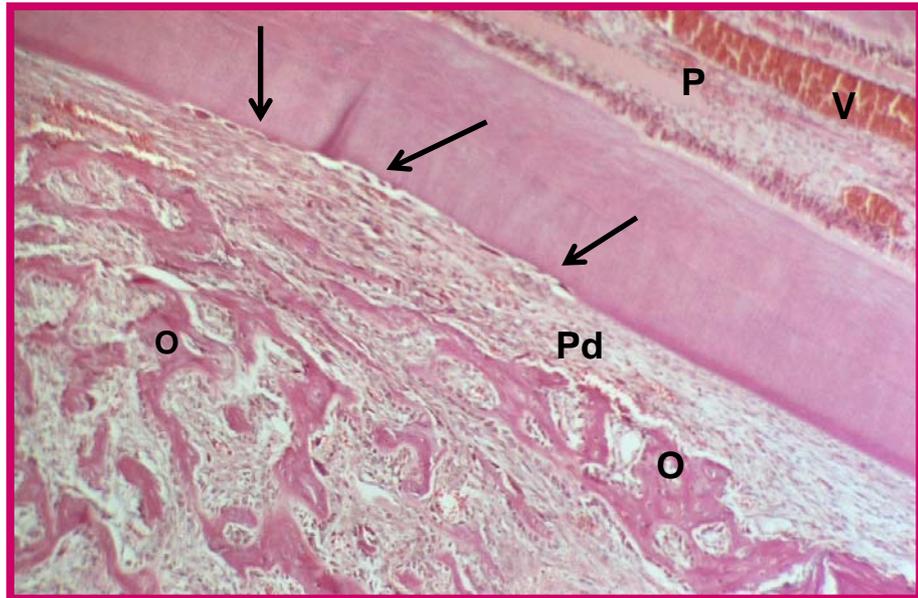


Figura 33: Tecido ósseo e dentário, grupo controle aos 14 dias. Pode-se observar o tecido pulpar (**P**), com vasos sangüíneos (**V**), o osso alveolar (**O**), o periodonto (**Pd**) e o processo fisiológico de reabsorção radicular durante o processo de crescimento e erupção (→). H.E. Aumento original 100X.

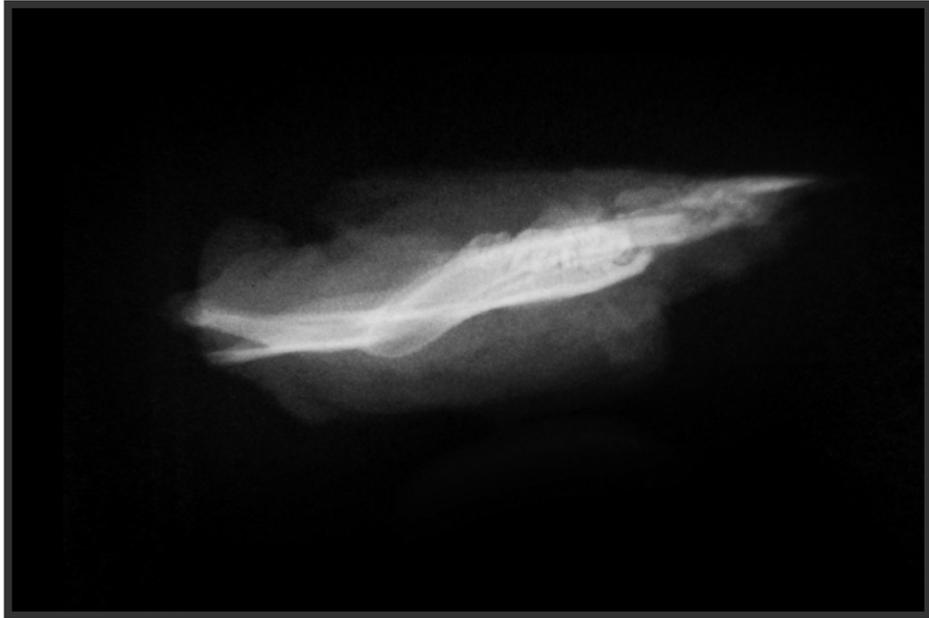


Figura 34: Radiografia oclusal, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento dentário proximal evoluindo no espaço alveolar. Em distal do alvéolo é possível identificar área parcialmente radiolúcida e radiopaca compatível com a presença de enxerto ósseo liofilizado.



Figura 35: Radiografia de perfil, grupo experimento aos 14 dias. Além do avanço eruptivo do segmento dentário proximal no alvéolo, identifica-se grande proximidade do mesmo à área óssea enxertada.

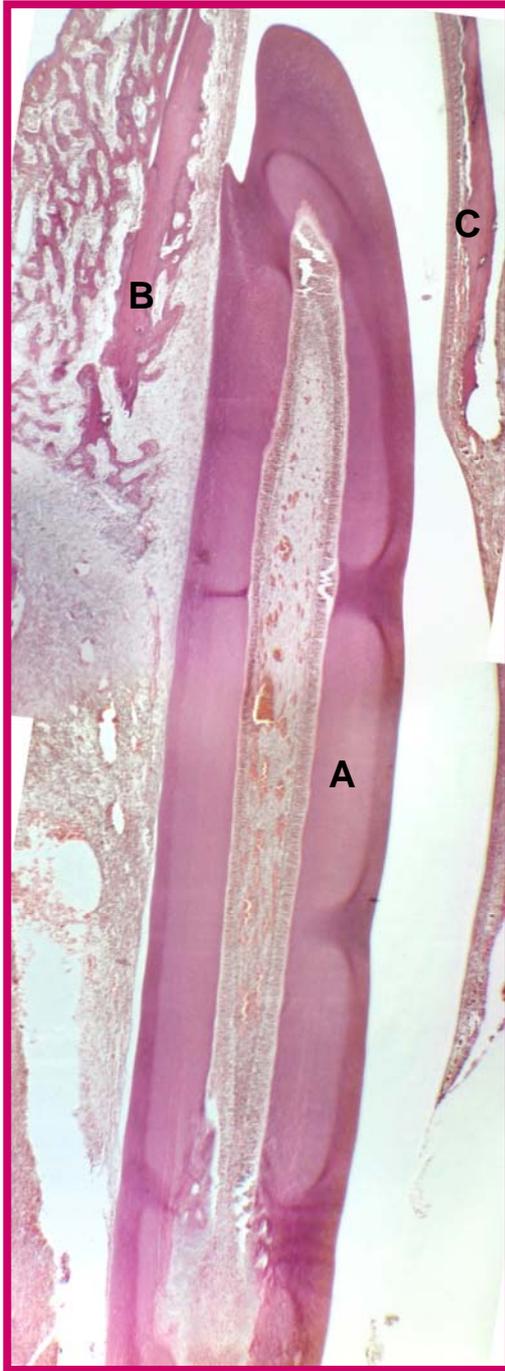


Figura 36: Montagem do incisivo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal (A), a cortical óssea lingual (B) e a cortical óssea vestibular (C). H.E. Aumento original 40X.



Figura 37: Montagem do incisivo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se a polpa (P) e atresia do conduto radicular com dentina terciária (→). H.E. Aumento original 40X.



Figura 38: Incisivo e enxerto ósseo, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se o segmento radicular proximal (A) e o enxerto ósseo (→) H.E. Aumento original 40X.

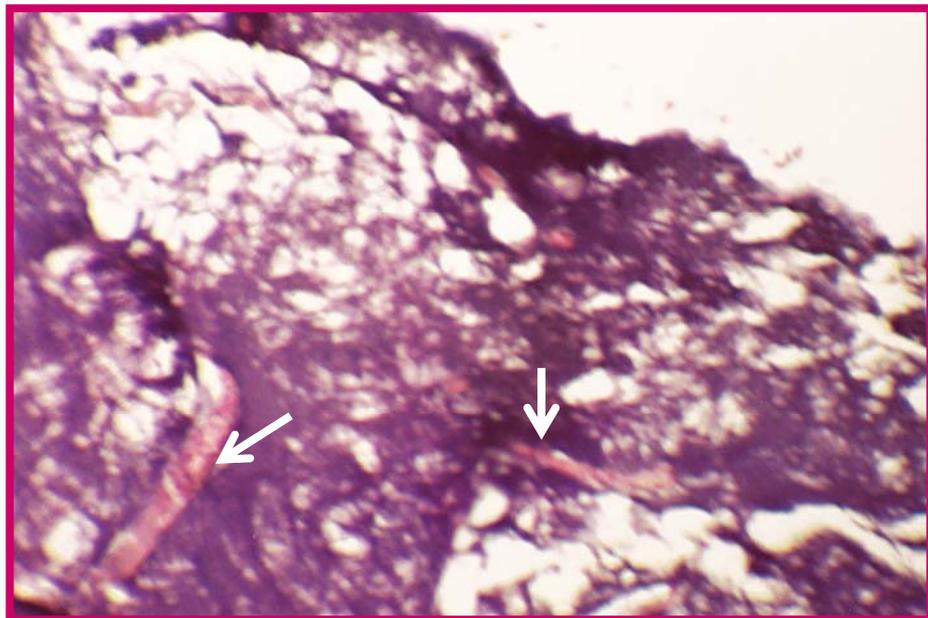


Figura 39: Enxerto ósseo, grupo experimento aos 14 dias. Observam-se a presença de vasos sanguíneos no interior da estrutura do enxerto (→). H.E. Aumento original 400X.

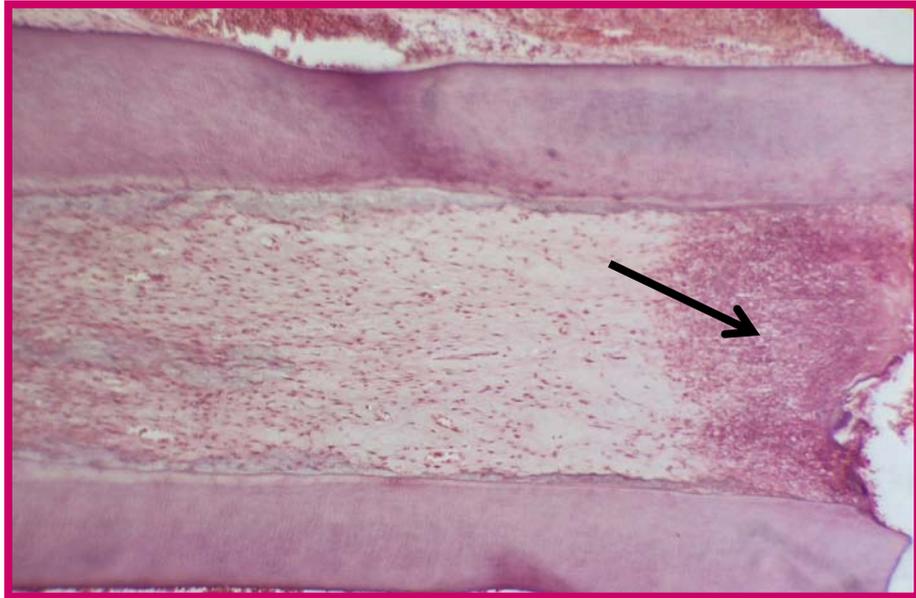


Figura 40: Polpa, coto proximal, grupo experimento aos 14 dias. Observa-se, no tecido pulpar a presença de um tampão inflamatório (→) junto à área da odontosseção. H.E. Aumento original 100X.

45 DIAS

Grupo Controle

Análise Radiográfica

A radiografia oclusal permite identificar as estruturas proximais já descritas na imagem guia ao zero dia, sem alterações. O trajeto de erupção do incisivo segue dentro de um padrão compatível com o trajeto normal de erupção dentro do conduto ósseo alveolar. Entretanto, chama a atenção uma leve tendência a uma direção vestibular junto ao limite ósseo correspondente à região cervical do alvéolo (Figura 43).

Na radiografia de perfil, confirma-se o crescimento e a erupção continuada do elemento dentário, ultrapassando o limite distal da área ostectomizada. A imagem revela, ainda, um alto grau de reprodutibilidade quanto ao trajeto e forma curvilínea do incisivo (Figura 44).

Análise Histológica

O crescimento continuado do segmento proximal, abrangendo o limite alveolar cervical segue, com relativa semelhança à direção de erupção dentro do trajeto original. É visível a tendência da invasão do espaço alveolar protegido pelo epitélio bucal. Observa-se, ainda, na porção mais distal, a continuada reação pulpar, promovendo a atresia do conduto. Tal fato torna-se palpável na observação da

porção apical do processo radicular, onde a atresia é praticamente completa (Figura 45).

Grupo Experimento

Análise Radiográfica

Na radiografia oclusal, mesmo com o segmento distal ausente, é possível identificar a luz do conduto ósseo correspondendo ao trajeto alveolar normalmente seguido pelo dente em erupção (Figura 46).

Chama atenção a homogeneidade da radiopacidade na área correspondente ao enxerto ósseo e, a partir desta, o grande desvio provocado no trajeto de crescimento da raiz prolongando-se expressivamente além do limite vestibular da parede óssea.

No exame radiográfico de perfil, a sobreposição de imagem ósseo-alveolar e estrutura dentária podem confirmar a erupção além do bordo cervical do alvéolo, não considerando o seu desvio para vestibular (Figura 47).

Análise Histológica

A curvatura radicular favorece, nos cortes histológicos, uma composição em menor comprimento. Sua observação permite identificar a estrutura dentária contida em periodonto normal. Comparando a estrutura óssea vestibular com a lingual, podem-se identificar, na face lingual, formações ósseas irregulares integradas à área receptora compatíveis com enxertos ósseos. Esta irregularidade avança em direção

ao canal alveolar, exatamente na região compatível com o desvio da erupção do dente.

Verifica-se, ainda, o epitélio limitante da estrutura periodontal gengival e a presença de restos alimentares junto à bolsa periodontal fisiológica, anatomicamente alterada (Figura 48).

No exame das lâminas referentes à estrutura pulpar, observa-se continuidade do processo de atresia. (Figura 49).

A comparação do grupo controle e experimental aos 45 dias permite a clara identificação entre um osso alveolar normalmente cicatrizado, remodelado em padrão de normalidade, contendo a estrutura dentária paralela à sua superfície (Figura 50). Já a imagem do grupo experimento de 45 dias com enxerto ósseo denota a presença de irregularidade alveolar compatível com a aposição de tecido ósseo liofilizado enxertado. Além da perfeita integração e neoformação óssea, identifica-se o momento do desvio do dente provocado pela barreira mecânica do enxerto (Figura 51).

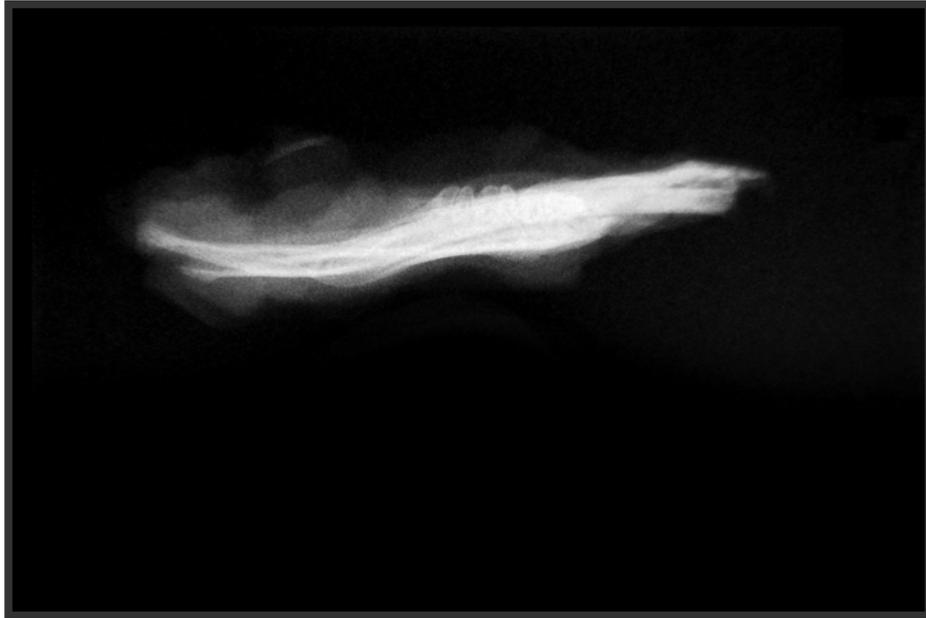


Figura 41: Radiografia oclusal, grupo controle aos 45 dias. Segmento dentário proximal em erupção com imagens do trajeto alveolar compatível com normalidade anatômica.



Figura 42: Radiografia de perfil, grupo controle aos 45 dias. Segmento dentário proximal repete o trajeto eruptivo dentro do conduto alveolar.

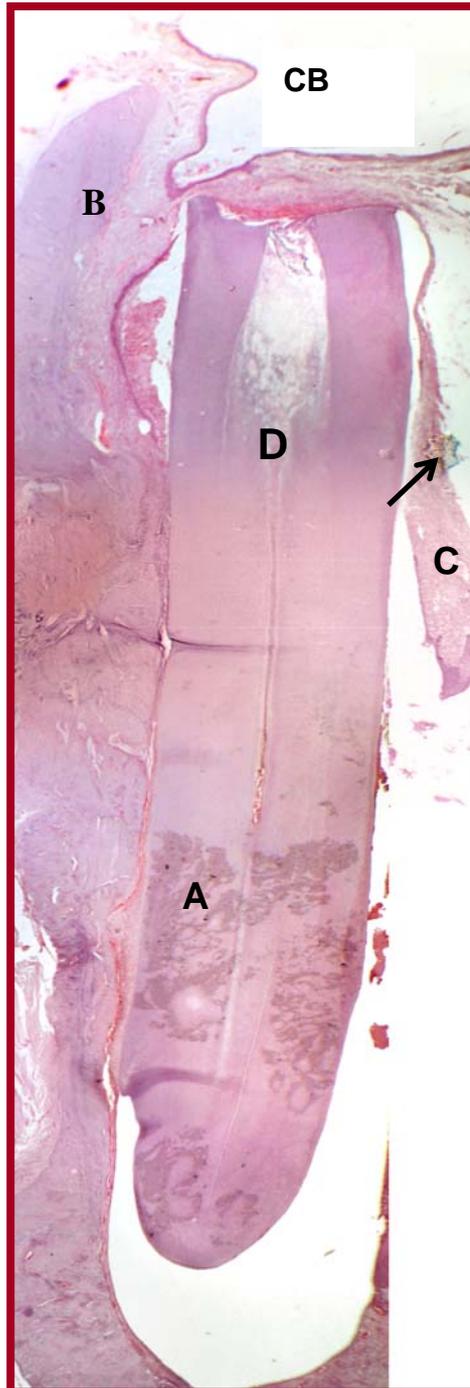


Figura 43: Montagem do incisivo, grupo controle aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal (A) no seu trajeto de erupção, a cortical óssea lingual (B), a cortical óssea vestibular (C) e a atresia quase que completa do conduto radicular (D). Cavidade bucal (CB). Artefato da técnica (→). H.E. Aumento



Figura 44: Radiografia oclusal, grupo experimento aos 45 dias. Registra-se o segmento dentário em trajeto eruptivo para vestibular, afastando-se do canal alveolar.



Figura 45: Radiografia de perfil, grupo experimento aos 45 dias. Segmento dentário proximal mantém sua configuração anatômica curvilínea.

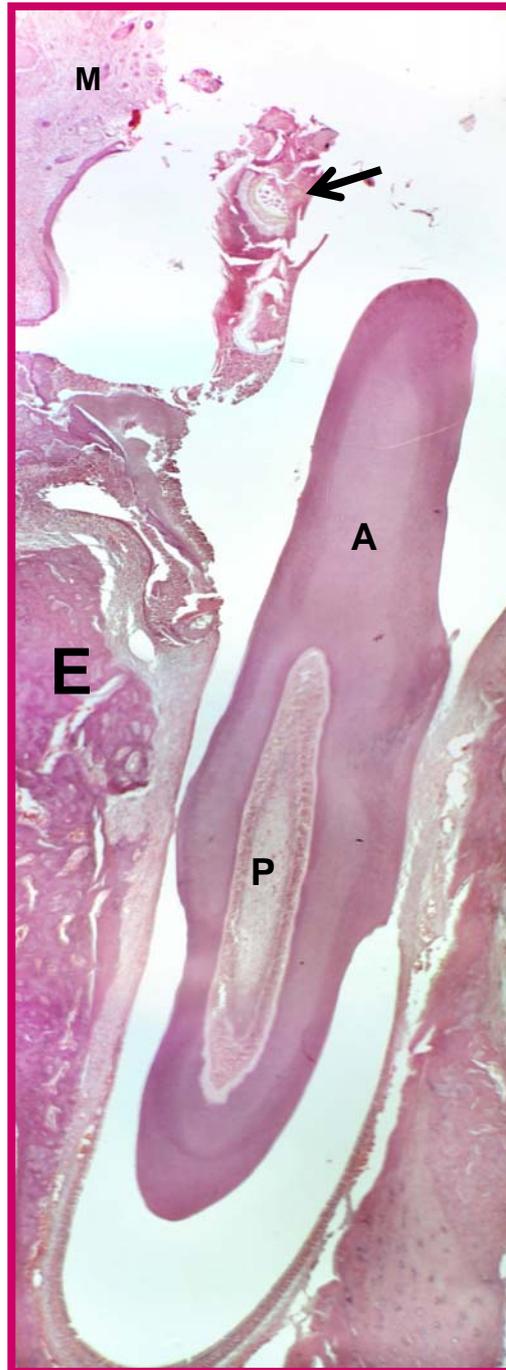


Figura 46: Montagem do incisivo, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal desviado para vestibular (**A**), a polpa (**P**), a estrutura óssea exuberante compatível com enxerto (**E**), a mucosa (**M**) e restos alimentares (\rightarrow). H.E. Aumento original 40X.

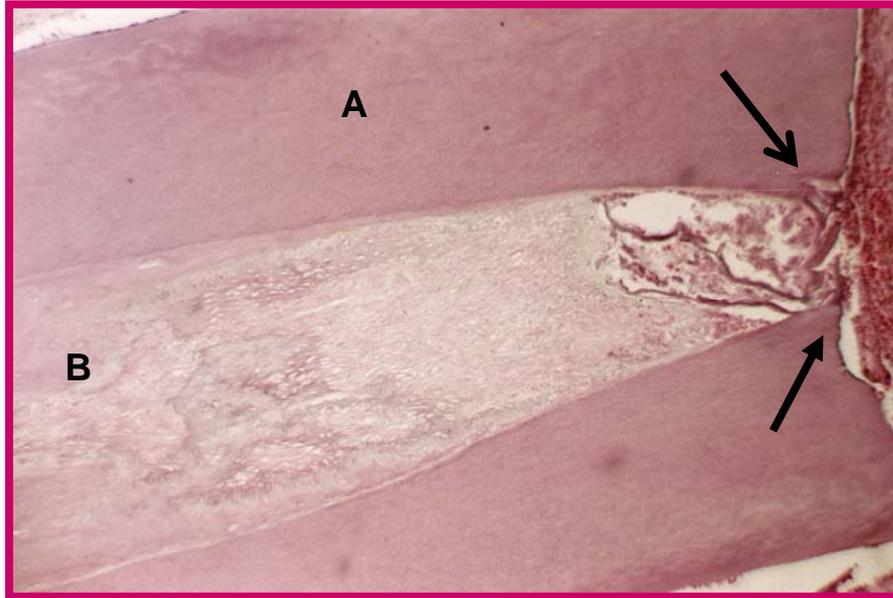


Figura 47: Incisivo, coto pulpar proximal, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o segmento radicular proximal (**A**), a continuidade do processo de atresia (**B**) e formação de um tampão de dentina terciária na região da odontosseção (→). H.E. Aumento original 100X.

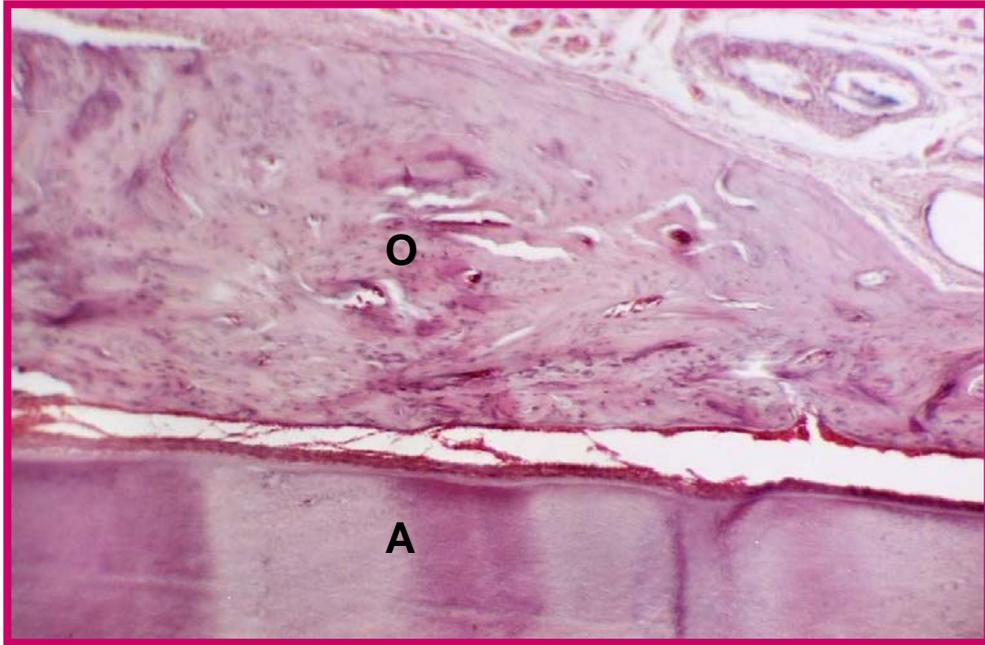


Figura 48: Incisivo e osso alveolar, grupo controle aos 45 dias. Observa-se o osso alveolar (**O**) e o segmento radicular proximal seguindo o seu trajeto de erupção (**A**). H.E. Aumento original 100X.

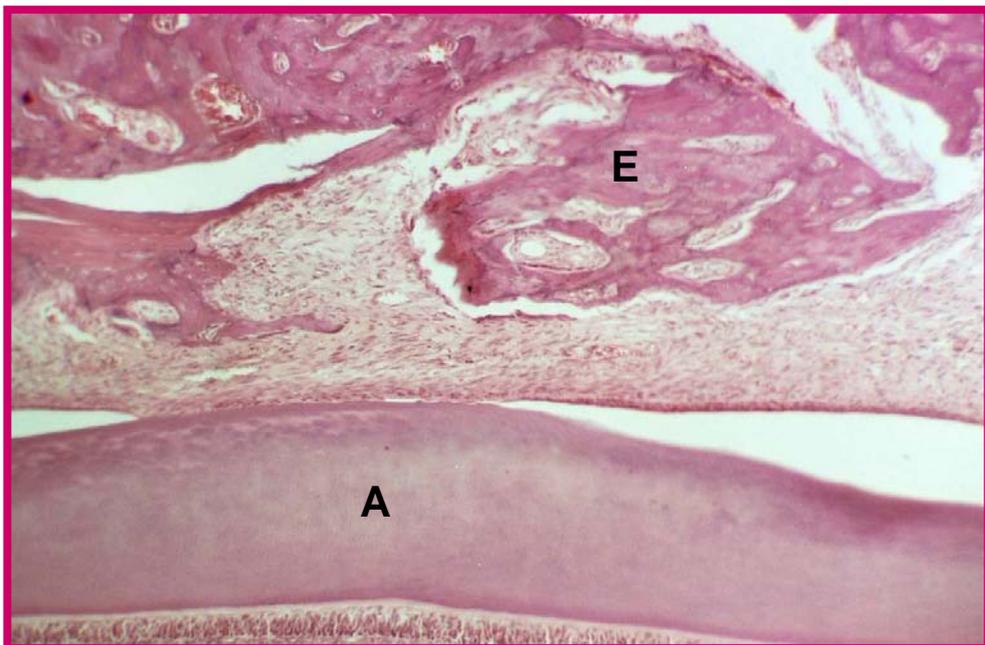


Figura 49: Incisivo e osso alveolar, grupo experimento aos 45 dias. Observa-se o tecido ósseo enxertado (**E**) e o segmento radicular proximal sendo desviado do seu trajeto eruptivo (**A**). H.E. Aumento original 100X.

DISCUSSÃO

O reparo ósseo é objeto de intensivas pesquisas também na especialidade de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF) (MEYER, JOSS e WIESMANN, 2004; WIESMANN, JOSS e MEYER 2004). Inúmeras alternativas têm sido utilizadas nas cirurgias reconstrutivas ósseas, tais como o uso de biomateriais, enxertos autógenos ou alógenos (WEST e BRUSTEIN, 1978; KENNEY et al, 1985; PURICELLI e CHEM, 1985; PURICELLI, 1981 e 1998), embora existam restrições em todos estes métodos. Estas restrições incluem morbidade do sítio doador (LAND et al, 2000), escassez de tecido ósseo autógeno, barreiras imunológicas para aloenxertos e o risco de transmissão de doenças infecciosas, tanto humanas como em animais (MBITHI, SPRIGTHORP e SATTAR, 1990; ARANDA-ANZALDO, VIZA e BUSNEL, 1992; WEINZ, 2001; TAYLOR, 2002).

A utilização de modelos animais para embasamento científico é etapa fundamental no processo de pesquisa. Dos animais utilizados em cirurgia experimental, tais como coelhos, cães, gatos e ratos, este último é o mais freqüente. Permitem a criação controlada em grande quantidade e com menor custo (KIRK, LIM e KHAN, 1989), enquadrando-se, ainda, nos conceitos atuais de bioética (KARAHARJU-SAVANTO, 1994).

Os incisivos inferiores do rato oferecem um modelo quase ideal para o estudo de interações durante a morfogênese dentária, por possuir a habilidade biológica de formação, calcificação e erupção contínuas durante toda a vida do animal (TAVERNE, 1991; SHORE et al, 1992).

No presente estudo, utilizou-se um modelo experimental proposto pela primeira vez (PURICELLI, 2003). Através deste, a autora sugere: leito receptor para

enxerto ósseo criado a partir do alvéolo radicular vazio, força fisiológica dinâmica guiada pelo processo de crescimento e erupção do incisivo inferior em seu segmento proximal em processo eruptivo, podendo gerar compressão do enxerto. A remoção do segmento medial da raiz do incisivo inferior direito do rato permite a obtenção de leito receptor de enxerto ósseo. Neste estudo, utilizou-se, para leito receptor do enxerto ósseo, os 2,0mm distais da cavidade alveolar cirurgicamente obtida (PURICELLI, 2003).

Autores como Malletta e colaboradores (1983), Isaksson e colaboradores (1992) utilizaram osso alógeno liofilizado em seus estudos. Neste estudo dinâmico de enxertia, utilizou-se, como enxerto alógeno, osso liofilizado de rato, fornecido pelo Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (GALIA, 2003). O protocolo para obtenção deste material obedeceu à etapa de purificação através de lavagem, descelularização e desengorduração, seguindo um processamento baseado nos trabalhos publicados por Kakiuchi e colaboradores (1996) e Kakiuchi e Ono (1998). Este protocolo de processamento diminui a antigenicidade, com pouca alteração bioquímica. Fornece um material biocompatível e estéril, podendo ser armazenado à temperatura ambiente concordando com Gasdag e colaboradores (1995).

Na obtenção das imagens radiográficas, o tempo de exposição e a distância foco-filme foram anteriormente determinados por estudo piloto. O tempo de exposição que possibilitou melhor contraste para exame das radiografias foi de 0,3s, e a distância foco-filme de 4 cm. Durante a obtenção radiográfica com o tempo de exposição permanente regulado no aparelho, a distância foco-filme foi revisada a cada cinco exposições, permitindo um padrão constante de exposição à película radiográfica.

No corte das lâminas histológicas, existem dificuldades técnicas causadas pelo crescimento contínuo do coto dentário proximal. Este deve seguir uma trajetória curvilínea obedecendo a anatomia do corpo mandibular. Nos últimos tempos experimentais, constatou-se uma direção vestibular de erupção dentária, impedindo manter um padrão de corte histológico, principalmente para comparações pareadas dos grupos controle e experimento. Entretanto, tal fato não foi significativo na observação e comparação dos resultados associados aos controles radiográficos.

Verificou-se, a partir das análises radiográficas e histológicas, que o incisivo inferior continuou o seu processo eruptivo, concordando com autores como Schour e Van Dyke (1931), apud Taverne, (1991)¹, Thomas (1976) e Taverne (1991). Estes autores analisaram e quantificaram o crescimento contínuo dos incisivos inferiores dos ratos, utilizando diversos métodos para a pesquisa. Já Melcher e Furseth (1990) apresentaram resultados métricos de um crescimento eruptivo do incisivo inferior de 2,8mm por semana. Segundo os mesmos autores, este crescimento pode chegar até duas vezes essa média se o elemento dentário for mantido fora de oclusão através de desgastes repetidos. Considerou-se a remoção do segmento medial e a perda do segmento distal do dente como uma forma de desgaste dentário, liberando o mesmo ao processo de erupção livre.

As metrias apresentadas por estes autores foram utilizadas para cálculo métrico da odontosseção, ritmo e tempo de erupção que permitiram idealizar o volume e a posição do osso enxertado. Entretanto, não foi objeto desta pesquisa o controle centimétrico do crescimento e erupção do incisivo inferior de ratos.

Os enxertos ósseos liofilizados humanos podem ser corticais, esponjosos ou de forma combinada (ROSS, REITH e ROMRELL, 1993; PURICELLI, BARALDI e

¹ SCHOUR, I; VAN DYKE, H.B. Histologic Changes in the Rat Incisor Following Hypophysectomy. In: TAVERNE, A.A.R. Reliability of Eruption Rate Measurements of the Rat Incisor. Aust. Orthod. J., Brisbane, v.12, no. 1, p. 33-36, 1991.

CARDOSO, 2004; PURICELLI, BARALDI e PARIS, 2005). No presente estudo, utilizou-se enxertos ósseos de fêmures de rato, na forma de partículas de osso cortical, esponjoso, combinados ou não.

Neste estudo, o início do processo de incorporação do tecido ósseo pôde ser identificado já aos sete dias pós-operatórios; registrou-se a presença de hematoma circundando as partículas enxertadas e vasos sangüíneos invadindo a estrutura esponjosa. Estas observações concordam com Friedlander (1987), que afirma ser neste momento o início da atividade de osteocondução do enxerto ósseo liofilizado, que serve, então, como estrutura para a deposição de novo osso.

Ainda, Puricelli, Baraldi e Paris (2005) relataram que o osso cortical, quando enxertado, revasculariza-se mais lentamente se comparado ao osso esponjoso. Instala-se neste, um processo de reabsorção seguida de aposição, enquanto no osso esponjoso há um processo de incorporação, onde a aposição se antecipa à reabsorção.

Os mesmos autores afirmam, ainda, que os enxertos corticais, mesmo com o tempo, mantêm uma composição mista de osso necrótico e novo osso vital. Por sua vez, concordamos com Puricelli, Baraldi e Paris (2005), de que o enxerto esponjoso incorpora-se completamente ao receptor, como pôde-se observar aos 45 dias.

Em relação aos segmentos dentários proximais e distais remanescentes, aos sete dias, verificou-se, tanto no grupo controle quanto experimento, alterações do tecido pulpar. No coto distal, constatou-se uma desorganização tecidual com presença de células inflamatórias e necrose. Este processo, resultante da ruptura vascular e compromisso nutricional na polpa, também é observado em dentes humanos após lesões de solução de continuidade na estrutura radicular, como já

documentadas por Andreasen e Andreasen (2001). A odontossecação proposta na metodologia pode ser considerada como um agente etiológico traumático.

Já o fragmento proximal submetido à mesma técnica cirúrgica apresentou o tecido pulpar em intensa proliferação tecidual, redistribuição de neovascularização numericamente expressiva e grande ação dos odontoblastos. Este segmento radicular apical submetido ao trauma cirúrgico, já aos sete dias, permite observar o início da deposição de tecido mineralizado em direção centrípeta, tamponando o conduto pulpar, como descrito também por Andreasen e Andreasen (2001).

Nas amostras dos segmentos proximais de 14 e 45 dias, observou-se palpável deposição de dentina terciária em toda a extensão do conduto radicular, determinando a progressiva atresia do mesmo evoluindo em direção à extremidade distal. Observou-se, ainda, residual de tecido fibroso cicatricial. Estes resultados nos reportam as observações de Andreasen e Andreasen (2001) e Ten Cate (2001) quanto à presença de dentina terciária resultante do tecido pulpar a estímulos, entre eles a fratura radicular.

Nos cotos distais, aos 14 dias, observou-se, em três animais, tanto experimento quanto controle, a presença de tecido celular predominantemente fibroso invadindo o conduto radicular e a superfície cementária da raiz. Esta reação cicatricial é compatível com as observações já relatadas por Andreasen e Andreasen em 2001. Quando não contaminado, este evolui para a obliteração do canal radicular. Ainda durante a revascularização, células derivadas do ligamento periodontal podem predominar na cicatrização radicular, interpondo-se como tecido conjuntivo na união dos fragmentos radiculares.

A observação dos segmentos dentários distais a partir dos 45 dias foi vetada pela ausência física dos mesmos já expulsos ou perdidos dos seus alvéolos.

Nas análises radiográficas de sete e 14 dias, foi possível comparar a radiopacidade entre a área enxertada e a área óssea receptora. Já especialmente aos 14 dias evidenciou-se a progressiva incorporação do enxerto ósseo. Nesta pesquisa em ratos, este processo ocorreu em tempo hábil, antes da esperada impacção mecânica provocada pela erupção contínua do segmento dentário proximal. Segundo Friedlander e colaboradores (1984) e Friedlander (1987), o tecido ósseo enxertado é alterado pela atividade osteoclástica que acompanha a neovascularização. Para os mesmos autores, isso resulta num aumento substancial na porosidade do enxerto, o que torna sua radiointensidade similar ao osso medular da área receptora, aqui também observado. Aos 45 dias, radiograficamente, a visualização da imagem não favorece a localização do enxerto no leito receptor. Pelas observações registradas, pode-se concluir que o período compreendido entre 14 e 45 dias seja de fato o momento da grande integração.

No presente estudo, observou-se que, em praticamente todos os animais, tanto nos grupos controles como experimentos, há ocorrência de intrusão do coto dentário distal. Este fato determinou o deslocamento do enxerto ósseo, localizado em justaposição à sua face proximal, para o interior da cavidade cirúrgica. Observou-se, ainda, um deslizamento do osso enxertado para a parede lingual do alvéolo, o que favoreceu o aprisionamento das partículas do enxerto ósseo liofilizado entre o coto distal intruído e a face lingual do alvéolo. Acredita-se que tal fato permita uma maior estabilidade ao enxerto ósseo e, por conseguinte, uma incorporação quantitativamente maior do mesmo na área, confirmando a imobilização necessária já descrita por Friedlander (1987).

A análise macroscópica das mandíbulas permite sugerir que a permanência de um dos incisivos inferiores do rato é fundamental para a manutenção da

funcionalidade roedora do animal. Neste modelo de estudo, a manutenção dos 3,0mm distais da raiz inserida e contida na cortical óssea do alvéolo não foram suficientes como suporte para impedir a intrusão do incisivo submetido à odontossecação. Por tal, sugere-se que a força roedora do animal seja superior à resistência dessa estrutura remanescente.

A observação radiográfica e histológica dos animais do grupo experimento de 45 dias permite afirmar que a presença do enxerto ósseo no alvéolo faz com que o incisivo inferior do rato mude sua trajetória de erupção, apresentando uma direção para vestibular. Tal fato pode confirmar a incorporação do enxerto ósseo, que, por sua resistência mecânica, impediu a continuidade de erupção do elemento dentário no trajeto alveolar convencional.

Este modelo proposto por Puricelli (2003), por seu ineditismo, estimula a realização de novos trabalhos visando seu aperfeiçoamento e viabilização de resultados.

O modelo experimental utilizado concorda com os conceitos atuais de bioética da pesquisa em animais (GOLDIM, RAYMUNDO, 1997; GOLDIM, 2002; GOLDIM, RAYMUNDO, 2003). Em cirurgia experimental, justifica-se a opção por animais visto inexistirem alternativas humanas. Desta forma, foram selecionados apenas animais nascidos e criados em cativeiro laboratorial. Usou-se um numero reduzido de animais para o experimento, sem haver prejuízo quanto à validação científica do mesmo. Os animais foram mantidos nos padrões qualitativos de alojamento, fornecimento de água e alimento, assegurando o preenchimento das necessidades básicas dos mesmos. Os animais tiveram acompanhamento médico veterinário no pré, trans e pós-operatório. A anestesia foi empregada em quantia e forma de aplicação ideais (FANTONI, CORTOPASSI, 1996). A eutanásia dos animais foi

obtida através de hipóxia por deslocamento cervical, obedecendo a Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. O projeto foi, ainda, submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Desta forma, pode ser considerada uma pesquisa realizada dentro dos princípios da bioética.

CONCLUSÃO

Segundo a metodologia empregada neste estudo experimental inédito, concluiu-se que:

- o incisivo inferior do rato, mesmo submetido à odontosseção em seu segmento dentário proximal, segue um processo de crescimento e erupção;
- o tecido pulpar contido no segmento proximal mantém sua vitalidade, reagindo na forma de cicatrização dentinária, compatível com o dente humano;
- o enxerto ósseo alógeno liofilizado evolui favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário;
- a dinâmica da erupção dentária pode criar força, em padrão fisiológico, para testar a resistência e estabilidade do enxerto ósseo cicatrizado;

REFERÊNCIAS¹

- AMERICAN ASSOCIATION OF TISSUE BANKS. **Information Alert**, McLean, v. 3, no. 6, 1993.
- ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F.M. **Texto e Atlas Colorido de Traumatismo Dental**. 3. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2001. 770 p.
- ARANDA-ANZALDO, A.; VIZA, D.; BUSNEL, R. G. Chemical Inactivation of Human Immunodeficiency Virus *In Vitro*. **J. Virol. Methods**, Amsterdam, v. 37, no. 1, p. 71-82, Apr. 1992.
- BEZERRA, F.J. B. ; LENHARO, A. **Terapia Clínica em Implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 2002.
- BURKITT, H. G. et al. **Wheater Histologia Funcional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409 p.
- 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.
- FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. Técnicas Anestésicas em Animais de Laboratório. In: DE LUCA, R. R.; ALEXANDRE, S. R.; MARQUES, T. (Ed.). **Manual para Técnicos em Bioterismos**. 2 ed. São Paulo: Winer Graph, 1996. p. 157-164.
- FINAL Report on the Updated Assessment of the Geographical BSE-Risk (GBR) of Brazil - 2003. Scientific Steering Committee. 2003 Abr. Disponível em: <<http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out331em.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2003.
- 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.
- FRIEDLAENDER, G. E. et al. Effects of Chemotherapeutic Agents on Bone. I. Short-Term Methotrexate and Doxorubicin (Adriamycin) Treatment in a Rat Model. **J. Bone Joint Surg Am.**, Boston, v. 66, no. 4, p. 602-607, Apr. 1984.

¹ De acordo com NBR6023: Informação e Documentação – Elaboração, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas, e abreviaturas dos títulos dos periódicos segundo Medline.

FURSETH, R.; SELVIG, K. A.; MJÖR, I. A. O Periodonto. In: MJÖR, I. A.; FEJERSKOV, O. **Embriologia e Histologia Oral Humana**. São Paulo: Panamericana, 1990. Cap. 4, p. 131-175.

GALIA, C. R. Comunicação pessoal. Serviço de Cirurgia e Traumatologia Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA, 2003.

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, 1995.

GOLDIM, J. R. **Avaliação da Pesquisa em Animais. 2002**. Disponível em: <<http://.bioetica.ufrgs.br/jusani.htm>>. Acesso em: 24 maio 2005.

GOLDIM, J. R.; RAYMUNDO, M. M. **Pesquisa em Modelos Animais. 2003**. Disponível em: <<http://.bioetica.ufrgs.br/animrt.htm>>. Acesso em: 13 jun. 2005.

GOLDIM, J. R.; RAYMUNDO, M. M. **Princípios Gerais da Pesquisa em Animais. 1997**. Disponível em: <<http://.bioetica.ufrgs.br/animprin.htm>>. Acesso em: 24 mai. 2005.

HEIPLE, K.G. et al. Biology of Cancellous Bone Grafts. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.18, no. 2, p. 179-185, Apr. 1987.

HERCULIANI, P. P. et al. Tratamento de Defeito Ósseo Perene em Calvária de Cobaia com Membrana de Cortical Óssea Bovina Liofilizada Associada ou Não a Enxerto Ósseo Bovino Desmineralizado. **Rev. Brasil. Implant.**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 7-14, abr./jun. 2000.

ISAKSSON, S. et al. Regenerative Response to Membranous and Enchondral Lyophilized Allogeneic Bone in Rabbit Skull Defects. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.**, Stockholm, v. 26, no. 2, p. 147-153, 1992.

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

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433 p.

KAKIUCHI, M.; ONO, K. Defatted, Gás-Sterilised Cortical Bone Allograft for Posterior Lumbar Interbody Vertebral Fusion. **Int. Orthop.**, Berlin, v. 22, no. 2, p. 69-76, 1998.

KAKIUCHI, M. et al. Preparation of Bank Bone Using Defatting, Freeze-Drying and Sterilisation with Ethylene Oxide gas. Part 1. Experimental Evaluation of its Efficacy and Safety. **Int. Orthop.**, Berlin, v. 20, no. 3, p. 142-146, 1996.

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.

KENNEY, E. B. et al. The Use of a Porous Hydroxylapatite Implant in Periodontal Defects. I. Clinical Results After Six Months. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 56, no. 2, p. 82-88, Feb. 1985.

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.

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 Restorative Dent.**, Chicago, v.20, no. 6, p. 574-583, 2000.

LINDSEY, W. H. Osseous Tissue Engineering with Gene Therapy for Facial Bone Reconstruction. **Laryngoscope**, Philadelphia, v.111, no. 7, p. 1128-1136, July 2001.

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.

MACEDO et al. Comparação da Resistência à Compressão do Osso Bovino Congelado e Liofilizado. **Rev. Brasil. Ortop.**, São Paulo, v. 34, n. 9/10, p. 529-534, 1999.

MALETTA, J. A. et al. Comparison of the Healing and Revascularization of Onlayed Autologous and Lyophilized Allogeneic Rib Graft to the Edentulous Maxilla. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 41, no. 8, p. 487-499, Aug. 1983.

MARKS, S. C.; HERMEY, D. C. The Structure and Development of Bone. In: BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. (Ed.). **Principles of Bone Biology**, San Diego: Academic Press, 1996. Cap. 1, p. 3-14.

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. **Calif. Dent. Ass. J.**, San Francisco, v.16, no.1, p.56-65, Jan. 1988.

MBITHI, J. N.; SPRINGTHORPE, V. S.; SATTAR, S. A. Chemical Disinfection of Hepatitis A Virus on Environmental Surfaces. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v. 56, no.11, p. 3601-3604, Nov. 1990.

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.

MEYER, U; JOOS, U; WIESMANN, H. P. Biological and Biophysical Principles in Extracorporal Bone Tissue Engineering – Part I. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 33, no. 4, p. 325-332, June 2004.

MISCH, C. E. Aumento Ósseo para a Inserção de Implante: Soluções para o Enxerto Ósseo. In: _____. **Implantes Dentários Contemporâneos**. São Paulo: Santos, 2000. Cap. 29, p. 451-468.

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

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.

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.

NOGAMI, H.; URIST, M. R. Explants, Transplants and Implants of a Cartilage and Bone Morphogenetic Matrix. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 0, no. 103, p. 235-251, 1974.

OLIVEIRA, M. G.; BRITTO, J. H. M.; FONSECA, L. A. M. Avaliação Microscópica do Processo de Reparo Ósseo em Tíbias de Ratas, Usando Implantes de Osso Liofilizado Bovino. **Rev. Odonto Ciênc.**, Porto Alegre, v. 16, n. 34, p.242-250, set./dez., 2001.

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

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

PURICELLI, E. Osteossíntese sem Fixação Intermaxilar nas Cirurgias de Prognatismo. **Rev. Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v. 29, n. 2, p. 118-121, abr./jun. 1981.

PURICELLI, E. Retenção Dentária: Novos Conceitos no Tratamento Ortocirúrgico. In: GONÇALVES, E. A. N.; FELLER, C. **Atualização na Clínica Odontológica**. São Paulo: APCD, 1998. Cap. 1, p. 3-28.

PURICELLI, E. Comunicação pessoal. Departamento de Cirurgia e Ortopedia Faculdade de Odontologia – UFRGS. Porto Alegre RS, 2003.

PURICELLI, E. Comunicação pessoal. Departamento de Cirurgia e Ortopedia Faculdade de Odontologia – UFRGS. Porto Alegre RS, 2003.

PURICELLI, E.; CHEM, R. C. Reconstrução de Mandíbula com Fíbula. **Rev. Gaúcha Odontol.**, 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 Ósseos nas Reconstruções Alveolares. In: GONÇALVES, E. A. N.; GENTIL, S. N. **Atualização Clínica em Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2004. Cap. 2, p. 13-34.

PURICELLI, E.; BARALDI, C. E.; PARIS, M. F. Reconstruções Ósseas Alveolares. In: _____ Da Construção à Expressão, São Paulo. Artes Médicas, 2005. Disponível em:< <http://www.netodonto.com.br/lmsbuilder/ciosp/indice.asp>>. Acesso em:01 mai. 2005.

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.

SHIBATA, F.; STERN, I. B. Hertwig's sheath in the Rat Incisors. II. Autographic Study. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v. 2, p. 111-120, 1968.

SHORE, R. C. et al. Immunohistochemical Investigation of Epidermal Growth Factor Receptor Expression During Periods of Accelerated Rat Incisor Eruption. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 37, no. 5, p. 389-393, 1992.

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

TAVERNE A. A. Reliability of Eruption Rate Measurements of the Rat Incisor. **Aust. Orthod. J.**, Brisbane, v. 12, no. 1, p. 33-36, Mar. 1991.

TAYLOR, D. Inactivation of the BSE Agent. **C R Acad Biol.**, Paris, v. 325, no. 1, p. 75-76, Jan. 2002.

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

THOMAS, N. R. Collagen as the Generation of Tooth Eruption. In: POOLE, D. F. G.; STACK, M. V. (Ed.). **The Eruption and Occlusion of Teeth**. London: Butterworths, 1976. P. 290-309. (Colston Papers, 27).

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

URIST, M.R. et al. The Bone Induction Principle. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 53, p. 243-283, July/Aug. 1967.

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

WENZ, B.; OESCH, B.; HORST, M. Analysis of the Risk of Transmitting Bovine Spongiform Encephalopathy Through Bone Grafts Derived from Bovine Bone. **Biomaterials**, Guilford, v. 22, no.12, p. 1599-1606, June 2001.

WEST, T. L.; BRUSTEIN, D. D. Comparison of Replamineform Coral and Bone Allimplants in Dog Periodontal Pockets. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v. 57, Sp. Issue A, p. 101, 1978.

WIESMANN, H .P; JOSS, U.; MEYER, U. Biological and Biophysical Principles in Extracorporal Bone Tissue Engineering – Part II. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 33, no. 6, p. 523-530, 2004.

ANEXO A

Anexo A: 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 analisou o projeto:

Número: 23/04

Título do projeto: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE ENXERTO ÓSSEO LIOFILIZADO EM ÁREA DENTADA EM DESENVOLVIMENTO

Investigador(es) principal(ais): Profa. Edela Pricelli e C.D. Mauro Gomes Trein Leite.

O mesmo foi aprovado na reunião do dia 14/10/2004, ata nº 09/04 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 Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde GPPG/HCPA.

Porto Alegre, 15 de outubro de 2004.



Profa. Marisa Maltz
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa



Prof. Manoel Sant'Ana Filho
Coordenador da Comissão de Pesquisas

ANEXO B

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 triclaína, 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 C

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 Vivisseção

Art. 18 - Considera-se vivisseção os experimentos 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 vivisseção 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 experimento de vivisseção 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 experimento 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.