UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA
GILBERTO CUNHA DE SOUSA FILHO

# EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR NA REGENERAÇÃO ALVEOLAR DE INCISIVOS DE COELHOS

RECIFE
2014

GILBERTO CUNHA DE SOUSA FILHO

# EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR NA REGENERAÇÃO ALVEOLAR DE INCISIVOS DE COELHOS

Tese apresentada ao Colegiado da Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profª. Drª. Liriane Baratella Evêncio Depto. Histologia e Embriologia CCB / UFPE

Co-orientador: Prof. Dr. Renato Dornelas Camara Neto Depto. Cirurgia CCS / UFPE

RECIFE

2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária Mônica Uchôa, CRB4-1010

S725e Sousa Filho, Gilberto Cunha de.
Efeito da utilização do biopolímero da cana-de-açúcar na regeneração alveolar de incisivos de coelhos / Gilberto Cunha de Sousa Filho. – Recife: O autor, 2014.
121 f.: il.; 30 cm.

Orientadora: Liriane Baratella Evêncio.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Pós-graduação em Odontologia, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Osso. 2. Exodontia. 3. Coelhos. 4. Histologia. 5. Radiografia. I. Evêncio, Liriane Baratella (Orientadora). II. Titulo.

617.6 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2014-233)

**ATA DA VIGÉSSIMA SEGUNDA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAUDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.**

Às 09(nove) horas do dia 30( trinta) do mês de julho do ano de 2014(dois mil e quatorze), reuniram-se em caráter de Solenidade Pública, a Comissão Examinadora para avaliar o trabalho do Doutorando GILBERTO CUNHA DE SOUZA FILHO , candidato ao grau de Doutor em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada, os membros da banca Examinadora, composta pelos professores: Profa.Dra. LIRIANE BARATELLA EVENCIO, da Universidade Federal da Pernambuco, atuando como Presidente, Prof. Dr. BELMIRO CAVALCANTI DO EGITO VASCONCELOS, da Universidade de Pernambuco como primeiro examinador, Prof. Dr. ETENILDO DANTAS CABRAL , da Universidade Federal de Pernambuco, como segundo examinador, Profa, Dra JULIANA PINTO DE MEDEIROS, da Universidade Federal de Pernambuco, como terceiro examinador, Profa. Dra. FLAVIA MARIA DE MORAES RAMOS PEREZ , da Universidade Federal de Pernambuco, como quarto examinador. A sessão foi aberta pela Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVENCIO, Membro permanente do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, fez as apresentações e compôs a Banca Examinadora, agradeceu a presença de todos. Iniciando convidou o Doutorando **GILBERTO CUNHA DE SOUZA FILHO,** sob a orientação da Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVENCIO, e Co-orientado pelo Prof. Dr. RENATO DORNELAS CAMARA NETO , sendo comunicado que conforme consta das normas o candidato teria trinta minutos para exposição. O doutorando iniciou a apresentação do seu trabalho intitulado: **"EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇUCAR NA REGENERAÇÃO ALVEOLAR DE INCISIVOS DE COELHOS".** Concluída a apresentação, a Banca Examinadora compôs a mesa e foi dado início a arguição. Ao término das arguições os examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram ao candidato os seguintes conceitos: Prof. Dr. BELMIRO CAVALCANTI DO EGITO VASCONCELOS **,(APROVADO)** Prof. Dr. ETENILDO DANTAS CABRAL, **(APROVADO)** Profa. Dra. JULIANA PINTO DE MEDEIROS, **(APROVADO)** , Profa. Dra. FLAVIA MARIA DE MORAES RAMOS PEREZ, **(APROVADO)** Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVENCIO, **(APROVADO),** o candidato recebeu por unanimidade o conceito **(APROVADO)** é considerado **,(APROVADO),** devendo o mesmo acatar as sugestões da Banca Examinadora, face a aprovação, fica o candidato, apto a receber o Grau de Doutor em Odontologia desde de que tenha cumprido as exigências estabelecidas de acordo com o Regimento Interno do curso, cabendo a Universidade Federal de Pernambuco através de sua Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, a presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar foi lavrada a presente ata que vai por mim assinada, Oziclere Sena de Araujo e pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo recém formado Doutor pela UFPE. **GILBERTO CUNHA DE SOUZA FILHO .**

**Recife, 30 de julho de 2014.**

Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVENCIO
(Presidente)

Prof. Dr. BELMIRO CAVALCANTI DO EGITO VASCONCELOS
(1° Examinador)

Doutorando:

Prof. Dr. ETENILDO DANTAS CABRAL
(2° Examinador)

Profa, Dra. JULIANA PINTO DE MEDEIROS
(3° Examinador)

Profa. Dra. FLAVIA MARIA DE MORAES RAMOS PEREZ
(4° Examinador)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR DE PESQUISA

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa.Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA
COLEGIADO
MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho
Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes
Prof.Dr. Arnaldo de França Caldas Junior
Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar
Prof.Dr. Danyel Elias da Cruz Perez
Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues de Almeida
Profa.Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez
Prof. Dr. Jair Carneiro Leão
Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro
Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Prof.Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros
Prof.Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual
Prof.Dr. Paulo Sávio Angeiras Goes
Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira
Profa.Dra. Silvia Regina Jamelli
Prof.Dra. Simone Guimaraes Farias Gomes
Prof.Dr. Tibério César Uchoa Matheus
MEMBRO COLABORADOR
Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva
Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETARIA
Oziclere Sena de Araújo

## DEDICATÓRIA

À Deus, sempre.

Aos meus Pais, **Regina Dornelas Câmara de Sousa** e **Gilberto Cunha de Sousa**, minhas fontes de inspiração pessoal e profissional.

À minha esposa, e futura colega de profissão, **Priscilla Cristina Assis de Araújo**, pelo carinho e compreensão.

Aos amigos.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha Orientadora, Professora **Liriane Baratella Evêncio**, pela paciência e confiança em todo o projeto e na execução do mesmo.

Ao Professor **Renato Dornelas Câmara Neto**, meu Co-orientador e tio, pelo apoio, clareza nas orientações e força nos momentos mais difíceis.

Ao Amigo e Professor **Alexsandre Bezerra Cavalcante** pela contribuição nos procedimentos cirúrgicos.

À Professora **Flávia Maria de Moraes Ramos-Perez** pela contribuição nos processamentos radiográficos.

Ao Professor **Danyel Elias da Cruz Perez** pelos diagnósticos histológicos, captura de imagens e esclarecimentos.

À Doutoranda **Priscylla Correia** pela ajuda nas preparações histológicas e radiográficas.

À técnica de laboratório do Departamento de Cirurgia/UFPE **Maria Auxiliadora Farias Silva** pelo suporte técnico nas cirurgias.

Ao Prestador de serviços do Departamento de Cirurgia/UFPE **Paulo Antônio Barbosa** pelo cuidado das amostras no biotério.

À Drª. **Adriana Ferreira Cruz** pela contribuição como Médica Veterinária do Departamento de Cirurgia/UFPE.

À técnica de laboratório do Departamento de Patologia/UFPE **Silvania Tavares Paz** pela contribuição nos processos histológicos.

Ao técnico de laboratório do Departamento de Cirurgia/UFPE **Francisco Luís Almeida Paes** pela contribuição nos processos histológicos.

Ao Engenheiro e Irmão **Felipe Dornelas Câmara Cunha de Sousa** pela contribuição estatística.

## AGRADECIMENTOS

Ao Reitor da Universidade Federal de Pernambuco **Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado.**

Ao Vice-Reitor da Universidade Federal de Pernambuco **Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros.**

Ao Pró-Reitor de Pesquisa **Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos.**

Ao Diretor do Centro de Ciências da Saúde **Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho.**

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia **Profª. Drª. Alessandra Albuquerque T. Carvalho.**

À **Profª. Drª. Jurema Freire Lisboa de Castro,** ex-coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

A todos os **Professores do Doutorado** pelo aprendizado.

Ao Chefe de Departamento de Anatomia Prof. Dr. **Adelmar Afonso de Amorim Júnior.**

Aos **Funcionários da Pós-Graduação em Odontologia** da Universidade Federal de Pernambuco.

**Àqueles** que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

“Eu tenho uma
visão de muitas
coisas por vir,
um modo de
apagar os erros
que eu tenha
previamente
feito, e um
tempo aonde o
homem se
encontra com o
outro sem
raiva, mas com
um sorriso”.

Jason Thirsk / Jim Lindemberg

SUMÁRIO


| | | |
|---|---|---|
| 1. | INTRODUÇÃO | 17 |
| 2. | OBJETIVOS | 21 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 21 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 21 |
| 3. | MÉTODOS | 22 |
| 4. | REVISÃO DA LITERATURA | 33 |
| 4.1 | CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO TECIDO ÓSSEO E DO ALVÉOLO DENTAL | 33 |
| 4.2 | MATERIAIS EMPREGADOS EM REPARAÇÕES ÓSSEAS | 36 |
| 4.3 | HISTÓRICO DO USO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR (BPCA) | 42 |
| 4.4 | AVALIAÇÕES RADIOGRÁFICAS DO TECIDO ÓSSEO QUANDO DA UTILIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS OSTEOINDUTORAS E OSTEOCONDUTORAS | 47 |
| 5. | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 49 |
| REFERÊNCIAS | | 50 |
| APÊNDICE | | 61 |
| PROTOCOLO CIRÚRGICO EXODÔNTICO EM COELHOS SUBMETIDOS À AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO ALVÉOLO-DENTÁRIA APÓS APLICAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR | | 61 |
| REPARAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR DE INCISIVOS DE COELHOS TRATADOS COM O BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR: ESTUDO RADIOGRÁFICO E HISTOMORFOMÉTRICO | | 71 |
| ANEXOS | | 101 |
| ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL | | 101 |
| ANEXO B – NORMAS DO PERIÓDICO PARA O ARTIGO 1 | | 102 |
| ANEXO C – NORMAS DO PERIÓDICO PARA O ARTIGO 2 | | 110 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

BMPs – Proteínas ósseas morfogenéticas

BPCA – Biopolímero da Cana-de-Açúcar

Ca – Cálcio

CAP – Planimetria assistida por computador

CBMFs – Cirurgiões Buco-Maxilo-Faciais

CCS – Centro de Ciências da Saúde

CGCE – Célula gigante de corpo estranho

cm – Centímetro

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EUA – Estados Unidos da América

g – Grama

H.A. – Hidroxiapatita

HCl – Ácido clorídrico

im – Intramuscular

iv – intravenosa

JPEG – Joint Photographics Experts Group

Kg – Kilograma

kVp – Kilovoltagem Pico

L – Litro

mA – Miliamperagem

mg – Miligrama

ml – Mililitros

mm – Milímetro

mmAl – Milímetro de Alumínio

µg – Micrograma

NaCl – Cloreto de Sódio

NCE – Núcleo de Cirurgia Experimental

PDGF - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

pH – Potencial Hidrogeniônico

ROI – Região de interesse

ROA – Região de análise

SP – São Paulo

sp – Species

TGF-β - Fator Transformador de Crescimento

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** – Coelho estabilizado na mesa cirúrgica para realização da exodontia 23

**Figura 3** – Uso de elevadores modificados durante o procedimento operatório**24** 24

**Figura 2 – Movimento curvilíneo para exodontia do incisivo inferior direito**

**Figura 4** – Sutura dos bordos da ferida cirurgiada 25

**Figura 5** – Remoção da amostra a ser estudada por secção em bloco da mandíbula 26

**Figura 6** – Seleção da área mensurada 28

**Figura 7** – Histograma da área selecionada 28

**Figura 8** - Fotomicrografia de porção alveolar de coelhos aos 60 dias pós-exodontia mostrando a área de estudo. Observar em A: tábua óssea superior, em B: região central do alvéolo, em C: tábua óssea inferior. Coloração em HE. 30

## RESUMO

O biopolímero da cana-de-açúcar é um produto extraído da síntese bacteriana através da *Zoogloea sp.*, a partir do melaço de cana-de-açúcar, que apresenta características cicatrizantes em feridas cutâneas, porém nada tem sido descrito na reparação alveolar pós-cirúrgica em procedimentos que envolvem exodontias. Este trabalho se propõe a avaliar a ação deste biopolímero individualmente e associado à hidroxiapatita na reparação óssea alveolar por meio da determinação da radiopacidade e pela análise histomorfométrica, descrevendo um protocolo cirúrgico para exodontias em coelhos. Para tal, foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia distribuídos em três grupos : Grupo I (n=10) tratado com biopolímero da cana-de-açúcar após exodontia; Grupo II (n=10) tratado com biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita após a exodontia e Grupo III (n=10), grupo controle, com realização de exodontia e sem tratamento. O período de avaliação foi de 60 dias após a cirurgia, sendo realizado análise da radiopacidade feita através de radiografias digitais e estudo histomorfométrico da espessura das tábuas ósseas superior, inferior e da região central do alvéolo .As análises da radiopacidade e histomorfométrica não demonstraram diferenças significativas entre os grupos.

Pôde-se ver que o uso da técnica proposta foi favorável em todos os procedimentos cirúrgicos, devido à metodologia desde a execução das manobras cirúrgicas à inserção de substâncias, sem causar alterações nos

tecidos, que poderiam promover alterações no período de cicatrização. O biopolímero da cana-de-açúcar mostrou-se biocompatível, porém, não promoveu fechamento total da loja cirúrgica, onde o trabeculado ósseo circunscreveu os limites da esponja, não ocorrendo ossificação no seu interior. Porém, constatou-se que havia formação inicial de espículas ósseas no interior da esponja quando impregnada com hidroxiapatita. Assim, este biopolímero não impede a reparação óssea, porém a ação como veículo na reparação ocorre somente quando associado a outros materiais osteocondutores.

**Palavras-chave:** Osso; Exodontia; Coelhos; Histologia; Radiografia.

## ABSTRACT

The biopolymer of cane sugar is a product extracted from bacterial synthesis by Zoogloea sp., however nothing has been described in alveolar post-surgical procedures that involved dental extractions. This study aims to evaluate the action of this biopolymer taken individually and in combination with hydroxyapatite on alveolar bone repair by determination of radiopacity and by histomorphometric analysis, describing a surgical protocol of dental extractions in rabbits. In this research were used 30 rabbits (Oryctolagus cuniculus) of New Zealand race, with an average weight of 3.0 kg, distributed in three experimental groups, i.e. Group I (n = 10) with the lower right incisor dental extraction and treated with biopolymer of cane sugar, Group II (n = 10) with the lower right incisor dental extraction and treated with biopolymer of cane sugar, associated with hydroxyapatite and Group III (n = 10), the control group, with the lower right incisor dental extraction with just achievement of suture. The trial period was 60 days after surgery, with the analysis of radiopacity made using digital x-rays and histomorphometric study of the thickness of the bone plates of upper, lower and central alveolus region, using the average value of the pixels in the images. The removal of the rabbit's incisor tooth required special care, because it was bent on the entire length of its alveolus, therefore, it was necessary for the extraction to be done in an upward curvilinear movement during the seizure of the dental crown by forceps, allowing the tooth to be avulsed without complications of fracture at its root, with use of forceps and elevators adapted for this purpose. In the analysis of the radiographic data the average values of the pixel of 128.8, 128.1 and 124.0 for Groups I, II and III respectively were observed, and no significant differences between the same

were displayed. Histomorphometric bone formation showed no statistically significant difference between the groups, with the highest average in Group III, and the lowest in Group I. It could be seen that the use of the technique proposed was favourable in all surgical procedures, due to methodology since the implementation of the surgical insertion maneuvers in insertion of substances, without causing changes in tissues, which could promote changes in the healing period. The biopolymer from cane sugar has proven biocompatible, however, it did not promote total closure of surgical cavity, where the trabecular bone circumscribed the limits of sponge, with no ossification occurring therein. However, it was noted that there was initial formation of bone spicules within the sponge when impregnated with hydroxyapatite. Therefore, this biopolymer does not prevent the bone repair, however it acts as a repair vehicle only when combined with other osteoconductive materials.

**Key-words:** Bone; Dental Extraction; Rabbits; Histology; X-ray.

## 1. INTRODUÇÃO

O biopolímero da cana-de-açúcar (BPCA) foi sintetizado inicialmente na estação experimental da cana de açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, a partir de 1990. Em 2001 iniciou-se, no Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, uma série de ensaios químicos com o objetivo de adequar o biopolímero, em estado de pureza, para diversas aplicações cirúrgicas.

Este biopolímero apresenta, na sua fração solúvel como principais monossacarídeos, a glicose (87,6%), a xilose (8,6%), a manose (0,8%), a ribose (1,7%), a galactose (0,1%), a arabinose (0,4%) e o ácido glucurônico1717 (0,8%), sendo liberados gradualmente de acordo com o exsudado da ferida, auxiliando no tratamento de feridas infectadas ou não pelo efeito bactericida ou bacteriostático atribuído (PETERSON-BLEEDLE et al, 2000). Este composto favorece a oferta de nutrientes às células lesadas, contribuindo com a diminuição do edema local pela ação liposcópica, estimulando a formação de macrófagos e a formação rápida de tecido de granulação (MENEZES JÚNIOR et al, 2009), o que leva a uma redução na congestão vascular dos tecidos lesados, melhorando a oxigenação e irrigação local (PETERSON-BLEEDLE et al, 2000).

Constituído de açúcares, o biopolímero da cana-de-açúcar forma uma película estável, a qual quando em contato com os fluidos de uma ferida, libera uma quantidade de açúcar capaz de concentrar o meio e ocasionar uma hiperosmolaridade (TOWNSEND et al, 2005), que apesar de irritante é um fator positivo para o processo cicatricial por estimular granulação, segundo YEH et al

(2010). Sua aplicação clínica em estudo experimental, quando utilizando membranas como curativos em feridas acidentais em cães, não apresentou toxicidade, aumentando o tecido de granulação, controlando assim a infecção e diminuindo o tempo de cicatrização (COELHO et al, 2002). Os reparos ósseos em alvéolos dentários é objeto de estudo em várias pesquisas que envolvem técnicas para execução de reabilitações orais, onde se tenta chegar a um material que apresente características biocompatíveis com os tecidos da cavidade bucal e que promova ou retarde a perda óssea pós-exodontias ou defeitos ósseas provocados por traumas. Portanto, investigar a biocompatibilidade deste biopolímero em cirurgias intra-orais e a predisposição de reparo ósseo quando da sua utilização faz-se necessário.

O princípio da técnica exodôntica, resultante da exérese do elemento dentário indicado para tal procedimento, é comum na prática cirúrgica do sistema estomatgnático. Em coelhos, geralmente, segue-se a execução da técnica primeira da exodontia, promovendo a avulsão dental com uso de fórceps.

A remoção do dente incisivo do coelho requer um cuidado especial, porque ele apresenta-se curvado em toda a extensão do seu alvéolo. Assim, para realizar a extração é necessário ser feito um movimento ascendente curvilíneo durante a apreensão da coroa dental pelo fórceps, permitindo que o dente seja avulsionado sem intercorrências de fratura em sua raiz.

A cicatrização, sendo um processo no qual um tecido, quando injuriado, é substituído por um tecido conjuntivo vascularizado, ocorre devido a vários fatores, induzidos ou não, e está diretamente relacionado à instalação de um

processo inflamatório, onde o exsudato de células fagocitárias de defesa reabsorve o coágulo extravasado e os produtos da destruição tecidual (BRASILEIRO FILHO, 1994). Assim, a proliferação fibroblástica e endotelial é responsável pela formação do tecido conjuntivo cicatricial.

Ao término desta fase fagocitária, ainda no processo inflamatório, há, segundo CARDOSO JORGE (2007), a ocorrência de morte intracelular de microorganismos, por alteração do pH através da produção de ácido lático, pela produção de peróxido de hidrogênio e pela presença de componentes antimicrobianos dos lisossomos, fato este que acarreta a acidez no meio e dificulta a resposta tecidual para o início da cicatrização. Este retardo na cicatrização do tecido, decorrente da diminuição do pH no meio da lesão, interfere diretamente no processo de síntese do colágeno, ou seja, no tecido de granulação, podendo aumentar o tempo para a cicatrização. Um fator importante para a formação do tecido cicatricial é a oxigenação, pois o oxigênio é essencial para a síntese de colágeno.

Uma vez estabelecida à cicatrização, a regeneração alveolar poderá ocorrer à custa de fatores de crescimento derivados do coágulo sanguíneo, tais como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator transformador de crescimento (TGF-β), pois segundo Calixto et al (2001), em análises in vitro, descreveram que os fibroblastos originados do ligamento periodontal expressam receptores para o PDGF e apresentam forte resposta mitogênica e quimiotáxica a este fator, enquanto o TGF-β inibe a proliferação de fibroblastos, mas estimula a formação de osso imaturo.

Assim, a busca por um material biocompatível e eficaz no processo de

cicatrização que envolva a reparação óssea em alvéolos dentários é motivo de estudos e pesquisas, que traz neste trabalho com o biopolímero da cana-de-açúcar respostas quanto ao seu desempenho.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a utilização do biopolímero da cana-de-açúcar em sua forma pura e associado à hidroxiapatita na regeneração alveolar de incisivos de coelhos.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever um protocolo cirúrgico para exodontias em incisivos de coelhos;
- Mensurar a radiopacidade do processo alveolar de incisivo inferior direito de coelhos após a exérese quando tratados com biopolímero de cana-de-açúcar e com biopolímero de cana-de açúcar associado a hidroxiapatita.
- Estudar histomorfometricamente o reparo ósseo alveolar de incisivo inferior direito de coelhos após a exérese quando tratados com biopolímero de cana-de-açúcar e com biopolímero de cana-de açúcar associado à hidroxiapatita.

## 3. MÉTODOS

### Considerações éticas

Esta pesquisa foi realizada segundo os critérios exigidos pelo código de ética em experimentação animal, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob o número do processo 23076.040668/2011-72.

### Amostra

Foram utilizados 30 coelhos (Oryctolagus cuniculus) da raça Nova Zelândia, sadios e adultos e com peso médio de 3,0kg. Estes animais foram vermifugados com Ivermectina (Vetbrands, Paulina, São Paulo) e mantidos no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, acondicionados em gaiolas apropriadas (Marca Beiramar, modelo GC120Z, com 50x50x50 cm e bebedouro lateral de 70 ml) para cada animal e alimentados com ração adotada no biotério (Purina/Evialis®) do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) e água ad libitum.

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais. Grupo I (n=10), sendo realizada exodontia do incisivo inferior direito, seguida da inserção imediata do biopolímero da cana-de-açúcar no alvéolo e sutura das bordas da ferida com fio vicryl 5.0 (Ethicon®, São Paulo - SP, Brasil). Grupo II (n=10) realização da exodontia do incisivo inferior direito, seguida da inserção imediata de biopolímero da cana de açúcar associado à hidroxiapatita no alvéolo e sutura das bordas da ferida com fio vicryl 5.0

(Ethicon®, São Paulo - SP, Brasil). Grupo III (n=10), grupo controle, no qual foi realizada somente a exodontia do incisivo inferior direito e sutura imediata das bordas da ferida com fio vicryl 5.0 (Ethicon®, São Paulo - SP, Brasil).

**Procedimentos cirúrgicos**

Todos os animais foram previamente pesados e anestesiados. Dez minutos antes da cirurgia, foi administrada, via intramuscular, Atropina (0,004mg/Kg) (Allergan® São Paulo – SP, Brasil). Posteriormente foram administrados, 1 ml de cloridrato de xylazina a 2% (20mg/ml) (Rompum, Bayer® , São Paulo – SP, Brasil) e 1ml de ketamina (50mg/ml) (Paerke-Davis®, Michigan, Detroit, USA), também por via intramuscular. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos e foi considerado anestesiado o animal com respiração regular e ausência de reflexos a estímulos. Os animais foram fixados à mesa cirúrgica através de suas patas para que se evitassem movimentos reflexos involuntários (figura 1). Foi administrada Eurofloxacina 8mg/Kg (Flotril 2,5%, Laboratório Schering Brasil) via intramuscular antes do procedimento cirúrgico

Figura 1 – Fotografia mostrando o coelho posicionado na mesa cirúrgica para realização da exodontia.

A extração de incisivos inferiores direitos foi realizada utilizando-se fórceps pediátricos nº151 (Goldgran®), pela técnica primeira procedendo-se um movimento curvilíneo na área de fulcro para evitar fraturas ao longo de sua raiz (figura 2), a qual se apresentou com formato curvo ao longo de seu comprimento. Quando necessário, fez-se uso de elevadores modificados, tipo Seldin (Quinelato) quando da fratura da coroa dentária durante sua apreensão para a extração dentária. Neste caso, foram realizados movimentos com apoio no incisivo inferior esquerdo, para ruptura das fibras gengivais e periodontais, permitindo a exposição do remanescente fraturado. Depois do dente extraído, os rebordos gengivais da região cirurgiada foram suturados com fio de Vicryl 5,0 (Ethicon®), (figura 4).

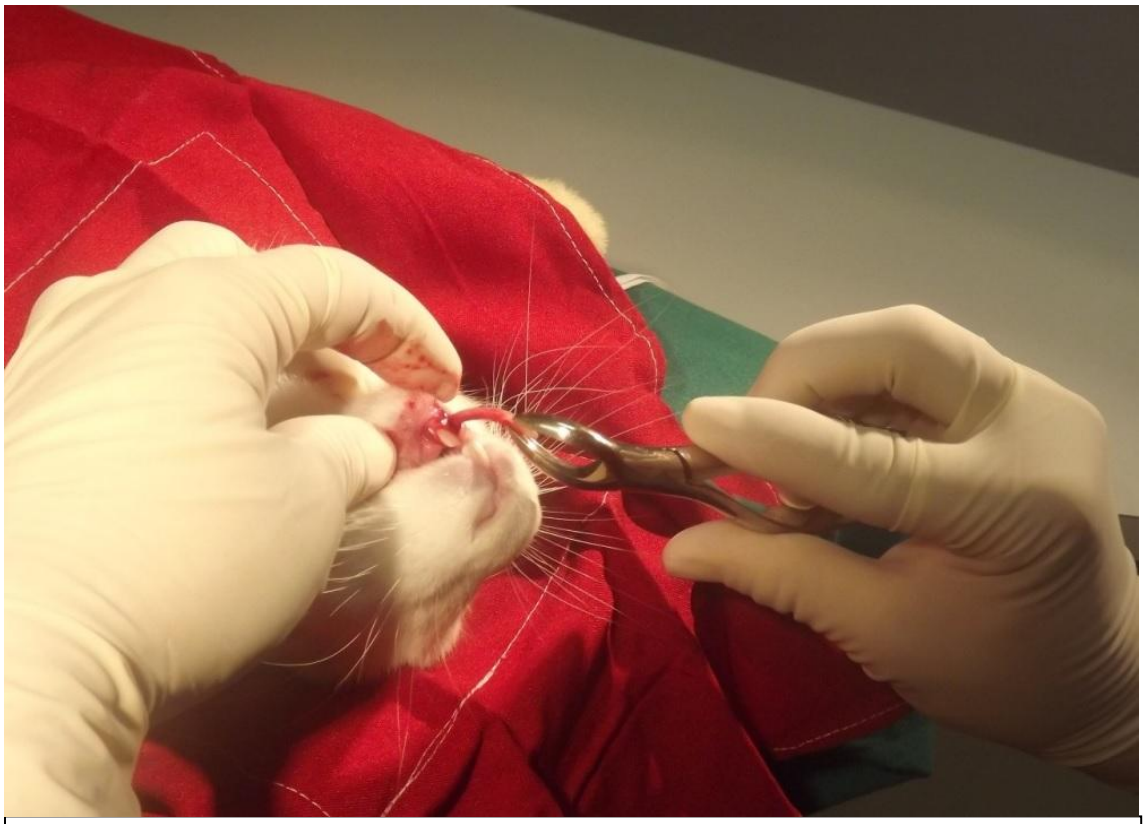

Figura 2 – Fotografia evidenciando formato anatômico da raiz do incisivo inferior direito, o que exigiu movimento curvilíneo para sua avulsão.

Figura 3 – Uso de elevadores modificados durante o procedimento operatório

Figura 4 – Fotografia mostrando procedimento de sutura dos rebordos da ferida cirúrgica.

Sessenta dias após a exodontia os animais foram anestesiados obedecendo o mesmo procedimento descrito anteriormente e a seguir, perfundidos com formoldeído a 10%, por via intravascular através da artéria aorta ascendente. Para remoção da amostra a ser estudada, foi feita uma secção em bloco da mandíbula onde continha o alvéolo, com o uso de uma broca cilíndrica Carbide (JET®, Morrisburg, Canadá) de 56 mm de comprimento, montada em motor elétrico cirúrgico (Beltec® – LB 100, Araraquara, São Paulo, Brasil), sob abundante irrigação com soro fisiológico (NaCl a 0,9%) (figura 5). A seguir, foram fixadas em formol 10% por um período de 72 horas a temperatura ambiente.

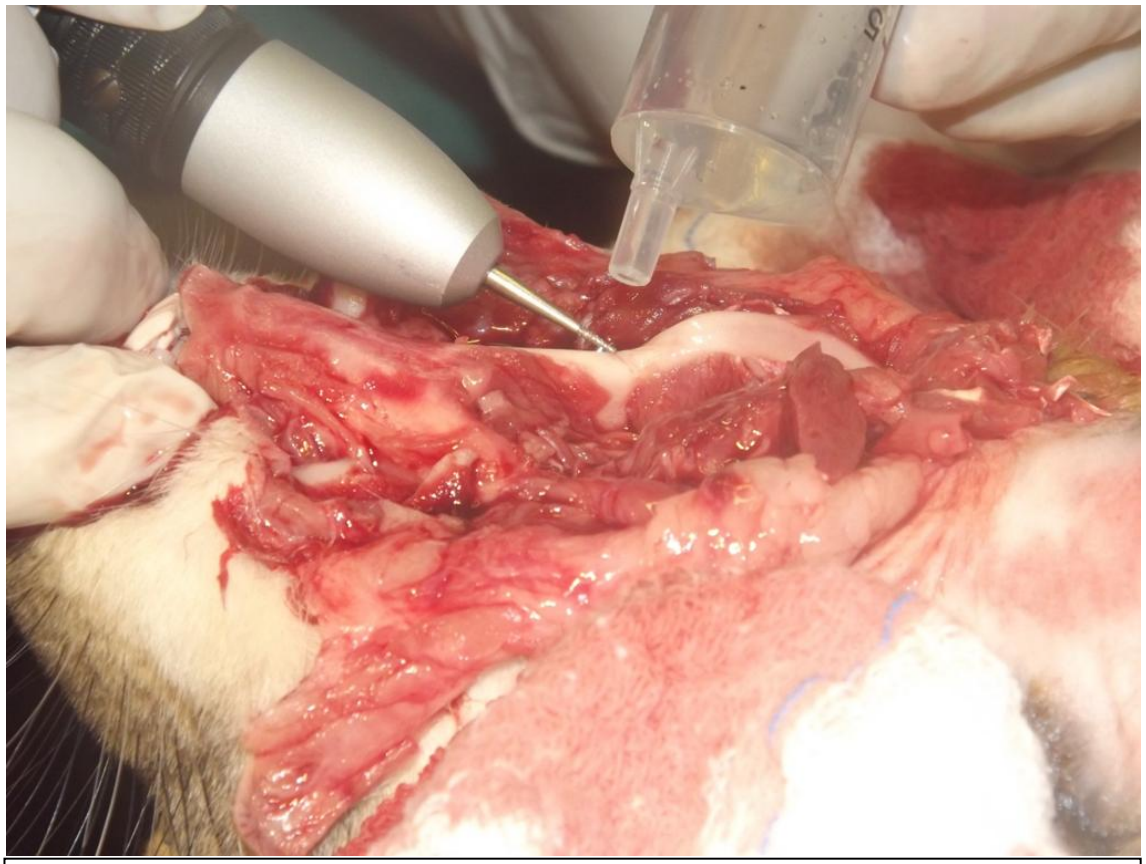

Figura 5 – Fotografia mostrando procedimento de coleta da amostra a ser estudada por secção em bloco da mandíbula.

**Avaliação da radiopacidade**

Para avaliação da radiopacidade, foi realizada radiografia digital utilizando o aparelho de raios-X Spectro 1070 (Dabi Atlante®, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), operando a 70kVp e 10mA e placas de fósforo Digora Optime® (Soredex, Helsinki, Finlândia). No total foram adquiridas 30 imagens, sendo 10 de cada grupo. O tempo de exposição foi padronizado em 0,3 segundos. A placa de fósforo contendo o espécime, o penetrômetro de alumínio, com 8 degraus (sendo o primeiro degrau com 1mm e os demais com incrementos de 1mm sucessivamente) e o bloco de chumbo foram posicionados em uma plataforma de acrílico, com distância foco-placa padronizada em 30 centímetros. Foi realizada a leitura da placa de fósforo em

scanner próprio do sistema Digora Optime® (Soredex, Helsinki, Finlândia) em resolução de 8 bits para quantificação de cinza e as imagens adquiridas foram salvas em JPEG e importadas para o software ImageJ software (versão 1,33 μ, Instituto Nacional de Saúde, Washington, DC). As mensurações foram realizadas por um único examinador previamente calibrado. A região de interesse foi delimitada utilizando uma ferramenta de seleção poligonal (figura 6), e posteriormente foi mensurado o valor médio do pixel (figura 7) pelo histograma, considerando que o valor do pixel igual à zero corresponde a preto e o valor de pixel de 255 ao branco. Foi realizada também a mensuração do valor médio do pixel correspondente a cada degrau do penetrômetro de alumínio. Para cada amostra foi confeccionada uma curva através de um gráfico de dispersão, onde continham os valores médios de pixel da amostra correspondente equivalente em mmAl. A equação matemática foi escolhida de acordo com o valor da média obtido no gráfico de dispersão. Deste modo, foram obtidos os valores de densidade do alvéolo em valores equivalentes em milímetros de Alumínio (mmAl).

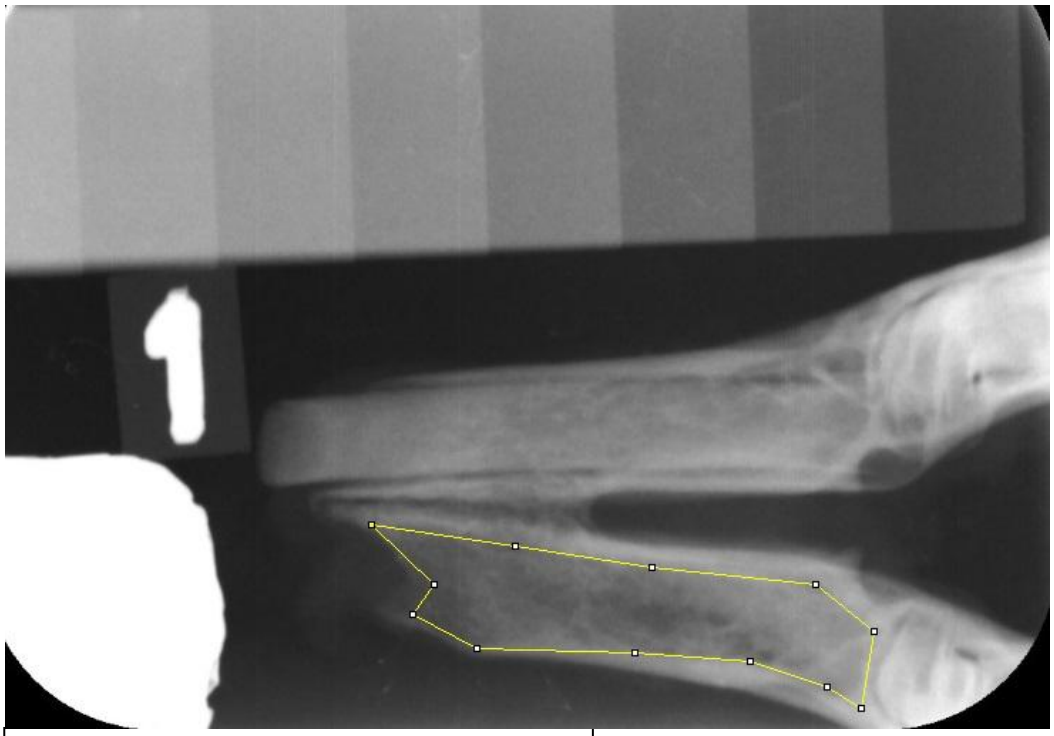

Figura 6 - Seleção da área mensurada

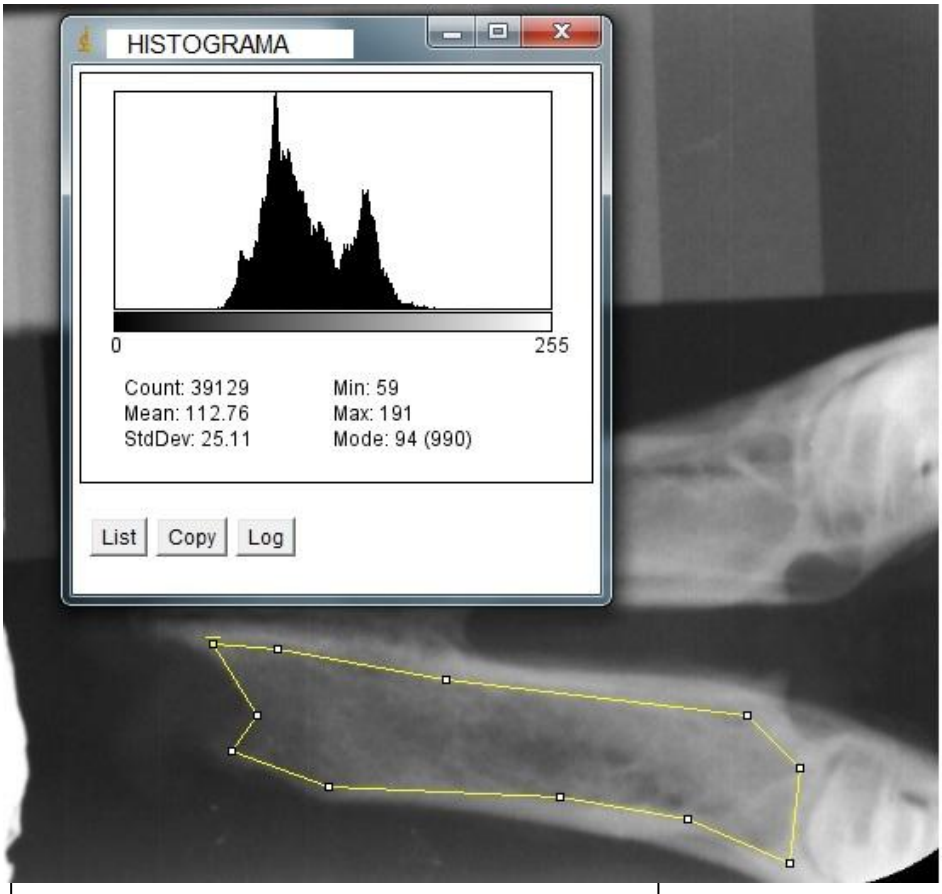


Figura 7 - Histograma da área selecionada

**Estudo histomorfométrico**

Para o processamento histológico, após a fixação em formol a 10%, as amostras foram descalcificadas em Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA) a 4% associado a hidróxido de sódio também a 4% para tamponamento e neutralização do pH, durante 17 dias, com duas trocas diárias. Em seguida foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e processadas convencionalmente para microscopia de luz (Faria et al, 2010). Os espécimes foram emblocados em parafina histológica, seccionados em micrótomo (LEICA®-RM2125RT), com espessura aproximada de 5µm, corados pela hematoxilina-eosina, montados em Entellan®, observados e escaneados pelo Pannoramic Viewer 1.15.3 software (3DHISTECH, Budapest, Hungary).

A área de estudo foi subdividida em três regiões para análise histométrica, com dimensões apresentando largura de 975 pixels, altura de 612 pixels e intensidade de bits de 24, que envolviam sagitalmente, a tábua óssea superior (A), a região central do alvéolo (B) e a tábua óssea inferior (C), num mesmo plano (figura 8).

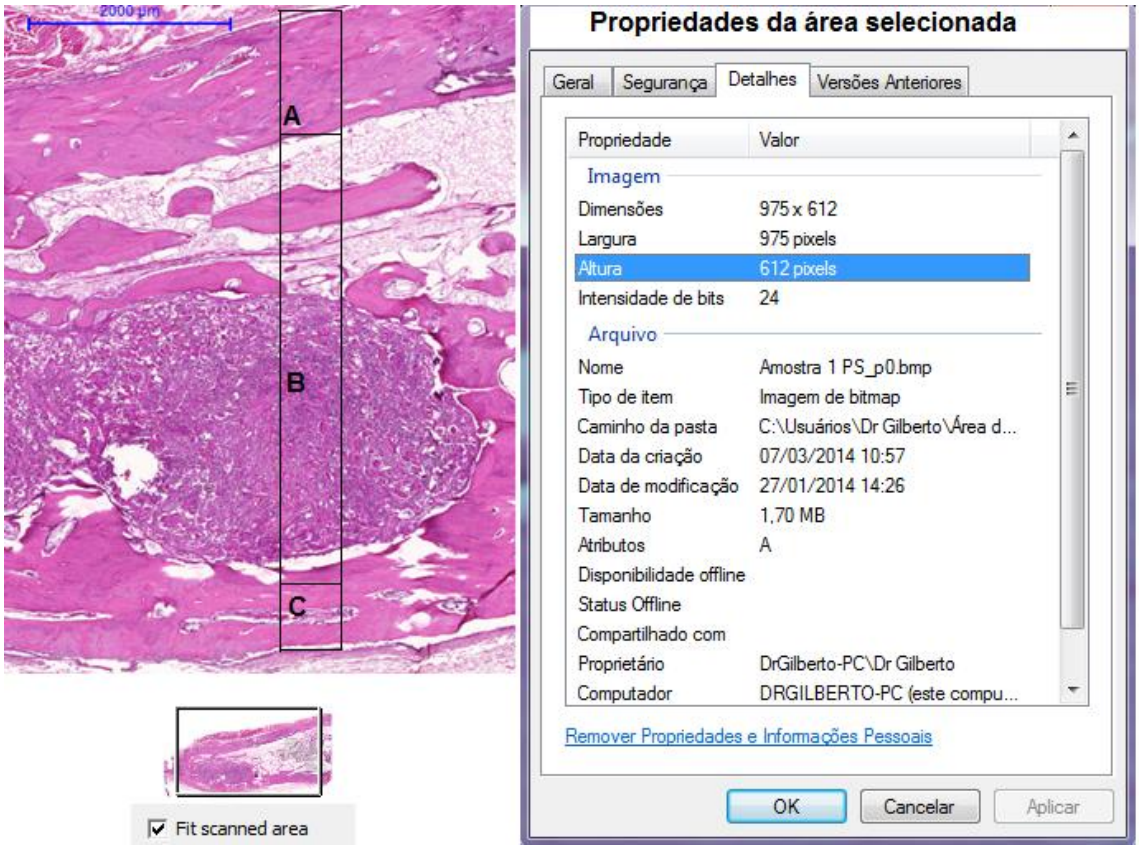


Figura 8 – Fotomicrografia de porção alveolar de coelhos aos 60 dias pós-exodontia mostrando a área de estudo. Observar em A: tábua óssea superior, em B: região central do alvéolo, em C: tábua óssea inferior. Coloração em HE.

As áreas selecionadas foram submetidas à análise usando o software Gimp 2.8 (GNU, Image Manipulation Program, CNET Networks Inc.) com o qual as imagens foram segmentadas por cor, determinando-se a contagem de pixels para a coloração da matriz óssea. A região de interesse foi delimitada, selecionando cada secção especificada (A, B ou C) do alvéolo tratado, mensurando-se os valores totais de pixels para tecido ósseo por área.

**Análise estatística**

Os grupos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, com seus dados tabulados no programa do software estatístico Minitab 16.0 (Minitab®, USA). Foi utilizado o teste não paramétrico de normalidade de Anderson-Darling, com nível de significância de 5% (alfa de 0,05).

# 4. REVISÃO DA LITERATURA

## 4.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO PROCESSO DE REPARAÇÃO ALVEOLAR ÓSSEA APÓS EXODÔNTIA

Para CARVALHO & OKAMOTO (1987) a proliferação celular (1ª fase) representa a invasão do coágulo sanguíneo por células inflamatórias e por fibroblastos, originados por mitose ou diferenciação de células adventícias presentes nos remanescentes do ligamento periodontal. Ao mesmo tempo, células dão origem a novos capilares. O desenvolvimento do tecido conjuntivo (2ª fase) inicia-se com a presença de uma grande quantidade de capilares neoformados e células, principalmente fibroblastos, responsáveis pela síntese de fibras colágenas e substância fundamental amorfa. Já a maturação do tecido conjuntivo (3ª fase), ocorre à medida que aumenta a quantidade de fibras colágenas e diminui o número de células e vasos sanguíneos. Por fim, na diferenciação óssea ou mineralização (4ª fase), onde as células osteoprogenitoras, localizadas nas proximidades das paredes alveolares, originam os osteoblastos que depositam matriz orgânica a partir do fundo do alvéolo, formam um tecido osteóide. Posteriormente, observa-se a deposição de cristais de hidroxiapatita, calcificando esse tecido e originando as primeiras trabéculas ósseas, com a crista óssea sofrendo um processo de reabsorção e remodelação. Por volta do 40° dia, cerca de 2/3 de alvéolo já estão preenchidos por trabeculado ósseo, porém, o processo de reparo completa-se aos 64 dias pós-extração dental e é nesse estágio que o alvéolo está completamente preenchido por tecido ósseo neoformado e a crista alveolar está remodelada.

BRASILEIRO FILHO et al. (1994) e CARDOSO (2007) sugerem que em torno do décimo dia do início do processo inflamatório e reparação tecidual, a ferida passa a apresentar-se preenchida por tecido de granulação que vai se enriquecendo com mais fibras de colágeno e com este acréscimo a maioria das células desaparecem, como fibroblastos e células endoteliais, estabelecendo-se finalmente a cicatriz (BERGMAN et al., 1983; DORNELLES et al., 2003).

De acordo com BET et al. (1997) a evolução do processo inflamatório, e a consequente cicatrização, faz com que a matriz extracelular passe por modificações, isto devido à migração e ativação de macrófagos e fibroblastos para a região. Os fibroblastos depositam grande quantidade de fibronectina e passam por mudanças fenotípicas acentuadas e com isto secretam grandes quantidades de colágeno, que aos poucos vai substituindo os proteoglicanos e a fibronectina, tornando-se o principal componente da cicatriz em formação (SOARES et al., 2006; BRANDÃO et al., 2002; BIONDO-SIMÕES et al., 1993).

A cicatrização de feridas pode ocorrer através de três fases distintas, a fase inflamatória, a fase proliferativa e a fase de maturação. A fase inflamatória ocorre a partir de dois processos, a hemostasia e a resposta inflamatória aguda, pois com isso há uma tentativa de se limitar a lesão tecidual em feridas não complicadas. Na fase proliferativa ocorre proliferação de fibroblastos na área traumatizada, sob a ação de citocinas, acarretando a síntese de colágeno, onde concomitantemente ocorre uma proliferação de células endoteliais, favorecendo uma abundante vascularização e penetração de macrófagos para a formação do tecido de granulação. Já a fase de maturação inicia a última etapa do processo de cicatrização, com a formação do tecido de cicatrização,

sendo histologicamente um tecido pouco organizado, composto por colágeno e pouco vascularizado (BET et al., 1997; CUNHA et al., 2005; FREITAS, 2008).

Para PATERSON-BEEDLE et al. (2000) os macrófagos, sendo o elemento mais crítico na indução do processo de reparação, são as células mais eficientes na eliminação de fragmentos teciduais, pois removem também, por fagocitose, neutrófilos que perderam suas funções. Estas células podem ser ativadas por alterações físicas e químicas da região, pois nestas regiões onde os vasos se romperam o aporte de oxigênio fica comprometido devido à formação do trombo, e o influxo dos macrófagos, assim como de neutrófilos, que aumentam a demanda de oxigênio, com consequente elevação da concentração de ácido lático e diminuição do pH (CUNHA et al., 2005; FREITAS, 2008; GRECA et al., 2000).

Segundo FONTES et al. (2004) a combinação de colágeno e uma rica rede capilar forma o tecido de granulação, sendo que neste estágio há uma baixa tensão de oxigênio e um baixo pH no alvéolo. O aumento da tensão de oxigênio, em torno de 4 a 40 dias, associado ao fornecimento de nutrientes teciduais, pela vascularização local, promove a diferenciação de osteoblastos, que depositam osteóide, calcificam-se, promovendo a cicatrização alveolar.

O processo de cicatrização da ferida dar-se ao equilíbrio entre a síntese e a degradação do colágeno, diminuição do contingente vascular e pela infiltração de células inflamatórias, com o intuito de se estabelecer a maturação da ferida. O decréscimo da resposta inflamatória implica que, desaparecendo a causa irritante, diminui também a produção de mediadores e, consequentemente, as manifestações vasculares e exsudativas se reduzem

(DE PAULA et al., 2002; GAMBELUNGHE et al., 2001 GRECA et al., 2000; MAGRO-ÉRNICA et al., 2003; PAIM et al., 1991).

A matriz óssea apresenta como principais íons o cálcio e o fosfato, que formam cristais para promover a estrutura da hidroxiapatita. Nesta formação os osteoblastos, que são capazes de concentrar fosfato de cálcio e são formados pelas células osteoprogenitoras presentes no periósteo, desempenham papel importante no crescimento dos ossos. Segundo JUNQUEIRA & CARNEIRO (2004) esta matriz é constituída por dois tipos de tecido, um primário e outro secundário ou lamelar.

O tecido ósseo do arcabouço maxilar e mandibular é formado por um processo de ossificação intramembranosa onde o centro de ossificação primária é a membrana conjuntiva onde a ossificação começa. O processo tem início pela diferenciação de células mesenquimais que se transformam em osteoblastos, sintetizando o osteóide para ocorrer mineralização e se transformarem em osteócitos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

## 4.2 MATERIAIS EMPREGADOS EM REPARAÇÕES ÓSSEAS

Segundo HIDALGO et al. (1998) uso do óleo de Malaleuca a 20% promoveu retardo do processo de reparo dos alvéolos dentais infectados, demonstrando maior área de necrose e menor osteogênese e que as microfibras hemostáticas de colágeno interferiram no início da cicatrização do alvéolo dental, mas não interferiram com a cicatrização final.

DENISSEN et al. (2000), avaliando a biocompatibilidade do cimento de ionômero de vidro em alvéolos dentários de ratos, encontraram que, através do

exame histológico de todo o alvéolo, o tecido conjuntivo e neoformação óssea seguiram uma progressão normal. Os dados histométricos confirmaram a formação de osso novo progressivamente, em paralelo com a diminuição das áreas de teste em torno dos implantes.

Segundo CALIXTO et al. (2001) implantes de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato promoveram, após 6 semanas, preenchimento da cavidade alveolar por trabéculas ósseas maduras circundando espaços medulares preenchidos por tecido conjuntivo frouxo, mostrando-se biocompatíveis e capazes de certo grau de osseointegração direta, porém a presença deste material nos terços médio e cervical provocou atraso discreto, cerca de 13% a 20%, no reparo ósseo apical.

Em estudos histológicos da cicatrização alveolar com membranas de proteção absorvíveis e não absorvíveis, IMBRONITO et al. (2002) observaram osso regenerado em 2 meses em ambos os grupos, tratados e não tratados, composto principalmente de osso imaturo que continham fibras de colágeno orientadas aleatoriamente e possuíam quantidade de osteócitos. Entretanto, nos grupos tratados foi promovida, estatisticamente, maior cicatrização óssea do que os defeitos de controle.

A necessidade de algum tipo de preenchimento do defeito ósseo com a finalidade de prevenir o colapso de tecido mole no interior do mesmo, além de servir como guia, deve ser realizado funcionando como barreira física para selar locais anatômicos, impedindo o crescimento de tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo (RABIE et al., 2002; PECORA et al., 1997; LINDE et al., 1993).

Nos animais tratados com hidroxiapatita (H.A.) associado à Proteína óssea morfogenética (BMP), foi avaliado que em 42 dias a cavidade alveolar do grupo controle foi preenchida com osso trabecular cercado por espaços medulares com tecido conjuntivo frouxo, e que no grupo tratado com H.A, o trabeculado foi menor que o controle, cercado por grânulos do material e pouco tecido conjuntivo, com capilares neoformados. Os animais tratados com H.A. associado à Proteína óssea morfogenética (BMP) tiveram trabeculado ósseo menor que os demais, e neste os grânulos de material foram às vezes cercados por osso e por vezes por tecido conjuntivo e ainda havia infiltrado inflamatório (BRANDÃO et al., 2002).

Dentro das condições experimentais, MAGRO-ÉRNICA et al. (2003) realizaram sacrifícios em 7, 21 e 28 dias para ratos, e concluíram que utilização de colágeno microfibrilar hemostático interfere durante o início do reparo alveolar e não interfere no reparo final do alvéolo dental.

Para FÓFANO et al. (2005), quando provocado defeitos ósseos de aproximadamente 6x5x5mm no osso alveolar entre as raízes do quarto dente pré-molar e utilização da membrana de colágeno nestes defeitos, constatou-se aumento na formação de osso trabecular apenas na periferia do defeito, com algumas regiões ainda não absorvidas, e ausência de organização em osso lamelar, quadro que se repetiu aos 60 dias. Nos cães do grupo tratado, observaram-se tecido ósseo praticamente na mesma proporção do tecido conjuntivo e persistência de grande infiltrado inflamatório. Aos 60 dias, no grupo tratado, estava evidente um tecido conjuntivo frouxo e delgado de osso trabecular sofrendo remodelação. A presença de infiltrado inflamatório

contribuiu para o retardo na reparação do osso alveolar. Em 90 dias a periferia estava preenchida e em 120 dias houve reparação total. Diferentemente, no grupo tratado, aos 90 e 120 dias, o processo de cicatrização apresentou-se com bastante tecido conjuntivo frouxo, apesar de estar evidente o osso trabecular. Os resultados revelaram que no grupo tratado observou-se um processo mais avançado de reparação óssea em relação ao grupo de controle, até os 42 dias, apesar de já se visualizar o processo inflamatório. A partir dessa data, houve uma estagnação no processo. Este fato levou a crer que o processo inflamatório tornou-se crônico e, consequentemente, interferiu na cicatrização tecidual de maneira negativa. Os resultados deste estudo sugeriram que a membrana de colágeno seja mantida apenas por 42 dias.

MIRANDA et al. (2005) afirmaram que o enxerto inorgânico estimula precocemente o início do processo de reparação óssea em coelhos quando comparado ao orgânico e os achados radiográficos e histológicos mostram melhor evolução na formação de calo ósseo com uso de enxerto inorgânico, observando-se que em 45 dias a formação, neste grupo, da ponte óssea estava formada e que em 75 dias a fratura estava consolidada.

Investigando, histologicamente, a cicatrização de defeitos periodontais realizados em três paredes intra-ósseas, criados cirurgicamente em cães seguido de tratamento com aplicação de óleo em suspensão de hidróxido de cálcio, SCHWARZ et al. (2006) verificaram que em ambos os cães os valores exibidos foram significativamente mais elevados tanto de osso recém-formado e cemento do que nas amostras de controle. Na avaliação histológica deste

grupo revelou-se que a cura foi predominantemente caracterizada pela formação de um epitélio ao longo da superfície da raiz.

Para CIANI et al. (2006), misturas de proteínas morfogenéticas ósseas, hidroxiapatita, osso inorgânico e colágeno usado em defeitos ósseos provocados em coelhos, demonstraram histologicamente, aos 60 dias de pós-operatório, que a lacuna do defeito estava preenchida por partículas de osso inorgânico, formando pequenos conjuntos envoltos individualmente por tecido conjuntivo fibroso, ou um único conjunto maior, envolto por cápsula fibrosa. Aos 150 dias de pós-operatório, embora existissem partículas em reabsorção, ocorreu também sequestro de conjunto de partículas e isolamento de outras no local, provavelmente impedindo o crescimento ósseo no local. Pelas avaliações, a regeneração óssea foi inibida nos defeitos segmentares que receberam os biomateriais.

GOMES et al. (2007) utilizando enxertos de osso bovino esponjoso inorgânico liofilizado evidenciaram que aos 60 dias houve remodelamento mais acentuado do implante e sua densidade estava mais próxima a do osso alveolar. Já em 90 e 120 dias, não se diferenciava o implante, devido a sua densidade apresentar-se semelhante a do alvéolo, em cães.

CALIXTO et al. (2007) observaram uma rede de trabéculas óssea mais espessa em torno da interligação nos espaços preenchidos com tecido conjuntivo medular ocupando a maior parte do alvéolo, observado no final da 9ª semana, em enxertos de BMPs (Proteínas morfogenéticas bovinas). Nos grupos tratados, os grânulos implantados não foram identificados nas secções histológicas e o processo de cicatrização óssea não mostrou qualquer

diferença notável em comparação com os ratos do grupo controle. A análise histométrica confirmou-se que a observação histológica que implantes de BMPs não interferem com a cicatrização do osso alveolar em nenhum dos períodos avaliados.

POLAT et al. (2009), em análise do efeito de óleo à base de hidróxido de cálcio, concluíram que os resultados demonstraram um aumento estatisticamente significativo na densidade e área regenerada no grupo de experimento com um período de 28 dias de consolidação. Achados histológicos mostraram que, em todos os grupos, as diferenças de distração osteogênica mandibular em coelhos foram preenchidas com recém-formado osso trabecular membranoso e estroma fibrovascular. Para os grupos de teste, células mesenquimais, células trabeculares recém-formadas eram mais numerosas do que nos grupos de controle, e que histomorfometricamente, a proporção média de um novo tecido ósseo / tecido total foi significativamente superior nos grupos tratados.

De acordo com FARIA et al. (2010) a aplicação tópica de cloreto de estrôncio estimulou e acelerou a neoformação óssea nos defeitos cirúrgicos, tratados com cloreto de estrôncio (28 dias) quando se fez comparação entre dois grupos. Aos 28 dias o osso neoformado foi predominantemente primário. Já aos 56 dias a neoformação óssea preencheu totalmente os defeitos cirúrgicos, tanto do grupo onde se utilizou a solução fisiológica quanto do tratado com cloreto de estrôncio. No entanto, notou-se que nos coelhos tratados com estrôncio o tecido ósseo neoformado se apresentou mais desenvolvido, mostrando a presença de sistemas de Havers.

Em cirurgias experimentais em mandíbulas de cães tratados com biovidro, TIOMIS et al. (2010) observaram que em falhas ósseas de cães o grupo controle apresentou um processo de reparação óssea aos 14 dias que evoluiu até que, aos 120 dias, não havia mais limite entre margens do defeito e o novo osso. No grupo tratado, aos oito dias, observou-se a presença de tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado ao redor das partículas de biovidro, até que aos 60 dias o biovidro havia sido totalmente reabsorvido, e o defeito apresentava-se completamente preenchido por osso trabecular, levando-se a concluir que o biovidro é biocompatível, é osteocondutor e diminui o tempo de reparação do osso alveolar. Para CAMARGO et al. (2000) o uso do bioativo de vidro associado a sulfato de cálcio é de algum valor na preservação de dimensões do rebordo alveolar após a extração do dente.

Em enxertos com células estromais derivadas de tecido adiposo em defeitos ósseos de mandíbulas de ratos, STRECKBEIN et al. (2013) demonstraram que havia tecido ósseo formado a partir da margem de defeitos que estavam cheios de tecido ósseo maduro, caracterizado por lacunas e trabéculas com osteóide, e áreas com osso recém-formado estavam presentes.

## 4.3 HISTÓRICO DO USO DO BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR (BPCA)

Segundo MONTEIRO et al. (1998) a película de cana-de-açúcar sobre a ferida, em análise clínica, apenas, permite o crescimento bacteriano para *staphylococcus SP*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus SP* e *Proteus*, porém, apesar da presença do microorganismo ela contribui para a cicatrização cutânea por diminuir o tempo cicatricial, sendo analisado em períodos de 7, 14

e 28 dias.

De acordo com COELHO et al. (2002) o BPCA, constituído de açúcares, forma uma película estável, a qual, quando em contato com os fluidos da ferida, libera uma quantidade de açúcar capaz de concentrar o meio e ocasionar uma hiperosmolaridade. Observaram que o produto sobre a ferida favoreceu a ação higroscópica e, consequentemente, a desidratação das bactérias presentes no leito e que o tecido de granulação demonstrou crescimento acelerado na fase inicial de reepitelização, ocorrendo em média ao quinto dia após inicio do tratamento, preenchendo todo o espaço da ferida.

Membranas do biopolímero da cana-de-açúcar foram utilizadas em cirurgia otológica, inicialmente, como enxerto livre lateral em chinchilas, sendo observado nesta situação que houve fechamento da perfuração crônica da membrana timpânica semelhante ao grupo controle (SILVA et al., 2006).

Na análise da textura da superfície do biopolímero da cana-de-açúcar, AGUIAR et al. (2007) observaram que o mesmo não possui poros, o que não permite a invasão de fibroblastos, predispondo uma maior concentração destas células, viabilidade média de 95,3%, favorecendo uma maior síntese de fibras colágenas e substância fundamental amorfa (RAISER & BADKE, 1989), no entanto relatam que a nova camada fica intimamente ligada ao biopolímero favorecendo a maturação do tecido conjuntivo e consequente diferenciação óssea.

Com bases nos resultados obtidos com o modelo experimental utilizado em artérias femorais de cães, durante o período de observação de 180 dias,

MARQUES et al. (2007) concluíram que a membrana do biopolímero de cana-de-açúcar constitui-se em substituto arterial adequado quando utilizado, apesar da resposta inflamatória crônica com neutrófilos e linfócitos, além de fibrose.

Nas avaliações clínicas das feridas tratadas por segunda e terceira intenção com o biopolímero de cana-de-açúcar, MONTEIRO et al. (2007) constataram edema, eritema, secreção, crosta, tecido de granulação e cicatricial, contração da ferida, aderência da película e do curativo. A avaliação histopatológica demonstrou, ao sétimo dia, presença de piócitos, fibroblastos, necrose e áreas hemorrágicas. O processo caracterizado como reação inflamatória aguda foi considerado como reação fisiológica, indicando início do processo cicatricial. Ainda foi registrado a presença de neoformação vascular, tecido de granulação bem evidente com áreas de reepitelização, além de várias células colágenas maduras. No 28° dia, todas as feridas estavam reepitelizadas, indicando que sua utilização em feridas cutâneas infectadas controla a infecção pelo efeito bacteriostático e bactericida.

Em análise estereológica do BPCA utilizado em região pubovaginal, LUCENA et al. (2007) relataram reação inflamatória intensa com 30 dias e reação inflamatória leve com 90 dias. Neste sentido, a capacidade de ser absorvida ou substituída no leito cruento foi observada quando da utilização da membrana de biopolímero na substituição da dura-máter em ratos, constatando que houve tendência à absorção com sinais de desarranjo da arquitetura original e substituição da mesma por fibrose (LIMA, 2008).

O biopolímero da cana-de-açúcar quando usado como novo suporte para cultivo celular favoreceu o crescimento das células-tronco mesenquimais,

exibindo assim um das propriedades necessárias para futuras aplicações na engenharia tecidual (BARROS & MEDEIROS, 2010).

Em defeitos osteocondrais produzidos em fêmures de coelho tratados com gel de BPCA, ALBUQUERQUE et al. (2011) observaram uma crescente área de tecido formada sobre o gel com dimensões semelhantes em ambos os grupos de estudo e de controle. Os resultados obtidos mostraram que o tamanho da área cicatrizada foi semelhante em ambos os grupos. O BPCA utilizado foi de baixa densidade, um fato que, provavelmente, não permitiu que ele fosse plenamente integrado nos defeitos osteocondrais.

Em avaliações do BPCA no ouvido médio, MAYER et al. (2011) constataram que houve sinais de inflamação na bula timpânica, com características de reação subaguda e crônica, todavia não foi encontrada alteração que indicasse processo inflamatório exclusivamente agudo. O padrão histológico agudo foi caracterizado por exsudação de líquido e proteínas plasmáticas (edema) e a migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos, enquanto o padrão Crônico o foi pela presença de linfócitos, macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual. O tipo subagudo foi definido pela reação inflamatória com componentes do padrão agudo e crônico. Portanto, concluíram que o epitélio colunar ciliado estava preservado ou apresentava edema leve em 16 orelhas do grupo experimental e que as alterações da mucosa foram localizadas e não se estendiam a todo o espaço aéreo da bula timpânica, no entanto, o ponto em contato direto com o material apresentava maior reatividade, e ainda, que a fáscia usada no experimento como controle, foi absorvida muito mais

facilmente que o biopolímero, sendo esta diferença estatisticamente significante, talvez por ser um tecido vivo, e que, portanto, necessitaria de nutrição ideal para manter-se, e que possivelmente necrosou e foi absorvida.

BARROS-MARQUES et al. (2012), quando utilizando o BPCA em reconstituição de veias femorais de cães não relataram nenhum caso de infecção, ruptura, formação de pseudoaneurisma ou tromboses nos exames clínicos durante o período experimental de 180 dias. Foram observadas reações inflamatórias crônicas com a presença de linfócitos, neutrófilos e fibroses na superfície externa dos remendos e fibrose na superfície interna, com novas camadas interiores e adventícias firmemente ligadas à superfície dos remendos, todavia não foi observado casos de degeneração ou calcificações.

Apesar de o contato contínuo do enxerto do BPCA com a urina dos ratos e a técnica cirúrgica de colocar o nó cirúrgico dentro da bexiga, quando da utilização deste produto como fio de sutura, CARVALHO et al. (2012) observaram uma menor absorção do material, mesmo após 8 semanas de exposição, e que apenas um animal apresentou pedra na bexiga, sugerindo uma potencial ação litogénica similar à polidioxanona e muito inferior a poliglactina 910. O BPCA é um material que tem reabsorção tardia, apresentando após 4 a 8 semanas uma baixa resposta inflamatória.

## 4.4 AVALIAÇÕES RADIOGRÁFICAS DO TECIDO ÓSSEO QUANDO DA UTILIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS OSTEOINDUTORAS E OSTEOCONDUTORAS

A não padronização radiográfica é superada quando se faz uso de referenciais como escadas de alumínio, de cobre ou outros, que são radiografados concomitantemente ao material em estudo, passando, portanto, por todas as fases do processo radiográfico, ou seja, a tomada radiográfica e o processamento do filme, sendo assim corrigidas todas as variações que possam ocorrer. LOUZADA et al. (2001) utilizaram a escala de alumínio e expressaram os valores equivalentes em milímetros de alumínio.

IMBRONITO et al. (2002), quando da avaliação da cicatrização do osso alveolar com membranas absorvíveis e não absorvíveis, na análise radiográfica de hemi-mandíbulas de ratos, feita com exposição de acordo com os parâmetros: 70 kVp, 7 mA, distância foco-filme de 30 cm, o tempo de exposição de 0,09 s, contendo um padrão de alumínio, penetrômetro, e com o uso do ImageJ software de imagem (versão 1,33 μ, Instituto Nacional de Saúde, Washington, DC) definiram a região de interesse (ROI - região de interesse - / 252 pixels) periapical de cada dente, mais próximo da raiz mesial. Assim, na ferramenta de histograma, os valores de pixel da ROIs foram estabelecidos e o valor do pixel igual à zero corresponderia ao preto e o valor de pixel de 255 ao branco (SIDDIQI et al.,2013).

De acordo com GOMES et al. (2007) a avaliação radiográfica, realizada no pós-operatório para reparo de fístula oronasal induzida em cães, através do uso de osso bovino esponjoso inorgânico liofilizado, em bloco no imediato e

aos 7, 14, 21, 45, 60, 90 e 120 dias, utilizando-se um regime de 42KV e 10mA, com período de tempo de 0,01 segundo, em 60 dias promove remodelamento mais acentuado do implante e sua densidade mais próxima a do osso alveolar. Em 90 e 120 dias, não se diferencia o implante, devido a sua densidade apresentar-se semelhante a do alvéolo.

Para avaliações radiológicas de diferentes materiais usados em tecidos moles orais CALDAS et al. (2010) utilizaram condições padronizadas: GE 1000 máquina (General Electric Co., Milwaukee, WI, EUA), operando a 70 kVp , 10 mA, e 40 cm de distância foco-filme. Todos os filmes foram processados usando um GXP Gendex (Gendex Dental Systems, Lake Zurich, IL, EUA), com frascos líquidos de processamento (Kodak®) e tempo de operação de 5 minutos.

BULUT et al. (2012) para medir a área de superfície das mandíbulas e dos cistos utilizaram o software ImageJ, que é um freeware distribuído pelo Instituto Nacional de Saúde (EUA), e com a ferramenta de seleção polígono delinearam os limites exteriores das mandíbulas e dos cistos, e assim o programa automaticamente mediu a zona delimitada das imagens. Cada pixel da imagem foi analisada individualmente e o seu brilho medido e quantificado, sendo este valor inteiro armazenado no correspondente pixel da imagem.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho resultou em dois artigos científicos, dispostos no apêndice desta tese, estabelecendo os mesmos um protocolo cirúrgico para exodontias de dentes incisivos de coelhos (artigo 1) e uma análise histomorfométrica e radiográfica da regeneração óssea alveolar através do uso do biopolímero da cana-de-açúcar - BPCA (artigo 2).

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, J.L.A.; LINS, E.M.; MARQUES, S.R.B.; COELHO, A.R.B.; ROSSITER, R.O.; MELO, R.J.V. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty on dogs. **Acta. Cir. Bras.**, v.22, suppl. 1, p. 77-81, 2007.

ALBUQUERQUE, P.C.V.C.; AGUIAR, J.L.A.; SANTOS, S.M.; PONTES FILHO, N.; DE MELLO, R.J.V.; COSTA, M.L.C.R.; ALBUQUERQUE, C.M.C., ALMEIDA, T.M.S.; SANTOS, A.H.S.; SILVA, J.C. Comparative study of the áreas of osteochondral defects produced in the femoral condyles of rabbits treated with gel of sugarcane biopolymer. **Acta Cir. Bras.**, v.26, n.5, p. 383 – 386, 2011.

ALMEIDA, J.D.; CARVALHO, Y.R.; DA ROCHA, R.F.; ARISAWA. E.A.L. Estudo da reparação óssea em mandíbula de ratos. **Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, v.3, n.1, jan./jun., 2000.

BARROS, L.A.; MEDEIROS, P.L. Avaliação da biocompatibilidade de membranas de biopolímero da cana-de-açúcar como novo suporte no cultivo de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano. (resumo expandido). **Recife: XVIII Conic / II Coniti**, 2010.

BARROS-MARQUES, S.R.; MARQUES-LINS, E.; ALBUQUERQUE, M.C.S.; ANDRADE-AGUIAR, J.L. Sugarcane biopolymer patch in femoral vein angioplasty on dogs. **Journal Vasc. Surg.**, v.55, p. 517 - 521, 2012.

BERGMAN, A; YANAL, J; WEISS, J. et al. Acceleration of wound healing by topical applications of honey. **Am. J. Surg.**, n.145, p. 374-376, 1983.

BET, M.R; GOISSIS, G.; GUZZI PLEPS, A.M. Compósitos colágeno aniônico: fosfato de cálcio, preparação e caracterização. **Química Nova**, v.20, n.5, 1997.

BIONDO-SIMÕES, M.; LIMA, E.; ROSÁRIO, M. et al. Açúcar e ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta. Cir. Bras.**, n.8, p. 83-86, 1993.

BRANDÃO, A.C.; BRENTEGANI, L.G.; NOVAES JR, A.B.; GRISI, M.F.M.; SOUZA, S.L.S.; TABA JR, M.; SALATA, L.A. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hidroxyapatite alone or associated to BMPS. **Braz. Dental J.**, v.13, n.3, p.147-154, 2002.

BRANDÃO, A.C.; BRENTEGANI, L.G.; NOVAES JR., A.B.; GRISI, M.F.M.; SOUZA, S.L.S.; TABA JR., M.; SALATA, L.A. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hidroxyapatite alone or associated to BMPs. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.3, p. 147 - 154, 2002.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo et al. **Bogliolo patologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

BRENTEGANI, L.G.; BOMBONATO, K.F.; CARVALHO, T.L.L. Histological evaluation of the biocompatibility of a glass-ionomer cement in rat alveolus. **Biomaterials**, v.18, n.2, p. 137 - 140, 1997.

BULUT, E.; SAHIN, B.; MUGLALI, M.; BEKÇIOGLU, B. Comparison of the planimetry and point-counting methods for the assessment of the size of the mandible cysts on orthopantomograms. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**,

v.17, n.3, p. e442 – 446, 2012.

CALDAS, M.P.; RAMOS-PEREZ, F.M.M.; ALMEIDA, S.M.; HAITER-NETO, F. J. Comparative evaluation among different materials to replace soft tissue in oral radiology studies. **J. Appl. Oral Sci.**, v.18, n.3, p. 264 - 267, 2010.

CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; BRENTEGANI, L.G.; CARVALHO, T.L.L. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.5, n.3, p. 25 - 262, 2001.

CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; BRENTEGANI, L.G.; LAMANO-CARVALHO, T.L. Alveolar wound healing after implantation with a pool of commercially available bovine bone morphogenetic proteins (BMPs) – A histometric study in rats. **Braz Dent J.**, v.18, n.1, p. 29 - 33, 2007.

CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; LAMANO CARVALHO, T.L. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. **Pesq. Odontol. Bras.**, v.15, n.3, p.257- 262, jul./set., 2001.

CAMARGO, P.M.; LEKOVIC, V.; WEINLAENDER, M. KLOKKEVOLD, P.R.; KENNEY, E.B.; DIMITRIJEVIC, B. NEDIC, M; JANCOVIC, S.; ORSINI, M. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. **Oral surgery oral medicine oral pathology**, v.90, n.5, p. 581 - 586, 2000.

CARDOSO JORGE, A.O. **Microbiologia bucal**. 3.ed. São Paulo: Santos, 2007.

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. Reparação do alvéolo dental. **Cirurgia**

**bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica**. São Paulo, SP: Panamericana, P. 55 - 880, 1987.

CARVALHO, JR. A.M.; SANTOS, M.M.; BARKOKÉBAS, B.B.; AGUIAR, J.L.A.; LIMA, S.V.C.; DAMBROS, M. Characterization of the deposition of collagen fibers and lithogenic potential in bladder of rat submitted to a sugarcane biopolymer graft. **Int. Braz. J. Urol.,** v.38, n.4, p. 544-551, 2012.

CIANI, R.B.; RAHAL, S.C.; VOLPI, R.S.; TAGA, R.; GRANJEIRO, J.M.; CESTARI, T.M.; MAMPRIM, M.J. Mistura de proteínas morfogenéticas ósseas, hidroxiapatita, osso inorgânico e colágeno envolta por membrana de pericárdio no preenchimento de defeito ósseo segmentar em coelhos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.1, p. 59 - 67, 2006.

COELHO, M.C.O.C.; CARRAZONI, P.G.; MONTEIRO, V.L.C.; MELO, F.A.D.; MOTA, R.A.; TENÓRIO FILHO, F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização. **Acta. Cir. Bras.**, v.17, suppl.1, São Paulo, 2002.

CUNHA, M.R.; SANTOS JUNIOR, A.R.; GENARI, S.C. Cultura de osteoblastos sobre membranas de colágeno polianiônico: avaliação preliminar do potencial de indução da formação de tecido ósseo visando reparação tecidual. **Bol. Med. Vet. Unipinhal** – Espírito Santo do Pinhal, v. 1, n.1, Jan./Dez., 2005.

DE PAULA, M.; GOISSIS, G.; MARTINS, V.C.A. Compósito de colágeno aniônico: ramsana como géis injetáveis para correções plásticas: preparação, caracterização e propriedades reológicas. **Rev. Bras. De**

**Engenharia Biomédica**, v.18, n.1, p.7-16, Jan./Abr., 2002.

DENISSEN, H.; MONTANARI, C.; MARTINETTI, R.; LINGEN, A.V.; HOFF, A.V.D. Alveolar bone response to submerged bisphosphonate-complexed hydroxyapatite implants. **J. Periodontol**, v.70, p. 279 - 286, 2000.

DORNELLES, C.; COSTA, S.S.; LAUX, M.; WEBER, R. Estudo comparativo da dissolução de três diferentes marcas de colágeno utilizados em técnicas cirúrgicas otológicas. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.69, n.6, p. 744-751, Nov./Dez., 2003.

FARIA, M.A.; VILLA, N.; CARBONEL, A.A.F.; SIMÕES, R.S.; HADAD, S.; FARACO, F.N. Análise histológica da lesão óssea de mandíbula de coelho após aplicação local de cloreto de estrôncio. **Rev. Gaúcha Odontol.**, v.58, n.4, p.487 - 490, 2010.

FÓFANO, G.; BORGES, A.P.B.; VILORIA, M.I.V.; CARLO, E.C.; VIANA, V.W.; FONTES, E.B.; DUARTE, T.S. Aspectos histológicos da associação de matriz óssea bovina mineralizada com membrana de colágeno na reparação alveolar da mandíbula de cão. **Revista Ceres**, v.52, n.304, p. 955 - 965, 2005.

FONTES, C.E.R.; TAHA, M.O.; FAGUNDES, D.J.; FERREIRA, M.V.; PRADO FILHO, O.R.; MORDEGAN, J.M. Estudo comparativo do reparo de ferimento de fígado com cola de fibrina e cianoacrilato. **Acta Cir. Bras.**, v.19, n.1, Jan./Fev., 2004.

FREITAS, R. **Tratado de Cirurgia Bucomaxilofacial**, Ed. Santos, 1ª

reimpressão, 653p., São Paulo, 2008.

GAMBELUNGHE, C.; ROSSI, R.; MICHELETTI, A.; MARIUCCI, G.; RUFINI, S. Physical exercise intensity can be related to plasma glutathione levels. **J Physiol Biochem**, v.57, n.2, p. 9-14, 2001.

GOMES, K.; PIPPI, N.L.; BRAGA, F.V.A.; KROLIKOWISKI, G.; SOARES, A.V.; PIGATTO, G.M.; POHL, V.H.; NOVOSAT, D.; BERTOLETTI, B.; MORSCHBACHER, P.D.; DE SOUZA, G.S.; DALMOLIN, F. Osso bovino esponjoso inorgânico liofilizado em bloco no reparo de fístula oronasal induzida em cães. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p. 159 - 164, 2007.

GRECA, F.H.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; JOSHI, S.; SANTOS, E.A.A.; CHIN, E.W.K.; EL TAWK II; STALHSCHMIDT, F.L. Cicatrização de anastomoses do cólon esquerdo com doença inflamatória: estudo experimental em ratos. **Acta. Cir. Bras.**, v.15, n.3, p. 41-46, 2000.

HIDALGO, M.M.; ITANO, E.N.; NAKAGAWA, R.I.; TREVISAN JUNIOR, W.; AVILA-CAMPOS, M.J. Doença Periodontal: estudo da resposta imune humoral. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v.12, n.3, p.207-213, Jul./Set., 1998.

IMBRONITO, A.V.; TODESCAN, J.H.; CARVALHO, C.V.; ARANA-CHAVEZ, V.E. Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs. **Biomaterials**, v.23, p.4079 - 4086, 2002.

IMBRONITO, A.V.; TODESCAN, J.H.; CARVALHO, C.V.; ARANA-CHAVEZ,

V.E. Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs. **Biomaterials**, v.23, p. 4079 - 4086, 2002.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**, Ed. Guanabara Koogan, 10ª edição, 533p., Rio de Janeiro, 2004.

LIMA, F.M.T. Membrana de biopolímero da cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos wistar. **(tese). Recife: Universidade federal de Pernambuco, centro de ciências da saúde**, 2008.

LINDE, A.; ALBERIUS, P.; DAHLIN, C.; BJURSTAM, K.; SUNDIN, Y. Osteopromotion: A soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. **J periodontol**, v.64, p. 1116 - 1128, 1993.

LOUZADA, M.J.Q; NOGUEIRA, G.P.; GARCIA JR, I.R.; CARVALHO, C.A.; DE PAULA, G.A. Densitometria óptica radiográfica em análise de densidade óssea de mandíbulas de coelhos castrados. **FOL-UNIMEP**, v.13, n.1, p. 33 - 38, 2001.

LUCENA, R.G. Utilização do biopolímero da cana-de-açúcar como novo material para sling pubovaginal: análise estereológica. **(tese). Recife: Universidade federal de Pernambuco, centro de ciências da saúde**, 2007.

MAGRO-ÉRNICA, N.; MAGRO-FILHO, O.; RANGEL-GARCIA, I. Histologic study of use microfibrillar collagen hemostat in rat dental sockets. **Braz.**

**Dent. J.**, v.14, n.1, p.12-15, 2003.

MAGRO-ÉRNICA, N.; MAGRO-FILHO, O.; RANGEL-GARCIA, I. Histologic study of use of microfibrilar collagen hemostat in rat dental sockets. **Braz. Dent. J.**, v.14, n.1, p. 12 - 15, 2003.

MARQUES, S.R.B.; LINS, E.M.; AGUIAR, J.L.A.; ALBUQUERQUE, M.C.S.; ROSSITER, R.O.; MONTENEGRO, L.T.; VIEIRA, R.J. A new vascular substitute: femural artery angioplasty in dogs using sugarcane biopolymer membrane patch – hemodynamic and histopathologic evaluation. **Journal Vasc. Bras.** V.6, n.4, p. 309-15, 2007.

MAYER, D.L.B.; ARAÚJO, J.G.; LEAL, M.C.; CALDAS NETO, S.S.; ATAÍDE, R.F.; DE MELLO, R.J.V. Sugarcane biopolymer membrane: experimental evaluation in the middle ear. **Braz. J. Otorhinolaryngol.**, V.77, n.1, p. 44 - 50, 2011.

MENEZES JÚNIOR, L.R.; GAUJAC, C.; TRENTO, C.L. Influência das alterações locais sobre o processo de reparo alveolar. **Revista saúde e Pesquisa**, v.2, n.3, p. 411-416, set./dez., 2009.

MIRANDA, E.S.; CARDOSO, F.T.S.; MEDEIROS FILHO, J.F.; BARRETO, M.D.R.; TEIXEIRA, R.M.M.; WNADERLEY, A.L.; FERNANDES, K.E. Estudo experimental comparativo no uso de enxerto ósseo orgânico e inorgânico no reparo de fraturas cirúrgicas em rádio de coelhos. **Acta. Ortop. Bras.**, v.13, n.5, p. 245 – 248, 2005.

MONTEIRO, V.L.C.; COELHO, M.C.O.C., MELO, F.A.D., CARRAZZONI,

P.G., TENÓRIO FILHO, F.; MOTA, R.A. Tratamento de ferida com película de cana-de-açúcar: estudo experimental em camundongos (Mus domesticcus). **Resumo expandido, VII CONIC, UFRPE/UFPE**, 1998.

MONTEIRO, V.L.C.; COELHO, M.C.O.C.; CARRAZZONI, P.G., MOTA, R.A.; MELO, F.A.D., CARVALHO, E.C.. ANDRADE, L.S.S. Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda e terceira intenção. **Medicina veterinária**, v.1, n.1, p. 1 - 8, jan / jun, 2007.

PAIM, S.; MAFRA JÚNIOR, C.; TOSTES, R. Uso tópico do açúcar em feridas. **Rev. Méd. Minas Gerais**, v. 1, p. 888-890, 1991.

PATERSON-BEEDLE, M.; KENNEDY, J.F.; MELO, F.D.A.; LLOYD, L.L.; MEDEIROS, V. A cellulosic exopolysaccharide producede from sugarcane molasses by a *Zoogloea sp*.. **Carbohydrate polymers**, v.42, p. 375-383, 2000.

PECORA, G.; ANDREANA, S.; MARGARONE, J.E.; COVANI, U.; SOTTOSANTI, J.S. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral surg oral med oral pathol oral radiol endod**, v.84, p. 424 - 429, 1997.

POLAT, H.B.; YELER, H.; GUMUS, C.; BULUT, H.E.; KUCUK, D. Effect of oil-based calcium hydroxide (Osteoinductal) on distraction osteogenesis in rabbit mandible. **Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod**, v.107, n.6, p. e30 - e36, 2009.

RABIE, A.B.M. The effect of demineralized intramembranous boné matrix and basic fibroblast growth factor on the healing of allogeneic

intramembranous bone grafts in the rabbit. **Archives of oral biology**, v.47, p. 831 - 841, 2002.

RAISER, A; BADKE, M. Terapia de infecções cirúrgicas com jatos de solução salina e açúcar granulado. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.9, p. 125-128, 1989.

REIS-FILHO, C.R.; SILVA, E.R.; MARTINS, A.B.; PESSOA, F.F.; GOMES, P.V.N.; ARAÚJO, M.S.C.; MIZIARA, M.N., ALVES, J.B. Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats. **Archives of oral biology**, v.57, p. 469 – 476, 2012.

SCHWARZ, F.; STRATUL, S.I.; HERTEN, M.; BECK, B.; BECKER, J.; SCULEAN, A. Effect of an oily calciuym hydroxide suspension (Osteoinductal) on healing of intrabony periodontal defects. A pilot study in dogs. **Clin. Oral invest.**, v.10, p, 29 - 34, 2006.

SIDDIQI, A.; KIESER, J.A.; DE SILVA, R.K.; MCNAUGHTON. A.; DUNCAN, W.J. Trabecular Bone Microarchitecture in the Median Palate and Maxillary remolar Alveolar Sites of Edentulous Elderly Cadavers. **J Oral Maxillofac Surg**, v.71, p. 1852e1 - 1852e11, 2013.

SILVA, D.B.; AGUIAR, J.L.A.; MARQUES, A.; COELHO, A.R.B.; ROLIM FILHO, E.L. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero da cana-de-açúcar e fáscia autóloga em chinchila laniger. **An. Fac. Med Univ. Fed. Pernamb.**, v.51, n.1, p. 45 - 51, 2006.

SOARES, J.A.; LEONARDO, M.R.; DA SILVA, L.A.B.; TANOMARU FILHO, M.; ITO, I.Y. Effect of Rotary instrumentation ando f the association of calcium hydroxide and chlorhexidine on the antisepsis off root canal system in dogs. **Braz. Oral. Res.**, v.20, n.2, p.120-126, 2006.

STRECKBEIN, P.; JACKEL, S.; MALIK, C.Y.; OBERT, M.; KAHLING, C.; WILBRAND, J.F.; ZAHNER, D.; HEIDINGER, K.; KAMPSCHULTE, M.; PONS-KUHNEMANN, J.; KOHLER, K.; SAUER, H.; KRAMER, M.; HOWALDT, H.P. Reconstruction of critical-size mandibular defects in immunoincompetent rats with human adipose-derived stromal cells. **Journal of cranio-maxillo-facial surgery**, v.40, p. 496 - 503, 2013.

TIOMIS, A.C.; BORGES, A.P.B.; DAIHERT, A.P.F.; DUARTE, T.S.; PONTES, K.C.S.; CARVALHO, T.B.; CARLO REIS, E.C. Avaliação histológica do biovidro particulado na reparação de defeito experimental em mandíbula de cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.62, n.1, p.80 - 85, 2010.

TOWNSEND, C. M.; BEAUCHAMP, R. D.; EVERS, B. S. **Tratado De Cirurgia**, Ed. Elsevier, 17ª Edição, 2520 pag., 2005.

YEH, K.; POPOWICS, T.; RAFFERTY, K.; HERRING, S.; EGBERT, M. The effects of tooth extraction on alveolar bone biomechanics in the miniature pig, Sus scrofa. **archives of oral biology** v.55, p. 663 – 669, 2010.

# APÊNDICE

## Protocolo cirúrgico exodôntico em coelhos submetidos à avaliação da cicatrização alvéolo-dentária após aplicação do biopolímero da cana-de-açúcar[1]

*Gilberto Cunha de Sousa Filho*[2], *Alexsandre Bezerra Cavalcante*[3], *Renato Dornelas Câmara Neto*[4], *Liriane Baratella-Evêncio*[5]

*Artigo elaborado de acordo com as normas técnicas da Revista CERES (qualis B1 – Interdisciplinar)*
*http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/about/submissions#authorGuidelines*

**RESUMO**

Procedimentos cirúrgicos de exodontia em espécies animais são pouco descritos na literatura. Neste sentido este trabalho tem por objetivo descrever a metodologia empregada para a exodontia de incisivos inferiores de coelhos (Oryctolagus cuniculus) da raça Nova Zelândia, sadios e adultos e com peso médio de 3,0kg, e posterior implantação do biopolímero da cana-de-açúcar. Os animais foram anestesiados com xilazina 920mg/ml) e quetamina (50mg/ml) i.m. Os incisivos inferiores direitos foram extraídos pela técnica primeira em 10 animais e a inserção da esponja do Biopolímero da cana-de-açúcar apresentando formato cilíndrico compatível com a loja alveolar foi feita com uso de uma pinça reta (Adison®), além da síntese realizada, com fio de sutura vicryl 5.0 (Ethicon®) após a extração.

**Palavras-chave:** procedimento cirúrgico, exodontia, coelhos, perfusão.

[1]Artigo elaborado da tese de doutorado em Odontologia

[2]Cirurgião-Dentista, Professor Assistente de Anatomia, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Morais Rego, s/n, 50670-420, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil, (81) 2126-8555, prof.gilbertodesousa@hotmail.com (autor correspondente)

[3]Cirurgião-Dentista, Técnico em Anatomia e Necrópsia, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Morais Rego, s/n, 50670-420, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil, alexsandrebc@gmail.com

[4]Médico, Professor Associado de Cirurgia, Departamento de Cirurgia, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Morais Rego, s/n, 50670-420, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil, rdcamara@hotmail.com

[5]Cirurgiã-Dentista, Professora Associada de Histologia, Departamento de Histologia, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Morais Rego, s/n, 50670-420, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil, liriane@uol.com.br

## INTRODUÇÃO

Protocolos descrevendo técnicas operatórias são muito importantes para procedimentos cirúrgicos bem sucedidos. O passo a passo de técnicas exodônticas em animais não é bem descrita na literatura, em especial quando se trata de incisivos de coelhos.

Os coelhos são animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, à classe Mammalia, ordem Lagomorpha, e da família dos Leporídeos. Estes animais têm os dentes distintos de roedores, contendo 28 dentes, sendo quatro incisivos na arcada superior e dois na inferior, seis pré-molares na arcada superior e quatro na inferior; e seis molares na arcada superior e seis na inferior. Não apresentam caninos. Todos os dentes apresentam crescimento contínuo, o que obriga estes animais a desenvolverem o hábito de roer alimentos fibrosos para promover o desgaste dos mesmos.

Os incisivos são dentes longos, levemente curvados e crescem em média 2-2,4 mm/semana. Devido sua anatomia curvilínea exige manobras específicas para ser avulsionado. Assim, este trabalho tem como objetivo descrever o procedimento

cirúrgico utilizado como protocolo para extrações de incisivos inferiores de coelhos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram instalados no biotério de Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), avaliados clinicamente pelo médico veterinário responsável, e todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados no ambulatório de microcirurgia do mesmo local. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal desta Universidade, sob o número de processo 23076.040668/2011-72.

Para tal, foram realizados procedimentos em 10 coelhos (Oryctolagus cuniculus, Mammalia), da raça Nova Zelândia, adultos, saudáveis e com peso em média de 3,0 kg. Estes animais foram vermifugados com ivermectina ® (Vetbrands, Paulina, Brasil), alojados em gaiolas apropriadas (Beiramar Marca, modelo GC120Z com 50x50x50 cm e bebedouros com capacidade de 70 ml), com ração específica (Purina/Evialis®) e água *ad libitum*.

Os animais receberam pré-anestesia intramuscular de Atropina (Allergan®) 0,004 mg / kg (10 minutos antes da cirurgia) e foram anestesiados com 1 ml de Cloridrato de Xilazina (Rompum, Bayer ®) 2% (20 mg) e 1 ml de ketamina (Paerke-Davis® - 50 mg) por via intramuscular. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos, sendo considerado anestesiado o animal com a respiração regular e ausência de reflexos a estímulos (Barros-Marques et al, 2012).

Para a estabilização do animal na mesa de procedimentos e melhor posição para manobras cirúrgicas, colocou-se os animais na posição de decúbito dorsal, com as suas patas sendo laçadas por alças elásticas presas por alfinetes na mesa cirúrgica a fim de

evitar impedir movimentos reflexos involuntários.

Após a anestesia, procedeu-se assepsia do campo operatório com álcool iodado a 1% (Freitas, 2008). A seguir, foi realizada sindesmotomia em toda a circunferência do dente, com a finalidade de romper as fibras gengivais para evitar lacerações do tecido periodontal durante o procedimento cirúrgico. A extração do dente incisivo inferior direito foi realizada pela técnica cirúrgica primeira, utilizando-se fórceps dentário pediátrico número 151 (Golgran®) modificado e adaptado para este propósito (Figura 1). Após a apreensão do fórceps foram realizados movimentos vestíbulo-linguais tomando-se o cuidado de não promover forças intrusivas ou extrusivas, a fim de evitar a luxação da raiz. Logo em seguida, executou-se um movimento giratório, ascendente curvilíneo, acompanhando a anatomia radicular permitindo que o dente fosse avulsionado sem intercorrências de fratura.

No entanto, em alguns animais, foi necessário utilização de um elevador reto tipo Seldin (Quinelato®), para auxiliar na extração, também modificado (Figura 2), pois movimentos de alavanca com apoio nos dentes e na tábua óssea foram realizados com o intuito de facilitar o deslocamento da raiz e permitir sua remoção.

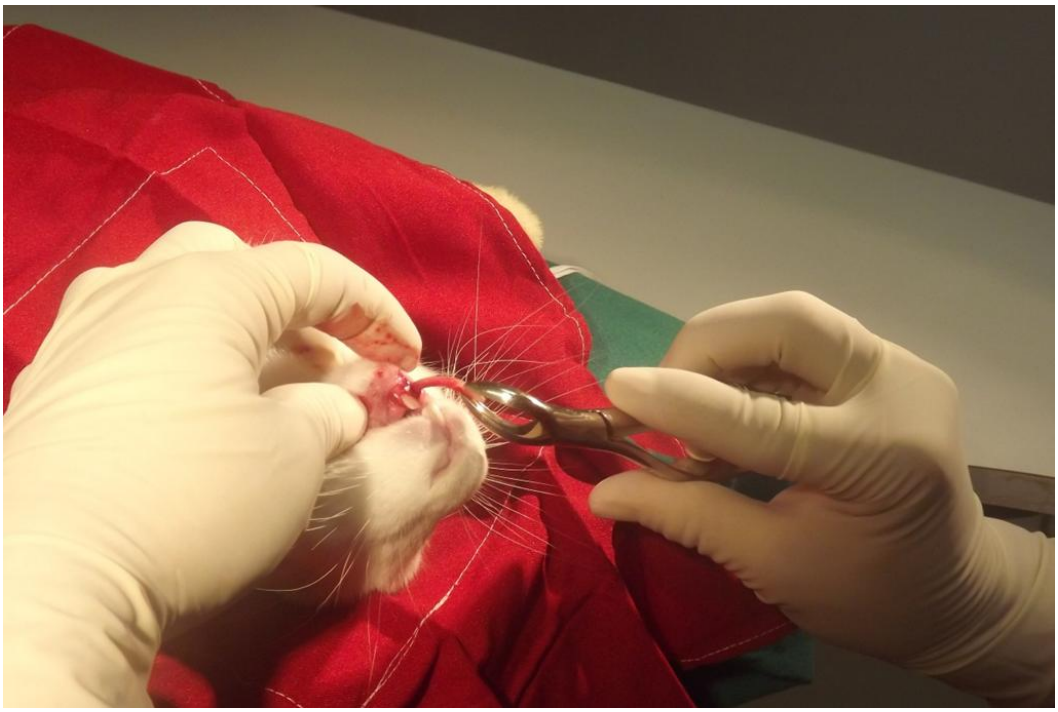

Figura 1 - Extração do incisivo inferior direito pela técnica cirúrgica primeira, usando um de fórceps odontológico pediátrico número 151 (Golgran®)

Figura 2 – Uso do elevador Seldin modificado (Quinelato®)

Estando o alvéolo preenchido por sangue procedeu-se a síntese dos bordos da ferida com fio Vicryl 5,0 (Ethicon®) após a extração. Enrofloxacina 8mg/kg (Flotril 2,5%, Laboratório Schering Brasil) foi administrada por via intramuscular durante a cirurgia, preventivamente (Barros-Marques et al, 2012).

Os animais foram submetidos a observações diárias da ferida cirúrgica por um período de 7 dias, avaliando o grau de inflamação com base na presença de edema, através de inspeção visual e de pressão digital da área operada. Foi avaliada, também visualmente, a presença de hemorragia, pus e deiscência dos tecidos moles da ferida (Milstein et al, 2010).

A alimentação nas primeiras 48 horas foi realizada com ração comercial amolecida (Purina/coelhos®) e água “ad libitum”, seguindo os princípios de reposição

mineral para os animais objetivando a manutenção da sutura; e do terceiro ao sexagésimo dia com uma dieta sólida (Purina/coelhos®) e líquida com água "ad libitum" (Pinto et al, 2013).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram utilizados coelhos por serem animais experimentais que apresentam respostas de cicatrização semelhantes ao homem, especialmente quando se trata de intervenções cirúrgicas intra-orais.

Neste experimento não houve necessidade de bloqueio suplementar de anestesia, porque não se apresentarem reflexos que comprovassem dor durante a cirurgia. Os animais foram continuamente monitorados por controle eletrocardiográfico e pressão arterial e estão de acordo com os procedimentos relatados por Lobet et al (2011) e Caneva et al (2012).

A extração de incisivos direitos inferiores de todos os coelhos da amostra foi com o uso de fórceps pela técnica primeira. Entretanto, foi necessário realizar modificações na ponta ativa do fórceps, com auxílio de um esmeril MM150 (Motomil/Brasutil®, Curitiba, Paraná), para que fosse aplicada uma curvatura na ponta ativa do instrumental, para favorecer um melhor apoio e apreensão na estrutura dentária, levando-se em consideração o formato curvilíneo destes dentes.

Entretanto, o uso de elevadores foi necessário em apenas dois animais da amostra por ter ocorrido luxação da raiz, porém com as raízes foram totalmente avulsionadas sem apresentar maior comprometimento pós-operatório. Apesar disto, nestes procedimentos pode haver necessidade de se promoverem retalhos mucoperiosteais para expor a região de extração do dente, além da necessidade do uso de motor de mão de baixa velocidade sob irrigação com solução salina estéril para realizar uma alveolectomia a fim de complementar a extração dentária (Silva et al,

2012).

. Nosso protocolo cirúrgico seguiu a técnica convencional para exodontia conforme descrito por Prado et al, 2012, ou seja, luxação, deslocamento, remoção do dente e sutura. Entretanto complementa a descrição visto que estes descrevem procedimentos enumerando as mesmas etapas, porém não especificam os instrumentos utilizados em cada etapa. Já outros autores relatam o uso de fórceps dentais adaptáveis (Seiwa Riken, Tóquio, Japão) (Matsuo et al, 2012), porém não descrevem quais as adaptações realizadas.

Depois do dente extraído, os rebordos da região cirurgiada foram suturadas com fio de Vicryl 5,0 (Ethicon®), sendo um material reabsorvível, objetivando evitar o stress nos animais caso fossem necessários as retirados dos pontos, como também observado por Vignoletti et al (2012). No entanto, vários autores usam fios de mononylon 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil) (Giorgetti et al, 2012) ou mononylon 5-0 (Mononylon; Ethicon, São Paulo, SP, Brasil) (Teófilo et al, 2010), pelo fato de aderirem menos matéria alba, o que também foi observado nos fios Vicryl, porque apesar de serem entrelaçados, apresentavam características de uma resposta inflamatória mínima (Sousa Filho et al, 2007).

No pós-operatório, as avaliações clínicas, durante os 60 dias até o sacrifício, permitiram a observação de que nenhuma das manobras cirúrgicas realizadas interferiram com o processo de cicatrização normal.

## CONCLUSÃO

A técnica apresentada para extração de incisivos inferiores de coelhos mostrou-se eficiente sendo que os animais apresentaram sinais positivos de recuperação pós-operatória.

**REFERÊNCIAS**

AGUIAR, J.L.A.; LINS, E.M.; MARQUES, S.R.B.; COELHO, A.R.B.; ROSSITER, R.O.; MELO, R.J.V. (2007) Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty on dogs. Acta. Cir. Bras., 22(1):77-81.

BARROS-MARQUES, S.R.; MARQUES-LINS, E.; ALBUQUERQUE, M.C.S.; ANDRADE-AGUIAR, J.L. Sugarcane biopolymer patch in femoral vein angioplasty on dogs. Journal Vasc. Surg., v.55, p. 517 - 521, 2012.

CANEVA, M.; BOTTICELLI, D.; PANTANI, F.; BAFFONE, G.M.; RANGEL JR, I.G.; LANG, N.P. (2012) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. Clin. Oral Impl. Res. 23:106 – 112.

COELHO, M.C.O.C.; CARRAZONI, P.G.; MONTEIRO, V.L.C.; MELO, F.A.D.; TENÓRIO FILHO, F. (2002) Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. Acta Cir. Bras, 17(1):1-7.

FREITAS, R. (2008) Tratado de Cirurgia Bucomaxilofacial, Ed. Santos, 1ª ed., 651p.

LOBET, G.; PAGE, L.; DRAYE, X. (2011) A novel image-analysis toolbox enabling quantitative analysis of root system architecture. Plant Physiology, 157:29 – 39.

MACHADO, G.J.R.; DIAS, S.M.D.; BOSCO, A.F.; OKAMOTO, T.; DE CASTRO, J.C.B.; DORNELLES, R.C.M. (2010) Action of Nicotine and Ovariectomy on Bone Regeneration After Tooth Extraction in Rats. J Oral Maxillofac Surg, 68:2675 – 2681.

MATSUO, K.; AKASAKI, Y.; ADACHI, K.; ZHANG, M.; ISHIKAWA, A.; JIMI, E.; NISHIHARA, T.; HOSOKAWA, R. (2012) Promoting effects of thymosin _4 on granulation tissue and new bone formation after tooth extraction in rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 114:17 – 26.

MILSTEIN, D.M.J.; LINDEBOOM, J.A.H.; INCE, C. (2010) Intravital sidestream

dark-field (SDF) imaging is used in a rabbit model for continuous noninvasive monitoring and quantification of mucosal capillary regeneration during wound healing in the oral cavity: A pilot study. Archives of oral biology, 55:343–349.

PINTO, M.R.; DOS SANTOS, R.L.; PITHON, M.M.; ARAÚJO, M.T.S.; BRAGA, J.P.V.; NOJIMA, L.I. (2013) Influence of low-intensity laser therapy on the stability of orthodontic mini-implants: a study in rabbits. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**,** 115(2):e26–e30.

PRADO, R.F.; SILVEIRA, V.A.S.; ROCHA, R.F.; VASCONCELLOS, L.M.R.; CARVALHO, Y.R. (2012) Effects of experimental osteoporosis and low calcium intake on postextraction sockets of rats. Int. J. Exp. Path., 93:139 – 147.

SILVA, D.B.; AGUIAR, J.L.A.; MARQUES, A.; COELHO, A.R.B.; ROLIM FILHO, E.L. (2006) Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero da cana-de-açúcar e fáscia autóloga em chinchila laniger. An. Fac. Med Univ. Fed. Pernamb., 51(1):45 - 51.

SOUSA FILHO, G.C.; ROCHA, D.P.; CAVALCANTE, A.B. (2007) Avaliação da utilização dos fios de sutura pelos cirurgiões Buco-Maxilo-Faciais na região metropolitana do Recife. Rev. Ciência e Saúde, 2(1):34-50.

VIGNOLETTI, F.; DISCEPOLI, N.; MULLER, A.; SANCTIS, M.; MUNÕZ, F.; SANZ, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog. J Clin Periodontol, 39:91 – 97.

# Reparação óssea alveolar de incisivos de coelhos tratados com o biopolímero da cana-de-açúcar: estudo radiográfico e histomorfométrico

**Gilberto Cunha de SOUSA-FILHO[1], Flávia Maria de Moraes RAMOS-PEREZ[2], Renato Dornelas CAMARA-NETO[3], Danyel Elias da CRUZ-PEREZ[4], Luciano de ALBUQUERQUE-MELLO[5], Liriane BARATELLA-EVÊNCIO[6]**

1- DDS, MSc, PhD, Adjunct Professor, Department of Anatomy, Centre for Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil
2- DDS, MSc, PhD, Adjunct Professor, Department of Clinical and Preventive Dentistry, Center for Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil
3- DDS, MSc, PhD, Associate Professor, Department of Surgery, Center for Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil
4- DDS, MSc, PhD, Adjunct Professor, Department of Clinical and Preventive Dentistry, Center for Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil
5- DDS, MSc, Assistant Professor, Departamento of Histology, Faculty of Dentistry of Recife, Recife, PE, Brazil
6- DDS, MSc, PhD, Associate Professor, Department of Histology, Centre for Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

Artigo elaborado de acordo com as normas técnicas do Journal of Applied Oral Science (qualis B1 – Interdisciplinar)
http://www.scielo.br/revistas/jaos/pinstruc.htm

## RESUMO

**Introdução**: O biopolímero da cana-de-açúcar é um produto extraído da síntese bacteriana da *Zoogloea sp.*, a partir do melaço de cana-de-açúcar e que apresenta características cicatrizantes em feridas cutâneas. Porém nada tem sido descrito na reparação alveolar pós-cirúrgica em procedimentos que envolvem exodontias. **Objetivo**: Avaliar a ação do biopolímero da cana-de-açúcar individualmente e associado à hidroxiapatita na reparação óssea alveolar por meio da determinação da radiopacidade e pela análise histomorfométrica. **Material e Métodos**: Foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia, distribuídos em três grupos: Grupo I (n=10) – Grupo I (n=10) tratado com biopolímero da cana-de-açúcar após exodontia; Grupo II (n=10) tratado com biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita após a exodontia e Grupo III (n=10), grupo controle, com realização de exodontia e

sem tratamento. O período de análise foi de 60 dias após a cirurgia. A análise da radiopacidade procedeu-se através de radiografias digitais. A análise histomorfometrica pela espessura das tábuas ósseas superior, inferior e da região mediana utilizando o valor médio do pixel das imagens. **Resultados**: Na análise dos dados radiográficos foi observado o valor médio do pixel de 128,8, 128,1 e 124,0 para os grupos I, II e III, respectivamente e não demonstrou diferenças significativas entre os mesmos. Histomorfométricamente a formação óssea não apresentou diferença estatisticamente significante entre os grupos. **Conclusões**: o biopolímero da cana-de-açúcar mostrou-se biocompatível, porém, não promoveu fechamento total da loja cirúrgica, onde o trabeculado ósseo circunscreveu os limites da esponja, não ocorrendo ossificação no seu interior. Porém, constatou-se formação de espículas ósseas no interior da esponja impregnada com hidroxiapatita.. Assim, este biopolímero não impede a reparação óssea, porém a ação como veículo na reparação ocorre somente quando associado a outros materiais osteocondutores.

**Palavras-Chave**: Osso. Radiografia. Coelhos, histologia

## INTRODUÇÃO

A consolidação óssea alveolar após exodontia, com um aumento significativo na densidade e área de regeneração do tecido, inicia-se num período de 28 dias após a cirurgia.

As células osteoprogenitoras, localizadas nas proximidades das paredes alveolares, originam osteoblastos que depositam matriz orgânica a partir do fundo do alvéolo e formam um tecido osteóide. Posteriormente, observa-se a

deposição de cristais de hidroxiapatita, calcificando esse tecido e originando as primeiras trabéculas ósseas, com a crista óssea sofrendo um processo de reabsorção e remodelação. Por volta do 40° dia, cerca de 2/3 de alvéolo já estão preenchidos por trabeculado ósseo, porém, o processo de reparo completa-se aos 64 dias pós-extração dental e é nesse estágio que o alvéolo está completamente preenchido por tecido ósseo neoformado e a crista alveolar está remodelada[7].

Muitas pesquisas têm sido realizadas no intuito de encontrar um material biocompatível que acelerasse e processo de regeneração alveolar após procedimentos exodônticos. Achados histológicos demonstraram, em coelhos tratados com óleo a base de hidróxido de cálcio, que neoformações de osso trabecular membranoso e estroma fibrovascular eram mais numerosos que em animais no grupo controle (não tratados)[1].

Trabéculas ósseas mais espessas preenchidas com tecido conjuntivo medular foram evidenciadas ocupando a maior parte do alvéolo dentário ao final de 9 semanas, após enxertos de BMPs (Proteínas morfogenéticas bovinas)[2]. Nos animais tratados com hidroxiapatita (H.A.) associado à proteína morfogenética óssea (BMP), observou-se que em 42 dias a cavidade alveolar do grupo controle foi preenchida com osso trabecular cercado por espaços medulares e tecido conjuntivo frouxo, e que no grupo tratado com H.A., o trabeculado foi menor que no controle, cercado por grânulos do material e pouco tecido conjuntivo, com capilares neoformados[3].

Recentemente, estudos tem evidenciado que o biopolímero de cana-de-açúcar, tem apresentado propriedades cicatrizantes, auxiliando no tratamento

de feridas infectadas ou não pelo efeito bactericida ou bacteriostático atribuído a ele. Além disso, favorece a oferta de nutrientes às células lesadas, contribuindo com a diminuição do edema local pela ação liposcópica, estimulando a formação de macrófagos e a formação rápida de tecido de granulação, o que leva a uma redução na congestão vascular dos tecidos lesados, melhorando a oxigenação e irrigação local[4.]

O biopolímero da cana-de-açúcar apresenta, na sua fração solúvel apresenta como principais monossacarídeos, a glicose (87,6%), a xilose (8,6%), a manose (0,8%), a ribose (1,7%), a galactose (0,1%), a arabinose (0,4%) e o ácido glucurônico (0,8%), sendo liberados gradualmente de acordo com o exsudado da ferida. Assim, o biopolímero da cana-de-açúcar, constituído de açúcares, forma uma película estável, a qual, quando em contato com os fluidos de uma ferida, libera uma quantidade de açúcar capaz de concentrar o meio e ocasionar uma hiperosmolaridade, que apesar de irritante é um fator positivo para o processo cicatricial por estimular granulação[5].

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação do biopolímero da cana-de-açúcar puro e associado à hidroxiapatita na reparação óssea alveolar por meio da determinação da radiopacidade óssea e pela análise histomorfométrica do alvéolo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação

Animal da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob o número do processo 23076.040668/2011-72.

Foram utilizados 30 coelhos (Oryctolagus cuniculus) da raça Nova Zelândia, sadios e adultos e com peso médio de 3,0kg. Estes animais foram vermifugados com Ivermectina (Vetbrands, Paulina, São Paulo) e mantidos no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, acondicionados em gaiolas apropriadas (Marca Beiramar, modelo GC120Z, com 50x50x50 cm e bebedouro lateral de 70ml) para cada animal e alimentados de acordo com a dieta padrão (Purina/Evialis®) do biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) e água *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos em três grupos: Grupo I (n=10), no qual foi realizada exodontia do incisivo inferior direito, seguida da inserção imediata do biopolímero da cana-de-açúcar no alvéolo e sutura das bordas da ferida com fio vicryl 5.0 (Ethicon®, São Paulo – SP, Brasil), Grupo II (n=10) foi realizada exodontia do incisivo inferior direito, seguida da inserção imediata de biopolímero da cana de açúcar associado à hidroxiapatita no alvéolo e sutura das bordas da ferida com fio vicryl 5.0 (Ethicon®, São Paulo – SP, Brasil). Grupo III (n=10), grupo controle, no qual foi realizada somente exodontia do incisivo inferior direito e sutura imediata das bordas da ferida com fio vicryl 5.0 (Ethicon®, São Paulo – SP, Brasil).

Os animais foram previamente pesados e anestesiados conforme o protocolo do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE. Dez minutos antes da cirurgia, foi administrada, via intramuscular, Atropina (0,004mg/Kg) (Allergan®

São Paulo – SP, Brasil). Posteriormente foi administrado, 1 ml de cloridrato de xylazina a 2% (20mg) (Rompum, Bayer®, São Paulo – SP, Brasil) e 1ml de ketamina (50mg) (Paerke-Davis®, Michigan, Detroit, USA), também por via intramuscular. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos e foi considerado anestesiado o animal com respiração regular e ausência de reflexos a estímulos. Eles receberam Enrofloxacina 8mg/kg (Flotril 2,5%, Laboratório Schering Brasil), via intramuscular, durante a cirurgia[8], para diminuir o risco de infecções oportunistas por bactérias gram-positivas ou gram-negativas.

Sessenta dias após a exodontia os animais foram anestesiados segundo protocolo descrito anteriormente para realização da cirurgia. Logo após, foi realizada perfusão com formoldeído a 10%, via artéria aorta ascendente. A remoção da amostra contendo o alvéolo a ser estudado, foi realizada através de uma secção em bloco da mandíbula com o uso de uma broca cilíndrica Carbide (JET®, Morrisburg, Canadá) de 56 mm de comprimento, montada em motor elétrico cirúrgico (Beltec® – LB 100, Araraquara, São Paulo, Brasil), sob abundante irrigação com soro fisiológico (NaCl a 0,9%). Os espécimes obtidos foram imediatamente colocados em recipiente contendo formol 10% para fixação em bloco.

Para avaliação da radiopacidade, foi realizada radiografia digital utilizando o aparelho de raios-X Spectro 1070 (Dabi Atlante®, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), operando a 70kVp e 10mA e placas de fósforo Digora Optime® (Soredex, Helsinki, Finlândia). No total foram adquiridas 30 imagens,

sendo 10 de cada grupo. O tempo de exposição foi padronizado em 0,3 segundos. A placa de fósforo contendo o espécime, o penetrômetro de alumínio, com 8 degraus, com 1mm cada, e o bloco de chumbo foram posicionados em uma plataforma de acrílico, com distância foco-placa padronizada em 30 centímetros. As imagens adquiridas foram salvas em JPEG e importadas para o software ImageJ software (versão 1,33 μ, Instituto Nacional de Saúde, Washington, DC).

As mensurações foram realizadas por um único examinador previamente calibrado. A região de interesse foi delimitada utilizando uma ferramenta de seleção poligonal e posteriormente foi mensurado o valor médio em pixel (figura 1) pelo histograma, considerando que o valor do pixel igual à zero corresponde a preto e o valor de pixel de 255 ao branco. Foi realizada também a mensuração do valor médio do pixel correspondente a cada degrau do penetrômetro de alumínio. Para cada amostra foi confeccionada uma curva através de um gráfico de dispersão, onde continham os valores médios de pixel da amostra correspondente equivalente em mmAl. A equação matemática foi escolhida de acordo com o valor da média obtido no gráfico de dispersão. Deste modo, foram obtidos os valores de densidade do alvéolo em valores equivalentes em mmAl.

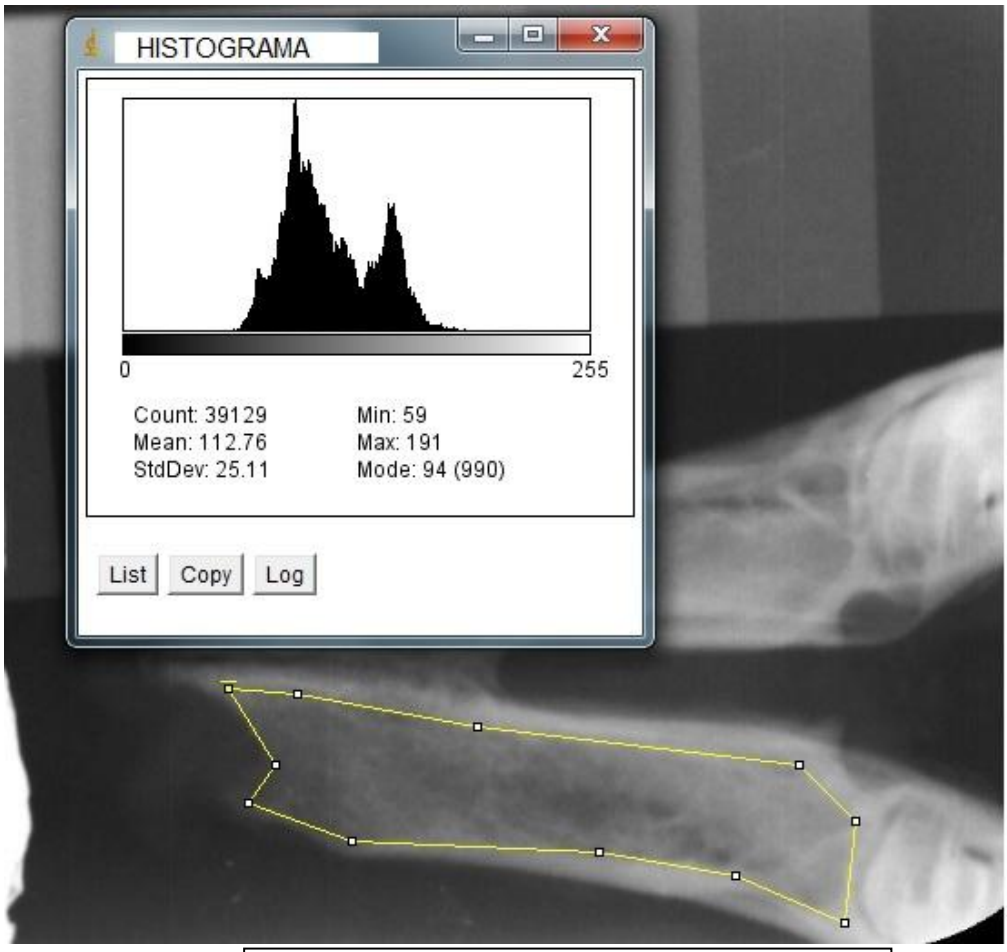


Figura 1 - Histograma da área selecionada

Para o processamento histológico, após a fixação, as amostras foram descalcificadas em Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA) a 4% associado a hidróxido de sódio também a 4% durante 17 dias, com duas trocas diárias. Em seguida foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e processadas convencionalmente para microscopia de luz. Os espécimes foram emblocados em parafina histológica, seccionados em micrótomo (LEICA®-RM2125RT), com espessura aproximada de 5µm, corados pela hematoxilina-eosina, montados em Entellan®, observados e escaneados pelo Pannoramic Viewer 1.15.3 software (3DHISTECH, Budapest, Hungary).

A área de estudo foi subdividida em 3 regiões para análise, com

dimensões apresentando largura de 975 pixels, altura de 612 pixels e intensidade de bits de 24, que envolviam, sagitalmente, a tábua óssea superior (A), a região central do alvéolo (B) e a tábua óssea inferior (C), em um mesmo plano.

As áreas selecionadas foram submetidas à análise usando o software Gimp 2.8 (GNU, Image Manipulation Program, CNET Networks Inc.) com o qual as imagens foram segmentadas por cor, determinando-se a contagem de pixels para a coloração da matriz óssea. A região de interesse foi delimitada, selecionando cada secção especificada (A, B ou C) do alvéolo tratado, mensurando-se os valores totais de pixels para tecido ósseo por área (12)..

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, com dados tabulados no programa do software estatístico Minitab 16.0 (Minitab®, USA). Foi utilizado o teste não paramétrico de normalidade de Anderson-Darling, com nível de significância de 5%.

**RESULTADOS**

Dos dados obtidos e analisados para a radiopacidade óssea pelo teste não paramétrico de normalidade de Anderson-Darling, observou-se que não houveram diferenças significativas. No entanto, considerando a análise numérica para os valores da média de pixels entre os grupos pôde-se observar que houve uma tendência de maior aproximação do grupo testado com o biopolímero da cana-de-açúcar (grupo I) com o grupo testado com o biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita (grupo II), apesar dos valores – P para a densidade óssea serem não significativos, com

respectivamente, 0,379 e 0,515 (gráfico 1).

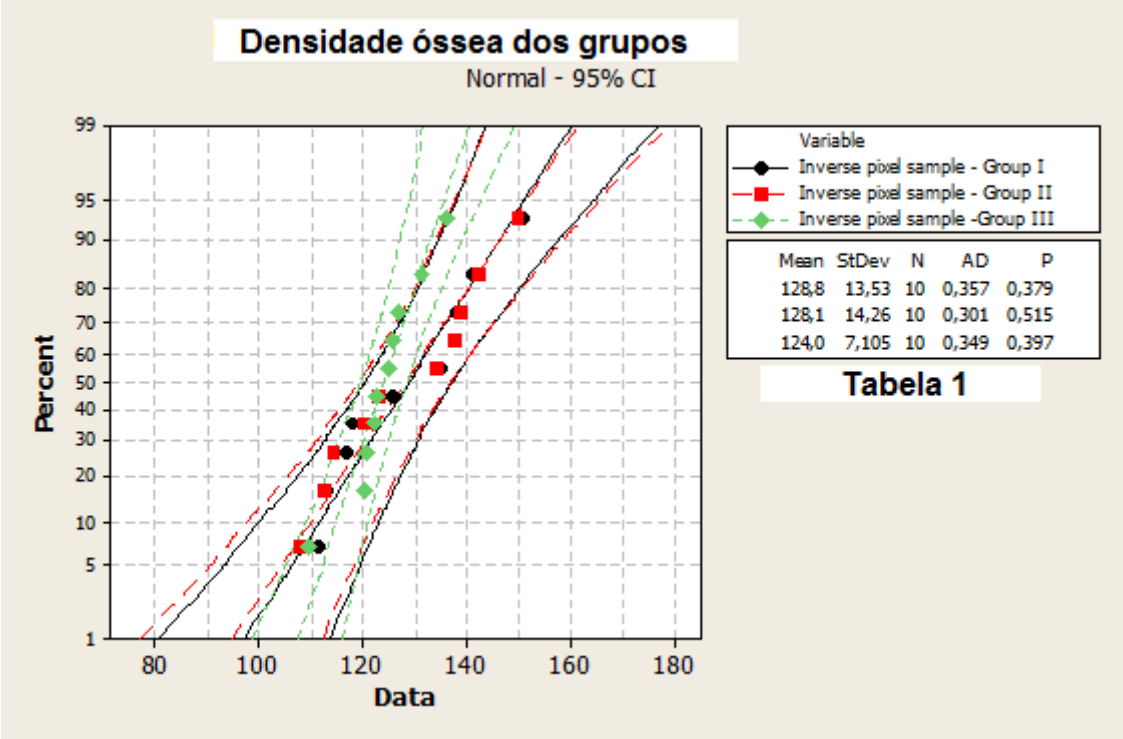


Gráfico 1 - Densidade óssea dos grupos

Na análise da média, por grupos, do inverso de pixel referente à escala de alumínio, observou-se a mesma tendência conclusiva de que a resposta cicatricial que conduz a neoformação óssea não era diferente entre o grupo I e o grupo II, levando a considerar que o biopolímero da cana-de-açúcar individualmente ou associado à hidroxiapatita não apresentava diferença significativa, no entanto sem muita divergência do grupo controle (gráfico 2).

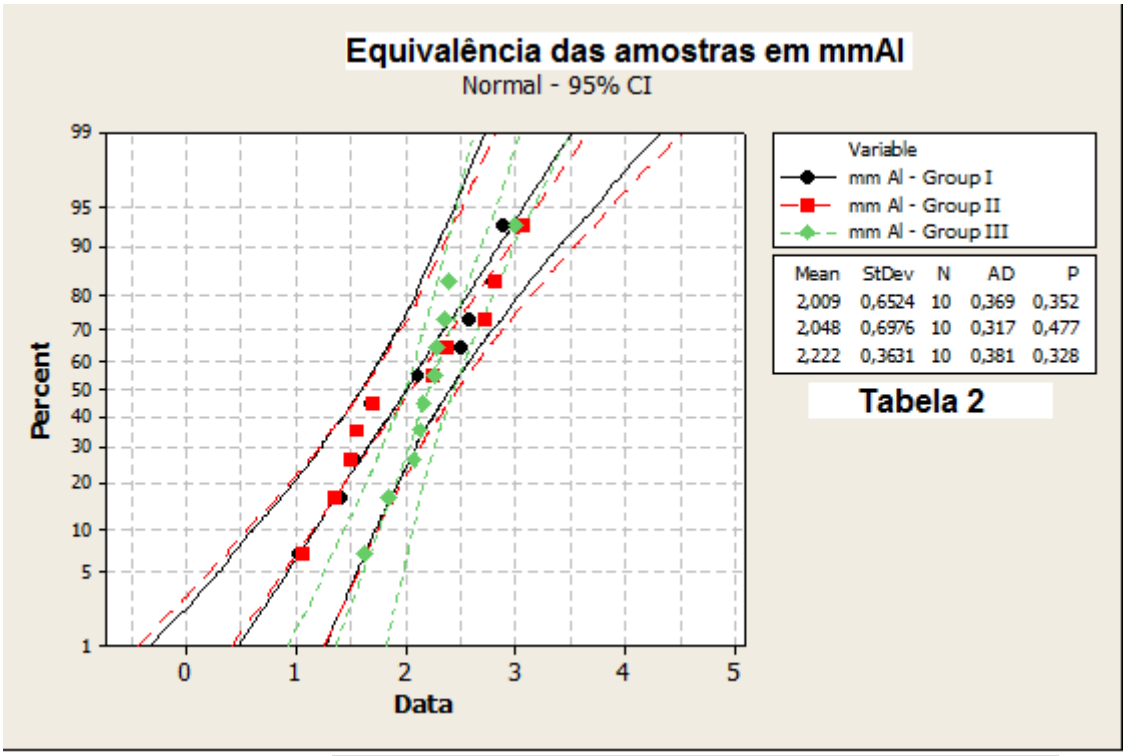


Gráfico 2 - Equivalência das amostras em mmAl

Histologicamente, quando utilizado o biopolímero da cana-de-açúcar (grupo I), pôde-se constatar que houve fechamento parcial da loja cirúrgica com formação de trabeculado ósseo partindo da tábua óssea superior e inferior em direção à área central. No interior do alvéolo observou-se a esponja de biopolímero entremeada por fibroblastos em diferenciação. Ao redor da esponja foi evidenciada uma delgada camada de trabeculado ósseo circunscrevendo o mesmo, como uma fina capa de osso. Entre esta capa e as tábuas ósseas periféricas formou-se trabeculado ósseo intercalado por áreas de tecido conjuntivo frouxo (figura 3).

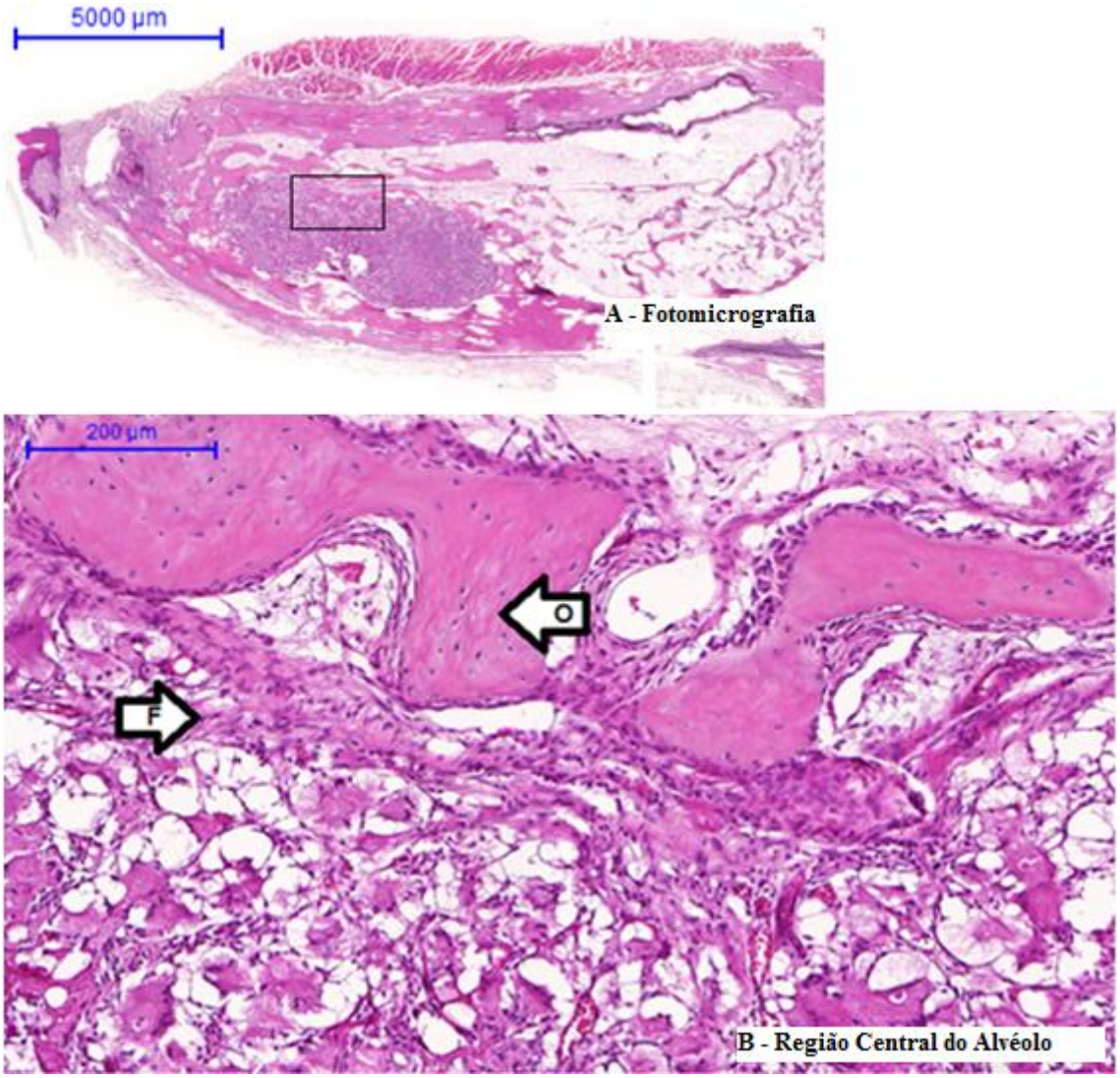


Figura 3 – Em A, fotomicrografia de porção do alvéolo de incisivo inferior direito de coelho do grupo I. Em B, maior aumento de porção da área central do alvéolo. Observar moderada presença de fibroblastos (F) no interior da esponja de biopolímero da cana-de-açúcar. Neoformação óssea mostrando trabeculado (O) circunjacente ao material empregado. Coloração HE.

Quando utilizado o biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita, também se pôde constatar que houve fechamento parcial da loja cirúrgica com formação de trabeculado ósseo partindo das tábuas ósseas superiores e inferiores em direção à área central, com características histológicas similares ao do grupo I. Entre a capa de osso e as tábuas ósseas

periféricas formaram-se delgadas trabéculas de tecido ósseo intercalado por área de tecido conjuntivo fibroso bem evidente (figura 4). Entretanto, no interior do alvéolo observou-se a esponja de biopolímero entremeada por fibroblastos em diferenciação e várias espículas ósseas neoformadas (figura 4.1).

Em um dos espécimes observou-se atividade osteoclástica na periferia do material, sendo que, no interior da esponja foram evidenciadas células gigantes de corpo estranho (figura 4.2).

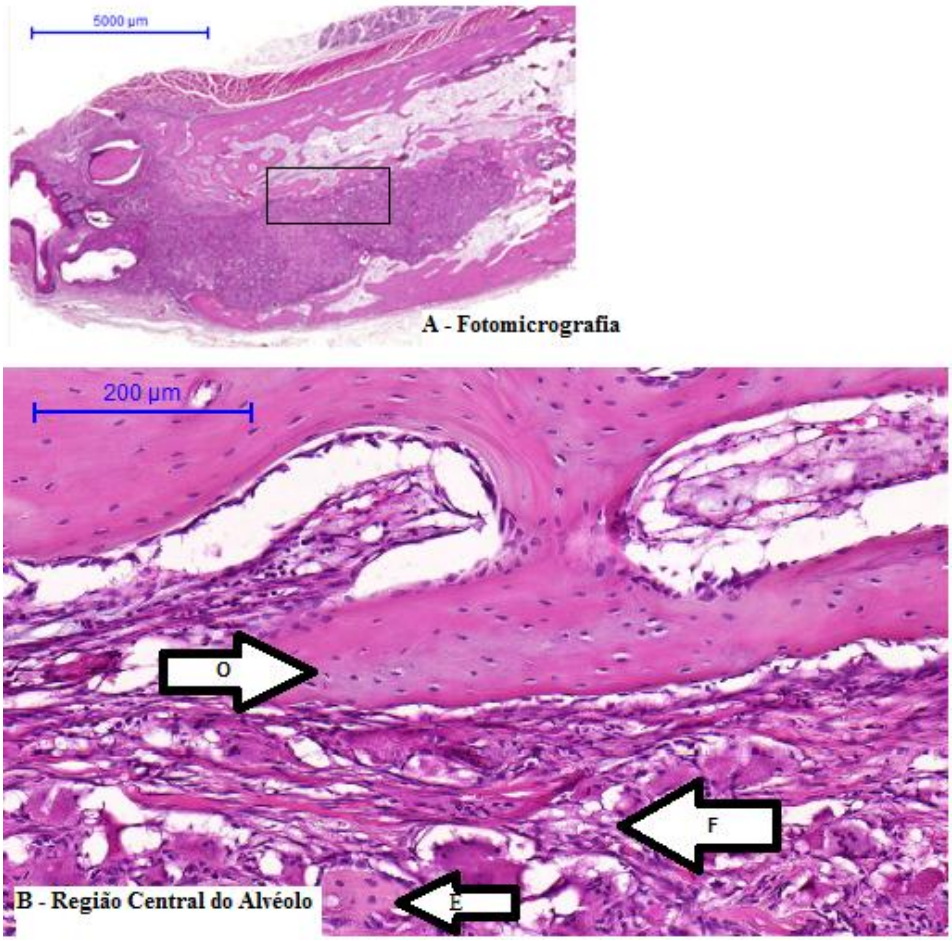


Figura 4 – Em A, fotomicrografia de parte da região média do alvéolo de incisivo inferior direito de coelho, tratado com biopolímero de cana-de-açúcar associado a hidroxiapatita. Em B, maior aumento da área central do alvéolo, demarcada em A. Observar diferenciação de fibroblastos (F) e formação de espículas ósseas (E) no interior da esponja. Neoformação óssea de tecido ósseo maduro foi observada circunjacente ao material empregado (O). Coloração HE.

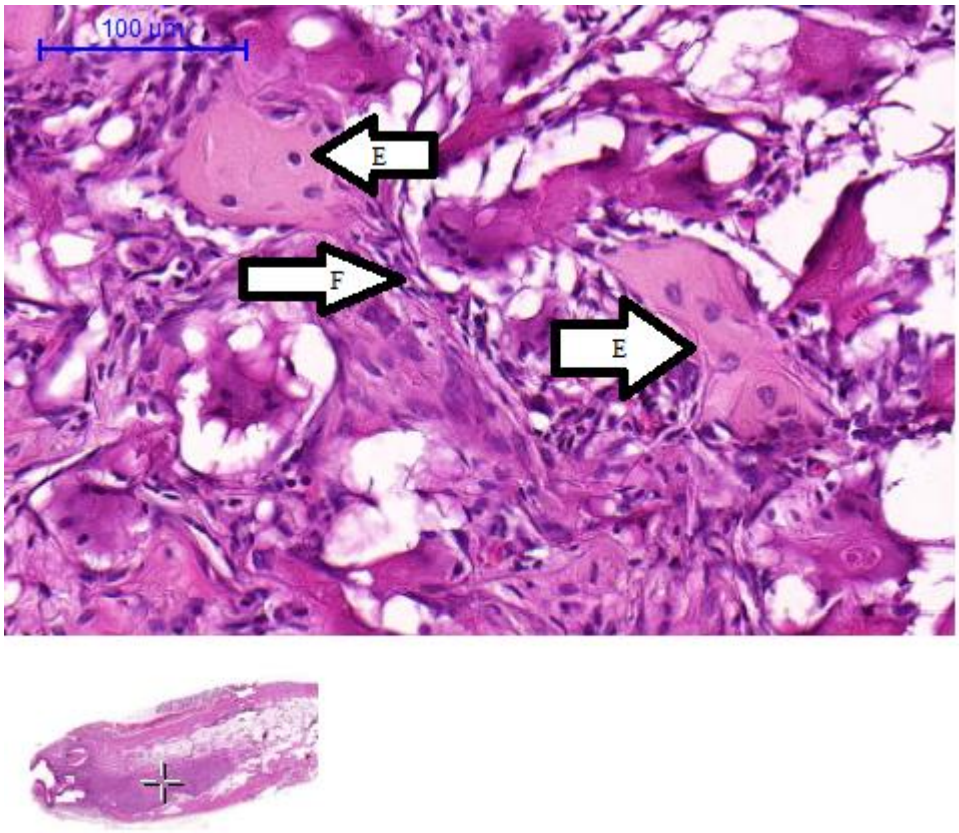


Figura 4.1 – Fotomicrografia de Fibroblastos em diferenciação (F) e várias espículas ósseas neoformadas (E) na região média do alvéolo. Coloração HE.

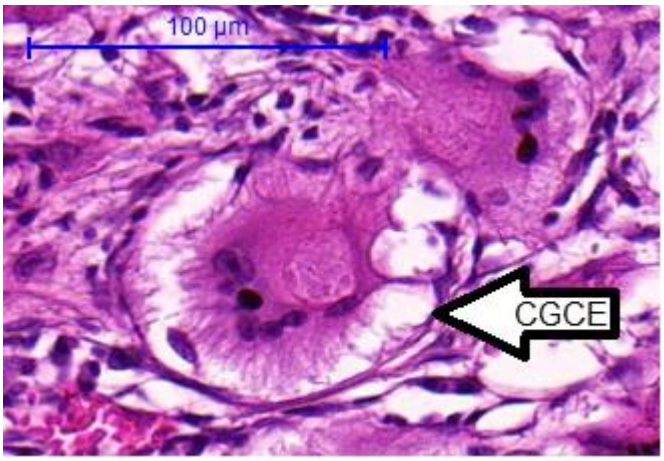


Figura 4.2 - Célula gigante de corpo estranho (CGCE) no interior da esponja na região média do alvéolo do grupo II. Coloração HE.

Nestas amostras do grupo controle pôde-se observar ossificação quase completa da loja cirúrgica. Grande quantidade de trabéculas ósseas foi observada na região central entremeadas por tecido conjuntivo fibroso.

Osteoblastos e células de revestimento ósseo encontram-se interposto entre trabéculas de osso maduro e tecido conjuntivo medular (Figura 5).

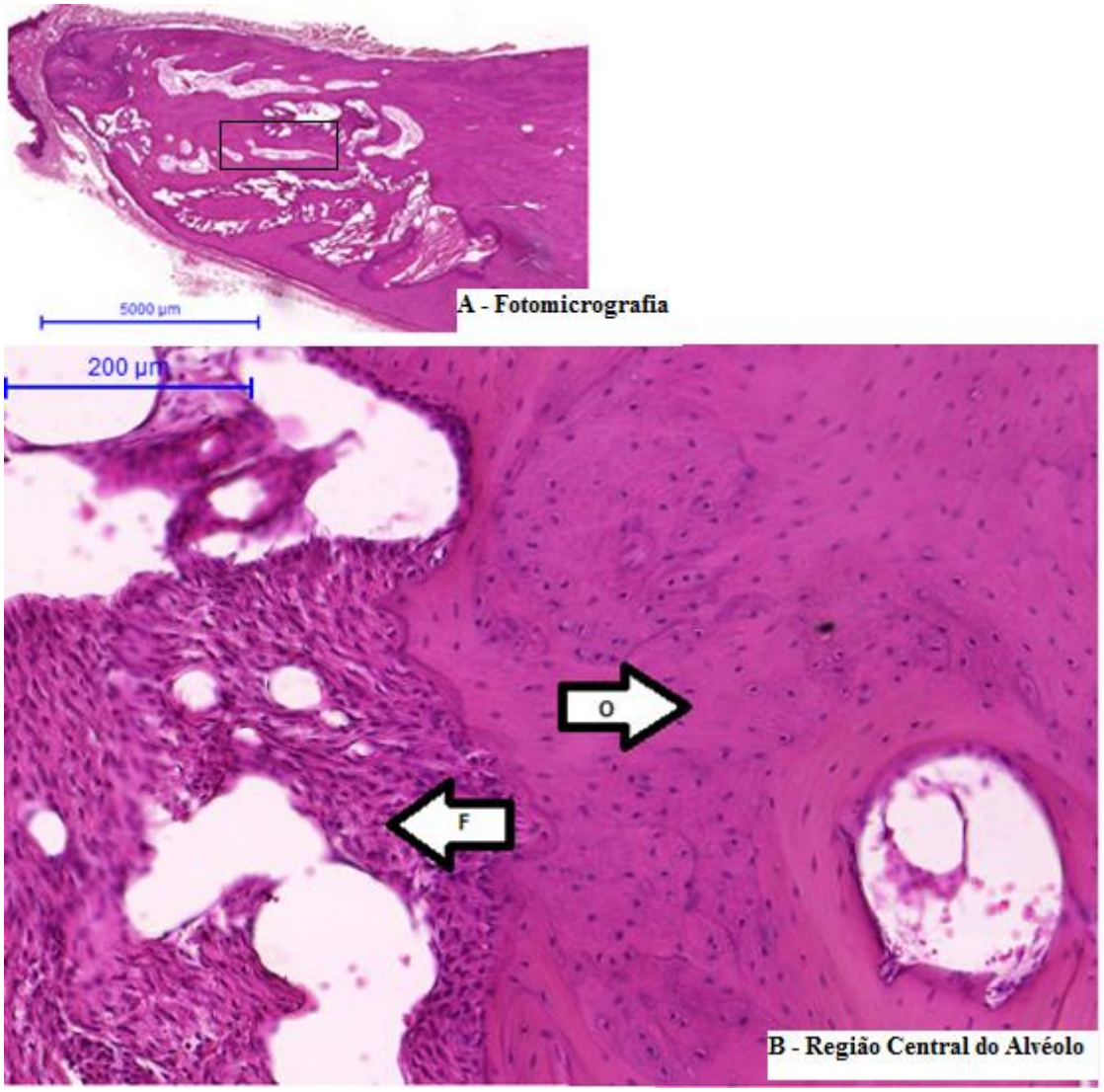


Figura 5 – Em A, fotomicrografia de parte do alvéolo de incisivo inferior direito de coelho pertencente ao grupo controle. Em B, observar trabeculado ósseo na área central do alvéolo entremeado por tecido conjuntivo maduro com discreta concentração de fibroblastos (F). Coloração HE

Para os dados histométricos entre as amostras, após os testes estatísticos de Kruskal-Wallis, pôde-se observar na análise do gráfico de formação óssea que a tábua óssea superior não apresentou diferença estatisticamente significante entre os grupos, sendo a maior média no grupo II,

tratado com biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita e a menor a do grupo I (gráfico 3).

A espessura da tábua óssea inferior também não apresentou diferença estatisticamente significante entre os grupos, sendo a maior média a do grupo III e a menor a do grupo I (gráfico 4).

Já para a formação óssea na região central do alvéolo, a maior média de formação óssea foi do grupo III, e a menor a do grupo I, tendo o grupo II se aproximado do grupo III pelo valor da média para a contagem (gráfico 5).

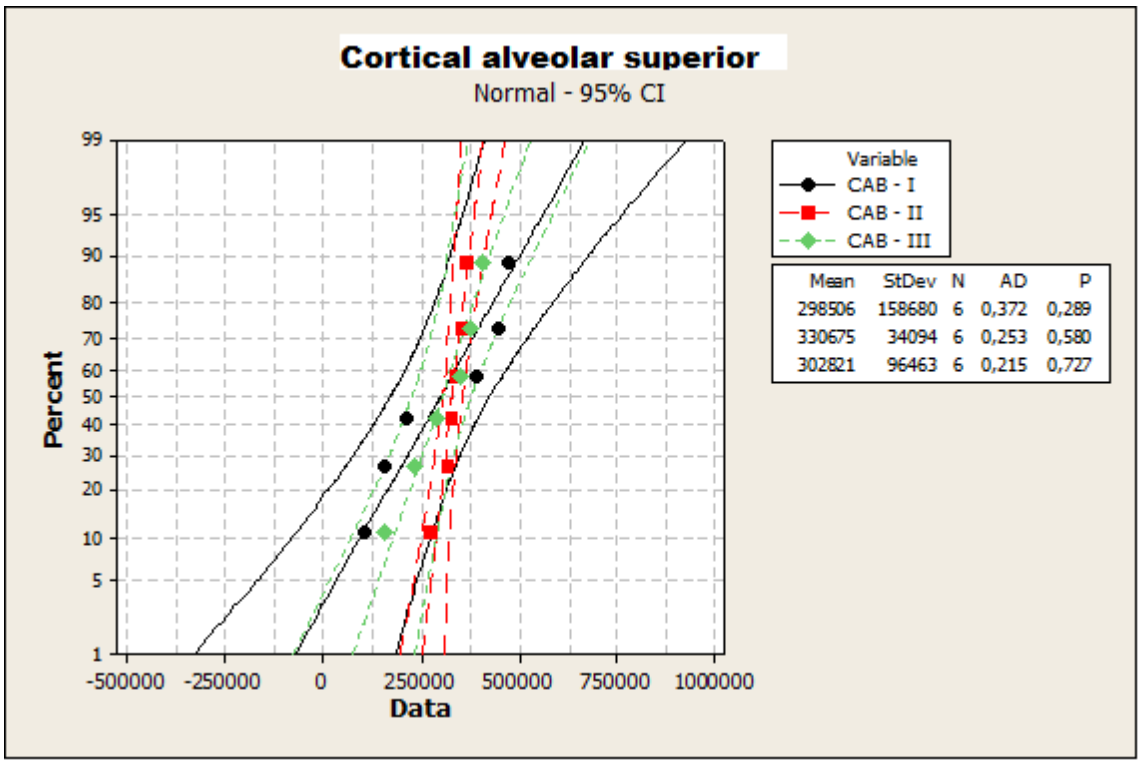


Gráfico 3 - Cortical Alveolar Superior

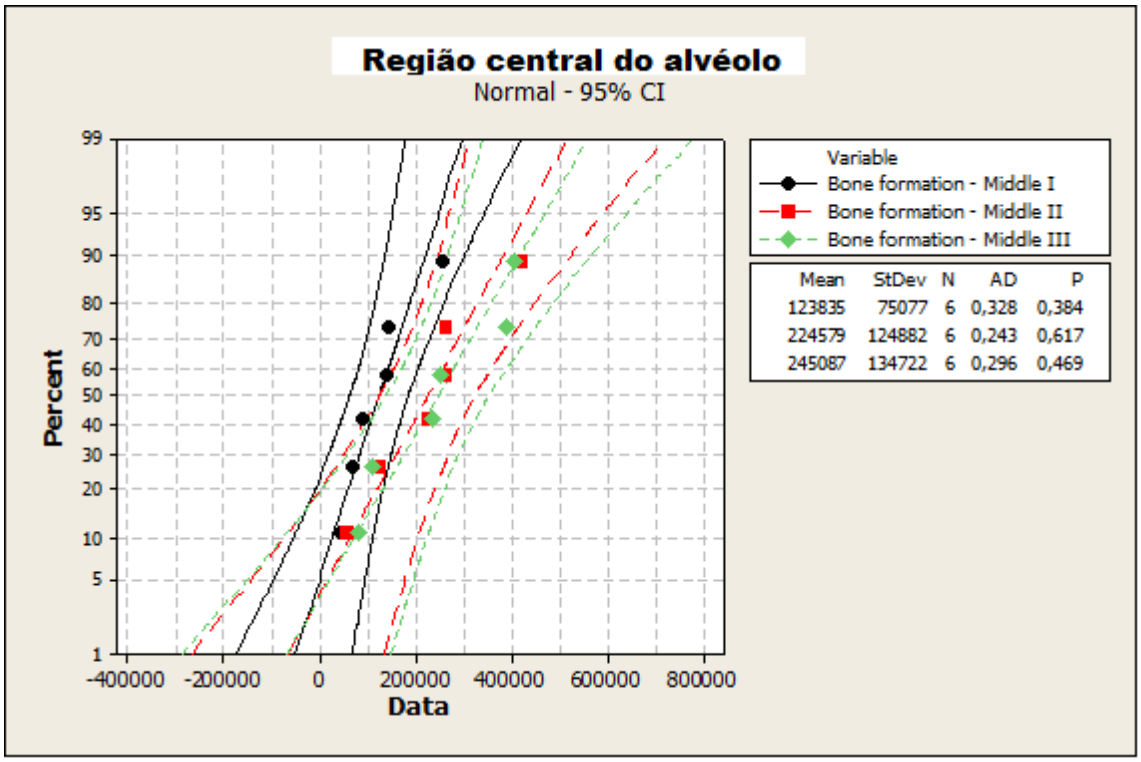


Gráfico 4 - Região Central do Alvéolo

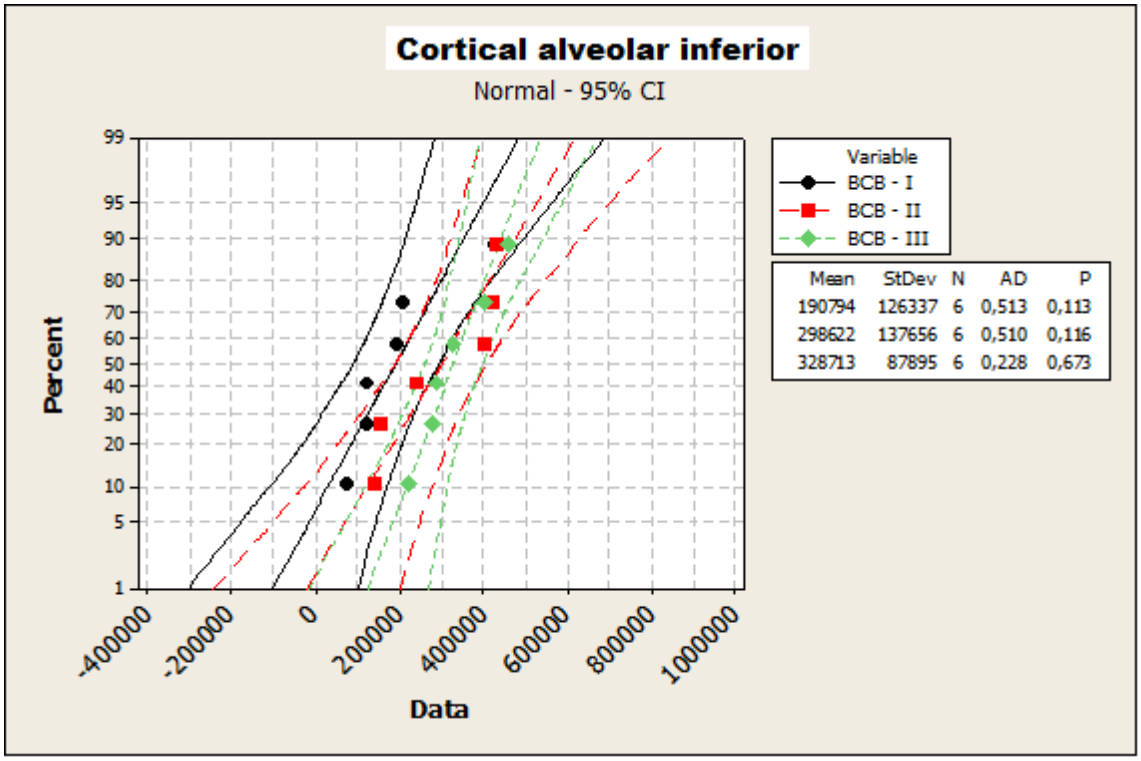


Gráfico 5 - Cortical Alveolar Inferior

## DISCUSSÃO

A análise de formação óssea por uso de biomateriais em alvéolos dentários e regiões da cavidade bucal vem sendo testada ao longo dos últimos anos, com diversos tipos de biopolímeros[10, 11, 12].

Foi utilizado análise aos 60 dias pós-operatórios para todos os grupos, pois se considera que a regeneração alveolar ocorre entre 42 e 63 dias, em animais que apresentam o hábito de roer alimentos[2, 3].

Nesta pesquisa, o biopolímero da cana-de-açúcar apresentou valores aproximados para a média de radiopacidade óssea aferida em pixels, respectivamente de 128,8 e 128,1 para os grupos I e II, sendo maiores que o do grupo controle, que foi de 124,0. Estes dados aproximam-se dos achados de Polat, et al.[1] (2009) e Imbronito, et al.[13] (2002), que ao utilizarem óleo à base de hidróxido de cálcio e membranas de proteção absorvíveis e não absorvíveis, respectivamente em distrações osteogênicas e alvéolos dentários. Observaram que havia um aumento na densidade óssea e área regenerada no grupo de experimento, em relação ao grupo controle, quando analisadas a osteogênese em mandíbulas de coelhos e cicatrização óssea alveolar em cães. Da mesma forma Faria, et al.[14] (2010) relataram que aos 56 dias a formação óssea entre os grupos tratados e não tratados foram semelhantes para tratamento de lesões ósseas em mandíbulas de coelhos tratadas com cloreto de estrôncio.

A densidade óptica da imagem radiográfica guarda correlação logarítmica inversa com a radiopacidade do material radiografado que

condiciona a quantidade de radiação que atravessa o mesmo e sensibiliza a película radiográfica. Dessa forma, quanto mais radiopaco o material analisado, menor a densidade óptica verificada na imagem radiográfica do mesmo ou, em termos de tecido ósseo, quanto maior a ossificação ou mineralização do material, menor a densidade óptica mensurada em sua imagem radiográfica, sendo essa a base física dos métodos de densitometria óssea[9].

Os resultados histológicos e histométricos mostram que o biopolímero da cana-de-açúcar não interfere no reparo ósseo alveolar, considerando-se que a cicatrização das paredes do mesmo predispõe a formação de matriz osteóide até a região central, onde o produto foi colocado. Mesmo desenho de disposição óssea foi observado quando da utilização de colágeno microfibrilar hemostático em alvéolos dentários de ratos aos 28 dias[15]. Já em 75 dias, a fratura óssea provocada em rádios de coelhos apresentava-se consolidadas quando da utilização de enxerto ósseo inorgânico[16].

Considerando a formação em toda a extensão do alvéolo, ou seja, nos seus terços cervical, médio e apical, observou-se neste estudo que houve maturação de tecido osteóide mais intenso nas paredes alveolares que envolvem as corticais ósseas, assim como na apical dos grupos testados, principalmente no grupo I, confrontando-se com os resultados de Calixto, et al.[19] (2001) que identificaram um atraso discreto entre 13% a 20% no reparo apical na regeneração alveolar , em ratos.

Nossos resultados mostraram que a reparação alveolar óssea ocorreu através da formação de trabeculado ósseo das tábuas periféricas em direção ao centro do alvéolo. Esta reparação ocorre das suas paredes adjacentes ao

centro do mesmo pela ação de células osteoprogenitoras, originando osteoblastos e consequentemente a formação de matriz óssea no meio da loja cirúrgica. Desta forma, a reparação alveolar ocorre inicialmente pela infiltração de células fibroblásticas em substituição ao coágulo formado para o controle da hemorragia seguido pelo processo de ossificação[14].

Estes dados também são semelhantes ao descrito por Calixto, et al.[2] (2007), em pesquisas envolvendo bovinos, quando observaram ao final da primeira semana, o espaço alveolar esta infiltrado por tecido de granulação com moderada infiltração de linfócitos e áreas de matriz osteóide depositadas na interface das paredes alveolares, assim como abundante formação de coágulo predominantemente na região central do alvéolo; na segunda semana, progressiva formação de novo tecido ósseo é observado, concomitantemente com um decrescimento do infiltrado inflamatório com extenso coágulo sanguíneo; no final da terceira semana observa-se novo trabeculado ósseo penetrando nos espaços medulares com tecido conjuntivo ocupando todo o alvéolo; por fim, o mesmo foi observado ao final da nona semana.

Embora nossos achados não demonstrem diferenças numéricas significativas para o processo de formação de osso, a reparação alveolar no grupo III apresentou uma rede de trabéculas ósseas mais fechada, com grande quantidade de osteoblastos interpostos entre osso e o conjuntivo medular, assim como observado por Brandão, et al.[3] (2002), em ratos, pois aos 42 dias a cavidade alveolar do grupo controle foi preenchida com osso trabecular cercado por amplos espaços medulares com tecido conjuntivo frouxo.

No grupo I, tratado com biopolímero da cana-de-açúcar, por se

apresentar neste estudo em formato de esponja, induziu a formação de coágulo com maior velocidade que no grupo III, sugerindo uma propriedade hemostática apresentada pelo produto, principalmente para o grupo II. Observou-se que quando se utilizou o biopolímero da cana-de-açúcar, ocorreu fechamento parcial da loja cirúrgica com formação de trabeculado ósseo maduro, presença de tecido conjuntivo fibroso e neoformação óssea circunjacente a este material, induzindo uma boa resposta para formação de matriz óssea. Apesar disto, não foi evidenciada osteogênese no interior da esponja de biopolímero. Em nove semanas, quando analisado a ação de proteínas morfogenéticas bovinas, Calixto, et al.[2] (2007) concluíram que uma rede de trabéculas ósseas mais espessas foi evidenciada ocupando a maior parte do alvéolo, assim, nos grupos tratados, o processo de cicatrização óssea não mostrou qualquer diferença notável em comparação com os ratos do grupo controle.

Para o grupo II, onde se utilizou o biopolímero da cana-de-açúcar associado à hidroxiapatita, constatou-se que houve, da mesma forma, fechamento de parte da loja cirúrgica por tecido ósseo maduro, embora de maneira mais densamente concentrada que o grupo I, porém sem diferença estatística. Nos grupos tratados, uma camada de osso mostrou-se encapsulando a esponja de biopolímero, como uma membrana. Entretanto apenas no grupo associado com hidroxiapatita observou-se ossificação dentro das malhas da esponja. Analisando a ação do biopolímero na formação de matriz óssea, constatou-se que houve uma tendência de formação desta matriz, assim como citado por Medeiros Júnior, et al.[18] (2013) que, quando analisando a reconstrução de defeitos ósseos em calvárias de ratos,

concluíram que o gel de biopolímero da cana-de-açúcar mostrou ser um excelente transportador de proteína óssea morfogenética, liberada para o processo de reparo ósseo.

O processo de ossificação apresentou melhor resultado no grupo II em relação ao grupo I, embora ambos tenham utilizado o biopolímero e tenham sido menores em relação ao controle. Estes dados estão de acordo com a literatura onde relatos indicam que a hidroxiapatita, com ou sem associação à Proteína óssea morfogenética (BMP), mostrou trabeculado ósseo melhor que no controle, cercado por grânulos do material e pouco tecido conjuntivo, com capilares neoformados[2]. No entanto, quando associado hidroxiapatita com bisfosfonatos, estudos clínicos sugeriram osteocondução normal e que a reparação ocorreu[15].

Quando analisado a espessura da tábua óssea superior, observou-se que nos dois grupos tratados, foi superior ao controle, tendo o grupo II melhor resposta entre eles. Dados semelhantes pôde-se constatar com Polat et al.[1] (2009) quando da análise do efeito osteoindutor de óleo a base de hidróxido de cálcio em distrações osteogénicas em mandíbulas de coelhos, pois mostraram que em 28 dias células mesenquimais e células trabeculares recém-formadas eram mais numerosas do que nos grupos de controle, e que histomorfometricamente, a proporção média de um novo tecido ósseo / tecido total foi significativamente superior nos grupos tratados.

A presença de células fibroblástica na região central do alvéolo predispôs entendimento de que a esponja de biopolímero quando associada à hidroxiapatita favorece a presença destas células. Observou-se que a invasão

de fibroblastos nas esponjas de biopolímero foi de forma acentuada aos 60 dias. Nossos resultados não concordam com estudos através da análise da textura da superfície, os quais relatam que o biopolímero não possui poros, o que não permitiria a invasão de fibroblastos e que estes apenas ficariam aderidos à superfície do produto[5], predispondo uma maior concentração destas células ao redor da estrutura. Desta forma, contribuiria assim com a formação de macrófagos e a formação rápida de tecido de granulação que levaria a uma redução na congestão vascular melhorando a oxigenação e a irrigação local. Este fato torna possível ao biopolímero ser um fator positivo no processo de cicatrização por estimular granulação e favorecer a maturação do tecido conjuntivo com consequente diferenciação óssea[24]. Porém nossos resultados demonstraram que ao associar este biomaterial com hidroxiapatita, ocorreu infiltração de fibroblastos no seu interior, bem como, a formação de pequenas espículas ósseas. Estes dados sugerem que a hidroxiapatita pode interferir no mecanismo de reparação, induzindo um processo de ossificação.

Nossos resultados demonstram uma biocompatibilidade do biopolímero da cana-de-açúcar, o que também tem sido descrito em outros estudos em que foi empregado o mesmo produto em diversos tipos de tecidos, como em remendos de artérias femorais de cães quando avaliados hemodinamicamente em angioplastias[26], na reepitelização de tecido cutâneo em feridas tratadas por segunda e terceira intenção em animais que apresentavam feridas infectadas[26], e principalmente na sua utilização em defeitos osteocondrais em côndilos femorais de coelhos tratados com gel do biopolímero da cana-de-açúcar[27]. Também tem sido demostrado boa aceitação com resultados positivos como relatado por Medeiros Júnior, et al.[18] (2013) quando da reconstrução de defeito

ósseos em calvárias de ratos, concluindo que o gel de biopolímero da cana-de-açúcar mostrou ser um excelente transportador de proteína óssea morfogenética liberada para o processo de reparo ósseo.

Além disso, estudos demonstram boa tolerância ao biopolímero da cana-de-açúcar no seu uso como curativo pós-cirúrgico para correção de hipospadias penianas[28], sem a presença de reações adversas na sua camada cutânea. O mesmo pôde ser descrito por Carvalho Júnior, et al[29] (2012), quando em síntese de paredes da bexiga, tendo resultado semelhante à poliglactina após 8 semanas com fibrose equivalente.

O biopolímero da cana-de-açúcar é um material que tem reabsorção tardia, apresentando após 4 a 8 semanas uma baixa resposta inflamatória, e mesmo após 8 semanas de exposição uma potencial ação litogénica similar à polidioxanona e muito inferior a poliglactina 910, segundo Monteiro, et al.[26] (2007). Nos grupos tratados a análise foi feita em 8 semanas para todos os grupos, e constatou-se que houve formação de fibroblastos com posterior neoformação óssea de alvéolos dentários de coelhos que pode ser avaliada como satisfatória.

## CONCLUSÃO

O biopolímero da cana-de-açúcar mostrou ser um material biocompatível permitindo a reparação alveolar através da neoformação óssea. Entretanto, observou-se que não ocorreu fechamento total da loja cirúrgica, onde o aparecimento do trabeculado ósseo limitou-se até as margens da esponja, não ocorrendo ossificação no seu interior. Porém, constatou-se que houve

formação de espículas ósseas no interior da esponja impregnada com hidroxiapatita, talvez induzido pela presença deste material.

**AGRADECIMENTOS**

À Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela apreciação da pesquisa.

Ao Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, pela disponibilidade para a realização da pesquisa e emprego dos materiais.

**REFERÊNCIAS**

1. POLAT, H.B.; YELER, H.; GUMUS, C.; BULUT, H.E.; KUCUK, D. (2009) Effect of oil-based calcium hydroxide (Osteoinductal) on distraction osteogenesis in rabbit mandible. Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod, 107:e30-e36.
2. CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; BRENTEGANI, L.G.; LAMANO-CARVALHO, T.L. (2007) Alveolar wound healing after implantation with a pool of commercially available bovine bone morphogenetic proteins (BMPs) – A histometric study in rats. Braz Dent J, 18: 29-33.
3. BRANDÃO, A.C.; BRENTEGANI, L.G.; NOVAES JR, A.B.; GRISI, M.F.M.; SOUZA, S.L.S.; TABA JR, M.; SALATA, L.A. (2002)Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hidroxyapatite alone or associat-ed to BMPS. Braz. Dental J., 13:147-154.
4. COELHO, M.C.O.C.; CARRAZONI, P.G.; MONTEIRO, V.L.C.; MELO, F.A.D.; TENÓRIO FILHO, F. (2002) Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. Acta Cir. Bras, v. 17, suppl. 1,

p. 1-7.

5. BARROS-MARQUES, S.R.; MARQUES-LINS, E.; ALBUQUERQUE, M.C.S.; ANDRADE-AGUIAR, J.L. (2012) Sugarcane biopolymer patch in femoral vein angioplasty on dogs. Journal Vasc. Surg., v.55, p. 517 - 521.

6. MENEZES JÚNIOR, L.R.; GAUJAC, C.; TRENTO, C.L. (2009) Influência das alterações locais sobre o processo de reparo alveolar. Revista saúde e Pesquisa, v.2, n.3, p. 411-416.

7. MILSTEIN, D.M.J.; LINDEBOOM, J.A.H.; INCE, C. (2010) Intravital sidestream dark-field (SDF) imaging is used in a rabbit model for continuous noninvasive monitoring and quantification of mucosal capillary regeneration during wound healing in the oral cavity: A pilot study. Archives of oral biology, 55:343–349.

8. PINTO, M.R.; DOS SANTOS, R.L.; PITHON, M.M.; ARAÚJO, M.T.S.; BRAGA, J.P.V.; NOJIMA, L.I. (2013) Influence of low-intensity laser therapy on the stability of orthodontic mini-implants: a study in rabbits. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**,** 115(2):e26–e30.

9. TRALL, D.E. (1994) Textbook of veterinary diagnostic radiology. 2ed. Philadelphia: Saunders.

10. TEIXEIRA, R.C.; RUBIRA, C.M.F.; ASSIS, G.F.; LAURIS, J.R.P.; CESTARI, T.M.; RUBIRA-BULLEN, I.R.F. (2011) Radiological and histopathological evaluation of experimentally induced periapical lesion in rats. J Appl Oral Sci., v.19, n.5, p. 500 -504.

11. SIDDIQI, A.; KIESER, J.A.; DE SILVA, R.K.; MCNAUGHTON. A.; DUNCAN, W.J. (2013) Trabecular Bone Microarchitecture in the Median Palate and Maxillary remolar Alveolar Sites of Edentulous Elderly Cadavers. J Oral Maxillofac Surg, v.71, p. 1852e1 – 1852e11.

12. GOMES, C.; ELIZEIRE, M.B.; BECKER, P.; FOERSTNOW, L.; STEIN, G.; ALIEVI, M.M.; CIRNE-LIMA, E.O.; CONTESINI, E.A. (2010) Modelo experimetal de reconstrução em falha mandibular em coelhos. Cienc. Rural, v.40, n.7, p. 1597 – 1602.

13. IMBRONITO, A.V.; TODESCAN, J.H.; CARVALHO, C.V.; ARANA-CHAVEZ, V.E. (2002) Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs. Biomaterials, v.23, p. 4079 – 4086.

14. FARIA, M.A.; VILLA, N.; CARBONEL, A.A.F.; SIMÕES, R.S.; HADAD, S.; FARACO, F.N. (2010) Análise histológica da lesão óssea de mandíbula de coelho após aplicação local de cloreto de estrôncio. Rev. Gaúcha Odontol., v.58, n.4, p.487 – 490.

15. MAGRO-ÉRNICA, N.; MAGRO-FILHO, O.; RANGEL-GARCIA, I. (2003) Histologic study of use of microfibrilar collagen hemostat in rat dental sockets. Braz. Dent. J., v.14, n.1, p. 12 – 15.

16. MIRANDA, E.S.; CARDOSO, F.T.S.; MEDEIROS FILHO, J.F.; BARRETO, M.D.R.; TEIXEIRA, R.M.M.; WNADERLEY, A.L.; FERNANDES, K.E. (2005) Estudo experimental comparativo no uso de enxerto ósseo orgânico e inorgânico no reparo de fraturas cirúrgicas em rádio de coelhos. Acta. Ortop. Bras., v.13, n.5, p. 245 – 248.

17. CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; BRENTEGANI, L.G.; CARVALHO, T.L.L. (2001) Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. Pesqui. Odontol. Bras., v.5, n.3, p. 25 – 262.
18. MEDEIROS JÚNIOR, M.D.; CARVALHO, E.J.A.; CATUNDA, I.S.; BERNARDINO-ARAÚJO, S.; AGUIAR, J.L.A. (2013) Hydrogel of polysaccharide of sugarcane molases as carrier of bone morphogenetic protein in the reconstruction of critical bone defects in rats. Acta Cir. Bras., v. 28, n. 4, p. 233 – 238.
19. SCHWARZ, F.; STRATUL, S.I.; HERTEN, M.; BECK, B.; BECKER, J.; SCULEAN, A. (2006) Effect of an oily calciuym hydroxide suspension (Osteoinductal) on healing of intrabony periodontal defects. A pilot study in dogs. Clin. Oral invest., v.10, p. 29-34.
20. CAMARGO, P.M.; LEKOVIC, V.; WEINLAENDER, M. KLOKKEVOLD, P.R.; KENNEY, E.B.; DIMITRIJEVIC, B. NEDIC, M; JANCOVIC, S.; ORSINI, M. (2000) Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. Oral surgery oral medicine oral pathology, v.90, p. 581-586.
21. STRECKBEIN, P.; JACKEL, S.; MALIK, C.Y.; OBERT, M.; KAHLING, C.; WILBRAND, J.F.; ZAHNER, D.; HEIDINGER, K.; KAMPSCHULTE, M.; PONS-KUHNEMANN, J.; KOHLER, K.; SAUER, H.; KRAMER, M.; HOWALDT, H.P. (2013) Reconstruction of critical-size mandibular defects in immunoincompetent rats with human adipose-derived stromal cells. Journal of cranio-maxillo-facial surgery, v.40, p. 496-503.
22. RABIE, A.B.M. (2002) The effect of demineralized intramembranous bone matrix and basic fibroblast growth factor on the healing of

allogeneic intramembranous bone grafts in the rabbit. Archives of oral biology, v.47, p. 831-841.

23. BURG, K.J.L.; PORTER, S.; KELLAM, J.F. (2000) Biomaterial developments for bone tissue engineering. Biomaterials, v.21, p. 2347-2359.

24. AGUIAR, J.L.A.; LINS, E.M.; MARQUES, S.R.B.; COELHO, A.R.B.; ROSSITER, R.O.; MELO, R.J.V. (2007) Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty on dogs. Acta. Cir. Bras., v.22, p. 77-81.

25. MARQUES, S.R.B.; LINS, E.M.; AGUIAR, J.L.A.; ALBUQUERQUE, M.C.S.; ROSSITER, R.O.; MONTENEGRO, L.T.; VIEIRA, R.J. (2007) A new vascular substitute: femural artery angioplasty in dogs using sugarcane biopolymer membrane patch – hemodynamic and histopathologic evaluation. Journal Vasc. Bras. V.6, n.4, p. 309-15.

26. MONTEIRO, V.L.C.; COELHO, M.C.O.C.; CARRAZZONI, P.G., MOTA, R.A.; MELO, F.A.D., CARVALHO, E.C.. ANDRADE, L.S.S. (2007) Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda e terceira intenção. Medicina veterinária, v.1, n.1, p. 1 - 8, jan / jun.

27. ALBUQUERQUE, P.C.V.C.; AGUIAR, J.L.A.; SANTOS, S.M.; PONTES FILHO, N.; DE MELLO, R.J.V.; COSTA, M.L.C.R.; ALBUQUERQUE, C.M.C., ALMEIDA, T.M.S.; SANTOS, A.H.S.; SILVA, J.C. (2011) Comparative study of the areas of osteochondral defects produced in the femoral condyles of rabbits treated with gel of sugarcane biopolymer. Acta Cir. Bras., v.26, n.5, p. 383 – 386.

28. MARTINS, A.G.S; LIMA, S.V.C.; ARAÚJO, L.A.P.; VILAR, F.O.; CAVALCANTE, N.T.P. (2013) A wet dressing for hypospadias surgery. Int. Braz. J. Urol., v. 39, n.3, p. 408 – 413.

29. CARVALHO JÚNIOR, A.M.; SANTOS, M.M.; BARKOKÉBAS, B.B.; AGUIAR, J.L.A.; LIMA, S.V.C.; DAMBROS, M. (2012) Characterization of the deposition of collagen fibers and lithogenic potential in bladder of rats submitted to a sugarcane biopolymer graft. Int. Braz. J. Urol., v. 38, n.4, p. 544 – 551.

# ANEXOS

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 08 de março de 2012

Oficio 413/12

Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Prof. Gilberto Cunha de Sousa Filho**
Departamento de Anatomia - UFPE
Processo nº 23076.040668/2011-72

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado: ***"Efeito da utilização do biopolímero da cana-de-açúcar na regeneração alveolar de incisivos de coelhos."***

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Maria Teresa Jansen

Profa. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

Observação: Animais: Coelhos, Linhagem: Nova Zelândia; Sexo: Machos; Idade: 2 a 3 meses; Peso: 2,5 a 3,5 kg; Nº de Animais previsto no projeto: 40 animais.

## ANEXO B – NORMAS DO PERIÓDICO PARA O ARTIGO 1

**ISSN 0034-737X *versão impressa***
**ISSN 2177-3491 *versão on-line***

# INSTRUÇÕES AOS AUTORES


- Escopo e política
- Forma e preparação de manuscritos
- Envio de manuscritos


## Escopo e política

O periódico ***Revista Ceres*** é editado pela Universidade Federal de Viçosa (CNPJ: 25.944.455.0001/96) e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas originais de pesquisa nas áreas de produção e biotecnologia vegetal, medicina veterinária, zootecnia, ciência e tecnologia de alimentos, economia e extensão rural, engenharia agrícola e engenharia florestal. Destina-se a pesquisadores, professores, alunos de graduação e pós-graduação e demais profissionais das áreas de Ciências Agrárias e Biológicas e tem como missão publicar artigos científicos de interesse da comunidade científica ligada a Ciências Agrárias e Biológicas.

O processo de tramitação é feito totalmente *on line* no site www.ceres.ufv.br. Os trabalhos encaminhados para publicação serão aprovados, após a análise crítica de dois revisores (especialistas da área), de um editor associado e da comissão editorial. A lista de especialistas que colaboraram em cada volume é apresentada no último número publicado do ano. Antes da publicação, cada artigo é submetido a revisores de português e inglês. O autor pode acompanhar o processo no site da revista.

Os artigos aceitos para publicação tornam-se propriedade da ***Revista Ceres***. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista. Os trabalhos devem ser submetidos exclusivamente *on line*acessando-se o site www.ceres.ufv.br.

Para proceder à submissão o autor correspondente deve solicitar seu cadastramento via e-mail enviado para ceresonline@ufv.br, informando seu nome completo, CPF, título do artigo e área de atuação. Os demais autores devem enviar mensagem eletrônica para o mesmo endereço, indicando sua concordância com a

submissão do artigo. Uma vez cadastrado, o trabalho deverá ser remetido, seguindo-se as instruções que constam no ícone "envio de artigo" da página inicial. Vale ressaltar que os artigos fora das normas serão imediatamente devolvidos aos autores.

Artigos da área animal só serão aceitos se aprovados por um Comitê de Ética. O Comitê de Ética do Departamento de Veterinária da UFV avaliará os trabalhos recebidos que não tenham sido submetidos anteriormente a outro comitê de Ética.

Os artigos publicados são disponibilizados e têm acesso livre e irrestrito.

**TIPOS DE TRABALHOS:**

A ***Revista Ceres*** publica Artigos, Comunicações, Revisões (a convite) e Cartas ao Editor.

**Artigo:** Deve relatar um trabalho original completo, em que a reprodutibilidade dos resultados está claramente estabelecida. O texto deve ter no máximo 25 páginas, incluindo-se as referências, figuras e tabelas.

**Comunicação**: Deve relatar resultados conclusivos e não dados preliminares. É um formato alternativo para descrever, de forma mais concisa, resultados parciais de um trabalho mais amplo, ou de relatar resultados conclusivos baseados em um menor volume de dados. O texto completo deve ter no máximo 10 páginas, incluindo-se as referências, figuras e tabelas.

**Revisão:** Deve reportar, em profundidade, o estado da arte de determinado tema, após convite da Comissão Editorial, sem limite de páginas.

**Carta ao editor:** Deve retratar, de forma informal, algum tema técnico-científico de interesse da comunidade de ciências agrárias ou biológicas. Sua publicação fica a critério da Comissão Editorial.

## Forma e preparação de manuscritos

**ESTILO E FORMATO:**

Os trabalhos devem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o Webster's Third New International Dictionary. Para ortografia em português adota-se o Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa, da Academia Brasileira de Letras. Para ortografia em espanhol recomenda-se o Dicionario de La Lengua

Española, da Real Academia Española. Os trabalhos submetidos em inglês e espanhol deverão conter resumo em português. O texto deve ser digitado em Microsoft Word for Windows (versão 98, 2000, 2003 ou XP), justificado, em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. O formato da página deverá ser A4, com margens de 3 cm. Sugere-se a consulta de artigos publicados recentemente para maiores esclarecimentos sobre as seções contidas em um artigo ou comunicação, descritas a seguir, na ordem de apresentação.

**SEÇÕES DE ARTIGO OU COMUNICAÇÃO:**

**Título**: Deverá ter no máximo 15 palavras, centralizadas e em negrito. Apenas a primeira palavra com a letra inicial em maiúscula e as demais em minúscula, exceto em casos pertinentes (p. ex., nomes científicos; *Phaseolus vulgaris*). Se necessário, introduzir nota de rodapé ao seu final, usando algarismo arábico sobrescrito.

**Nomes dos autores**: Os nomes dos autores devem ser listados em sequencia e centralizados abaixo do título, por extenso e com letras maiúsculas/ minúsculas. Cada autor é acompanhado de um algarismo arábico. Os algarismos também são listados, em notas de rodapé, com formação, titulação máxima, departamento, instituição, endereço comercial (rua, número, bairro, CEP, cidade, estado, país) e e-mail dos autores. Deve estar indicado o autor para correspondência.

**Rodapé**: Deve fornecer informações sobre o trabalho (se foi extraído de tese ou dissertação, etc., e fonte financiadora) e sobre cada um dos autores: formação, titulação máxima, departamento, instituição, endereço comercial (rua, número, bairro, CEP, cidade, estado, país) e e-mail.

**Abstract, Resumen ou Resumo**: As palavras ABSTRACT, RESUMEN ou RESUMO devem ser escritas cm letras maiúsculas, em negrito e alinhadas à esquerda. Deve ser escrito na língua escolhida para a redação do artigo, em letra maiúscula, alinhado à esquerda. O texto do abstract, resumen ou resumo deve ser iniciado com uma ou duas linhas introdutórias, tendo no máximo 250 palavras em um só parágrafo.

**Key words, Palabras clave ou Palavras-chave**: Em número mínimo de três e máximo de seis, citadas em parágrafo subsequente ao Resumo, preferencialmente sem repetir palavras contidas no título do trabalho.

**Abstract ou Resumo**: Se o artigo estiver redigido em português ou espanhol, nesta seção o resumo deverá ser apresentado em inglês. Caso esteja redigido em inglês, nesta seção o resumo deverá ser apresentado em

português. Deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. Na linha subsequente ao título dessa seção deve-se inserir o título em inglês ou português, conforme o caso, negrito e centralizado. O abstract e/ou o resumo devem corresponder ao resumo e/ou abstract.

**Key words ou Palavras-chave**: Citadas em parágrafo subsequente ao Abstract ou Resumo. Devem corresponder às palavras-chave ou key words.

**Introdução:** O título dessa seção, "INTRODUÇÃO", deve ser escrito em letra maiúscula, em negrito e alinhado à esquerda. A introdução deve ater-se ao problema do trabalho em pauta, situando o leitor quanto à sua importância e objetivos, estando estes últimos claramente expressos ao final da introdução.

**Material e Métodos:** O título dessa seção, "MATERIAL E MÉTODOS", deve ser escrito em letra maiúscula, em negrito e alinhado à esquerda. A seção "Material e Métodos" deve ser redigida com detalhes suficientes para que o trabalho possa ser repetido.

**Resultados e Discussão**: O título da seção, "RESULTADOS E DISCUSSÃO", deve ser escrito em letra maiúscula, em negrito e alinhado à esquerda. O texto deve ser claro e conciso, apoiado na literatura pertinente. Resultados e Discussão são seções que podem vir juntas ou separadas.

OBS.: As seções **Material e Métodos, Resultados e Discussão** poderão conter subseções, indicadas por subtítulos escritos em itálico e negrito, iniciados por letra maiúscula e centralizados.

**Conclusões**: O título da seção "CONCLUSÕES" deve ser escrito em letra maiúscula, em negrito e alinhado à esquerda. As conclusões devem ser concisas e derivadas dos dados apresentados e discutidos.

**Agradecimentos:** Após a conclusão e, antes das Referências, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições.

**Referências**: O título da seção "REFERÊNCIAS" deve ser escrito em letra maiúscula, em negrito e alinhado à esquerda. As referências devem ser listadas por ordem alfabética. Seguem-se os exemplos:

**a) Artigos de periódicos:**

Anselme KL (2000) Review: Osteoblast adhesion on biomaterials. Biomaterials, 21:667-681.

Davies JE & Baldan N (1997) Scan electron microscopy of

the bone-bioactive implant interface. Journal of Biomedical Material Research, 36:429-440.

Conz MB, Granjeiro JM & Soares GA (2005) Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications on bone graft. Journal of Applied Oral Sciences, 13:136-140.

**b) Livros:**

Orefice RL, Pereira MM & Mansur HS (2006) Biomateriais: Fundamentos e aplicações. 3ª ed. Rio de Janeiro, Cultura Médica. 538p.

**c) Capítulos de livros:**

Costa EF, Brito RAL & Silva EM (1994) Cálculos e manejo da quimigação nos sistemas pressurizados. In: Costa EF, Vieira RF & Viana PA (Eds.) Quimigação: Aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação. Brasília, EMBRAPA. p.183-200.

**d) Trabalhos em anais de congresso:**

Junqueira Netto A, Sediyama T, Sediyama CS & Rezende PM (1982) Análise de adaptabilidade e estabilidade de dezesseis cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em seis municípios do sul de Minas Gerais. In: 1ª Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, Goiânia. Anais, EMBRAPA/CNPAF. p.47-48.

**e) Teses e dissertações:**

Wutke EB (1998) Desempenho do feijoeiro em rotação com milho e adubos verdes. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 146p.

**f) CD-ROM:**

França MHC & Omar JHDH (2004) Estimativa da função de produção do arroz no estado do Rio Grande do Sul: 1969 a 1999. In: 2º Encontro de Economia Gaúcha, Porto Alegre. Anais, FEE. CD-ROM.

**g) Internet:**

Darolt MR & Skora Neto F (2002) Sistema de plantio direto em agricultura orgânica. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br/daroltsist.htm>. Acessado em: 23 de abril de 2009.

**h) Boletim técnico:**

Bastos DC, Scarpare Filho JA, Fatinansi JC, Pio R & Spósito MB (2004) A cultura da lichia. Piracicaba, DIBD/ESALQ. 23p. (Boletim técnico, 26).

No texto, citar as referências nos formatos: (Autor, Ano), (Autor & Autor, Ano), (Autor *et al*., Ano) ou (Silva, 1999; Arariki & Borges, 2003; Santos *et al.*, 2007), sempre em ordem cronológica ascendente. A referência deve ser citada ao final de um período que expresse uma idéia completa. Quando os nomes dos autores forem parte integrante do texto, menciona-se a data da publicação citada entre parênteses, logo após o nome do autor, conforme exemplos: Fontes (1999), Borges & Loreno (2007), Batista *et al.* (2005).

*Citação de citação:* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Entretanto, nem sempre é possível. Nesse caso, pode-se reproduzir informação já citada por outros autores. Pode-se adotar o seguinte procedimento: no texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor do documento consultado com o ano de publicação; na listagem das referências deve-se incluir a referência completa da fonte consultada.

*Comunicação pessoal:* Não faz parte da lista de referências, sendo colocada apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, nome, estado e país da Instituição ao qual o autor é vinculado.

**NORMAS PARA AS ILUSTRAÇÕES E TABELAS:**

As figuras e tabelas, todas alocadas em páginas individuais ao final do texto, devem ser numeradas com algarismos arábicos, ficando a legenda posicionada abaixo nas figuras e acima nas tabelas. Figuras e tabelas não devem repetir os mesmos dados. Figuras submetidas em formato eletrônico devem apresentar resolução mínima de 300 dpi, em formato TIFF ou JPG. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) de onde foi extraída. A referência bibliográfica completa relativa à fonte da ilustração deve figurar na seção Referências. As despesas de impressão de ilustrações coloridas correrão por conta dos autores.

**Tabela:** O termo refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Deve ser construída apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tabela.

**Figura:** O termo refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. Os desenhos, gráficos, etc. devem ser bem nítidos. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Figura.

**CUSTOS:**

A publicação do trabalho implicará o pagamento de uma taxa de R$250,00 (além do custo de R$ 150,00 por página com ilustração colorida). O pagamento deverá ser efetuado quando o autor correspondente receber a prova tipográfica e será feito exclusivamente na forma de Boleto Eletrônico, a ser gerado na seção "Gerar boleto de pagamento". De posse do boleto impresso, basta quitá-lo em uma agência bancária ou caixa automática e enviar cópia para ceresonline@ufv.br. Solicita-se informar, via e-mail, a data e o número do boleto, quando forem feitos depósitos em que os autores não são identificados (recursos de convênios, departamentos, coordenações, etc.).

## Envio de manuscritos

Os trabalhos devem ser submetidos exclusivamente *on line* acessando-se o site www.ceres.ufv.br. Para proceder à submissão o autor correspondente deve solicitar seu cadastramento via e-mail enviado para ceresonline@ufv.br. Uma vez cadastrado, o trabalho deverá ser remetido, seguindo-se as instruções que constam no ícone "envio de artigo" da página inicial. O recebimento será acusado e o autor receberá o número de protocolo de seu artigo. Quando os pareceres ad-hoc estiverem disponíveis, as correções solicitadas deverão ser feitas clicando-se no ícone "tramitação on line". Na caixa de diálogo que se abre, os pareceres e sugestões podem ser vistos clicando-se sobre o número de protocolo do artigo, situado à esquerda. As alterações e revisões deverão ser feitas em formato word 97-2003, anexadas no campo correspondente e enviadas à revista. Após o envio abre-se uma caixa de diálogo para qualquer observação que os autores julgarem necessária. Pode-se usar o recurso "recortar" "colar" nesse campo.

Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons

**Av. Peter Henry Rolfs, s/n**
**36570-000 - Viçosa - Minas Gerais**
**Brasil**
**Tel.: (31) 3899-2136**
**Fax: (31) 38992136**

e-Mail
ceresonline@ufv.br

## ANEXO C – NORMAS DO PERIÓDICO PARA O ARTIGO 2

JOURNAL OF APPLIED ORAL SCIENCE

ISSN 1678-7757 *versão impressa*
ISSN 1678-7765 *versão online*

# INSTRUÇÕES AOS AUTORES


- Escopo e política
- Forma e preparação de manuscritos
- Envio de manuscritos


Escopo e política

### 1 ESCOPO

O periódico **Journal of Applied Oral Science** tem como missão a divulgação dos avanços científicos e tecnológicos conquistados pela comunidade odontológica, respeitando os indicadores de qualidade, a fim de que seja assegurada a sua aceitabilidade junto à comunidade de pesquisadores da área em nível local, regional, nacional e internacional. Tem como objetivo principal publicar resultados de pesquisas originais e, a convite do Editor-Chefe, casos clínicos e revisões no campo da Odontologia e áreas correlatas.

### 2 DAS NORMAS GERAIS

2.1 Os trabalhos enviados para publicação devem ser inéditos, não sendo permitida a sua submissão simultânea em outro periódico, seja este de âmbito nacional ou internacional. O Journal of Applied Oral Science reserva todo o direito autoral dos trabalhos publicados, inclusive tradução, permitindo, entretanto, a sua posterior reprodução como transcrição com devida citação de fonte.

2.2 Só serão recebidos para publicação, trabalhos redigidos em inglês, ficando o conteúdo dos textos, das citações e das referências sob inteira responsabilidade dos autores.

2.3 O Journal of Applied Oral Science tem o direito de submeter todos os manuscritos ao Corpo Editorial, o qual está completamente autorizado a determinar a conveniência de sua aceitação, ou devolvê-los aos autores com sugestões e modificações no texto e/ou para adaptação às regras editoriais da revista. Neste caso, o manuscrito será reavaliado pelo Editor-Chefe e Corpo Editorial.
2.4 O Journal of Applied Oral Science recebe revisões de literatura e relatos de casos clínicos apenas mediante

convite do Editor-Chefe.

2.5 Os conceitos afirmados nos trabalhos publicados são de inteira responsabilidade dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

2.6 As datas do recebimento do original e da aceitação do artigo constarão quando da publicação.

2.7 Cada autor correspondente receberá um fascículo da revista no qual seu trabalho foi publicado. Exemplares adicionais, se solicitados, serão fornecidos, sendo-lhes levado a débito o respectivo acréscimo.

2.8 Dependendo da disponibilidade dos recursos financeiros do Journal of Applied Oral Science ou dos autores, ilustrações coloridas serão publicadas a critério do Editor-Chefe.

**3 CRITÉRIOS DE ARBITRAGEM**

3.1 Revisão técnica: os trabalhos serão avaliados primeiramente quanto ao cumprimento das normas de publicação e documentação exigida na submissão dos manuscritos. Se não de acordo às instruções serão devolvidos aos autores para as devidas adequações antes mesmo de serem submetidos à avaliação pelos Editores Associados e revisores.

3.2 Pré-Análise: os manuscritos aprovados na revisão técnica serão submetidos aos Editores Associados para apreciação quanto à adequação ao escopo da revista. Caso o manuscrito não esteja dentro dos parâmetros esperados será devolvido ao autor correspondente pelo Editor-Chefe.
3.3 Análise de mérito e conteúdo: os artigos aprovados pelos Editores Associados serão avaliados quanto ao mérito e método científico por no mínimo dois relatores ad hoc de unidades distintas à de origem do trabalho, além do Editor-Chefe. O Editor-Chefe decidirá sobre a aceitação do manuscrito. Quando necessária revisão do original, o manuscrito será devolvido ao autor correspondente para modificação. Uma versão revisada com as alterações efetuadas deverá ser re-submetida pelos autores, que será reavaliada pelo Editor-Chefe, Editores Associados e revisores conforme a necessidade.

3.4 Após aprovação quanto ao mérito científico, os trabalhos serão submetidos à revisão final, feita por profissional autônomo indicado pela revista. O pagamento deste serviço ficará sob a responsabilidade do(s) autor(es), e os procedimentos necessários, o valor do serviço e a forma de pagamento diretamente ao profissional serão encaminhados ao autor correspondente. Nos casos de inadequação os trabalhos serão

encaminhados para os autores para revisão.
3.5 Tanto os avaliadores quanto os autores, durante todo o processo de tramitação dos artigos, não são identificados pela outra parte.

3.6 Os conceitos emitidos nos trabalhos publicados serão de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

**4 DA CORREÇÃO DAS PROVAS TIPOGRÁFICAS**

4.1 A prova tipográfica será enviada ao autor correspondente por meio de correio eletrônico em formato PDF para aprovação final.

4.2 O autor dispõe de um prazo de 72 horas para correção e devolução do original devidamente revisado, se necessário.

4.3 Se não houver retorno da prova em 72 horas, o Editor-Chefe considerará como final a versão sem alterações e não serão permitidas maiores modificações. Apenas pequenas modificações, correções de ortografia e verificação das ilustrações serão aceitas. Modificações extensas implicarão na reapreciação pelos assessores e atraso na publicação do trabalho.
4.4 A inclusão de novos autores não é permitida nesta fase do processo de publicação.

## Forma e preparação de manuscritos

**1 APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO**

**1.1 Estrutura do manuscrito**

Página de rosto (deverá ser submetida como arquivo suplementar pelo sistema de submissão online da revista) que deverá conter apenas:

- O título do manuscrito em inglês.
- Os nomes dos autores na ordem direta seguido da sua principal titulação e afiliação institucional em inglês.
- Endereço completo do autor correspondente, a quem todas as correspondências devem ser endereçadas, incluindo telefone e fax bem como endereço de e-mail.

**1.2 Texto**

- O artigo deverá ser previamente traduzido ou

revisado por empresa ou profissional autônomo que assegurem a qualidade do vernáculo. Os custos desse serviço ficarão a cargo dos autores do artigo. Autores que tenham a língua inglesa como nativa deverão apresentar declaração na qual se responsabilizam pela redação.

- Título e subtítulo, se necessário, do trabalho em inglês;
- Resumo: deverá incluir o máximo de 300 palavras, ressaltando-se no texto uma pequena introdução, objetivo, material e métodos, resultados e conclusões.
- Palavras-chave: (correspondem às palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo). Para determinação das palavras-chave os autores deverão consultar a lista de assuntos do "Índex Medicus" e os Descritores em Ciências da Saúde - DeCS (consulta eletrônica pelo endereço: http://www.decs.bvs.br/. Deve-se usar ponto final para separar as palavras-chave, que devem ter a primeira letra da primeira palavra em letra maiúscula. Ex: Dental implants. Fixed prosthesis. Photoelasticity. Passive fit.
- Introdução: resumo do raciocínio e a proposta do estudo, citando somente referências pertinentes. Estabelecer a hipótese do trabalho.
- Material e Métodos: o material e os métodos são apresentados com detalhes suficientes para permitir a confirmação das observações. Incluir cidade, estado e país de todos os fabricantes depois da primeira menção dos produtos, reagentes ou equipamentos. Métodos publicados devem ser referenciados e discutidos brevemente, exceto se modificações tenham sido feitas. Indicar os métodos estatísticos utilizados, se aplicável. Consultar o item 3 para princípios éticos e registro de ensaios clínicos.
- Resultados: apresenta os resultados em uma seqüência lógica no texto, com tabelas e ilustrações. Não repetir no texto todos os dados das tabelas e ilustrações, enfatizando somente as observações importantes. Utilizar o mínimo de tabelas e ilustrações possível.
- Discussão: enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões resultantes. Não repetir em detalhes dados ou informações citadas na introdução ou resultados. Relatar observações de outros estudos relevantes e apontar as implicações de seus achados e suas limitações.
- Conclusão(ões): (quando houver).
- Agradecimentos (quando houver) - agradeça a pessoas que tenham contribuído de maneira significativa para o estudo. Especifique auxílios financeiros citando o nome da organização de apoio de fomento e o número do processo.

- Referências (ver item 2.3)

## 2 NORMALIZAÇÃO TÉCNICA

O manuscrito deve ser digitado com: espacejamento de 1,5, fonte Arial, tamanho 11, 3 cm de margem de cada um dos lados, papel A4, perfazendo um total de, no máximo, 15 páginas, incluindo ilustrações (gráficos, fotografias, tabelas etc). Os autores devem manter uma cópia do manuscrito para eventuais solicitações.

### 2.1 Ilustrações e Tabelas

2.1.1 As ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, quadros etc.), serão consideradas no texto como figuras, sendo limitadas ao mínimo indispensáveis e devem ser adicionadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem no texto.

2.1.2 As fotografias deverão ser encaminhadas em cores originais, digitalizadas em formato .tif, ou .jpg, com no mínimo 300 dpi de resolução e 10 cm de largura. Essas fotos deverão estar em arquivos separados e não inseridas no texto do Word.

2.1.3 As legendas correspondentes deverão ser claras, concisas e localizadas ao final do trabalho em forma de lista separada e precedidas da numeração correspondente.

2.1.4 As tabelas deverão ser logicamente organizadas, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. A legenda será colocada na parte superior das mesmas. As tabelas deverão ser abertas nas laterais direita e esquerda. As tabelas deverão ser enviadas em formato .xls.

2.1.5 As notas de rodapé serão indicadas por asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

### 2.2 Citação de autores

A citação dos autores no texto poderá ser feita de duas maneiras:

1) Somente numérica: "... and interfere with the bacterial system and tissue system3[,4,7-10]". As referências devem ser citadas em ordem crescente no parágrafo.
2) ou alfanumérica:

- Um autor: Silva[23] (1986)
- Dois autores: Silva and Carvalho[25] (1987)
- Três autores: Ferreira, Silva and Martins[27] (1997)
- mais que três autores: Silva, et al.[28] (1998)
- Caracteres de pontuação tal como pontos e vírgu-

las devem ser colocados depois da citação numérica dos autores. Ex: Ferreira[38].

**2.3 Referências**

As Referências deverão obedecer aos requisitos "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals - Vancouver", para a submissão de manuscritos a revistas biomédicas - disponível no seguinte endereço eletrônico:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

2.3.1 Toda referência deverá ser citada no texto. Elas devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor e numeradas em ordem crescente. A ordem de citação no texto obedecerá a esta numeração. As abreviaturas dos títulos dos periódicos internacionais citados deverão estar de acordo com o Index Medicus/ MEDLINE.

2.3.2 Não incluir comunicações pessoais e materiais bibliográficos sem data de publicação na lista de referências.

2.3.3 Teses, dissertações, monografias e resumos não serão aceitos como referências.

2.3.4 Listar os nomes dos 6 primeiros autores do trabalho; excedendo este número, os 6 primeiros autores do trabalho devem ser citados, seguidos pela expressão ", et al.", que deve ser seguida por ponto e não escrita em itálico. Ex: Uhl, et al.

2.3.5 Não ultrapassar a citação de 30 referências, exceto para artigos de revisão de literatura a convite do Editor-Chefe.

Exemplos de referências:

**Livro**

Melberg JR, Ripa LW, Leske GS. Fluoride in preventive dentistry: theory and clinical applications. Chicago: Quintessence; 1983.

**Capítulo de Livro**

Verbeeck RMH. Minerals in human enamel and dentin. In: Driessens FCM, Woltgens JHM, editors. Tooth development and caries. Boca Raton: CRC Press; 1986. p. 95-152.

**Artigo de periódico**

Wenzel A, Fejerskov O. Validity of diagnosis of questionable caries lesions in occlusal surfaces of extracted third molars. Caries Res. 1992;26:188-93.

**Artigos com mais de 6 autores:**

Citam-se até os 6 primeiros seguidos da expressão " ,et al."

Parkin DM, Clayton D, Black, RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood - leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 years follow-up. Br J Cancer. 1996;73:1006-12.

**Artigo sem autor**

Seeing nature through the lens of gender. Science. 1993;260:428-9.

**Volume com suplemento e/ou Número Especial**

Davisdson CL. Advances in glass-ionomer cements. J Appl Oral Sci. 2006;14(sp. Issue):3-9.

**Fascículo no todo**

Dental Update. Guildford 1991 Jan/Feb;18(1).

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

## 3 PRINCÍPIOS ÉTICOS E REGISTROS DE ENSAIOS CLÍNICOS

**3.1 Procedimentos experimentais em animais e humanos.** O periódico Journal of Applied Oral Science endossa os princípios incorporados na Declaração de Helsinki e insiste que todas as pesquisas que envolvam seres humanos publicadas nesta Revista, sejam conduzidas em conformidade com esses princípios e com outros similares dispostos nos respectivos Comitês de Ética em Pesquisa das respectivas instituições de origem dos autores. No caso de experimentos com animais, estes devem seguir os mesmos princípios de ética envolvidos. Em experimentos que envolvam procedimentos cirúrgicos em animais, os autores devem descrever na seção de Material e Métodos evidências de que a dosagem anestésica produziu efeito adequado e por tempo necessário para a condução do ato cirúrgico. Todos os experimentos com humanos ou animais devem vir acompanhados de descrição, na seção de Material e Métodos, de que o estudo foi aprovado pelos respectivos órgãos que gerenciam a Ética em Pesquisa nas suas

instituições de origem.

3.1.1 Artigos apresentando **estudos experimentais em humanos ou animais** deverão **obrigatoriamente** vir acompanhados de documento comprobatório da aprovação pelo Comitê de Ética do relatório dos **resultados enviados para publicação**.

**3.2 Registros de Ensaios Clínicos - International Standard Randomized Controlled Trial Number (ISRCTN)**

O periódico Journal of Applied Oral Science apóia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional sobre estudos clínicos com acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação, o ISRCTN, em uma das plataformas de ensaios clínicos, validadas pelos critérios estabelecidos pela OMS e pelo ICMJE. A OMS define Ensaio Clínico como "qualquer estudo de pesquisa que prospectivamente designa participantes humanos ou grupos de humanos para uma ou mais intervenções relacionadas à saúde para avaliar os efeitos e os resultados de saúde. Intervenções incluem, mas não se restringem a drogas, células e outros produtos biológicos, procedimentos cirúrgicos, procedimentos radiológicos, dispositivos, tratamentos comportamentais, mudanças no processo de cuidado, cuidado preventivo etc."

3.2.1 Os artigos que envolvam ensaios clínicos (clinical trials) em voluntários humanos deverão ser enviados acompanhados de dois documentos suplementares **obrigatórios**:

- checklist do CONSORT 2010 (http://www.consort-statement.org/)
- comprovante de número de registro da pesquisa em base que atenda às exigências da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE).
- Sugestões para autores brasileiros: http://www.ensaiosclinicos.gov.br/
- Sugestão para autores brasileiros ou de outras nacionalidades:http://www.controlled-trials.com/ (ISRCTN) ou http://prsinfo.clinicaltrials.gov/).

3.3 O Editor-Chefe e o Conselho Editorial se reservam o direito de recusar artigos que não demonstrem evidência clara de que esses princípios foram seguidos ou cujos métodos empregados forem considerados inapropriados

para o uso de humanos ou animais.

**4 OUTRAS QUESTÕES SERÃO RESOLVIDAS PELO EDITOR-CHEFE E CONSELHO EDITORIAL**

## Envio de manuscritos

**1 SUBMISSÃO DO TRABALHO**

1.1 Os manuscritos deverão ser submetidos por meio do endereço: http://www.scielo.br/jaos

1.2 O arquivo original contendo o manuscrito deve ser submetido sem a identificação dos autores e afiliações. A folha de rosto deverá ser submetida como arquivo suplementar (Title page) contendo o nome dos autores, afiliações e endereço para correspondência.

1.3 As figuras devem ser submetidas como arquivos suplementares de acordo com as especificações do item 2.1 sobre forma e preparação dos manuscritos.

1.4 As tabelas devem ser preparadas em formato Excel e devem ser submetidas como arquivos suplementares.

1.5 Documentos comprobatórios de registro de ensaios clínicos e de aprovação de relatórios por Comitê de Ética deverão ser submetidos como arquivos suplementares obrigatórios.

1.6 Demais documentos, como declaração de responsabilidade pela revisão de inglês ou comprovante de realização de revisão do vernáculo por profissional ou empresa, deverão ser submetidos como arquivos suplementares obrigatórios.

1.7 O formulário de submissão, assinado por TODOS os autores, deve ser submetido como arquivo suplementar contendo o seguinte texto:

**A assinatura deste formulário de submissão implica na aceitação do seguinte:**

**Transferência de Direitos:** Considerando a aceitação do trabalho acima descrito, Eu transfiro para o Journal of Applied Oral Science, todos os direitos, título e interesse nos direitos autorais do artigo mencionado acima. Este documento se aplica a todas as traduções do mesmo, assim como a apresentação preliminar, sob quaisquer meios de divulgação, do trabalho aceito e ainda não publicado. Se alguma mudança na autoria (ordem, acréscimo ou eliminação) ocorrer após a submissão do

trabalho, um documento de concordância de todos os autores deve ser enviado para ser mantido nos arquivos do Editor-Chefe. O nome de um autor(a) somente poderá ser removido mediante solicitação do(a) mesmo(a).

**Responsabilidades do autor:**

Eu atesto que:

O trabalho é original e não contém dados falsificados, plagiados ou fraudulentos;

O conteúdo do trabalho não se encontra atualmente em apreciação, e nem será submetido para publicação em outro periódico, até que uma decisão final de não aceitação seja emitida por esta revista;

Eu tive uma contribuição significativa para o trabalho e estou familiarizado com os dados originais descritos no mesmo;

Eu li o trabalho por completo e assumo a responsabilidade pelo conteúdo completo da versão final que foi submetida. Entendo que se o trabalho, ou parte dele, for considerada deficiente ou fraudulenta, assumirei a responsabilidade junto com os outros autores.

**Descompromisso de conflito de interesse.** Todas as minhas afiliações corporativas ou institucionais e todas as fontes de apoio financeiro ao trabalho estão devidamente citadas ou mencionadas em carta anexa. Certifico que não possuo nenhum interesse comercial ou associativo que represente conflito de interesse em conexão com o trabalho submetido.
NOME: _____ ASSINATURA:_____ DATA:_____

[Home] [Sobre esta revista] [Corpo editorial] [Assinaturas]

Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons

**Serviço de Biblioteca e Documentação**
**Alameda Octávio Pinheiro Brisola, 9-75**
**17012-901 Bauru SP**
**Tel.: +55 14 3235-8373**

e-Mail
revista@fob.usp.br