

**JOSÉ ROBERTO CHECONE FILHO**

**ENXERTO ÓSSEO EM CALVÁRIA DE  
RATOS: CIMENTO PBS CIMMO HD<sup>®</sup> E  
BIONNOVATION<sup>®</sup>**

Trabalho Final do Mestrado  
Profissional, apresentado à  
Universidade do Vale do Sapucaí, para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências Aplicadas à Saúde.

**POUSO ALEGRE – MG  
2020**

**JOSÉ ROBERTO CHECONE FILHO**

**ENXERTO ÓSSEO EM CALVÁRIA DE  
RATOS: CIMENTO PBS CIMMO HD<sup>®</sup> E  
BIONNOVATION<sup>®</sup>**

Trabalho Final do Mestrado  
Profissional, apresentado à  
Universidade do Vale do Sapucaí, para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências Aplicadas à Saúde.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Dias da Silva Neto

COORIENTADOR: Prof. Dra. Jaqueline Jóice Muniz

**POUSO ALEGRE – MG  
2020**

Filho, José Roberto Checone.

Titulo: Enxerto ósseo em calvária de ratos: cimento PBS CIMMO HD® e BIONNOVATION® no preenchimento de seio maxilar em ratos. / José Roberto Checone Filho. – Pouso Alegre:

Univás, 2020.

xiii, 26f. : il.color : tab.

Trabalho Final do Mestrado Profissional em Ciência Aplicada à Saúde,

Universidade do Vale do Sapucaí, 2020.

Título em inglês: Bone graft in rat limestone: cement PBS CIMMO HR® and BIONNOVATION®

Orientador: Prof. Dr. José Dias Silva Neto

Coorientador: Prof. Dr. Jaqueline Joice Muniz

1. Materiais biocompatíveis. 2. Substitutos ósseos. 3. Transplante ósseo.
4. Reabsorção óssea. 5. Hipontia. I. Título.

CDD-619

**UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ**

**MESTRADO PROFISSIONAL EM  
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

**COORDENADORA:** Professora Dra. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonca

**Linha de Atuação Científico-Tecnológica:** Padronização de Procedimentos e Inovações em Lesões Teciduais.

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os amantes da ciência, que assim como eu, tem como objetivo criar através de estudo e dedicação, materiais que possam auxiliar e contribuir de maneira positiva no nosso dia a dia, podendo assim mudar vidas e fazer história.

Aos meus amados filhos **JOSÉ ROBERTO CHECONE NETO** e **MARIA SANTIAGO CHECONE**, nem em meu melhor sonho acreditei um dia ter vocês em minha vida. Vocês são tudo pra mim e a razão de minha existência nos dias de hoje.

À minha esposa **DALILA EVELYN SANTIAGO CHECONE**, por ser meu porto seguro e mãe dos meus filhos **JOSÉ ROBERTO CHECONE NETO** e **MARIA SANTIAGO CHECONE**, toda minha força vem de vocês e todas as conquistas são para vocês.

Aos meus pais **JOSÉ ROBERTO CHECONE** e **IARA LÚCIA ZANCANI CHECONE**, por sempre me apoiarem em todas as etapas de minha vida, sem vocês eu nada seria.

Em memória ao meu amigo “irmão” **DR. RUI PINTO CARDOSO**, que tive a honra de conhecer por um breve período de sua existência, onde pude contar com seus ensinamentos e desfrutar de sua sabedoria soberana, sem dúvidas você foi um dos melhores profissionais que a odontologia conheceu, levarei seu legado de transparência e honestidade para sempre em minha memória. Partiu cedo, porém deixou seus frutos com os melhores sabores e as mais variadas essências, serei sempre grato.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar à **DEUS** por ser a base de minhas conquistas;

Ao Professor **DR. JOSÉ DIAS DA SILVA NETO**, que aceitou o desafio, e como meu orientador se mostrou sempre disposto e bem humorado em todas as horas. Nunca me esquecerei de ti, pois além da confiança e tranquilidade que transmite sua ousadia me inspira. Serei eternamente grato;

A Professora **DRA. JAQUELINE JÓICE MUNIZ**, minha coorientadora que me auxiliou com muita paciência, contribuindo de maneira grandiosa para finalização desse trabalho, muito obrigado;

Ao colega de mestrado **WELLINGTON DELFINO**, por organizar e tratar os animais com muito respeito e generosidade durante o período da pesquisa;

Aos médicos patologistas **DRA. FIORITA GONZALES LOPES MUDIM** e **DR. ROGÉRIO MENDES GRANDE**, pelo preparo e análise das lâminas;

Às alunas de graduação de medicina da UNIVAS, **SOFIA AVELAR** e **NÁDIA BUENO**, por contribuírem no projeto e no ato cirúrgico;

Aos amigos e companheiros que estiveram ao meu lado nesses anos de mestrado, em especial **WILSON TIAGO RAMOS**, por acreditar que conseguiríamos conquistar esse título, onde enfrentamos juntos longas horas de estrada e muitas noites sem dormir, e ao meu irmão de mestrado **ALEX CORREIA** por ser essa pessoa incrível, de coração enorme e sempre pronto a ajudar, sua amizade e seu auxílio foram de fundamental importância para a conclusão dessa dissertação, muito obrigado.

*“Você não pode mudar o vento, mas pode ajustar as velas do barco para chegar onde quer.”*

Confúcio

# SUMÁRIO

<b>1. CONTEXTO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
<b>3. MÉTODOS .....</b>	<b>5</b>
<b>3.1 Amostra .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2 Procedimentos .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2.1 Preparo pré-operatório .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2.2 Indução da falha óssea .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2.3 Tratamento .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2.4 Pós-operatório .....</b>	<b>8</b>
<b>3.3 Coleta dos materiais para análise .....</b>	<b>9</b>
<b>3.4 Análise histopatológica das lâminas .....</b>	<b>10</b>
<b>3.5 Análise estatística .....</b>	<b>10</b>
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>11</b>
<b>4.1 Descrição dos resultados.....</b>	<b>11</b>
<b>4.2 Produto.....</b>	<b>14</b>
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>5.1 Aplicabilidade.....</b>	<b>17</b>
<b>5.2 Impacto social.....</b>	<b>17</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>19</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>22</b>
<b>Anexo 1 – Parecer Consubstanciado do CEUA .....</b>	<b>22</b>
<b>Anexo 2 – Tabelas enviada aos patologistas .....</b>	<b>23</b>
<b>NORMAS ADOTADAS .....</b>	<b>25</b>
<b>FONTES CONSULTADAS .....</b>	<b>26</b>

## RESUMO

**Contexto:** os implantes ósseo-integráveis, são largamente utilizados na odontologia moderna em pacientes desdentados totais ou parciais e edentulismo. O enxerto ósseo bovino particulado é o mais utilizado na prática clínica. O presente estudo consiste no preenchimento do seio maxilar para a preparação do local desdentado, visando receber o implante. **Objetivo:** avaliar e comparar, através de estudo histopatológico, utilização de cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> no preenchimento do defeito ósseo em calvária de ratos, em relação ao Enxerto Ósseo Bovino Particulado Bionnovation<sup>®</sup>. **Métodos:** estudo experimental primário, com 25 ratos machos. Confeccionou-se duas falhas ósseas laterais nas 25 calvárias, aplicou-se PBS CIMMO HD<sup>®</sup> no lado esquerdo e Enxerto Ósseo Bovino Particulado Bionnovation<sup>®</sup> no lado direito. Após 8 semanas, as peças foram retiradas e as lâminas foram preparadas em laboratório de biologia. A análise histopatológica foi realizada por dois Patologistas, com método de cegamento. Os parâmetros avaliados foram: inflamação, formação de cápsula fibrosa e indução de neoformação óssea. Para análise estatística, utilizou-se o teste de diferença entre médias Wilcoxon. **Resultados:** O Cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> induziu formação de capsula fibrosa e neoformação óssea; o enxerto Bionnovation<sup>®</sup> proporcionou presença de inflamação somente. houve diferença significativa para neoformação óssea. **Conclusão:** O cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> mostrou ser mais efetivo que o enxerto Bionnovation<sup>®</sup> em preenchimento de defeito ósseo induzido em calvária de ratos.

**Palavras chave:** Materiais biocompatíveis. Substitutos ósseos. Transplante ósseo. Reabsorção óssea. Hipodontia

## ABSTRACT

**Context:** Osseo-integrated implants have become widely used in modern dentistry due to the great number of complete edentulous or partial edentulous patients. Currently the most utilized graft is that of particulate bovine bone. This study consists of grafting of the maxillary sinus to prepare the edentulous site that will receive a dental implant. **Objective:** to evaluate and compare through histopathological studies the use of PBS CIMMO HD<sup>®</sup> cement for the grafting of bone defects in rat skulls and Bionnovation<sup>®</sup> particulate bovine bone graft. **Method:** primary experimental study with 25 Male rats creating two lateral bone faults on the 25 skulls, applying PBS CIMMO HD<sup>®</sup> on the left and Bionnovation<sup>®</sup> particulate bone graft on the right. After eight weeks the pieces were removed and slides were prepared in a biology lab. The histopathological analysis was done by two pathologists utilizing the blind evaluation method. The following was found: inflammation, formation of a fibrous capsule, and induction of bone neoformation. For statistical analysis, the Wilcoxon test was utilized. **Results:** PBS CIMMO HD<sup>®</sup> induced the formation of a fibrous capsule and bone neoformation; Bionnovation<sup>®</sup> particulate bone graft showed only inflammation. **Conclusion:** PBS CIMMO HD<sup>®</sup> cement proved to be more effective than BIONNOVATION<sup>®</sup> graft in filling bone defects induced in rat calvaria. **Keywords:** Biocompatible Material. Bone Substitute. Bone Transplant. Bone Resorption. Hypodontia.

# 1 CONTEXTO

A ausência de dente, hipodontia, é ainda hoje um problema que acomete inúmeras pessoas em todo o mundo. O reparo dos defeitos ósseos na região bucomaxilofacial e a sua recuperação morfofuncional constituem um grande desafio para os cirurgiões que atuam nessa área (CORBELLA *et al.*, 2016). Traumas, tumores e doenças infecciosas ou congênitas frequentes nessas regiões comprometem as suas funções básicas, e limitam a proteção física de estruturas anatômicas importantes ali presentes (HOBAR, HUNT e ANTROBUS, 2003;). Estima-se, 6% de cerca de 1,6 milhões de enxertias ósseas realizadas anualmente nos EUA estão relacionadas ao restabelecimento das funções ósseas nas regiões craniofaciais (PETROVIC *et al.*, 2012).

Os implantes ósseo-integráveis vêm sendo muito utilizados na odontologia moderna, pois não há neoformação óssea no local do próprio defeito. Essa técnica, atualmente muito utilizada, só é possível à P.I. Branemark, que dedicou anos de seus estudos a ósseo-integração, através da microcirculação sanguínea das tíbias de coelhos com a utilização de uma câmara de observação de titânio (TOMBINI, 2007). Devido a essa condição, se tornou importante o uso de implantes para a reabilitação oral, tanto esteticamente quanto funcionalmente, já que apresentam um conforto maior quando comparados com as demais técnicas de reabilitação oral, como por exemplo as próteses totais ou parciais.

A técnica cirúrgica é realizada utilizando uma broca cilíndrica em baixa rotação que realiza a osteotomia em forma de "U" ou quadrangular e com instrumento rombo fratura-se para dentro do seio esta janela óssea, fazendo assim uma fratura em "galho verde" na borda superior da janela, transformando em uma via de acesso com a dobradiça. Após total osteotomia, é feito o descolamento da membrana sinusal com o instrumento de ponta romba delicadamente para que não haja perfurações na membrana, em seguida é inserido na loja óssea já formada o material de enxertia (OMAGARI *et al.*, 2005). Existem vários materiais para a enxertia, que podem ser autógenos homólogo, quando é retirado de um doador da mesma espécie, heterógeno, quando retirado de um doador de outra espécie, e aloplástico, quando é produzido sinteticamente. (PIRES, 2012).

Atualmente o padrão ouro para tal cirurgia é o enxerto autógeno por possuir propriedades de osteogenese, osteocondução e osteoindução. Osteogenese, no qual os enxertos contem osteoblastos viáveis ou células precursoras osteogenicas que estabelecem novos centros de formação óssea. Osteoindução, no qual o enxerto induz a transformação de células precursoras (mesenquimais indiferenciadas) do hospedeiro em matriz óssea, produzindo osteoblastos. Osteocondução, no qual o enxerto atua como um arcabouço para deposição de

novo osso pelo tecido ósseo vivo adjacente. A matriz é reabsorvida e substituída por osso neoformado. Sendo assim o osso autógeno quando indicado é o de maior previsibilidade e sucesso clínico. (DINATO *et al.*, 2014).

Ao longo do tempo, pesquisadores vem estudando maneiras de aperfeiçoar materiais que consigam substituir o osso autógeno, devido à uma segunda intervenção cirúrgica, pois há a necessidade da retirada do tecido doador primeiramente e a sua posterior implementação no local, assim necessitando maior tempo de cicatrização, maior custo para o paciente e maior desconforto. O cirurgião pensando previamente na cirurgia, tem a possibilidade de escolher a quantidade e qualidade de tecido necessário para o sucesso clínico, lembrando também ainda da possibilidade de associação dos materiais (ARAUJO *et al.*, 2009).

Materiais de preenchimento que se assemelhem ao enxerto autógeno vem sendo produzidos e testados, um exemplo de técnica em que são utilizados é nos casos de perdas dentárias precoce na área posterior de maxila, onde existe uma alteração denominada pneumatização do seio maxilar, que é a migração vertical do epitélio sinusal juntamente com a reabsorção sistêmica de osso devido à perda de algum elemento dental (DINATO, 2014), o que dificulta as reabilitações com implantes nessas regiões (FLORIAN *et al.*, 2010). Devido a essa característica clínica, utiliza-se a técnica de levantamento de seio maxilar seguida de enxertia óssea, para preencher e estimular a neoformação óssea na região pneumatizada para posterior colocação de implante dentário (ARAUJO *et al.*, 2009).

A literatura mostra que técnicas de enxertia óssea que utilizam osso bovino particulado é considerado hoje referência ou padrão-ouro entre os materiais de enxerto não autógeno anorgânico no preenchimento da cavidade. O material de origem bovina, de custo relativamente elevado, apresenta excelente biocompatibilidade e possui lenta reabsorção. Por ser constituído por uma hidroxiapatita natural com cristalinidade e composição química semelhante à da matriz inorgânica do osso humano, permite-lhe alta capacidade osteocondutora e funcionar como um arcabouço necessário para a neoformação capilar e de tecido perivascular, a migração de células progenitoras ósseas oriundas do leito receptor e a neoformação óssea (ACCORSI-MENDONÇA *et al.*, 2011).

Uma alternativa ao enxerto bovino particulado é o cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup>, que apresenta propriedades de regeneração, sendo assim um cimento viável quando pensamos em reparação tecidual óssea (SILVA NETO *et al.*, 2012). Apresenta também ótima resistência e sua base é o cimento Portland utilizado na construção civil, que tem como matéria prima o calcário. Segundo (VAIDERGIRIN, 1988), os principais compostos do cimento Portland, calculados a partir de constituintes maiores da análise química, são os seguintes: silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, ferrealuminato tetracálcico e sulfato de cálcio di-hidratado.

Observa-se que as descrições dos elementos componentes dos cimentos bioativos endodônticos conferem com aqueles do cimento Portland (VAIDERGIRIN, 1988).

O PBS® é um biomaterial já utilizado com sucesso na endodontia (SILVA *et al.*, 2018), (BOCZAR *et al.*, 2018), (SILVA NETO *et al.*, 2012) e a possibilidade de ser melhor que o enxerto ósseo bovino justifica a proposta de realização de estudo experimental.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar e comparar, através de estudo histopatológico, utilização de cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> no preenchimento do defeito ósseo em calvária de ratos, em relação ao Enxerto Ósseo Bovino Particulado Bionnovation<sup>®</sup>.

## 3 MÉTODOS

### 3.1 Amostra

Trata-se de estudo primário, longitudinal, prospectivo, analítico e unicego. O Local de experimentação foi o Laboratório de Bases de Técnicas Cirúrgicas da Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS), Pouso Alegre - MG. A amostra foi constituída por 25 ratos Wistar, machos, com 12 semanas de idade, peso entre 250 a 400 gramas. Os animais foram escolhidos para o experimento no Biotério da UNIVÁS. A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIVÁS autorizou o estudo (protocolo 284/18, ANEXO 1).

Os animais foram confinados em gaiolas individuais, em sala com ciclos de 12 horas por dia/noite, temperatura ambiente e dieta padrão do laboratório. Receberam alimentação balanceada com ração própria para a espécie e água *ad libitum*. O responsável pelo confinamento realizou diariamente a higienização do local, assim como a alimentação, nos períodos anterior e posterior à etapa experimental.

### 3.2 Procedimentos

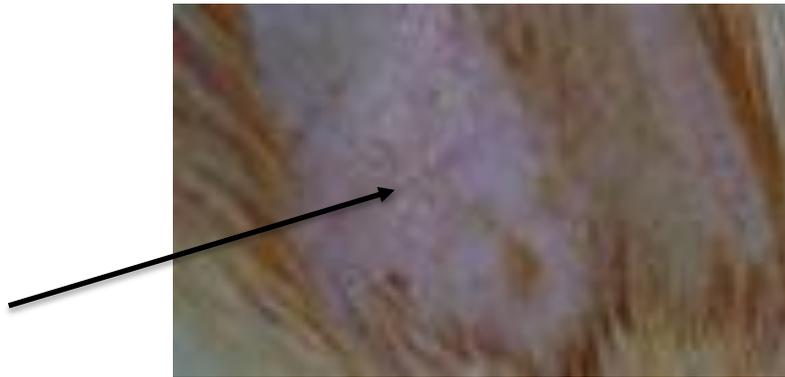
#### 3.2.1. Preparo pré-operatório

Três dias precedentes à etapa experimental, foi realizada avaliação do estado geral dos animais: dados vitais, eutrofia e condições de saúde pelo Médico Veterinário responsável pelo Biotério da UNIVÁS. Realizou-se a antibioticoprofilaxia com Pentabiótico (Antibiótico para animais de pequeno porte, composto por penicilina benzatina 600.000UI, benzilpenicilina procaína 300.000UI, benzilpenicilina potássica 300.000UI, sulfato de dihidroestreptomicina 250mg e sulfato de estreptomicina 250mg) por via intramuscular, na dose de 1mg/kg de peso, a cada 12 horas e mantido por 7 dias.

#### 3.2.2. Indução da falha óssea

A sedação foi realizada com cloridrato de xilazina 6mg/kg, via intramuscular. Realizou-se anestesia geral com cloridrato de cetamina, 70mg/kg, via intramuscular e anestesia local com bupivacaína 1,5mg/kg, com injeção infiltrativa. O local da incisão (Figura 1) foi preparado através de epilação manual e em seguida anestesia infiltrativa local 1,5mg/kg de bupivacaína. Durante todo o período anestésico, foram monitoradas as frequências cardíaca e respiratória através do exame clínico por veterinário. A respiração foi por via espontânea.

Realizou-se cuidados de assepsia e antissepsia, como a degermação das mãos, antebraços e paramentação da equipe cirúrgica com *Kit* cirúrgico estéril. Foi realizada a degermação da pele dos ratos com clorexidina degermante a 2% (digluconato de clorexidina – Riohex<sup>®</sup> 2%) e Iodopovidina (Rioideine<sup>®</sup>).



**Figura 1** – Preparo do sítio cirúrgico – epilação manual e assepsia/ anti-sepsia

Realizou-se, com bisturi lâmina no.15 (Advantive®), incisão de 2,0 cm em crânio (FIGURA 2), até o periósteo, afastados com afastador cirúrgico.



**Figura 2** – Incisão de 2 cm em calota craniana

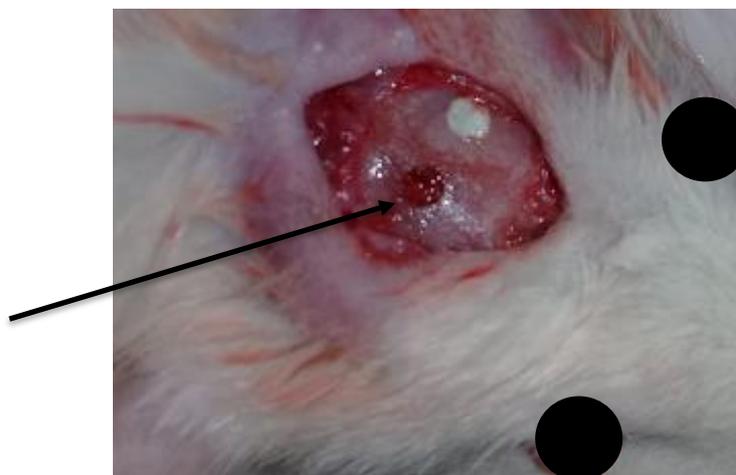
Realizou-se orifício monocortical do lado direito e esquerdo da calvária (FIGURA 3), com broca diamantada esférica de diâmetro 1,5mm, acoplada a motor de rotação controlada elétrico Driller®, sob irrigação constante com soro fisiológico estéril.



**Figura 3** – Criação de orifício monocortical

### 3.2.3. Tratamento

A cavidade criada do lado direito foi preenchida com Bionnovation<sup>®</sup>. (FIGURA 4)



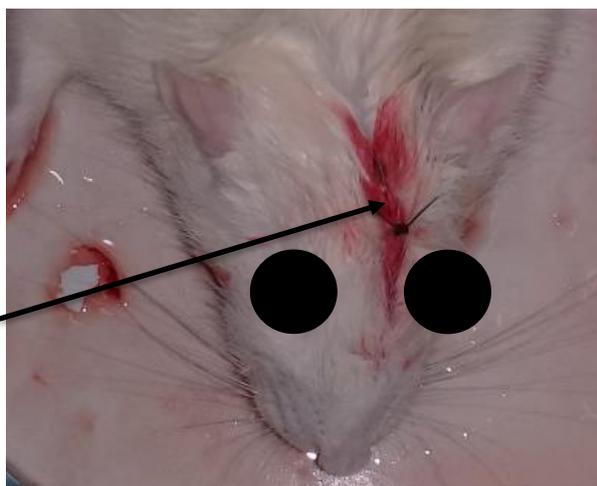
**Figura 4** – Cavidade preenchida com cimento Bionnovation<sup>®</sup>.

No lado esquerdo, o mesmo procedimento foi realizado com PBS CIMMO HD<sup>®</sup>. O cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> Foi preparado, da seguinte maneira: manipulou-se segundo o fabricante, após sua presa final foi particulado através de triturador (moinho com esferas de zircônio), até apresentar partículas de medidas de 0,03 mm. Em seguida, adicionou-se ao cimento moído, gel Natrosol<sup>®</sup>. Formou-se um composto gelatinoso. (FIGURA 5).



**Figura 5** – Cavidade preenchida com PBS CIMMO HD®

O periósteo foi reposicionado e a sutura da região craniana foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®) (FIGURA 6).



**Figura 6** – Sutura craniana realizada com fio mononylon

#### **3.2.4. Pós-operatório**

Após a cirurgia, foram administradas injeções intramusculares de pentabiótico (1mg/Kg) a cada animal de 12 em 12 horas, iniciando três dias antes do procedimento, até completar 7 dias, além de 30mg/kg de ibuprofeno (analgésico e antiinflamatório) via oral (junto à ingestão da água). Os ratos foram submetidos a cuidados pós-operatórios pelo Médico Veterinário, através de limpeza da incisão cirúrgica com clorexidina degermante Riohex 2%® e lavagem com soro fisiológico, além de deixar o local seco. Sete dias depois foram removidos os pontos.

### 3.3 Coleta do material para análise

Após oito semanas de confinamento, foram colhidos os materiais para análise. Realizou-se protocolo de sedação com cloridrato de xilazina (6mg/kg) por injeção intramuscular e anestesia geral com cloridrato de cetamina (70mg/kg) por injeção intramuscular (anestesia geral). A seguir removeu-se a calvária de cada animal, com dissecação do osso (FIGURA 7).



**Figura 7** – Remoção da calvária

Logo após, os animais foram eutanasiados com injeção intracardíaca de cloreto de potássio 19,1% (2ml/kg). As peças foram separadas em dois grupos: grupo A (falhas ósseas que receberam Bionovation<sup>®</sup>) e grupo B (falhas ósseas que receberam o PBS). O processamento histopatológico foi realizado no laboratório de Biologia da UNIVÁS. As peças ósseas foram fixadas em formol a 10% com tampão de fosfato e pH de 7,2. Em seguida, foram descalcificadas em solução de EDTA a 10% durante 15 dias.

Posteriormente, as peças foram submetidas à lavagem em água corrente por 1 hora; em seguida ocorreu a desidratação por bateria alcoólica crescente (etanol 70%, etanol 95%, etanol absoluto I, etanol absoluto II e etanol absoluto III – 1 hora em cada banho). A clarificação foi realizada em dois banhos de xilol, e posteriormente procedeu-se impregnação de cada peça, em parafina pura em estufa a 65°C, por três banhos consecutivos de 1 hora, seguida de inclusão em moldes.

Realizou-se cortes transversais com espessura de 4 micrômetros em micrótomo rotativo, que resultou em cortes semi seriados. Para coloração, os cortes foram desparafinizados em três banhos de xilol e hidratados em série alcoólica decrescente (etanol absoluto I, etanol absoluto II, etanol absoluto III, etanol 95%, etanol 70% (1 minuto em cada) seguido de lavagem em água corrente por 1 minuto. A coloração primária foi realizada em hematoxilina de *Harris* por 2 minutos. Para contra coloração, foi utilizada eosina Alcoólica por 2 minutos antecedido da semi

desidratação dos cortes em etanol 70%. Finalizando o processo, as lâminas foram desidratadas em série etanólica crescente, clarificadas em xilol, limpas e montadas permanentemente em verniz.

### **3.4 Análise histopatológica**

A análise histopatológica foi realizada por dois Médicos Patologistas (P1 e P2) com título reconhecido pela Sociedade Brasileira de Patologia, (cegos para a identidade das amostras). Os Patologistas receberam planilha em *excel* (ANEXO 2) com as explicações das variáveis a serem analisadas em cada lâmina:

- 1- Inflamação: (0) Ausência de inflamação. (1) Discreta inflamação com presença de leucócitos em fase crônica. (2) Moderada inflamação com presença de alguns leucócitos em fase crônica. (3) Abundante inflamação com muitos leucócitos.
- 2- Formação de Tecido Conjuntivo Fibroso. (0) Ausência de tecido conjuntivo fibroso. (1) Presença de tecido conjuntivo fibroso em algumas regiões. (2) Presença de tecido conjuntivo fibroso ao redor de todo tecido ósseo neoformado.
- 3- Neoformação óssea. (0) Ausência de neoformação óssea. (1) Incompleta neoformação óssea, (tecido ósseo imaturo) rico em osteócitos. (2) Presença de tecido ósseo neoformado estruturado e completo, e ao redor, osso lamelar.

### **3.5 Análise estatística**

Foram utilizadas medidas de frequência absoluta e relativa para variáveis categóricas.

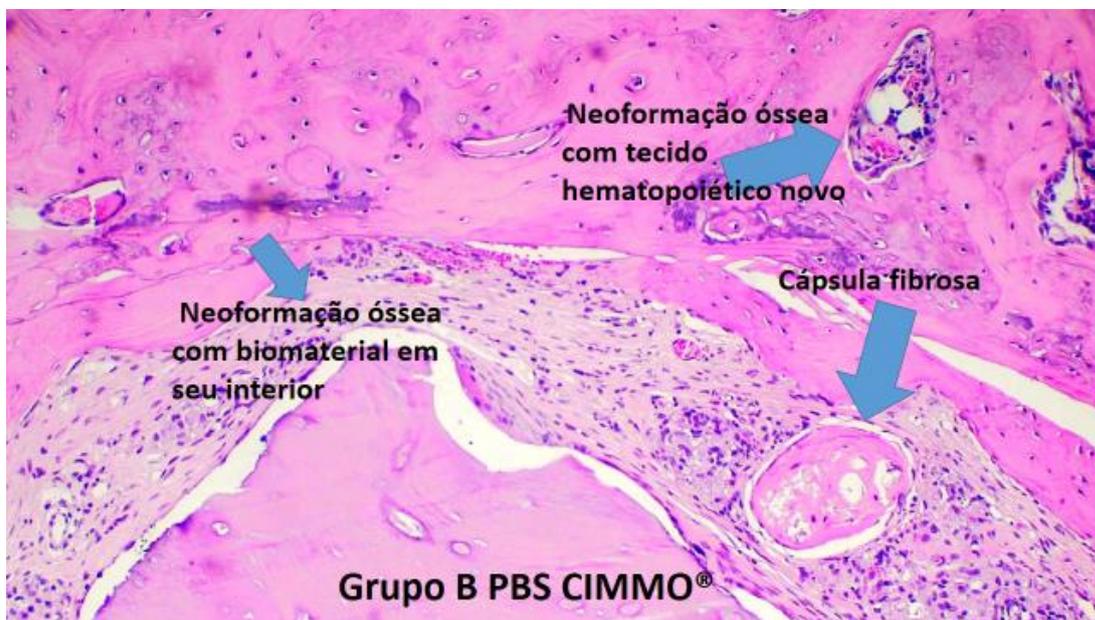
Utilizou-se o Statistical Package for the Social Sciences, inc.(SPSS) Chicago, USA, versão 22.0. O nível de significância utilizado como critério de aceitação ou rejeição nos testes estatísticos foi de 5% ( $p < 0,05$ ). O Teste de Wilcoxon foi utilizado para análise dos dois grupos relacionados, para verificar se havia diferença entre as médias encontradas entre os dois materiais testados.

## 4 RESULTADOS

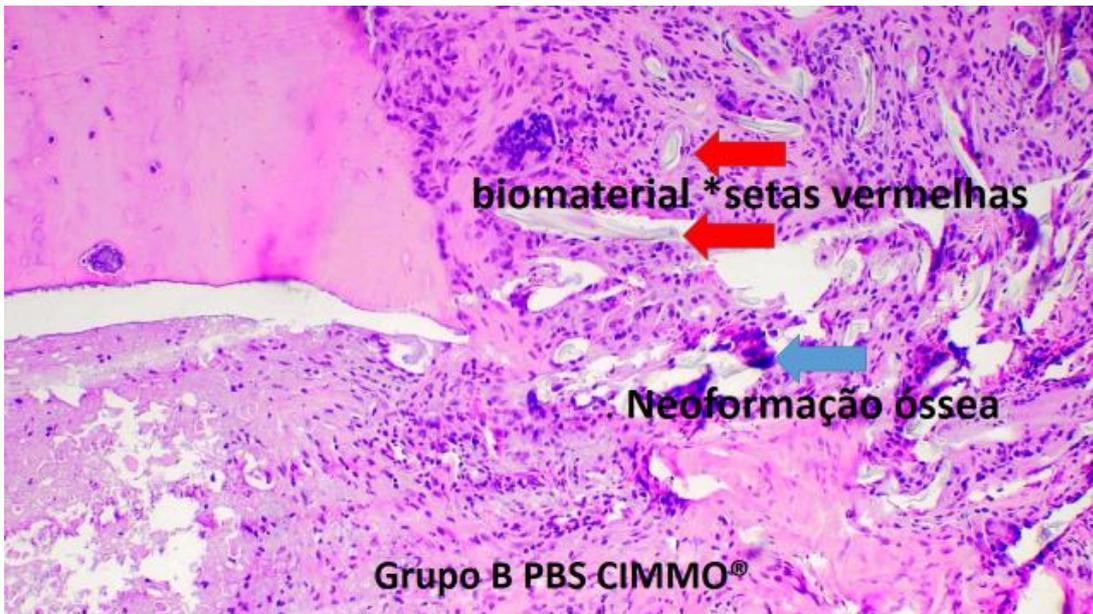
### 4.1 Descrição dos resultados

Foram submetidos aos procedimentos 25 ratos. Quatro ratos morreram durante o procedimento cirúrgico e um durante o confinamento, restando 20 amostras.

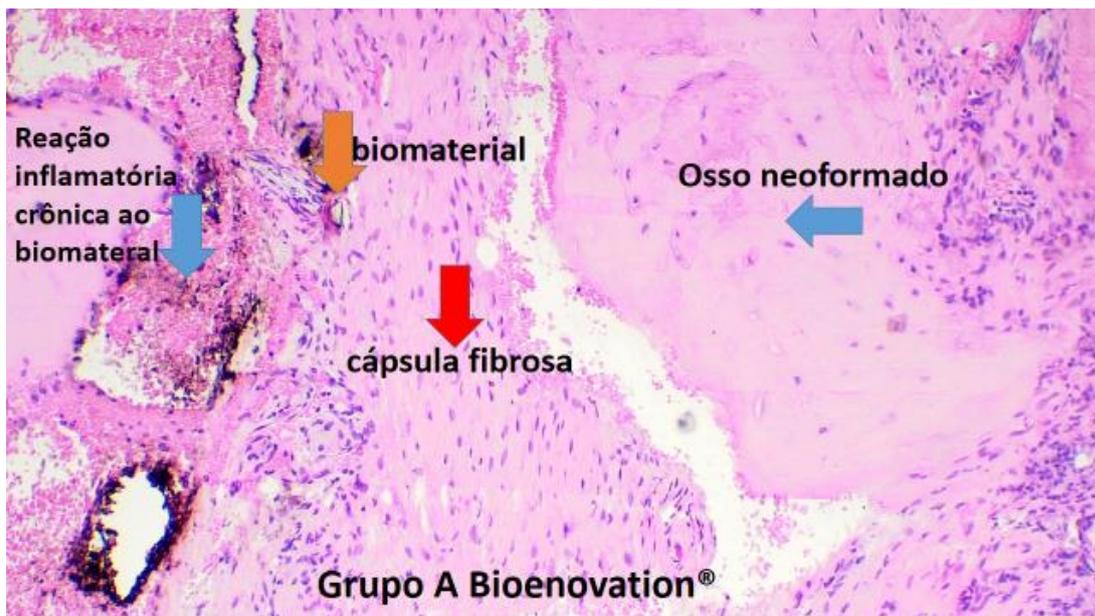
Foram analisadas 40 lâminas, sendo 20 lâminas (grupo A) e 20 lâminas (grupo B), Utilizou-se os escores: inflamação, cápsula fibrosa e neoformação óssea. Comparou-se os lados: lado esquerdo (grupo B Cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup>) e lado direito (grupo A enxerto particulado Bionnovation<sup>®</sup>).



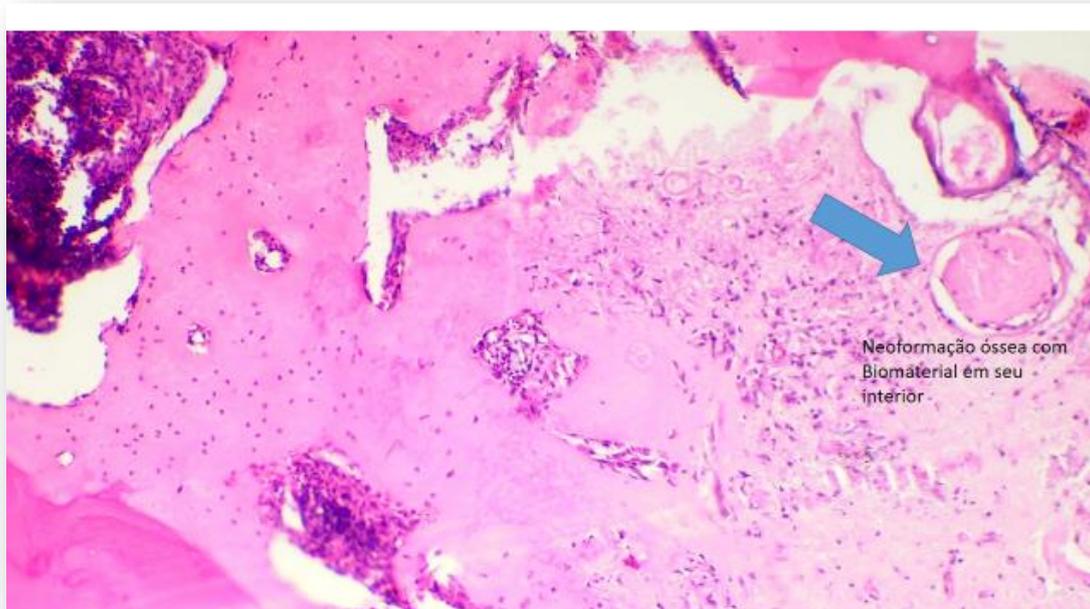
**Figura 10** – Neoformação óssea e cápsula fibrosa em calvária de ratos do grupo B (PBS CIMMO HD<sup>®</sup>)



**Figura 11** – Biomaterial e neoformação óssea em calvária de ratos do grupo B (PBS CIMMO HD®)



**Figura 12** – Osso neoformado, reação inflamatória crônica ao biomaterial, cápsula fibrosa e biomaterial em calvária de ratos do grupo A (Bionnovation®).



**Figura 13** – Neoformação óssea com cimento em seu interior observadas em calvária de ratos do grupo B (PBS CIMMO HD<sup>®</sup>)

Utilizou-se o Teste de Wilcoxon, para comparar se havia diferença entre as médias encontradas na inflamação, cápsula fibrosa e neoformação óssea entre o BIONNOVATION<sup>®</sup> e PBS CIMMO HD<sup>®</sup>. Foi realizado as diferenças de médias entre os patologistas 1 e 2, e determinou-se que para inflamação, em relação aos 2 examinadores, não houve diferença estatisticamente significativa, os níveis de inflamação nos dois grupos foram iguais com um valor  $p = 0,531$ . Já em relação à formação da cápsula fibrosa o teste demonstrou que havia diferença entre os resultados encontrados, sendo maior a presença de cápsula fibrosa no grupo PBS CIMMO HD<sup>®</sup>, os valores de  $p = 0,016$ . Quanto à presença de neoformação óssea, os examinadores determinaram que houve maior neoformação óssea no grupo PBS CIMMO HD<sup>®</sup>, os resultados encontrados foram:  $p = 0,000$ .

	<b>P</b>
<b>INFLAMAÇÃO</b>	0,531
<b>CÁPSULA FIBROSA</b>	0,016
<b>NEOFORMAÇÃO OSSEA</b>	0,000

## **4.2 Produto**

1. Depósito de patente na fase de busca de anterioridade (inovação: cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> triturado em moinho de zircônio e incorporado a gel Natrosol<sup>®</sup>) em enxerto de defeitos ósseos.
2. Futura publicação em revista científica.

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo forneceu evidências que o PBS CIMMO HD<sup>®</sup> polimerizado e triturado, incorporado ao gel de Natrosol<sup>®</sup>, pode ser utilizado como alternativa ao enxerto ósseo bovino particulado Bionnovation<sup>®</sup>, no reparo de falhas ósseas. A proposta relativa ao desenvolvimento deste trabalho, adveio de estudo anterior experimental que demonstrou a possibilidade de integração do cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> ao osso e titânio. Este estudo também demonstrou a neoformação óssea, quando o cimento foi incorporado à falha óssea, sem presença de titânio (ZERBINATTI *et al.*, 2019).

A necessidade clínica de estrutura óssea em maxila de edêntulos, para reabilitação com implantes dentários, é primordial para o sucesso do tratamento reabilitador. No entanto, o grande problema da Implantodontia são as maxilas atróficas, com seio maxilar pneumatizado e ausência de estrutura óssea, impossibilitando a fixação de implantes (BARBERA *et al.*, 2017; TASCHIERI *et al.*, 2012).

As alternativas para resolução de tal problema, maxilas atróficas, são procedimentos cirúrgicos de levantamento de seio maxilar (*sinus lift*), com o intuito de determinar ganho de estrutura óssea, para fixação dos implantes dentários. Tal procedimento requer componentes que são determinados enxertos. Em levantamento de seio maxilar, os mais utilizados são os bovinos e sintéticos (CORBELLA *et al.*, 2016).

Os substitutos ósseos de materiais alogênicos (oriundos de bancos de osso de humanos), xenogênicos (oriundos de osso bovino) e sintéticos (derivados de cerâmica), são processados em laboratório e dependem principalmente da propriedade osteocondutora para a regeneração óssea guiada. Estes substitutos foram propostos para superar as desvantagens associadas aos autógenos (TADIC e EPPLÉ, 2004; CHUNG *et al.*, 2015) porém os alogênicos e xenogênicos, possuem também desvantagens como o potencial em desenvolver resposta imune desfavorável (TADIC *et al.*, 2004).

O presente estudo utilizou como material de comparação ao PBS CIMMO HD<sup>®</sup> polimerizado e triturado, incorporado ao gel de Natrosol<sup>®</sup>, o Bionnovation<sup>®</sup> que é um xenoenxerto oriundo de fêmur bovino (osso fresco triturado que recebe sequência de banhos que solubilizam as estruturas orgânica, como por exemplo células remanescentes, fibras e proteínas) (ZERBINATTI *et al.*, 2019; CORBELLA *et al.*, 2016; STARCH-JENSEN E SCHOU, 2017). Os exames histopatológicos determinaram presença constante de inflamação para o Bionnovation<sup>®</sup>, corroborando aos achados da literatura referentes à possibilidade de xenoenxertos terem potencial de desenvolver resposta imune desfavorável. Além disso, a

qualidade e a composição do produto, relacionado a xenoenxerto, pode apresentar variação em sua composição, podendo diferir entre fabricantes e entre produtos do mesmo fabricante (Checchi *et al.*, 2019). Fator que pode ser causador de processos inflamatórios diferenciados que impeçam a formação de capsula fibrosa e neoformação óssea, como demonstrou a análise estatística que determinou significância para PBS CIMMO HD<sup>®</sup> polimerizado e triturado, incorporado ao gel de Natrosol<sup>®</sup>, em relação ao Bionnovation<sup>®</sup>.

Em relação à escolha do material a ser comparado, utilizou-se xenoenxerto devido às possíveis desvantagens relatadas na literatura, relativas à biocerâmica tais como: possuir menor resistência à tração, devido à fragilidade intrínseca do material e por ser comumente usada como extensor de enxerto ósseo e não como enxerto (Checchi *et al.*, 2019).

O PBS CIMMO HD<sup>®</sup> é um biomaterial biocompatível e bioativo, já utilizado com sucesso na odontologia, especialmente na Endodontia e também com possibilidade de extrapolação para outros ossos, devido ao seu composto alfa-fosfato tricálcico, que o faz possuir grande resistência e uma boa interação com materiais de fixação, como parafusos (ZERBINATTI *et al.*, 2019). Os principais componentes dos cimentos bioativos como o PBS CIMMO HD<sup>®</sup> são: silicato tricálcico e dicálcico, aluminato tricálcico, ferrealuminato tetracálcico, óxido de silicato e sulfato de cálcio hidratado (gesso). Este cimento é resultado de Linha de Atuação Científico Tecnológica de Programa de pós Graduação (Mestrado Profissional em Ciências aplicadas à Saúde da Universidade do Vale do Sapucaí) e suas propriedades biológicas e bioativas já foram comprovadas em outros estudos, experimentais e clínicos. (SILVA NETO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018; BOCZAR *et al.*, 2018; ZERBINATTI *et al.*, 2019).

O cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> ao ser incorporado à água destilada estéril, determina formação de composto denso que após 5 a 10 minutos sofre processo de polimerização que estabelece ligações iônicas com estruturas adjacentes, as quais promovem interações positivas, principalmente quando o referido cimento está em contato com estruturas mineralizadas (ZERBINATTI *et al.*, 2019). Desta maneira a ideia inovadora do presente estudo foi triturar o cimento após sua polimerização total e incorporá-lo ao composto gelatinoso (gel de Natrosol<sup>®</sup>) que facilitou a inserção do material no defeito ósseo, além de ter a possibilidade de ser reabsorvido durante o processo de remodelação óssea e em seu lugar, possibilitar a deposição de neoformação óssea. As partículas de cimento trituradas (0,03mm), seriam então incorporadas pelo novo osso, conferindo a ele, maior dureza e ligação iônica. Os resultados determinaram que houve diferença significativa para o composto de cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> em neoformação óssea e capsula fibrosa quando comparado ao xenoenxerto.

Os ratos são os animais mais utilizados em estudos atuais relacionados a enxertos ósseos (ZHU et al., 2017), para o atual estudo, utilizou-se os ratos da raça *Winstar*, que apresentam baixo risco de desenvolverem complicações durante os experimentos (BOLUKBASI et al., 2015; KAZANCIOGLU et al., 2013).

As limitações do presente estudo estão vinculadas à necessidade de instalação do composto estudado em seio maxilar, no entanto o espécime *Winstar* é inviável para tal, devido ao tamanho. Desta maneira houve necessidade de extrapolar o procedimento para calvária, que é o modelo experimental mais utilizado.

As perspectivas futuras são relacionadas a possibilidades de utilização do PBS CIMMO HD<sup>®</sup> polimerizado e triturado, incorporado ao gel de Natrosol<sup>®</sup> em estudos clínicos randomizados em levantamentos de seio maxilar.

### **5.1 Aplicabilidade**

Os resultados do presente estudo embasaram o desenvolvimento para a aplicação de uma futura técnica de reparação óssea com utilização do composto gelatinoso de PBS CIMMO HD<sup>®</sup> modificado (polimerizado e triturado), associado ao gel de Natrosol<sup>®</sup>, como alternativa ao Bionnovation<sup>®</sup> na reparação de defeitos ósseos, apoiado na ideia das melhores respostas encontradas para a alternativa PBS<sup>®</sup>: melhor formação de cápsula fibrosa e neoformação óssea.

O custo do material Bionnovation<sup>®</sup> em relação ao PBS CIMMO HD<sup>®</sup> determina aplicabilidade em decorrência da quantidade comercializada dos produtos. Enquanto o primeiro apresenta 0,5g na embalagem ao custo de R\$ 170,00, o segundo apresenta 1,0g ao custo de R\$100,00. Após manipulação e presa final, ocorre a trituração do cimento e incorporação ao natrosol<sup>®</sup>, situação que aumenta a quantidade em relação a peso e volume.

### **5.2 Impacto social**

O PBS CIMMO HD<sup>®</sup> como alternativa ao Bionnovation<sup>®</sup>, além de apresentar possibilidade de desempenho mais promissor em defeitos ósseos, como demonstrado no presente estudo, ainda pode promover maior preenchimento do defeito com menor custo e através de promoção de maior qualidade óssea no enxerto, devido ao cimento triturado não ser reabsorvido e suas ligações iônicas poderem ser estabelecidas com o osso neoformado. Despontam-se alternativas inclusive acessíveis à saúde pública.

## **6 CONCLUSÃO**

O cimento PBS CIMMO HD<sup>®</sup> mostrou ser mais efetivo que o enxerto Bionnovation<sup>®</sup> em preenchimento de defeito ósseo induzido em calvária de ratos.

## 7 REFERÊNCIAS

Araújo J M S, Quintans T C, Santos S D, Sousa C D F, Queiroga A S, Limeira J F. Enxerto ósseo bovino como alternativa para cirurgias de levantamento de assoalho de seio maxilar. *Revista Cirurgica Traumatologia Buco Maxilofacial* 2009 9(3)89-96.

Barbera L, Mat E, Ahmed M. Sinus lift procedure and immediate implant placing: A piezo-surgery and platelet rich plasma approach: A case report. *Otolaryngol.* 2017;7:6. [Google Scholar]

Boczar R M L, Silva S R, Alves L O, Zotarelli Filho I J, Silva Neto J D. Single Element In Obturation With Endodontic Retreatment With PBS® CIMMO Cement In Alveolar Tooth Abscess - Case Report. *Wulfenia* , v. 25, p. 119, 2018.

Bolukbasi N, Ersanlı S, Keklikoglu N, Basegmez C, Ozdemir T. Sinus Augmentation With Platelet-Rich Fibrin in Combination With Bovine Bone Graft Versus Bovine Bone Graft in Combination With Collagen Membrane. *J Oral Implantol.* 2015;41(5):586–595.

Checchi V, Gasparro R, Pistilli R, Canullo L, Pietro F. Clinical Classification of Bone Augmentation Procedure Failures in the Atrophic Anterior Maxillae: Esthetic Consequences and Treatment Options. *BioMed Research International.* 2019, 1-16. ID 4386709

Chung H, Hong J, Jung G, Pang E. The effect of human freeze dried corticocancellous block onlay graft on bone formation in rat calvarium - *Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2015; 12(2):113-120

Corbella S, Taschieri S, Weinstein R, Del Fabbro M. Histomorphometric outcomes after lateral sinus floor elevation procedure: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2016 Sep;27(9):1106-22.

Dinato, J. C. (2014). *Noções de Prótese sobre Implante.* Artes Médicas Editora.

Hobar P C, Hunt J A, Antrobus S. Assessment of the effects on growth of porous hydroxyapatite granule cranioplasty in the immature guinea pig craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg* 2003 Apr; 111(5):1667-75.

Kazancioglu HO, Tek M, Ezirganli S, Mihmanli A. Comparison of a novel trephine drill with conventional rotary instruments for maxillary sinus floor elevation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013;28(5):1201–1206. doi:10.11607/jomi.2708

OMAGARI ,C.T. et al. Levantamento de Seio Maxilar com Enxertos Revista da Literatura (Monografia) Bauru: APCD regional Bauru, 2005, pp.697-729.

Petrovic V, Zivkovic P, Petrovic D, Stefanovic V. Craniofacial bone tissue engineering. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 Sep;114(3):1-9.

Pires, Bruna Massignani. Avaliação de diferentes técnicas de levantamento de seio maxilar (sinus lift) destinadas a implantodontia : revisão de literatura / Bruna Massignani Pires. – 2012. 24 f. .

Silva Neto J D, Brito R H, Schnaider T B, Engelman M, Gragnani A, Ferreira L M. Cimentos MTA e Portland na reparação de perfurações radiculares. *Acta Cirúrgica Brasileira (Impresso)*. v. 25, p. 479-484-479, 2010.

Silva Neto JD, Schnaider TB, Gragnani A, Paiva AP, Novo NF, Ferreira LM. Portland cement with additives in the repair of furcation perforations in dogs. *Acta Cir Bras*. 2012 Nov;27(11):809-14.

Silva S R, Silva Neto J D, Schnaider T B, Veiga D F, N F, Mesquita Filho M, Ferreira LM. The use of a biocompatible cement in endodontic surgery. A randomized clinical trial 1. *Acta Cirúrgica Brasileira. Clin. Oral Impl. Res*. 21, 2010; 1370–1378.

Silva S R, Silva Neto J D, Veiga D F, Schnaider T B, Ferreira LM. Portland cement versus MTA as a root-end filling material. A pilot study. *Acta Cirúrgica Brasileira (Online)*, v. 30, p. 160-164, 2015.

Silva S R, Zotarelli Filho I J, Silva Neto J D. Incomplete rhizogenesis and necrosis treated with PBS® HP cement synthetic barrier: case report. *JOURNAL OF DENTAL HEALTH, ORAL DISORDERS & THERAPY* , v. 3, p. 205, 2018.

Starch-Jensen T, Schou S. Maxillary Sinus Membrane Elevation With Simultaneous Installation of Implants Without the Use of a Graft Material: A Systematic Review. *Implant Dent*. 2017 Aug;26(4):621-33. [PubMed] [CrossRef]

Tadic, D. & Epple, M. (2004) A thorough physico- chemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials* 25: 987–994.

Taschieri, Silvio et al. “Osteotome-Mediated Sinus Lift without Grafting Material: A Review of Literature and a Technique Proposal.” *International journal of dentistry* (2012).

Tombini, D. (2007). Enxerto ósseo autógeno em seio maxilar é a melhor escolha, Tese de Doutorado. – Academia de Odontologia do Rio de Janeiro.45-49.

Vaidergirin E I L. Características dos cimentos Portland: uma abordagem química. *Tecnologia de Edificações*. São Paulo: Pini, 1988 19-22.

Zerbinatti CC, Veiga DF, Oliveira MAB, Mundim FGL, Pereira RM, Azevedo F, Schnaider TB, Silva Neto JDD. Bioceramic cement in the filling of bone defects in rats. *Acta Cir Bras*. 2019 Aug 19;34(6) 1-7.

Zhu T, Ren H, Li A, Liu B, Cui C, Dong Y, et al. Novel bioactive glass based injectable bone cement with improved osteoinductivity and its in vivo evaluation. *Sci Rep* 2017;7:3622. doi:10.1038/s41598-017-03207-9.

# ANEXOS

## ANEXO 1

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEUA (AUMENTEI A FIGURA)



#### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS PROTOCOLO: 284/18

**TÍTULO:** "Cimento PBS CIMMO versus Enxerto Ósseo Bovino Particulado Bionovation no Preenchimento de seio maxilar em ratos"

**PESQUISADOR:** Jose Roberto Checone Filho  
**Co-orientadores:** Profa. Dra. Jaqueline Joice Muniz;  
Prof. Dr. Jose Dias da Silva Neto

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Vale do Sapucaí, Reunidos em 04 de agosto, após analisar o projeto de pesquisa acima descrito votou por sua **Aprovação**.

O pesquisador deverá apresentar um relatório parcial e outro final do trabalho.

Pouso Alegre, 13 de agosto de 2018.

  
Profª. Dênia Amélia Novato Von Castello Atzingen  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

ANEXO 2 -

TABELA UTILIZADA PELOS PATOLOGISTAS PARA AVALIAR AS LÂMINAS

<b>Pesquisa: JOSÉ ROBERTO CHECONE FILHO</b> <b>Patologista: (1) DRA. FIORITA GONZALES LOPES MUDIM</b> <b>Patologista: (2) DR. ROGÉRIO MENDES GRANDE</b>				
	<b>CARACTERÍSTICAS A SEREM  ANALISADAS/GRAU EM QUE  APARECEM</b>			
Amostra	INFLAMAÇÃO	CÁPSULA FIBROSA	NEOFORMAÇÃO ÓSSEA	
1A	0	0	0	
2A	1	1	1	
3A	2	2	2	
4A	3	2	1	
5A	EXCLUÍDA	-----	-----	N
6A	1	1	1	
7A	EXCLUÍDA	-----	-----	N
8A	1	2	1	
9A	1	2	2	
10A				
11A	EXCLUÍDA	-----	-----	N
12A	1	1	1	
13A	2	1	0	
14A	1	2	0	
15A	1	1	0	
16A	2	2	1	
17A	2	2	2	
18A	0	0	0	
19A	EXCLUÍDA	-----	-----	N
20A	EXCLUÍDA	-----	-----	N
21A	2	2	1	
22A	2	2	1	
23A	2	1	1	
24A	1	0	1	
25A	1	1	1	
1B	0	1	1	
2B	1	2	1	
3B	1	2	1	
4B	1	2	2	

5B	EXCLUÍDA	-----	-----	N
6B	1	2	2	
7B	EXCLUÍDA	-----	-----	N
8B	1	1	1	
9B	1	2	1	
10B	2	1	1	
11B	EXCLUÍDA	-----	-----	N
12B	2	2	1	
13B	1	2	2	
14B	1	2	1	
15B	1	2	2	
16B	1	2	2	
17B	1	2	2	
18B	2	2	2	
19B	EXCLUÍDA	-----	-----	N
20B	EXCLUÍDA	-----	-----	N
21B	1	2	2	
22B	2	2	2	
23B	2	2	2	
24B	1	1	2	
25B	1	2	1	

**\* Utilizar-se-á os seguintes critérios para avaliação histológica:**

**Inflamação:** (0) = ausente (quando há ausência de leucócitos de fase crônica); (1) = discreta (devido à existência de esparsos leucócitos de fase crônica; (2) = moderada (devido à existência de alguns leucócitos de fase crônica) e (3) = abundante (devido à existência de frequentes leucócitos de fase crônica).

**Formação de tecido conjuntivo fibroso:** (0) = ausente; (1) = presente em algumas regiões e (2) = presente ao redor de todo tecido ósseo neoformado.

**Avaliação da neoformação óssea nos defeitos criados:** (0) = ausente; (1) = incompleta (formação de um tecido ósseo imaturo, rico em osteócitos); e (2) = completa (formação de um tecido ósseo estruturado, do tipo lamelar, na região) e N = SEM LÂMINA

## **NORMAS ADOTADAS**

MPCAS – Normas para Elaboração e Formação do Trabalho de Conclusão de Curso. Univas.  
Disponível em: <http://www.univas.edu.br/mpcas/docs/normas.pdf>.

## **FONTES CONSULTADAS**

DeCS - Descritores em Ciências da Saúde. Disponível em: <http://www.decs.bvs.br>.

ICMJE – International Committee of Medical Journal Editor Standard. Disponível em:

<http://www.icmje.org/>