

THATIANA CRISTINA VIEIRA DE REZENDE

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA CARBOAPATITA NANOMÉTRICA NA
REPARAÇÃO ÓSSEA EM LESÕES DE FURCA CLASSE III
EM RATOS WISTAR.**

ALFENAS/MG

2016

THATIANA CRISTINA VIEIRA DE REZENDE

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA CARBOPATITA NANOMÉTRICA NA
REPARAÇÃO ÓSSEA EM LESÕES DE FURCA CLASSE III
EM RATOS WISTAR.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Histologia. Linha de Pesquisa: Biologia dos tecidos do complexo buco maxilofacial.

Orientador: Prof .Dr. Tomaz Henrique Araújo

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Rezende, Thatiana Cristina Vieira

Avaliação da utilização da Carboapatita Nanométrica na reparação óssea em lesões de furca classe III em ratos Wistar. / Thatiana Cristina Vieira Rezende. -- Alfenas/MG, 2016.
52 f.

Orientador: Tomaz Henrique Araújo.

Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) -
Universidade Federal de Alfenas, 2016.
Bibliografia.

1. Remodelação Óssea. 2. Regeneração Óssea. 3. Apatitas. 4. Ratos Wistar. I. Araújo, Tomaz Henrique. II. Título.

CDD-617.695

Dedico a realização deste trabalho à
minha filha Isabella F.V. Rezende Carvalho,
minha linda princesa, com todo meu amor!

AGRADECIMENTOS

A DEUS, senhor de todas as coisas e da minha vida! Agradeço sempre e por tudo! Por me permitir gozar em plenitude da minha saúde de todos os meus sentidos, por me capacitar na realização de mais esse sonho! Obrigada! Agradeço também por manter meus pais perto de mim nesta fase importante e difícil da minha caminhada de vida! Agradeço a saúde deles e de todos os meus e principalmente agradeço a vida e saúde da minha Isabella!

À MARIA, Nossa Senhora e Mãe Santíssima, primeira professora de Jesus, por manter me embaixo de Vosso Manto Sagrado, me guiando e me cuidando nesta etapa tão complicada de vida.

À Santa Apolônia, protetora dos dentistas, por rogar sempre em favor das minhas mãos e minha consciência, permitindo que eu faça sempre o meu melhor em favor dos meus pacientes! Obrigada!

Àos meus pais que mais uma vez estiveram todo tempo ao meu lado, me apoiando e principalmente ajudando com minha filha para que eu me mantivesse tranquila durante as horas de pesquisa e estudo. Papai sempre dando forças e incentivo, e mamãe, minha inspiração, o orgulho em ser professora me inspirou na realização do mestrado.

A minha filha Isabella F.V.R.C., o melhor presente que Deus poderia me dar, meu anjinho e luz de minha vida, por me ensinar todos os dias como é bom ser criança, pelo seu sorriso, seu amor e sua pureza! Minha princesa, meu amor, obrigada por VOCÊ em minha vida!
Ao meu marido, MSc. Toni Carvalho, meu grande amor-amigo, por todo o apoio, incentivo, todas as dicas, por toda a paciência e amor em todos os momentos, e ainda mais nos de ausência, de estresse e de fadiga. Por ser meu companheiro em todas as horas e principalmente por me fazer feliz!

As minhas irmãs, Marcela e Fabiana, minhas queridas amigas de sempre, por toda amizade, carinho, respeito e por me darem os sobrinhos mais lindos do mundo!

Aos meus amados sobrinhos, Arthur, Lucca e Igor, por encherem de alegria, diversão e muito amor o meu coração, titia ama vocês! E em especial minha querida Luizinha, filha do coração desde que foi concebida e, minha paixão desde que nascida. Obrigada por bagunçar a vida da madrinha!

Aos meus afilhados, Pedro, pesquisador nato e tímido como eu, e Juliana minha linda e esperta amiga. Obrigada por abrilhantarem minha vida e obrigada a seus pais por cofiarem tão importante sacramento a mim!

Ao meu querido Tio Lau, por tudo, toda a ajuda, todo amor dispensado à Isabella, todo o carinho em todos os momentos!

As minhas madrinhas, Conceição e Paula, professoras e minhas inspiradoras nesta arte! Maria Cristina minha madrinha de batismo, excelente profissional de saúde, com quem tive a alegria e o prazer de poder trabalhar junto!

Aos meus sogros, Antônio Figueiredo e Nadir Fernandes, por me ensinarem a vivenciar o amor ao próximo, por todo amor dispensado a mim e a minha filha. Obrigada!

Aos Meus Tios João, Maria Angela e tia Dudu e aos primos Ciro, José Luiz e Thiago, dentistas como eu, por serem inspiração na minha profissional, e por me ensinarem a ser apaixonada pela Ciência da Odontologia.

Aos meus tios e tias professores e mestres, por serem exemplo e inspiração na área docente.

A Universidade Federal de Alfenas, estimada instituição, por me receber de portas abertas e me proporcionar a oportunidade para a realização deste sonho!

A Coordenação do Programa de Pós graduação em Ciências Odontológicas e todo o corpo docente, por toda a receptividade, toda a atenção a mim dispensada, a oportunidade, o carinho com que fui recebida sempre e em todos os momentos, os alegres e também os de angústia, pela grandeza em compartilhar os ensinamentos e assim contribuir com meu crescimento profissional e pessoal. E também, a todos os funcionários e técnicos, secretárias, auxiliares, obrigada pela paciência e compreensão e por toda ajuda.

Ao meu estimado orientador Prof. Dr. Tomaz Henrique Araújo, educador de excelência, por tudo, todos os ensinamentos, todas as conversas, as broncas, a exigência, a paciência, a amizade, pela disponibilidade em dividir seu tempo para me ensinar e orientar minhas ideias para que eu concluísse esta pesquisa, pela capacidade de encantamento na arte da Histologia. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Wagner Rossi Jr, meu co-orientador, pela atenção, respeito, por todos os conhecimentos compartilhados, por toda a ajuda, por todas as ideias e ensinamentos.

À Prof. Dra., Deila Rosély, pelo carinho e amizade inclusive nos desabafos, pela troca de experiência e de conhecimentos sobretudo, e a todos os professores do Departamento de Biologia Estrutural meu muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Roberto Martins Lourenço, pela imensa ajuda, pela disponibilidade em me acolher no laboratório de radiologia, por se colocar a disposição, por todos os apontamentos, críticas e sugestões. Pela disponibilidade dos técnicos e funcionários do laboratório, pela gentileza de todos!

Ao Prof. Noe Vital, pela colaboração, atenção, pelas dicas e pela disponibilidade em participar da minha banca de qualificação, obrigada!

A Prof. Denise Correa, minha querida tia, por todo exemplo, todo carinho, por me ensinar a trabalhar com paixão!

A Prof. Dra. Mirta Mir, pela carboapatita nanométrica e os ensinamentos divididos.

Aos queridos Andréa Mendonça e Fernando Ponciano, muito obrigada, pelo carinho, disponibilidade, paciência, por me ensinarem cada um a seu modo a como trabalhar no laboratório! Pelo cuidado com que me explicaram todas as coisas tanto nos momentos de estresse como nos de alegria, pela atenção que tiveram comigo e pelo respeito. Obrigada!

Aos meus colegas da III turma de mestrado em ciências odontológicas, Bianca, Eduardo Da-Ré, Geovanne, Laís, Ribamar e Lisandro agora todos "Master of Sciences" obrigada por toda ajuda, por compartilharmos os momentos de estresse, tensão e alegria. Obrigada pela amizade! Que Deus abençoe sempre cada um de vocês e suas famílias!

Aos acadêmicos de iniciação científica, Danielle, Helen, Monique e Tiago, vocês ficarão sempre em meu coração, obrigada por participarem de maneira ímpar na realização deste meu sonho. Obrigada por toda ajuda, por me permitirem "treinar ser professora". Muito obrigada por tudo!

A Vocês todos, que de uma forma ou outra estiveram presente na frente e atrás dos “bastidores” e foram mestres em minha vida, que Aquele (o “Tal Nazareno” como diz um escritor amigo), o Mestre dos Mestres abençoe sempre a vida de vocês e daqueles que amam!! Um beijo carinhoso meu a cada um, muito obrigada!

"Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o SENHOR teu DEUS é contigo, por onde quer que andares".

(Josué 1:9)

RESUMO

A falta de previsibilidade de prognósticos favoráveis aos defeitos ósseos provocados por lesões de furca de grau III tem estimulado diferentes estudos com o objetivo de obter reparação e regeneração com melhora nos resultados. O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia da carboapatita nanométrica (HAPNC) sintetizada por pesquisadores da Unifal-MG, como reparador ósseo em lesão de furca grau III de molares inferiores de ratos albinos wistar. Dentes acometidos por lesão de furca classe III na maioria das vezes são condenados e extraídos por não responderem de maneira positiva ao tratamento habitual destinado a estes tipos de lesão. A HAPNC já foi testada pelo grupo e constatou-se que possibilita reparação óssea em defeitos críticos em tibia o que sugere a sua avaliação em defeitos classe III de furca. Foram utilizados 30 ratos Wistar *Rattus norvegicus*, machos, com peso entre 300gr e 500gr, divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e com HAPNC. Os grupos foram subdivididos em três subgrupos de acordo com o tempo experimental de 1 dia, 60 e 90 dias. Após esses intervalos os animais foram submetidos a exames tomográficos e radiológicos e em seguida submetidos a eutanásia. A mandíbula foi dissecada e o primeiro molar inferior esquerdo removido em bloco com osso circundante. As amostras foram fixadas em paraformaldeído 4% em tampão fosfato, incluídos em parafina e os cortes corados com azul de toluidina e fucsina básica. O presente estudo foi apreciado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UNIFAL) sob o protocolo 619/2015. Os exames de imagem foram realizados em tomadas radiográficas, após a fixação das hemimandíbulas, com cortes no sentido axial para o crânio, em norma lateral para as hemimandíbulas. As tomadas de tomografia computadorizada foram realizadas ainda com o animal anestesiado na posição supina e cabeça imóvel, nos três sentidos de corte axial, coronal e transversal. Resultados demonstram eficácia da HAPNC no reparo ósseo em defeito de furca classe III. Este projeto foi realizado com o apoio da Capes.

Palavras-chave: Reparo Ósseo. Carboapatita. Biomaterial. Defeito de Furca.
Ratos Wistar.

ABSTRACT

The lack of predictability of favorable prognosis for bone defects caused by grade III furcation lesions has stimulated different studies in order to obtain repair and regeneration with improved results. The aim of this study is to evaluate the effectiveness of nanometric carboapatite (HAPNC) synthesized by researchers at Unifal-MG, as bone repair in injury class III furcation of molars of Wistar albino rats. Teeth affected by injury furcation class III most often are condemned and taken not respond positively to the usual treatment for these types of injuries. The HAPNC has been tested by the group and it was found that enables bone repair critical defects in tibia suggesting its evaluation in class III furcation defects. Thirty Wistar Rattus Norvegicus were used, males weighing between 300gr and 500gr, randomly divided into two groups: control and HAPNC. The groups were subdivided into three subgroups according to the experimental period of 1 day, 60 and 90 days. After these intervals, the animals were subjected to computed tomography and radiological exams and then euthanized. The mandible was dissected and the first lower left molar removed en bloc with the surrounding bone. The samples were fixed in 4% paraformaldehyde in phosphate buffer, embedded in paraffin and sections stained with toluidine blue and basic fuchsin. This study was evaluated and approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA- UNIFAL) under the protocol 619/2015. Imaging tests were performed on radiographs after the fixing of mandibles, with cuts in the axial direction to the skull in lateral norm for HMs. Computed tomography taken were also held with the anesthetized animal supine and motionless head in the three-way axial, coronal and cross section. Results demonstrate efficacy of HAPNC in bone repair in furcation defects class III. This project was carried out with the support of Capes.

Key words: Bone Regeneration. Carboapatite. Biocompatible materials. Furcation defects. Wistar rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	-	Procedimento operatório.....	27
FIGURA 2	-	Exame clínico.....	28
FIGURA 3	-	Exame tomográfico	31
FIGURA 4	-	Imagem radiográfica de Lesão de Furca classe III animal controle com 30 dias.....	32
FIGURA 5	-	RX 30, 60 e 90 dias (T) com HAPNC.....	32
FIGURA 6	-	Lesão medida após 60 dias da cirurgia	33
FIGURA 7	-	Animal(T) 60 dias	33
FIGURA 8	-	Animal controle com lesão cariiosa na coroa e lesão de furca.....	34
FIGURA 9	-	MEV lesão furca grupo (C).....	34
FIGURA 10	-	MEV (C) 90 dias.....	35
FIGURA 11	-	MEV tecido neo formado (T)90 dias.....	35
FIGURA 12	-	Grupo(T) Tecido ósseo neo formado.....	36
FIGURA 13	-	Grupo (T) Tecido ósseo neo formado.....	36
FIGURA 14	-	Grupo (T) Tecido ósseo neo formado.....	37
FIGURA 15	-	Grupo tratado (T).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

FA	-	Fosfatase alcalina total
HAP	-	Hidroxiapatitas de Cálcio
HAPNC	-	Carboapatita Nanométrica
INPI	-	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
LF	-	Lesão de Furca
TC	-	Tomografia computadorizada
TCMS	-	Tomografia computadorizada multislice

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	LESÃO DE FURCA.....	13
2.2	TECIDO ÓSSEO E MARCADORES.....	16
2.3	HIDROXIAPATITA (HAP).....	17
2.3.1	Aplicações biomédicas da hap.....	19
2.3.2	Composição química e estrutura cristalina.....	19
2.4	CARBOAPATITA NANOMETRICA (HAPNC).....	21
3	PROPOSIÇÃO.....	22
4	OBJETIVOS.....	23
4.1	OBJETIVO GERAL.....	23
4.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	23
5	MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	24
5.2	MODELO EXPERIMENTAL.....	24
5.3	PROCEDIMENTO OPERATÓRIO.....	25
5.4	EUTANÁSIA.....	27
5.5	AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	27
5.6	PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO.....	29
5.7	MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA (MEV).....	29
5.8	EXAME RADIOGRÁFICO.....	29
5.9	EXAME TOMOGRÁFICO.....	30
6	RESULTADOS.....	32
7	DISCUSSÃO.....	38
8	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Furca é uma característica anatômica única dos dentes multirradiculares, sendo definida como a área localizada entre os cones radiculares (raízes) onde estes começam a se separar do tronco radicular (DELIBERADOR, 2008).

O tratamento dos defeitos de furca representa uma tarefa complexa com um alto percentual de insucesso e de recidiva. A doença dificulta a manutenção do dente e da estrutura do tecido ósseo circunjacente (DELIBERADOR, 2008).

O tecido ósseo possui magnífica capacidade de recuperação e regeneração, entretanto a falta de prognósticos favoráveis aos defeitos ósseos provocados por lesões periodontais, em especial as lesões de furca de grau III, tem estimulado diferentes estudos com o objetivo de reparação e regeneração do osso através do emprego de diferentes técnicas e biomateriais (CATE, T., et al., 2013) como as membranas e materiais osseointutores (GARCIA, 2013).

Biomateriais podem ser de origem biológica ou sintética e em contato com sistemas biológicos e tecidos vivos auxiliam no reparo de perdas teciduais e de funções comprometidas por processos degenerativos ou traumáticos (WANG, 2010).

As hidroxiapatitas de cálcio (HAP), vêm sendo alvo de variadas investigações, devido a sua similaridade composicional e biológica com a fase inorgânica do osso humano. Por isto se torna um biomaterial bastante atrativo com potencialidade para aplicações em implantes, sistemas para liberação de drogas, fontes radioativas e engenharia de tecidos (WANG, 2010).

O uso de uma HAP que mais se assemelhe ao tecido ósseo certamente permitirá melhores resultados nos tratamentos de perda de tecido. No nosso caso específico o estudo foi realizado com um tipo de hidroxiapatita nanométrica adicionada de carbonato, uma carboapatita nanométrica (HAPNC) desenvolvida nos laboratórios da UNIFAL-MG com propriedades químicas e físicas distintas daquelas comercializadas atualmente, apresentando maior similaridade com o tecido ósseo. Como os ossos possuem os referidos cristais em forma nanométrica espera-se uma aceleração no processo de crescimento e reparo. Essa HAPNC foi registrada no INPI em 21/05/2015 obtendo o depósito de patente BR/02015 0117329. O material já foi testado pelo grupo em fíbulas de ratos, constatando-se a regeneração em perdas de 20% do comprimento dos ossos (PEREIRA, et. al, 2013).

O presente estudo avalia a eficácia da HAPNC no reparo ósseo de lesões de furca classe III através de exames de imagem tomográficos e de microscopia óptica e de eletrônica de varredura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As lesões de furca, por muitos anos, foram consideradas razão para indicação de exodontia, pois acreditava-se que não era possível tratá-las apesar da evolução no diagnóstico e nas técnicas terapêuticas. O tratamento dos defeitos de furca ainda representa uma tarefa complexa que, muitas vezes, compromete o sucesso da terapia periodontal pois também apresentam maior dificuldade de manutenção, com resultados muitas vezes imprevisíveis, levando a perda do dente e de estrutura do tecido ósseo circunjacente, com um alto percentual de insucesso e de recidiva da doença (DELIBERADOR; et al., 2008). Atualmente, com o desenvolvimento dos biomateriais é possível solucionar cirurgicamente alguns defeitos ósseos causados por periodontites e desta maneira evitar a perda dentária ou até mesmo a perda do implante dentário. Um grupo de substâncias tem sido estudado com objetivo de aumentar o crescimento ósseo em lesões e periodontais avançadas. Há duas décadas, muitos pesquisadores tem estudado estes materiais que compreendem osso autógeno (SMITH,1995), hidroxiapatita sintética e natural, osso desidratado descalcificados e não descalcificados (FERRO,2009).

2.1 LESÃO DE FURCA

Vários fatores locais, como as características da região de furca, influenciam negativamente nos resultados do tratamento. Entre essas características está a complexa anatomia e morfologia das raízes e a presença de projeções de esmalte e concavidades radiculares que dificultam o acesso para a higiene bucal e para o procedimento, tornando-o difícil e com resultados muitas vezes imprevisíveis (DELIBERADOR et al, 2008).

A presença de lesões de furca está associada à reabsorção óssea e perda de inserção no espaço inter-radicular, sendo uma condição que eleva consideravelmente o risco de perda dentária, principalmente na ausência de tratamento adequado. No entanto, o tratamento e manutenção, em longo prazo, de molares com lesões de furca

classe III, é ainda um desafio durante a terapia periodontal, já que a anatomia da região inter-radicular dificulta tanto o acesso pelo profissional quanto pelos pacientes para adequado e eficiente controle do biofilme dental.

Os defeitos, ou lesões de furca representam um dos maiores desafios no tratamento da doença periodontal, principalmente em virtude da complexa e irregular anatomia da região de furca (CATTABRIGA et al, 2000).

Furca, como dito anteriormente é a região do complexo periodontal, assim denominado por histologistas (OSBORN e CATE, 1983) como sendo o aparelho de sustentação do dente, que se localiza entre os cones radiculares. As lesões desta área são classificadas de acordo com o grau de perda de estrutura óssea tanto horizontal como vertical.

Glickman(1958), foi o primeiro a classificar as lesões de furca de acordo com a quantidade de perda óssea:

GRAU I: pequena perda óssea, osso interradicular intacto;

GRAU II: perda óssea interradicular é visível radiograficamente;

GRAU III: completa perda de osso interradicular e radiograficamente nota-se área radiolúcida triangular, furca não é visível clinicamente;

GRAU IV: similar ao grau III, porém com recessão gengival tornando a furca visível clinicamente.

Contudo a classificação mais clássica é a abaixo descrita: lesão de furca no sentido horizontal que é a de Hamp, Nyman e Lindhe (1975):

CLASSE I: Perda Horizontal do tecido periodontal de suporte não excedendo 1/3 da largura do dente;

CLASSE II: Perda horizontal do tecido de suporte excedendo 1/3 da largura do dente;

CLASSE III: Destruição horizontal de lado a lado dos tecidos periodontais na área da furca.

Estudos longitudinais esclarecem que molares com lesões de furca, principalmente os com envolvimento grau III, geralmente têm prognóstico duvidoso, e tratamento dificultado pela grande quantidade de perda de tecido ósseo entre as raízes (DRULLA, 2005).

Lindhe em 1997 sugeria que a opção de tratamento escolhida para o tratamento de um dente com lesão de furca depende da profundidade da lesão de acordo com a classificação descrita. Esta profundidade sendo medida através da

sondagem das áreas de furca e confirmadas com radiografias periapicais ou “bite wing”, obtidas através da técnica do paralelismo. E que o tratamento não deve iniciar até que um diagnóstico diferencial seja feito de forma correta, sob pena de aumentar o comprometimento periodontal.

Os tratamentos sugeridos para lesões na região de furca são bastante diversificados, mas todos eles dependem da quantidade de lesão envolvida e podem ser divididos em três tipos: conservador, ressectivo e regenerativo (CATTABRIGA et al, 2000).

Os tratamentos conservadores podem ser cirúrgicos, incluindo cirurgias a retalho para debridamento da área de furca e os não cirúrgicos, como a raspagem e o alisamento radicular. Neste tipo de tratamento, as lesões de furca classe I são as que apresentam melhor prognóstico, por causa da presença de bolsas rasas e pouca perda óssea, podendo ser tratadas com sucesso por meio da abordagem não cirúrgica. A impossibilidade de se obter apropriada descontaminação da área envolvida, durante o procedimento de raspagem radicular, inclusive por meio de acesso cirúrgico, exige conhecimento adequado para determinação da abordagem terapêutica correta no tratamento de dentes com avançada perda óssea inter-radicular. (CATTABRIGA et al, 2000).

Para as lesões de furca classes II e III a primeira opção de tratamento tem sido a raspagem e alisamento radicular, mas os resultados desses procedimentos não são satisfatórios como os obtidos para dentes unirradiculares ou molares sem envolvimento de furca. A abordagem cirúrgica é a mais indicada para os defeitos de classes II e III quando os resultados dos procedimentos não cirúrgicos são insatisfatórios. No tratamento conservador não cirúrgico, dentes com envolvimento de furca respondem menos favoravelmente ao debridamento radicular e ao controle da placa bacteriana.

Kaldahl et al(1990), divulgaram que as furcas de molares sempre têm uma resposta menos favorável à terapia cirúrgica que outros sítios, em relação às medidas dos níveis de inserção clínica, independentemente da profundidade de sondagem inicial.

Rams et al(1999), constataram que a recorrência da periodontite foi significativamente maior nas áreas de furca e nas áreas sem furca do que em sítios de dentes unirradiculares. O risco de recorrência foi 4,3 e 3,9 vezes maior nas áreas

de furca e sem furca, respectivamente, do que em sítios de unirradiculares. (DELIBERADOR et al, 2008)

Atualmente, com o desenvolvimento dos biomateriais é possível solucionar cirurgicamente alguns defeitos ósseos causados por periodontites e desta maneira evitar a perda dentária ou até mesmo a perda do implante dentário.

Um grupo de substâncias tem sido estudado com objetivo de aumentar o crescimento ósseo em lesões e periodontais avançadas. Há duas décadas, muitos pesquisadores tem estudado estes materiais que compreendem osso autógeno (SMITH, 1995), hidroxiapatita sintética e natural, osso desidratado descalcificados e não descalcificados (FERRO,2009).

2.2 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo especializado, constituído por células e material extracelular mineralizado (a matriz óssea) cujos componentes principais são fibras de colágeno e cristais de hidroxiapatita (LÜLLMANN,2006).

Suas células são:

- a) os osteoblastos que sintetizam a parte orgânica da matriz (colágeno tipo 1, proteoglicanos e glicoproteínas) e localizam-se na superfície das trabéculas ósseas;
- b) os osteócitos, oriundos dos osteoblastos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz óssea, e por isso responsáveis pela manutenção desta; e
- c) os osteoclastos, células gigantes, móveis e multinucleadas que absorvem o tecido ósseo e participam do processo de remodelação óssea (JUNQUEIRA, 2013).

Os elementos principais da matriz são as fibras de colágeno responsáveis pela resistência do osso com predominância de colágeno tipo 1; e os cristais de hidroxiapatita que representam de 65-70% do osso natural (SOBCZAK-KUPIEC et al,2012).

O tecido ósseo apresenta como uma de suas principais características a remodelação óssea, que é um fenômeno que nos acompanha ao longo da vida, sendo

fundamental para renovação do esqueleto e preservação de sua qualidade. Para que esse fenômeno ocorra são fundamentais dos processos: a reabsorção e a renovação. A reabsorção é seguida pela formação óssea (renovação) em ciclos constantes orquestrados pelas células do próprio tecido ósseo, que neste caso, recebem o nome de células sintetizadoras, pois estão preparadas para síntese e secreção (CATE et al,2013).

Em situações fisiológicas a reabsorção e a formação são fenômenos acoplados e dependentes, onde o predomínio de um sobre o outro pode resultar em ganho ou perda de massa óssea (HERCULIAN et al, 2000).

A regeneração óssea é um dos processos de reparo mais importantes do corpo, porque o osso é um tecido extremamente dinâmico e tem a capacidade de sofrer regeneração quando lesionado. No entanto esta capacidade regenerativa é limitada pelo tamanho da lesão. Defeitos ósseos extensos, provocados por traumas, extirpação de tumores e outras patologias como anomalias de desenvolvimento não se regeneram espontaneamente (FERNANDES, 2011).

A osteogênese, macroscopicamente falando, é a formação do osso pela transferência ou recolocação de osteoblastos viáveis que atuam sintetizando o osso em novos sítios. Os osteócitos, por exemplo, são osteoblastos que migraram para a matriz óssea, mantendo a viabilidade do tecido (TURRER e FERREIRA,2008).

2.3 HIDROXIAPATITA (HAP)

Biomateriais são materiais de origem biológica ou sintética que em contato com sistemas biológicos e tecidos vivos auxiliam no reparo de perdas teciduais e de funções comprometidas por processos degenerativos ou traumatismos. São utilizados para confecção de implantes, aparelhos ou sistemas (TURRER,2008).

Nas últimas décadas, entre esses biomateriais, ocorreu o desenvolvimento de estruturas cerâmicas à base de fosfato de cálcio denominadas apatitas. Dentre as apatitas, encontramos as hidroxiapatitas de cálcio (HAP), principal fosfato de cálcio constituinte dos tecidos ósseos e dentários que vêm sendo alvo de investigações, tendo em vista sua potencialidade para aplicações como material para implantes,

sistemas para liberação de drogas, fontes radioativas para braquiterapia e engenharia de tecidos (GOUVEIA, 2008)

O fosfato de cálcio quando cristalizado na forma de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] é uma cerâmica bioativa e biocompatível, principalmente porque a razão Ca/P1,67 deste material é similar quimicamente ao tecido ósseo natural e aos dos dentes (NASCIMENTO, 2009). Essas hidroxiapatitas sintéticas apresentam biocompatibilidade devido às suas características físico-químicas e microestruturais além das propriedades mecânicas similares aos dos tecidos duros (CATE, 2010; SOBCZAK-KUPIEC et al,2012).

A hidroxiapatita é o componente majoritário (cerca de 95%) da fase mineral dos ossos e dentes humanos, sendo assim, este material é capaz de promover uma rápida formação do osso e uma forte fixação do tecido ósseo. Entretanto, essa biocerâmica apresenta baixas propriedades mecânicas em comparação ao osso natural (NASCIMENTO, 2009).

As cerâmicas (incluem os vidros e vitrocerâmicas) englobam uma gama enorme de composições não-metálicas/inorgânicas apresentando algumas características peculiares relacionadas a sua estrutura e propriedades que permitem a sua utilização para substituição de tecidos mais rígidos, como osso e conjuntivo fibroso. Além disso possuem a propriedade de não se deformar sob ação de uma força.

Por ser o principal componente mineral de ossos e dentes, a Hidroxiapatita (HAP), vem sendo largamente aplicada como um biomaterial cerâmico, na forma de pó, corpos densos ou porosos. Sua estrutura permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com facilidade as quais podem alterar a cristalinidade, morfologia, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais e a estabilidade do tecido a ser formado (PEREIRA et al, 2013).

Desta forma, por ser considerada como um biomaterial, e possuir íons comumente encontrados no meio fisiológico (cálcio, potássio, magnésio, sódio), a HAP apresenta propriedades físicas e biológicas compatíveis, com os tecidos vivos hospedeiros, de modo a estimular uma resposta adequada dos mesmos (GOUVEIA, 2008).

Dependendo do processo de fabricação, as propriedades da hidroxiapatita apresentam características diferentes. Quando sintetizadas em altas temperaturas apresentam boa cristalinidade e cristais grandes. Quando sintetizadas em baixas

temperaturas apresentam baixa cristalinidade e cristais pequenos. Atualmente os métodos de precipitação por via úmida são preferidos, devido ao produto produzido apresentar características mais similares às do tecido ósseo e dentário (RIGO E CARBONARI, 2007).

2.3.1 Aplicações biomédicas da hap

Este biomaterial atualmente é muito utilizado no intuito de aumentar a biofixação de implantes de titânio por que aumenta a interação implante/tecido. Isso ocorre por que a superfície do implante recoberta por HAP facilita a adesão das células epiteliais da gengiva, quando comparadas ao titânio (KARSTEN, 1990). Estas ligações de natureza química entre a HAP e o tecido ósseo permitem a proliferação de fibroblastos, de osteoblastos e de outras células ósseas, que não distinguem a HAP da superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial (GOUVEIA, 2008).

2.3.2 Composição química e estrutura cristalina

O desempenho biológico de materiais sintéticos para uso biomédico depende de parâmetros fundamentais como composição química, morfologia e biodegradabilidade. A análise destas propriedades pode ser feita mediante diversas técnicas de caracterização (CARBONARI, 2007).

A estrutura interna de um material possui níveis de organização que vão desde os átomos, ligados em seus arranjos espaciais em escala nanométrica, até o nível da macroestrutura em escala milimétrica. O arranjo espacial dos átomos e as ligações entre eles determinam o tipo de material formado: metais, cerâmicas e polímeros. Esta estrutura, que pode ser ordenada formando uma estrutura cristalina, ou desordenada configurando estrutura amorfa não-cristalina, determina o comportamento de cada material, afetando diretamente suas propriedades mecânicas. Por meio de técnicas de análise, como a espectroscopia de infravermelho e a microscopia óptica ou

eletrônica, é possível identificar fases distintas relacionadas à microestrutura dos materiais (TURRER E FERREIRA, 2012).

A estrutura de hidroxiapatita de fosfato de cálcio não estequiométrica é mais compatível com a fase mineral do osso. Ela difere da hidroxiapatita estequiométrica de fórmula geral $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ que apresenta proporção molar de $\text{Ca} / \text{P} = 1,67$. As apatitas biológicas, constituintes do osso, esmalte, dentina e tecidos calcificados patologicamente, são não estequiométricas ($\text{Ca} / \text{P} < 1,67$), a menos que íons de carbonato sejam incorporados ($\text{Ca} / \text{P} > 1,67$). A diferença entre hidroxiapatita estequiométrica e a fase mineral do osso encontra-se também na impureza do conteúdo que está associado principalmente com a substituição de íons de cálcio para os locais de hidroxiapatita no osso (SOBCZAK-KUPIEC et al, 2012).

Um estudo comparativo, realizado por Sobczak-Kupiec et al (2012), de quatro tipos diferentes de hidroxiapatita revelou que as propriedades físico-químicas e a morfologia depende do método de origem / preparação. A hidroxiapatita sintética elaborada por via úmida apresentam baixa cristalinidade, alta porosidade e também propensão para aglomeração. O tamanho da partícula e a morfologia também são influenciados pela temperatura. Temperaturas mais altas permitem a obtenção de pós mais cristalinos.

Ja a hidroxiapatita utilizada em nossos experimentos, desenvolvida pela Professora Doutora Mirta Mir, do Icx da Unifal-MG, apresenta estrutura nanométrica e a capacidade de formar conglomerados de tamanhos semelhantes aos da estrutura tecidual óssea. Isso a torna mais compatível com a estrutura do cristal de hidroxiapatita presente no trabeculado ósseo do osso maxilar.

2.4 CARBOAPATITA NANOMETRICA (HAPNC)

Materiais com estruturas de dimensões nanométricas, os chamados materiais nanoestruturados, vem se destacando, nos últimos anos, como tema em muitas pesquisas nas diversas áreas da ciência e tecnologia. De tal forma que, o interesse, a criação, a exploração, o desenvolvimento, o aproveitamento e o desejo de compreender e controlar o mecanismo que rege a organização e as propriedades dos

nanomateriais culminou no surgimento da nanociência e nanotecnologia (CARRENO et al, 2002).

A hidroxiapatita (HAP) tem sido amplamente utilizada como um importante substituto ósseo. Quando em dimensão nanométrica, assemelha-se em tamanho e morfologia à apatita biológica, podendo ser considerada um biomaterial promissor para aplicação clínica (VALIENSE et al, 2014).

Essa maior similaridade entre a HAPNC e a matriz orgânica do tecido ósseo se deve aos 6% de carbonato adicionados a ela com um tamanho médio aparente dos cristalitos de aproximadamente 5,5nm. Isso, como foi observado em estudos do grupo, promove um aceleração no processo de reparo ósseo (PEREIRA et al 2013).

A hidroxiapatita utilizada em nosso estudo foi denominada carboapatita nanométrica quando no processo de patente devido a este ser mais compatível com a descrição do referido material.

3 PROPOSIÇÃO

Constituiu-se a proposição do presente trabalho avaliar a ação da hidroxiapatita, elaborada nesta instituição, agora denominada carboapatita nanométrica, no reparo ósseo de lesões de furca classe III em molares inferiores de ratos wistar.

4 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo a avaliação da ação da carboapatita nanométrica (HAPNC) como reparador ósseo em lesão de furca grau III de molares inferiores de mandíbula de ratos albinos wistar.

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação da carboapatita nanométrica no reparo do tecido ósseo perdido por doença periodontal, especificamente em lesões de furca classe III em molares inferiores de mandíbula de ratos albinos wistar

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Criar modelo cirúrgico para a realização de feridas periodontais, lesão de furca classe III padronizadas;
- b) elaborar uma padronização para a tomada de imagens dos exames de tomografia computadorizada multislice e radiografia periapical da ferida cirúrgica;
- c) avaliar as características histológicas do tecido ósseo neo formado.

5 MATERIAL E MÉTODO

Para este estudo elaboramos um protocolo cirúrgico específico para realização a ferida cirúrgica, de modo que todas a feridas se mantivessem padronizadas, o que dificilmente conseguiríamos com a realização de indução de doença periodontal. Bem como uma padronização específica para este tipo de tomada de imagens, como posicionamento do animal e da amostra, o que nos demandou tempo de pesquisa e dificuldade na realização de tais critérios.

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Um modelo animal experimental apropriado torna-se necessário para o teste e validação de novas terapias regenerativas. Os estudos prévios em animais e os ensaios clínicos são efetivamente complementares em experiências in vitro, pois a colheita para biópsias para histologia, é geralmente aceita, visto que não são aceitos em humanos. (MADDEN e SELVIG, 1994).

Um animal bastante empregado no desenvolvimento de estudos experimentais com doença periodontal induzida é o rato. Este modelo é amplamente empregado em pesquisa e pode facilitar o entendimento do início e a progressão da doença periodontal (KIMURA et al, 2000).

Além disso, de acordo com Bentezen et al 2005, a anatomia da região dos molares de ratos é muito semelhante a do homem.

5.2 MODELO EXPERIMENTAL

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa em animais da Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-MG e aprovado sob o número: 619/2015, conforme anexo 1.

Foram utilizados 30 animais ratos (*Rattus norvegicus*, albinos, Wistar), machos, com peso entre 300 e 500 gramas, obtidos do Biotério Central da UNIFAL-MG. Os animais foram mantidos em gaiolas devidamente identificadas, em ambiente com temperatura variando entre 22 e 24°C, com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 h escuro) e consumo de ração sólida e água *ad libitum*, durante todo o período experimental.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos:

Grupo CONTROLE (C): 15 animais em que foram criados os defeitos e não tratados com HAPNC e com as lesões seladas com cola Alpha – cyanocrylate (Three Bond do Brasil, Diadema, SP, Brasil) (NETO et al, 2008).

Grupo TRATADO (T): 15 animais onde foram criados os defeitos de furca classe III entre as raízes do primeiro molar inferior da mandíbula esquerda e tratados com HAPNC e cola Alpha – cyanocrylate.

Cada grupo por sua vez foi novamente dividido em 3 subgrupos, de acordo com o tempo experimental de 1 dia, 60 e 90 dias, após as cirurgias, e submetidos à eutanásia em número de cinco animais por vez.

Cada animal foi submetido uma única vez ao procedimento de colocação do material, tempo de duração 15 minutos, sob sedação total e anestésia geral, e por este motivo não foi administrado nenhum analgésico no período pós cirúrgico. Também não foi observado alteração de comportamento dos animais após a cirurgia, nenhum animal se recusou a comer (comportamento que nos indicaria dor).

5.3 PROCEDIMENTO OPERATÓRIO

Os animais foram anestesiados via injeção intramuscular na parte interna da coxa, com solução anestésica composta de Xilazina (Xilazin®, Rhobifarma Indústria Farmacêutica Ltda, São Paulo, Brasil) como relaxante muscular e Ketamina (Cetamin®, Rhobifarma Indústria Farmacêutica Ltda, São Paulo, Brasil) como anestésico geral, na proporção de 1/0,5 ml utilizando 0,1 ml para cada 100gr de peso do animal (RICARDO, 2002).

Os ratos foram contidos em uma mesa operatória, permitindo sua imobilização após anestesia geral e manutenção da boca aberta.

A assepsia da cavidade oral foi realizada pela embrocção com penso de algodão umedecido em digluconato de clorexedina 0,12% (Periogard/Colgate Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Paulo, Brasil).

O debridamento e descolamento da gengiva foi realizado em torno do primeiro molar inferior esquerdo com descolador gengival número 7 (SS White, Objetos dentários Ltda., Juiz de Fora, MG, Brasil).

O defeito ósseo entre as raízes do dente foi realizado com broca esférica cirúrgica para alta rotação Diamond 1012 HL, SORENSENKG (FG KG SORENSEN Indústria e Comércio Ltda. Barueri, SP, Brasil) introduzida em um ângulo de 90° com relação a coroa do primeiro molar. Isso removeu o osso no local induzindo a lesão de furca. O tamanho da lesão correspondeu a parte ativa da ponta da broca, realizada com irrigação e aspiração com soro fisiológico para evitar o aquecimento local ao mesmo tempo que removia fragmentos ósseos.

Após a limpeza da área com soro fisiológico embebido em algodão estéril foi colocada a HAPNC na lesão, na forma de pó, com auxílio de espátula de inserção nº1 (SS WHITE, Objetos Dentários LTDA) estéril.

No presente trabalho foi utilizado a Carboapatita Nanométrica (HAPNC), que é um biomaterial sintetizado nos laboratórios da UNIFAL-MG que foi registrado no INPI em 21/05/2015 obtendo o depósito de patente BR/02015 0117329. Em 02 de junho de 2016 foi registrado o pedido de depósito de patente internacional PCT/BR2016/050112. A HAPNC utilizada em nossos experimentos, foi produzida pela adição controlada de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ a uma solução aquosa de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, sob condições de temperatura e pH e tempo de maturação rigorosamente controlados. Após a adição, a suspensão ficou em agitação por duas horas. O precipitado foi separado por filtração e lavado com água ultrapura. Precipitada em baixa temperatura até a obtenção de amostras com baixa cristalinidade e seca em estufa por 24 h em temperatura de 70°C até manter peso constante. O produto final foi moído e utilizado na forma de pó (ZHOU,2011).

Foi utilizada cola Alpha – cyanocrylate colocada sobre o material (HAPNC) e reposicionada a gengiva com auxílio de pinças clínicas também estéreis. Após a realização deste procedimento o animal foi removido da mesa cirúrgica e acondicionado em gaiola individual. (FIGURA 1)



FIGURA 1- Procedimento operatório e posicionamento do animal na mesa operatória.

Fonte: Da autora

5.4 EUTANÁSIA

Após 1, 60 e 90 dias do experimento cirúrgico os animais foram mais uma vez pesados e anestesiados. Em seguida os animais foram submetidos a eutanásia por excesso de anestésicos. A fixação dos tecidos foi obtida por perfusão cardíaca com paraformoldeido 4% em tampão fosfato PH 7,4 0,1M. As mandíbulas foram dissecadas e processadas para análise histológica.

5.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Foram realizados exames clínicos periódicos (15/15 dias) nos animais em tratamento, alternando a semana e o número do animal, para que estes não fossem submetidos a grande estresse, visto que para a realização deste exame é necessário anestesia geral e imobilização do animal (FIGURA 2). Os animais foram pesados e medidos após a anestesia. Para o exame clínico bucal foi utilizado a régua periodontal milimetrada (SS White, Objetos dentários Ltda, Juiz de Fora, MG, Brasil), para

mensuração da profundidade das bolsas periodontais, níveis clínicos de inserção e retrações gengivais. Foram também avaliados o grau de mobilidade, presença de feridas bucais, doenças periodontais ou lesão cariosa.



FIGURA 2 –Exame clínico

Fonte: Da autora

5.6 PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO

Para avaliar as características do tecido ósseo neo formado, as mandíbulas foram coletadas, dissecadas e fixadas em paraformaldeído 4% em tampão fosfato PH 7,4 0,1M por 12 horas a 4°C em frascos individuais e identificados. Após a fixação o material foi analisado radiograficamente e posteriormente a este procedimento foi aparado, reduzindo o tamanho da amostra. O material foi então descalcificado, até ser considerado próprio para microtomia, pelo teste de penetração da agulha. Em seguida, processado em parafina. Os cortes foram realizados em microtomo Leica com 6 micrômetros de espessura e corados com azul de toluidina e fucsina básica.

As imagens dos cortes histológicos foram capturadas por câmera digital acoplada ao microscópio óptico Carl Zeiss (Carl Zeiss do Brasil Ltda) sendo utilizado o programa de captura de imagens Axiolab. Durante a digitalização das imagens o examinador padronizou a intensidade da luz do microscópio óptico e a altura do condensador em uma manobra denominada Iluminação de Kohler.

5.7 MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA (MEV)

As mandíbulas foram coletadas de animais tratados e de animais controle com 1, 60 e 90 dias após a cirurgia. Após a coleta, o material foi fixado por 48 horas e posteriormente todos os tecidos moles foram removidos. As mandíbulas foram então colocadas para secagem em estufa com temperatura variando entre 40° e 60 °C. Após 20 dias de secagem o material foi processado para análise em MEV, passando apenas pela cobertura com ouro, já que se trata de material seco. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Unifesp/EPM.

5.8 EXAME RADIOGRÁFICO

Após a submissão a eutanásia e no intuito de analisar a possível regeneração óssea, mandíbulas dissecadas e fixadas nos animais controle e tratado nos tempos de 1, 60, 90 dias foram submetidas a exame radiográficos com filme periapical; tamanho 30,5 x 40,5mm; marca Carestream Dental, fabricado no E.U.A. e importado por Carestream do Brasil Com. E Serv.de prod. Médicos Ltda, São José dos Campos,

SP. O aparelho de raio x utilizado foi o DABI ATLANTE SPECTRO 70 X, operando em 70Kvp e 10mA, com tempo de exposição de 0,5 segundos e distancia da fonte de radiação - receptor de 50 cm, angulação vertical de 90° e horizontal 0 (Sito a clínica de radiologia da Unifal-MG).

5.9 EXAME TOMOGRÁFICO

Os animais de ambos os grupos, nos períodos pós-cirúrgicos de 1, 30, 45, 60, 90 e 120 dias foram anestesiados por via intramuscular e submetidos à tomografia computadorizada(TC) GE multislice 16 canais. Foram realizadas aquisições de cortes de 0.6 mm e reformatações tridimensionais axial, sagital e coronal e em 3D volume render (VR). As imagens foram submetidas a análise para verificação do tamanho da lesão antes da colocação do medicamento e após a colocação do material no tempo de 30, 45, 60, 90 e 120 após a cirurgia por um observador cego para o procedimento mas especialista em exames de imagem e interpretadas no programa DICOM para obtenção dos valores de densidade óptica nas áreas cirúrgicas e mensuração de volume ósseo formado nas mesmas. O equipamento de TC em que foram realizados os exames é da marca GE, modelo: Mult Slice Bright Speed, ID: CT288306HM4. Fabricado por GE Healthcare do Brasil Comércio E Serviços para Equipamentos Medhosp. LTDA, sito ao Centro de Diagnóstico por Imagem, Alfenas, Minas Gerais.



FIGURA 3 - Exame tomográfico Fonte: Da Autora

6 RESULTADOS

As imagens radiográficas dos animais controle com 30 dias não apresentam matriz óssea preenchendo a área da lesão. Já as imagens radiográficas após 30,60 e 90 dias das cirurgias, nos animais tratados com HAPNC, evidenciam formação de tecido ósseo na região da furca. (Figuras 4 e 5)



FIGURA 4 - Imagem radiográfica de Lesão de Furca classe III animal controle com 30 dias.

Fonte: Da Autora



FIGURA 5 - imagens radiográficas após 30, 60 e 90 dias das cirurgias, nos animais tratados com HAPNC

Fonte: Da Autora

A imagem tomográfica do animal controle após 60 dias de cirurgia, evidencia a não formação de tecido ósseo, pois nos mostra a cavidade cirúrgica com medida de tamanho e profundidade iguais a de um dia (figura 6). As imagens tomográficas das mandíbulas dos animais tratados mostram que houve formação de tecido ósseo no local das lesões tratadas com HAPNC após 60 e 90 dias, com diminuição da área e da profundidade da lesão. (FIGURAS 6 e 7)



FIGURA 6 – Animal(c) controle. Lesão medida após 60 dias da cirurgia. Comprimento 2mm

Fonte: Da Autora

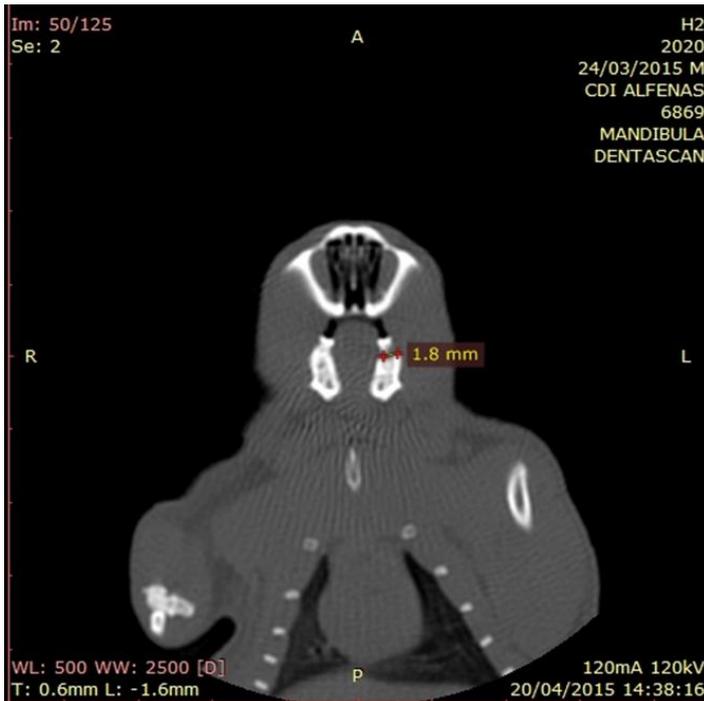


FIGURA 7 - Animal tratado após 60 dias da cirurgia. Lesão com 1,8 mm. Fonte: Da Autora

Observamos que em dois animais controle houve perda do primeiro molar inferior provavelmente devido à lesão provocada na raiz desse elemento dental. Imagens radiográficas e tomográficas indicam que a perda do dente foi acompanhada de intensa perda óssea na região da lesão e na área apical. A ausência do dente foi observada dois dos animais controle 90 dias após a cirurgia.

Observamos uma lesão cariosa em um animal do grupo controle 90 dias (figura 8).

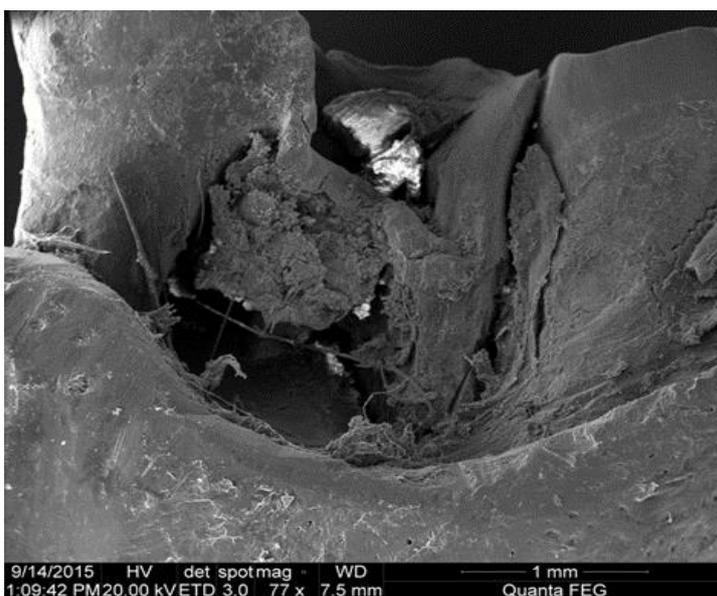


FIGURA 8 MEV. Animal controle com lesão cariosa na coroa e lesão de furca. 90 dias Fonte: Da Autora

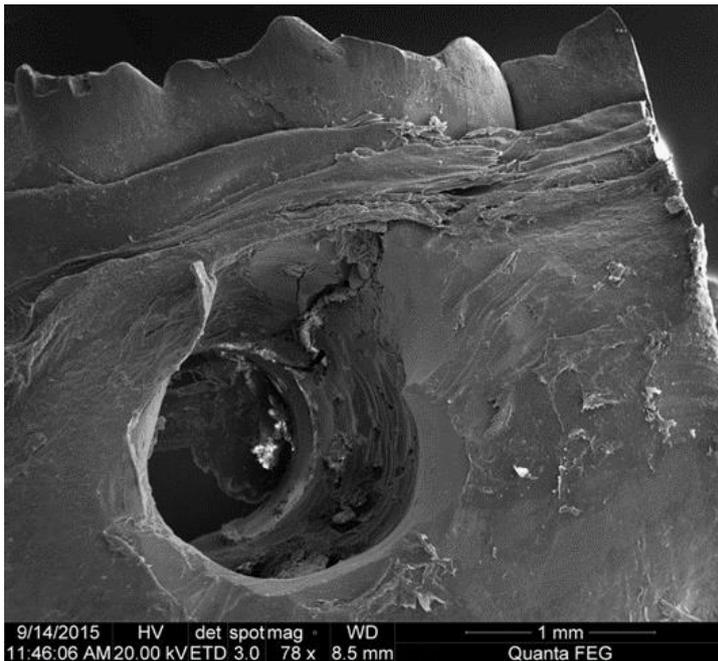


FIGURA 9 MEV. Lesão de furca em animal controle. 1 dia. Fonte: Da Autora

Também constatamos nos animais do grupo controle, sete dias após o procedimento cirúrgico, mobilidade dental de grau I. Quinze dias após o procedimento cirúrgico a mobilidade era de grau II.

Não foram constatadas lesões em palato, língua e ou dificuldade de alimentação em nenhum dos animais.

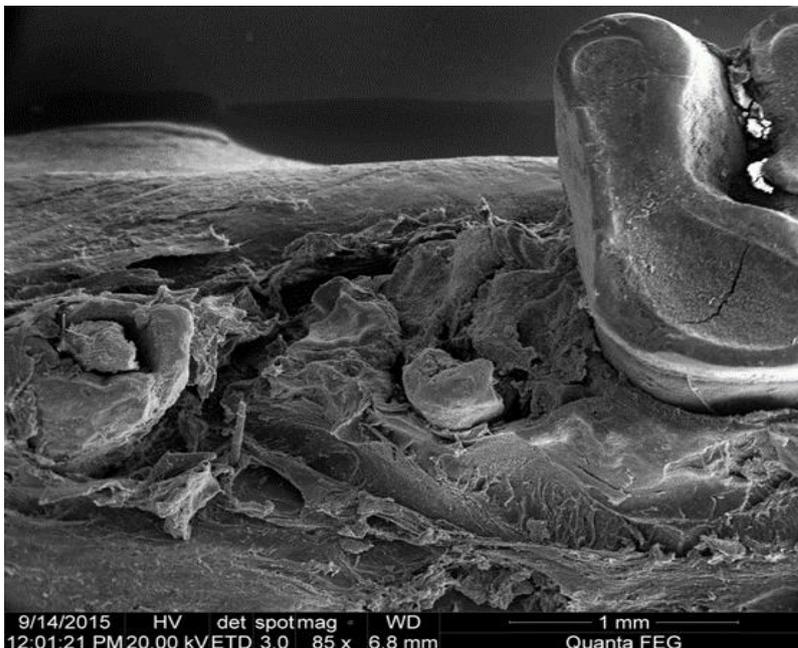


FIGURA 10 - MEV. Animal controle 90 dias com perda do elemento dental. Fonte: Da Autora

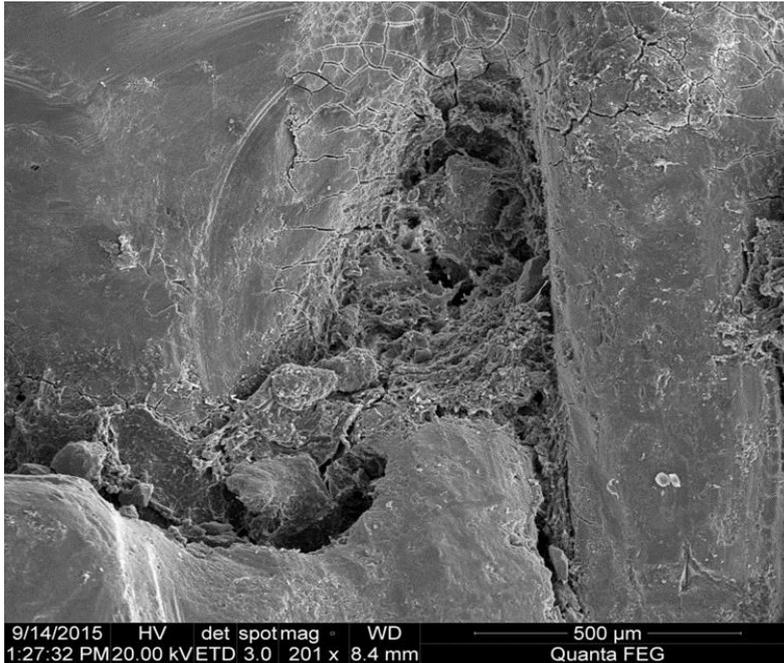


FIGURA 11 MEV. Tecido ósseo neo formado na região de furca de animal tratado 90 dias após cirurgia. Fonte: Da Autora

Durante a análise histo morfométrica os resultados apontaram semelhanças entre os animais dos mesmos grupos. Diferenças foram observadas entre os animais dos grupos tratados e controle. No grupo tratado(T) observou-se crescimento do volume ósseo (Figuras 12, 13, 14 e 15) enquanto que no grupo controle(C) não foram observadas alterações, visto que o defeito de lesão de furca III permaneceu.

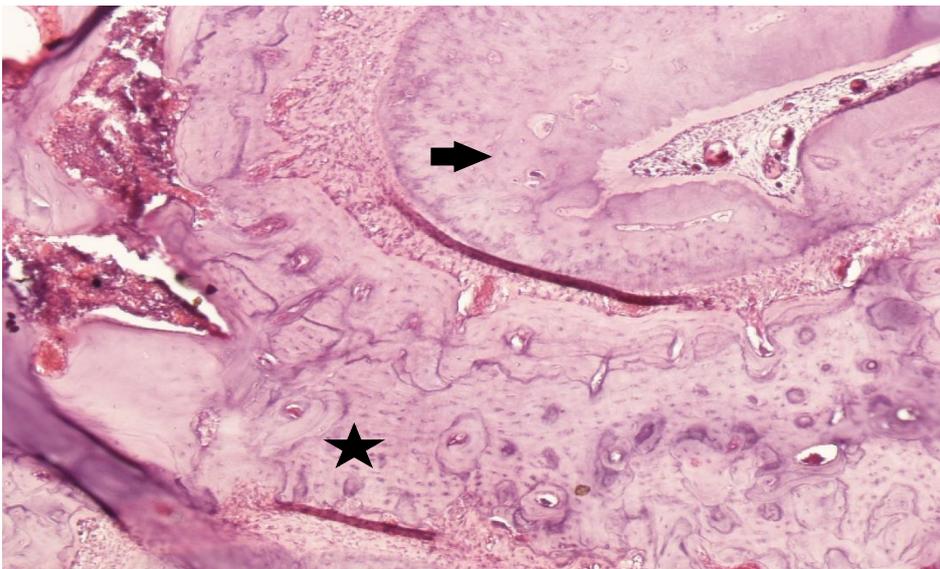


Figura 12: corte transversal de raiz (➡) de animal tratado (90 dias). Tecido ósseo neoformado na região de furca (★). Fonte: Da Autora

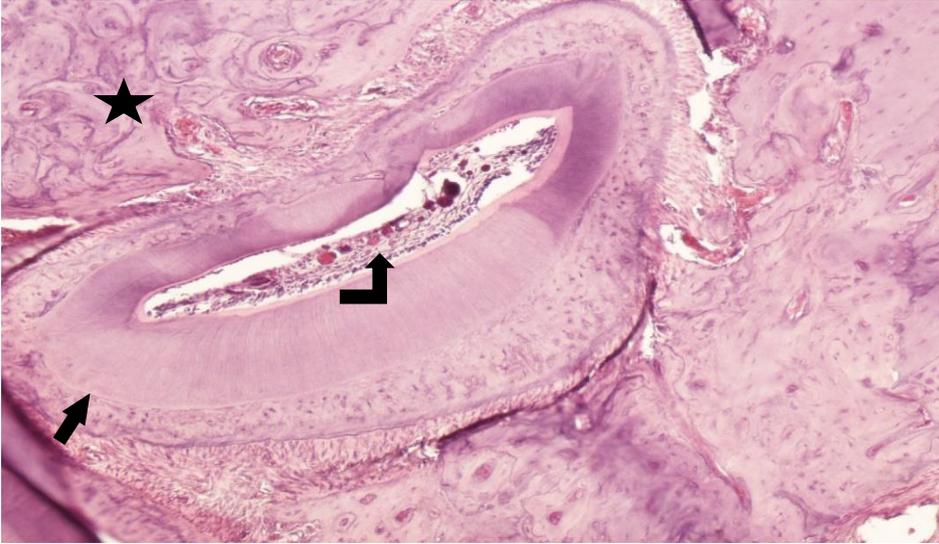


Figura 13: corte transversal de raiz (→) de animal tratado (90 dias) com polpa dentaria(↗).Tecido ósseo neoformado na região de furca (★). Fonte: Da Autora

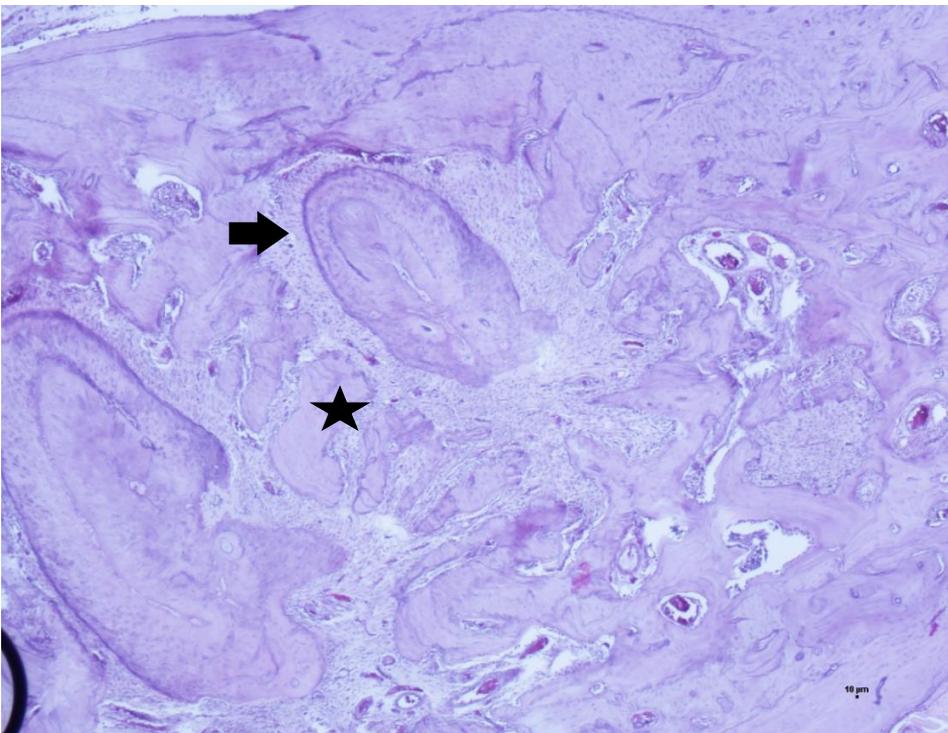


Figura 14 - Corte transversal de raiz (→) dente tratado 90 dias. Tecido ósseo neoformado na furca (★).
Fonte: Da Autora

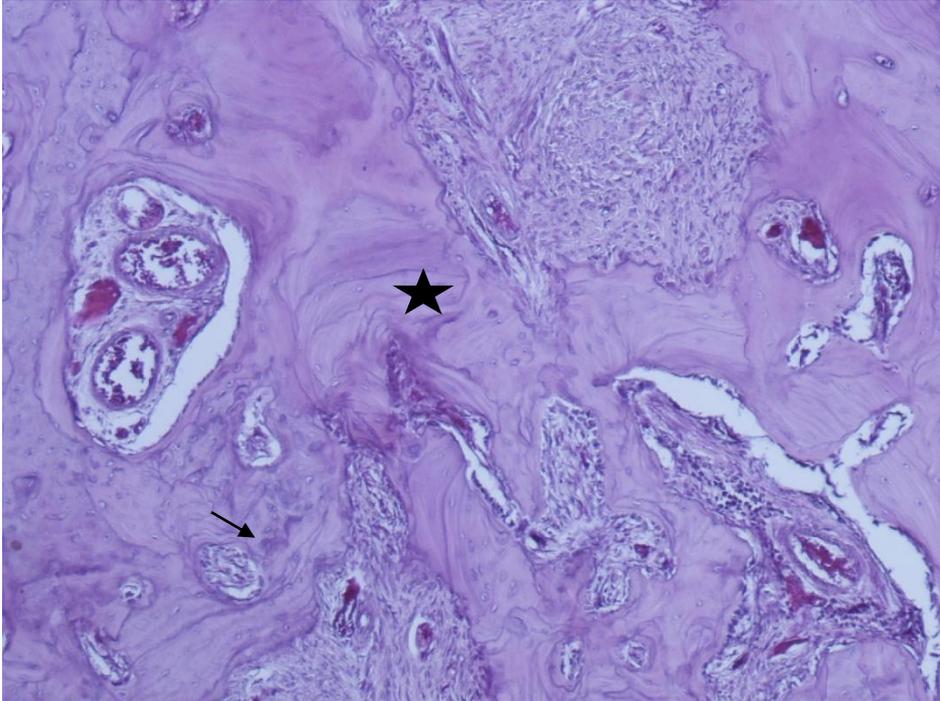


FIGURA 15 - Corte transversal de dente tratado 90 dias. Tecido ósseo neoformado furca (★), osteocitos(→).

Fonte: Da Autora

7 DISCUSSÃO

A utilização de biomateriais data de antes das civilizações antigas. Nas múmias egípcias foram encontrados, olhos, orelhas, dentes e narizes artificiais. Chineses e indianos utilizaram ceras, colas e tecidos na reconstrução de partes perdidas ou defeituosas do corpo. Durante séculos o avanço dos materiais sintéticos, técnicas cirúrgicas e métodos de esterilização tem possibilitado o uso de biomateriais. Hoje em dia, a prática médica utiliza um grande número de dispositivos e implantes (RAMAKRISHNA, 2001).

Os biomateriais são materiais naturais ou sintéticos, que encontram aplicação em um vasto espectro de implantes médicos e dentários e próteses para reparo, aumento ou substituição de tecidos naturais. Esses materiais são utilizados na confecção de implantes, aparelhos ou sistemas que estarão em contato com sistemas biológicos e tecidos vivos com objetivo de reparar perdas teciduais e restaurar funções comprometidas por processos degenerativos ou traumatismos (HENCH, 2006).

As propriedades dos biomateriais dependem não somente da composição química e estrutura de suas fases, mas também do arranjo das mesmas. O arranjo ou microestrutura depende do processamento, matéria prima, relações de equilíbrio, cinética, etc. A microestrutura pode ser descrita por: número e tipo de fases, incluindo porosidade, distribuição de tamanhos, forma e orientação das fases e quantidades relativas de fases (WIESNER, et al., 2007). No estudos dos materiais o tamanho das partículas é um parâmetro importante na explicação de vários fenômenos físicos e químicos, tais como propriedades elétricas, magnéticas e superficiais, entre outras, apresentadas por um determinado material (MARRE, et all, 2006).

Levantando considerações baseadas nas novas substâncias e novas tecnologias medicas atualmente usadas, Williams (2009) redefiniu a palavra biomaterial: "um biomaterial é uma substância que foi projetada para ter uma forma que, por si só ou como parte de um sistema complexo, é usado para dirigir, por controle das interações com os componentes de sistemas vivos, os curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnostico, em humanos ou medicina veterinária" (WILLIAMS, 2009).

Assim, os biomateriais abrangem uma classe ampla de substâncias naturais ou sintéticas, com propriedades mecânicas, físicas e químicas adequadas p a r a recuperação das funções originais dos tecidos, órgãos ou sistemas.

Os materiais são divididos em metais e suas ligas, polímeros, compósitos e os materiais cerâmicos. Os materiais metálicos apresentam alta resistência mecânica a tração, ao impacto, a fadiga e ao desgaste, mas possuem algumas desvantagens exibindo baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, alta densidade e diferença de propriedades mecânicas com relação aos tecidos. São aplicados em eletrodos, fios, placas, parafusos, cravos, grampos, pinos, implantes dentários, etc. Os materiais poliméricos são largamente empregados como biomateriais devido a facilidade de fabricação, baixa densidade e boa biocompatibilidade. No entanto, há restrições no emprego destes, pois apresentam baixa resistência mecânica, degradação dependente do tempo, dificuldade para estabilização (BASU e KALIN, 2011).

Já os compósitos ainda constituem materiais pouco explorados cientificamente, mas sabe-se que exibem boa biocompatibilidade, inercia química, são resistentes a corrosão e a maioria deles possui alta resistência a tração. Os compósitos mais utilizados atualmente são o teflon carbono, carbono carbono e nylon-poliuretano que

são empregados como cartilagens, na substituição de tecidos moles, em odontologia e ortopedia. Exemplos: HA/osso auto gênico, vidro cerâmico de superfície ativada/PMMA, vidro de superfície ativada/fibra metálica, PLA (poli (ácido lático)/ fibra de carbono), PLA/HA, PLA/fibra de vidro a base de fosfato de cálcio (BASU e KALIN, 2011).

Os materiais cerâmicos abrangem uma grande variedade de substâncias naturais e sintéticas tais como vidro, porcelana, isolantes dielétricos, materiais magnéticos, os não metálicos, refratários para altas temperaturas, cimentos, cerâmica branca, esmaltes e muitas outras (BASU e KALIN, 2011).

Apresentam elevado ponto de fusão, propriedades mecânicas tais como dureza, modulo de elasticidade e resistência a compressão que fazem da cerâmica um material em potencial para ser usado em aplicações estruturais e em várias aplicações que exigem alta dureza e resistência ao desgaste (BASU e KALIN, 2011).

A descoberta por cientistas de que a fase mineral dos ossos e dentes consistia de sais de fosfato de cálcio motivou pesquisas sobre o uso desses sais obtidos em laboratório como material útil na consolidação de fraturas ósseas. Entretanto, somente quando foram desenvolvidas as técnicas de conformação de materiais cerâmicos, ao redor de 1960, é que a utilização dos fosfatos de cálcio como biomateriais foi consolidada. A semelhança química com a fase mineral dos ossos e dentes, a excelente biocompatibilidade com o meio fisiológico e as fortes ligações com o tecido ósseo são fatores que tem estimulado a aplicação dos fosfatos de cálcio sintéticos como biomateriais. Essas biocerâmicas não induzem qualquer reação imunológica ou toxica indesejável. Não apresentam riscos de transmissão de patologias infecto contagiosas nem de degradação proteica, em razão de suas características e por apresentarem alta pureza em decorrência de seu processo de obtenção com rígido e sistemático controle de acordo com os padrões exigíveis. Uma estrutura porosa de cerâmica é ideal para o processo de reparo de tecido ósseo pois sua capacidade de penetração é maior, tanto em osso com capacidade para altas cargas como para os de suporte (REDEY, 2000).

O termo biocerâmica é um termo relativamente novo e não era conhecido até os anos 70. Entretanto muitas biocerâmicas não são materiais novos. Em 1972, um dentista brasileiro, Amadeo Bobbio, estudando fragmentos de uma mandíbula Maia com mais de 4000 anos, descoberta em 1931, constatou que alguns dentes tinham sido substituídos por um compósito de matriz cerâmica com 95 a 98% de carbonato e

2 a 5% de matéria orgânica composta por proteínas fibrosas. Em ortopedia o uso de biocerâmica de forma controlada começou no século 19 com a utilização do gipsum para preenchimento ósseo (CHEVALIER e GREMILLARD, 2009).

Os materiais biocerâmicos destacam-se como biomateriais por demonstrarem melhor estabilidade química superficial e biocompatibilidade quando comparados a outros grupos de materiais empregados como implantes (BOCH,2007), apresentando também, dureza e boa resistência mecânica e alguns possuem composição que acelerem a proliferação de ossos (osteocondutores). As aplicações biomédicas principais para as cerâmicas se concentram mais nas áreas de ortopedia, odontologia e cardiologia (CAMPBELL, 2003).

As biocerâmicas são classificadas em subgrupos de acordo com sua reatividade no corpo humano:

- Quase inertes: alumina, carbono vítreo e zircônia (ZrO_2). Interação com o tecido: mecânica;

- Bioativas: hidroxiapatita (HA), vidros bioativos, vitrocerâmica bioativa. Interação com o tecido: ligação interfacial;

- Reabsorvíveis: fosfato tri cálcico (TCP), sulfato de cálcio, fosfato tris sódico. Interação com o tecido: substituição; Interação com o tecido: depende do material.

As biocerâmicas bioinerte e bioativas diferem na maneira de interagir com o tecido: na bioativa a fixação acontece através de uma ligação química com o tecido e na bioinerte, a ligação não se dá diretamente com o osso ocorrendo a formação de uma camada fibrosa (LEGEROS et all, 2006).

As biocerâmicas são utilizadas na forma densa e porosa. A quantidade e distribuição de porosidade nos materiais cerâmicos influenciam fortemente a resistência, modulo de elasticidade, resistência a oxidação, resistência ao desgaste e outras propriedades importantes. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material isoladamente, a existência de poros com dimensões adequadas podem favorecer o crescimento de tecido através deles, fazendo com que ocorra um forte entrelaçamento do tecido com o implante, aumentando, por conseguinte, a resistência do material *in vivo*. Na forma macroporosa, os implantes aceleram o processo de cura, ja que permitem o crescimento progressivo de colágeno e seguinte mineralização de tecido ósseo através dos poros abertos e interconectados (ZAVAGLIA, 2003).

Entre as biocerâmicas merece destaque as hidroxiapatitas devido à similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos, podemos considerá-la como um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações de natureza química com o tecido ósseo, permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não distinguem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial.

A hidroxiapatita é produzida por uma série de reações, complexas e demoradas, de síntese do carbonato de cálcio com o ácido fosfórico. Ao final dessas reações de síntese, se obtém as apatitas na forma de um pó, isto é, constituídas por um aglomerado de partículas em simples justaposição, mantidas juntas por ligações muito fracas (NAGEM, 2006).

Dois tipos de hidroxiapatitas podem ser produzidos: as sintetizadas em altas temperaturas e que apresentam boa cristalinidade e cristais grandes, e as HAs sintetizadas em baixas temperaturas, precipitada por via úmida, que apresentam baixa cristalinidade e cristais pequenos e possuem características similares as do tecido ósseo e dentário, diferente da HA sintetizada a altas temperaturas. A temperatura de sinterização apresenta um efeito bastante evidente sobre porosidade, sendo que, ao aumento da temperatura corresponde a uma redução na porosidade da HA e que as temperaturas menores apresentam maior porcentagem de porosidade (NAGEM, 2006).

Atualmente existe grande interesse no desenvolvimento de materiais nanoestruturados (nanoesferas, nano prismas, nanobastões, etc.) e de novos materiais compósitos com propriedades significativamente diferentes quando comparadas as propriedades dos seus componentes. Este interesse é devido principalmente às mudanças expressivas nas propriedades dos novos produtos, tais como: aumento de solubilidade, de biocompatibilidade, elevada área específica, semelhança mineralógica com as estruturas óssea e dental, propriedades de difusão, grande estabilidade microestrutural em relação ao crescimento de grão, aumento da resistência mecânica em materiais frágeis, diminuição no tamanho de defeitos e otimização de propriedades magnéticas (CARRENO, et al., 2008) e melhores propriedades mecânicas (CUNHA et al., 2006).

Estudos tem sido desenvolvidos sobre obtenção de biomateriais nanoestruturados, principalmente os trabalhos relacionados a síntese de pós biocerâmicos nanoestruturados de fosfato de cálcio. Isto se deve a estas biocerâmicas auxiliarem na regeneração do tecido ósseo e sua biodegradação acelerada no caso de pós nanoestruturados, devido a alta área específica dos pós. Diferentes métodos de síntese vem sendo utilizados na produção desses pós nanoestruturados, sempre procurando obter partículas com tamanho nanométrico, visando uma superfície de área elevada, em razão destas características serem importantes em estudos de regeneração e reconstituição do tecido ósseo (DELIMA et all, 2007).

As biocerâmicas nanoestruturadas de fosfato de cálcio tem merecido lugar de destaque entre as denominadas biocerâmicas, por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica no organismo, ausência de inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Elas foram propostas em 1920 para aplicações biomédicas, uma vez que o fosfato tri cálcico, quando injetado nos defeitos ósseos, demonstrou crescimento ósseo mais rápido do que nos defeitos não tratados (BEN-NISSAN, 2002).

Um estudo comparativo, realizado por Sobczak-Kupiec, et all,(2012) de quatro tipos diferentes de hidroxiapatita revelou que as propriedades físico-químicas e a morfologia dos pós depende do método de origem / preparação . A hidroxiapatita sintética elaborada pelos autores por via úmida e analisada pelos métodos de difração de raio X(DRX) , espectroscopia infravermelha de Fourier (FT -IR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV - EDS) demonstraram características semelhantes a HA de Merck® comercial,baixa cristalinidade ,alta porosidade e também demonstraram propensão diversificada para aglomeração , sendo que a HA de Merck® demonstrou grau de propensão mais alto por que forma grandes aglomerados de tamanhos diferentes.

Estudos sobre a densidade de pós nano particulados tem permitido um melhor conhecimento dos numerosos parâmetros que influenciam na sinterização tais como: agregação do pó, condições superficiais ou contaminação, evolução da porosidade e crescimento de grão. O controle da síntese e processamento de pós nano particulados tem resultado na fabricação de cerâmicas completamente densas, mesmo por sinterização convencional. Embora algumas diferenças distintas na densificação de pós nano particulados e micro particulados pareçam emergir e um melhor conhecimento da nano sinterização ter sido adquirido, o efeito específico das variáveis

de densificação na densidade final e nas propriedades de nano materiais ainda é uma área em plena pesquisa (CANGANI, 2011).

JAIN(2014) comparou a nano hidroxiapatita com o beta fosfato tricálcico em tratamentos de defeitos periodontais infra-ósseos. Os dois biomateriais demonstraram eficácia no tratamento dos defeitos intraósseos, porém após três meses do procedimento o grupo tratado com nano hidroxiapatita apresentou resultados superiores na regeneração do defeito. No entanto, ao final de seis meses, os resultados se equivaleram. Confirmando os achados de Jain(2014) onde os biomateriais nanométricos demonstram superioridade, Pang et all(2015) avaliaram as propriedades biológicas da nano hidroxiapatita em três diferentes métodos: aplicando o biomaterial em defeito crítico de calvária; aplicando o material de enxerto em região ectópica e tratando superfície de implantes para a instalação destes em tibia de coelhos. Pang et all (2015) demonstraram que o uso de nano hidroxiapatita permite obter maior volume ósseo neoformado, maior densidade óssea mineral, formação óssea ectópica e aumento da interface entre o osso e o implante.

Muitos estudos com nano hidroxiapatita vêm demonstrando melhoras nas propriedades biológicas dos biomateriais, substancialmente as respostas teciduais relacionadas aos enxertos ósseos. Buser et al (2016) em uma revisão sistemática, comparando diferentes biomateriais, demonstraram que esses apresentam uma performance similar à do osso autógeno no reparo dos defeitos ósseos, possibilitando a neoformação óssea e diminuindo a morbidade pós operatória.

Dentes multirradiculares quando acometidos por acentuada perda de inserção periodontal envolvendo totalmente a área interradicular (furca classe III) devem ser submetidos a tratamentos ressectivos de tunelização, ressecção radicular, exodontia (Hamp et all,1975) ou a substituição do dente por implantes, visto que tratamentos regenerativos, neste tipo de lesão não são eficientes na manutenção destes dentes a longo prazo (JEPSEN ,2002). Os estudos de Helldén, e Little, demonstraram que os tratamentos regenerativos produzem resultados satisfatórios na manutenção do dente na boca, porem resultam em uma furca aberta e sem recuperação do tecido.

Araujo e Lindhe, em 1996, em estudos de regeneração guiada, obtiveram resultados pouco favoráveis em lesões de furca, mesmo quando associada a substitutos ósseos.

Em nosso estudo obtivemos formação de tecido ósseo 60 dias após a colocação da carboapatita nanométrica na região entre as raízes, bem como a

manutenção do dente na boca, em perfeito estado, sem prejuízo ao indivíduo no período de convalescença. A cirurgia foi um procedimento pouco invasivo e rápido, com recuperação do espaço periodontal e manutenção do dente na boca.

Nossos achados permitem inferir que a HAPCN utilizada nesta pesquisa induziu aumento no volume ósseo neoformado e maior densidade óssea mineral. Ainda de acordo com os achados de Pang (2015), cremos que a HAPCN testada pelo nosso grupo pode apresentar propriedade ósteo indutora já que o crescimento ósseo ocorreu numa patologia (furca III) que se caracteriza pelo não crescimento de tecido ósseo na região lesada. Supomos também que o aumento da superfície de contato entre o osso da região de furca e as raízes resultou em benefícios para a osseointegração. Os exames histológicos e tomográficos de Pang (2015) foram conclusivos em demonstrar a melhora nas propriedades biológicas de biomateriais nanométricos e o nosso estudo concluiu que a carboapatita nanométrica testada apresentou resultados biologicamente significativos para a neoformação óssea.

8 CONCLUSÃO

Os tratamentos ressectivos e regenerativos preconizados para este tipo de lesão demonstram que a perda dentária é de 95% dos casos e não ocorre reparo tecidual ósseo na região de furca. Com a metodologia e o biomaterial (HAPNC) utilizado neste estudo obtivemos recuperação do tecido na região da área de furca em 100% dos animais tratados não obtendo perda de elemento dentário.

A HAPNC demonstrou ser eficaz no processo de recuperação e remodelação de tecido ósseo alveolar nas lesões de furca classe III, particularmente demonstrado nas análises histológicas e de microscopia eletrônica de varredura, visto que o tamanho nanométrico do material utilizado bem como a região de furca do molar de rato Wistar são de pequenas dimensões.

Com isso podemos concluir que a HAPNC atua de forma favorável, oferecendo melhores resultados na manutenção dentária e na reparação deste tipo de lesão periodontal.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLY. Glossary of periodontal terms: 4 ed. Chicago; 2001.

AGNIESZKA SOBCZAK-KUPIECA,A.; MALINA,D., KIJKOWSKA,A., ZBIGNIEW,W. **Comparative study of hydroxyapatite prepared by the Authors with selected commercially available ceramics.** 2 ed. Institute of Inorganic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, Warszawska 24, 31-155 Kraków, Poland .

BUSER,Z., BRODKE, D.S., YOUSSEF, J.A., et al. **Synthetic bone graft versus autograft or allograft for spinal fusion: a systematic review.** Journal of Neurosurg Spine 2016;27:1-8.

CARRANZA,Jr., et al., **Current status of periodontal therapy for furcation involvements.** Dent Clin North Am. 1991; 35(3):555-70.

CAMARGO, N.H.A., SOARES,C.E GEMELLI,E. **Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para aplicações Cirúrgicas Ortopédicas-odontológicas**, 50ºCongresso Brasileiro de Cerâmica, Blumenau, 2006,1-14.

CATTABRIGA M., PEDRAZZOLI V., WILSON JR, T.G., **The conservative approach in treatment of furcation lesions**. *Periodontology* 2000. 2000; 22:133-53.

CATE T, NANJI A. TEN CATE, **Histologia Oral**, 8ª ed. Rio de Janeiro. Editora Elsevier 2013; 400 P

COSTA A. C. F. M; LIMA; M. G.; LIMA; L. H. M. A; CORDEIRO, V.V.; VIANA K.M.S.; **Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações**. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.4.3 (2009) 29-38 ISSN 1809-8797 Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – PB, Brasil.

DELIBERADOR T. M.; NAGATA M.; FURLANETO, F.A.C.; MESSORA M.R.; BOSCO A.F.; GARCIA,V.G.;SANTOS,F., **Abordagem conservadora no tratamento dos defeitos de furca**. 3 ed. Joinville Brasil: RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia, vol. 5, núm. 3, 2008, pp. 49-55

ELLIOT, C. **Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates: Studies in Inorganic Chemistry**. 18. Elsevier Science, 1994.

GARCIA V.G., FERNANDES L.A., GUALBERTO E.C. Jr *et al.* **Treatment of experimental periodontitis in rats using repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy**. *Lasers Med Sci* 2013; **28**:143–150

GUYTON, A. C., **Fisiologia Humana – Cap. 36: Metabolismo do cálcio, osso, hormônio paratireoideano e a Fisiologia do osso**. (tradução) Charles Alfred . 12 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

HAMP S, NYMAN S, LINDHE J. **Periodontal treatment of multirooted teeth. Result after 5 years.** *Journal of Clinical Periodontology* 1975; **2**: 126 – 135.

HANLEY, D.A.; HENDERSON J.E.; GOLTZMAN, D.; **Biochemical markers of bone turnover in the osteoporosis;** Cambridge: University Press; p 239-52;2000.

HAHMER, R., MOONEY, V., BUCHOLZ, R., TENCER, A.,. **A coralline hidroxyapatite bone graft substitute.** *Clin Ortho* 1986; 188:252-62.

HOFLING, J.F.: GONÇALVES, R.B.; **Imunologia para Odontologia.** Artmed, Porto Alegre, v.1, p. 273-284, 2006.

JAIN R, KAUR H, JAIN S, KAPOOR D, NANDA T, JAIN M. **Comparison of Nano-Sized Hydroxyapatite and beta-Tricalcium Phosphate in the Treatment of Human Periodontal Intrabony Defects.** *J Clin Diagn Res* 2014;**8**:74-78.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; **Histologia Básica ;**11^a ed; Rio de Janeiro; Guanabara Koogan; 2013.

KARSTEN, F. M.; SOILEAU, K.; MEFFERT, R. M.; **Quantitative evaluation of human gingival epithelial cell attachment to implant surfaces in vitro.** *Int. J. Periodont. Rest.*; v. 10, n. 1, p. 69-79, 1990.

LINDHE, J.; CARNEVALE G.; PONTORIERO R.; **Tratamento de dentes com envolvimento de furca; In:Lindhe J. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral;**3. ed.; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p.492-513;1999.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Periodontologia Clínica e Implantologia Odontológica.** 5^a ed. São Paulo. Editora: Médica Panamericana, 2010

LÜLLMANN-RAUCH, RENATE; **Histologia: entenda, aprenda, consulte; rio de Janeiro,** Guanabara Koogan, obra traduzida do original da 1^a edição em língua alemã; cap 8; p 79-90;2006.

MAVROPOULOS, E.; HAUSEN, M.; COSTA, A. M.; ALVES, G.; MELLO, A.; OSPINA, C. A.; MIR, M.; GRANJEIRO, J. M.; ROSSI, A. M. **The impact of the RGD peptide**

on osteoblast adhesion and spreading on zinc-substituted hydroxyapatite surface. *J. Mater. Sci. – Mater. Med.*, v. 24, n. 5, p. 1271-1283, 2013.

MOTTA, V.T.; **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e Interpretações.** 4ª ed., Porto Alegre: Editora Média Misau, São Paulo: Robe Editorial, EDUCS- Caxias do Sul, 2003.

NETO M, TOBIAS R, MORETTI A B, ROBAZZA C R C, PERRERIA A A C. **In vivo qualitative analysis of the biocompatibility of different cyanoacrylate-based adhesives.** *Braz Oral Res* 2008;**22**:43-47

PANG KM, LEE JK, SEO YK, KIM SM, KIM MJ, LEE JH. **Biologic properties of nano-hydroxyapatite: An in vivo study of calvarial defects, ectopic bone formation and bone implantation.** *Biomed Mater Eng* 2015;**25**:25-38.

PEREIRA, M.A.; GEONMONOND, R. S.; OLIVEIRA, U.S.; ET AL; **Nanometric Hidroxyapatite use in grafts of rats fíbula;** *Ciência et Praxis*; v.6;n.11;2003.

PONTORIERO R, LINDHE J, NYMAN E. **Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects.***J.C.P.*1992;**19**: 159-163.

PULEO, D.A.; NANCI, A.; **Understanding and Controlling the Abone Implant Interface.** *Biomaterials*; v. 20; p. 2311-2321; 1999.

RAMS T.E; LISTGARTEN, M. A; Slots J. **Risk of periodontitis recurrence by tooth surface location;** *J. Dent .Res.*; p.78-118.;1999.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J.; LEMONS, J.E. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine;** Academic Press, 1996.

RIBEIRO, F.; CASARIN, R.; NOCITI JÚNIOR, F.; SALLUM, E.; SALLUM, A.; CASATI, M.; **Tomada de decisão em defeitos de furca III: Tratamento ressectivo; Extração Implantantes;** RGO - Revista Gaúcha de Odontologia;

2009. Disponível em: <http://www.revistargo.com.br/ojs/index.php/revista/article/view/665/672>. Acesso em: 28 Set. 2014. RGO, Porto Alegre, v. 57, n.2, p. 223-227, abr./jun. 2009

ROSEN H.N.; MOSES A.C.; GARBER J.; ILOPUTAIF I.D.; ROSS D.S.; LEE S.L.; ET AL. **Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy.** *Calcif Tissue Int* 2000;v.66;p 100-3.;

SARAIVA, G. L.; LAZARETTI-CASTRO, M.; **Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica.** *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, São Paulo;v.46;n.1;2002;Available Access on 04 Oct. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302002000100010>

SOARES, C., **Síntese e caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Biomédicas,** Dissertação de mestrado, CCT/UEDESC, 2006, Joinville, Santa Catarina, Brasil.

VIEIRA J.G.; **Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática;** *Arq. Bras. Endocrinologia Metabolismo*; 1999; v43; p 415-22.

TURRER, C.L.; FERREIRA, F.P.M., **Biomateriais em Cirurgia Craniomaxilo facial : princípios básicos e aplicações – revisões de literatura** *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* Vol. 7, No 1, January - March 2012, p. 385 – 391

WANG P, LI C, GONG H, JIANG X, WANG H, LI K. **Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process.** *Pow Tech* 2010; **203**:315-321.

ZHOU, H.; J. LEE, FERRO, D.G.; GIOSO, M.A.; **Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering;** *Acta Biomater*; vol.7; p.2769-2781;2011.

BRAZILIAN JOURNAL OF OTORHINOLARYNGOLOGY 72 (2) MARCH/APRIL 2006 [HTTP://WWW.RBORL.ORG.BR/E-MAIL:REVISTA@ABORLCCF.ORG.BR](http://www.rborl.org.br/e-mail:revista@aborlccf.org.br)

