



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIA BEATRIZ BERGONSE PEREIRA PEDRIALI

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA APÓS
OSTEOTOMIA COM ULTRASSOM PIEZOELÉTRICO E
INSTRUMENTO ROTATÓRIO**

MARIA BEATRIZ BERGONSE PEREIRA PEDRIALI

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA APÓS
OSTEOTOMIA COM ULTRASSOM PIEZOELÉTRICO E
INSTRUMENTO ROTATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Mestrado em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Trevisan Júnior.
Coorientadora: Profa. Dra. Solange de Paula Ramos.

Londrina
2013

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P371a Pedriali, Maria Beatriz Bergonse Pereira.
Avaliação da regeneração óssea após osteotomia com ultrassom piezoelétrico e instrumento rotatório / Maria Beatriz Bergonse Pereira Pedriali. – Londrina, 2013.
36 f.: il.

Orientador: Wilson Trevisan Júnior.
Coorientador: Solange de Paula Ramos.
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Ossos – Regeneração – Teses. 2. Osteotomia – Teses. 3. Instrumentos e aparelhos odontológicos – Teses. 4. Rato como animal de laboratório – Teses. I. Trevisan Júnior, Wilson. II. Ramos, Solange de Paula. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CDU 616.311

MARIA BEATRIZ BERGONSE PEREIRA PEDRIALI

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA APÓS OSTEOTOMIA COM
ULTRASSOM PIEZOELÉTRICO E INSTRUMENTO ROTATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação Mestrado em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Clínica Odontológica.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wilson Trevisan Júnior
UEL – Londrina - PR

Profa. Dra. Solange de Paula Ramos
UEL – Londrina - PR

Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade
UEL – Londrina - PR

Londrina, 25 de fevereiro de 2013.

Dedico este trabalho ao meu esposo Paulo Marcio, pela compreensão, paciência e pelas inúmeras palavras de apoio e incentivo.

Aos meus filhos Leonardo, observador e atencioso e Lucas, explorador e falante, que com estas e outras tantas características me completam e enchem meus dias de alegria.

Com esse imenso amor todas as dificuldades diárias se tornam simplesmente fáceis de se resolver.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus** por iluminar e guiar meus caminhos, por me fortalecer e me fornecer a disposição necessária para a realização deste sonho.

Aos meus pais, **Walter e Leniza**, que são e sempre serão o alicerce da minha educação moral, religiosa e profissional. Obrigada pelos incontáveis conselhos e pelo constante apoio e incentivo.

Aos meus irmãos **João Paulo, Eduardo e Renata** que participaram e acompanharam este desafio profissional com afeto e incentivo.

À minha sogra, **Márcia Vince**, sua coragem de enfrentar desafios me inspira.

Ao meu esposo, **Paulo Marcio**, pelo companherismo, pela ajuda nos momentos de correria e pelas palavras de fé, apoio, incentivo não só durante esta jornada mas durante toda minha vida.

Aos meus queridos filhos, **Leonardo e Lucas**, por me permitirem experimentar o amor maior do mundo, puro e verdadeiramente incondicional.

Ao **Prof. Dr. Wilson Trevisan Júnior**, profundo conhecedor da periodontia e implantodontia com quem muito aprendi. Agradeço a orientação e a confiança em mim depositada durante todas as fases deste trabalho.

À **Profa. Dra. Solange de Paula Ramos** exemplo de paciência, dedicação e competência em transmitir seus ensinamentos durante todas as etapas deste trabalho. Obrigada pela atenção e participação constante nesta jornada.

Ao **Departamento de Histologia da Universidade Estadual de Londrina** pelo acesso aos laboratórios do Centro de Ciências Biológicas para realização dos procedimentos cirurgicos e rotina histológica.

Ao **Prof. Dr. Fábio A. Ito**, pelo acesso ao Laboratório de Patologia Bucal para a conclusão das atividades laboratoriais.

À empresa **Ortus**, pela disponibilização do aparelho de ultrassom que foi testado, e pelo fornecimento de todos os reagentes necessários para a realização desta pesquisa.

À **Profa. Dra. Fernanda Nakanishi Ito**, pela convivência, amizade, apoio e incentivo ao longo da caminhada.

À **Profa. Dra. Cássia C. D. Garbelini**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, exemplo de liderança e competência.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Prof. Dr. Antônio Ferelle, Profa. Dra. Cássia C. D. Garbelini, Prof. Dr. Fábio A. Ito, Prof. Dr. Glaykon A. V. Stabile, Prof. Dr. Hedelson O. I. Borges, Profa. Dra. Maria C. Morita, Prof. Dr. Wilson Trevisan Junior, Prof. Dr. Carlos A. S. Ramos, Prof. Dr. Edwin F. R. Contreras e Prof. Dr. Marcio G. Hoppner**, pelo aprendizado ao longo desses anos que muito contribuíram para minha formação docente.

Aos acadêmicos **Willian Ricardo Pires, Aline Campos, Mayara Ventura, Maiara Nogueira e Francelaine Bruna Campana** pelo auxílio na execução dos procedimentos cirúrgicos nos animais.

Ao acadêmico **Felipe Juliani**, pelo auxílio com o fotomicroscópio.

Aos colegas de turma de Mestrado 2011, **Fábio Martins Salomão, Gabriela Fleury Seixas, João Paulo Menck Sangiorgio, Joel Motta Júnior, Júlio Cezar Capellari, Mariana Gabriel, Paula Fernanda Kreling Domingues, Valéria Campos Mariano e**, pelo coleguismo conquistado ao longo do curso.

À colega do curso de mestrado **Paula Fernanda Kreling Domingues** pela amizade, pelo convívio compartilhando os vários caminhos que tivemos que percorrer para finalizarmos nossas dissertações.

Ao colega de turma **João Paulo Menck Sangiorgio**, pela ajuda em várias etapas deste trabalho.

A todos que de alguma forma estão próximos de mim que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

“Tudo neste mundo tem o seu tempo; cada coisa tem a sua ocasião.

Há tempo de nascer e tempo de morrer; tempo de plantar e tempo de arrancar; tempo de matar e tempo de curar; tempo de derrubar e tempo de construir.

Há tempo de ficar triste e tempo de se alegrar; tempo de chorar e tempo de dançar; tempo de espalhar pedras e tempo de ajuntá-las; tempo de abraçar e tempo de afastar.

Há tempo de procurar e tempo de perder; tempo de economizar e tempo de desperdiçar; tempo de rasgar e tempo de remendar; tempo de ficar calado e tempo de falar.

Há tempo de amar e tempo de odiar; tempo de guerra e tempo de paz...”

ECLESIASTES cáp. 3, 1-8

PEDRIALI, Maria Beatriz Bergonse Pereira. **Avaliação da regeneração óssea após osteotomia com ultrassom piezoelétrico e instrumento rotatório.** 2013. 36 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

Osteotomias são procedimentos de rotina na prática clínica da periodontia e implantodontia e podem ser realizadas por meio de instrumentos rotatórios ou ultrassom piezoelétrico. Estudos clínicos sugerem um melhor efeito do ultrassom piezoelétrico em relação ao processo inflamatório agudo e ao reparo do tecido ósseo em comparação às osteotomias com instrumentos rotatórios. O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente a regeneração óssea e o processo inflamatório local produzido por osteotomia realizada com ultrassom piezoelétrico ou com instrumento rotatório. Vinte e quatro ratos Wistar machos, 300g, foram submetidos à osteotomia na diáfise do fêmur na região proximal com broca cirúrgica e na distal com ultrassom. Os animais foram eutanasiados após 60 horas, 7 dias, 30 dias e 60 dias e o fêmur foi descalcificado, incluído em parafina histológica e corado com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Mallory para análise histológica em microscopia de luz. Foram analisadas a presença de infiltrado inflamatório, área do coágulo e hemorragia intramedular, rompimento do endóstio e áreas de ossificação. Os defeitos cirúrgicos realizados com ultrassom apresentaram menor extensão do infiltrado inflamatório e menor frequência de áreas de hemorragia intramedular após 60 horas. Aos 7 dias, os defeitos ósseos realizados com ultrassom piezoelétrico ainda apresentaram menor extensão de infiltrado inflamatório, mas menor área de centros de ossificação em relação a osteotomia com brocas. No entanto, após 30 dias, a área de ossificação foi significativamente maior nos defeitos realizados com ultrassom, sendo observada completa reconstituição da cortical óssea em ambos os grupos após 60 dias. Os resultados sugerem que o uso do ultrassom piezoelétrico evoca menor resposta inflamatória no período inicial de regeneração, favorecendo a regeneração da cortical óssea aos 30 dias pós-operatório.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Osteotomia. Piezocirurgia. Ultrassom. Instrumentos odontológicos.

PEDRIALI, Maria Beatriz Bergonse Pereira. **Evaluation of bone regeneration after osteotomy with piezoelectric ultrasound and rotatory instrument.** 2013. 36 f. Dissertation (Master's in Dentistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

Osteotomies are routine procedures in clinical practice of periodontics and implantology and can be performed by rotatory instruments or piezoelectric ultrasound. Clinical evidences suggest a better effect of piezoelectric ultrasound on acute inflammatory process and the repair of bone tissue compared to osteotomy with rotatory instruments. The objective of this study was to evaluate histologically bone regeneration and local inflammatory process produced by osteotomy with rotatory instruments and piezoelectric ultrasound. Twenty-four Wistar rats, 300g, underwent osteotomy at the diaphysis of the femur, in the proximal region with surgical drill and in the distal region with ultrasound. The animals were euthanized after 60 hours, 7 days, 30 days and 60 days and the femur was decalcified, embedded in paraffin and histological sections were stained with Hematoxylin and Eosin and Mallory Trichrome for histological analysis by light microscopy. We analyzed the presence of inflammatory infiltrate, the area of the clot and intramedullary bleeding, rupture of the endosteum and areas of ossification. The surgical defects performed with ultrasound showed lower inflammatory infiltrate and low frequency of areas of intramedullary bleeding after 60 hours. At 7 days, the bone defects performed with ultrasound piezoelectric still had lower extent of inflammatory infiltrate, but smaller area of ossification centers compared with osteotomy drills. However, after 30 days, the area of ossification was significantly higher in defects performed with ultrasound and after 60 days there was complete reconstitution of bone in both groups. The results suggest that the use of piezoelectric ultrasound evokes less inflammatory response and improves bone regeneration after 30 days.

Keywords: Bone regeneration. Osteotomy. Piezosurgery. Ultrasound. Dental instruments.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Defeitos ósseos confeccionados em fêmur de rato Wistar.....	30
Figura 2 – Ponta ativa em bisel serrilhado do ultrassom piezoelétrico (Ortus, Campo Mourão, Brasil).....	30
Figura 3 – Defeitos ósseos confeccionados em fêmur de rato Wistar, 60 horas	31
Figura 4 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b) após 60 horas	31
Figura 5 – Percentagem de áreas com hemorragia intramedular (a) e de rompimento de endóstio (b) na região do instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP).....	32
Figura 6 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b), após 60 horas	32
Figura 7 – Avaliação da extensão do infiltrado inflamatório na periferia do coágulo sanguíneo, após 60 horas, no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumentos rotatórios (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP)	33
Figura 8 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b), após 7 dias.....	33
Figura 9 – Avaliação da extensão do infiltrado inflamatório na periferia do defeito ósseo, após 7 dias, no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP)	34
Figura 10 – Percentual de áreas de centros de ossificação no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP) após 7 dias	34
Figura 11 – Percentual de áreas de centros de ossificação no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP), após 30 dias	35

Figura 12 – Espessura da cortical óssea do fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR), ultrassom piezoelétrico (UP), ou sem osteotomia (RC), após 30 dias	35
Figura 13 – Áreas de ossificação em fêmur de rato submetidos a osteotomia com instrumento rotatório, ultrassom piezoelétrico e área sem osteotomia, após 30 e 60 dias	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IR	Região Instrumento Rotatório Convencional
RC	Região Controle
UP	Região Ultrassom Piezoelétrico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 ARTIGO 1: Avaliação da Regeneração Óssea após Osteotomia de Fêmur de Ratos Wistar com Ultrassom Piezoelétrico e Instrumento Rotatório	20
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e matriz extracelular calcificada, a matriz óssea. As células ósseas são os osteócitos, osteoblastos e osteoclastos. Os osteócitos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz, promovem a manutenção da matriz óssea; os osteoblastos sintetizam a parte orgânica da matriz e iniciam o processo de calcificação do tecido e localizam-se na superfície da matriz óssea; e os osteoclastos, células gigantes, móveis e multinucleadas, reabsorvem o tecido ósseo, participando dos processos de remodelação. Todos os ossos são envolvidos em suas superfícies externas e internas por membranas conjuntivas que possuem células osteogênicas, o periósteo e o endósteo, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O tecido ósseo é capaz de regenerar-se, por meio da proliferação de células osteoprogenitoras do periósteo e do endósteo (MELCHER, 1976). O termo regeneração é definido como uma reprodução ou reconstituição de uma parte perdida ou afetada, de tal forma que a arquitetura e a função dos tecidos destas áreas sejam completamente recuperadas (GLOSSARY OF PERIODONTAL TERMS, 2001).

No período inicial de regeneração óssea, após o tecido ósseo ter sido lesionado, o coágulo e os restos celulares da matriz são removidos por macrófagos. O periósteo e o endósteo próximos à lesão iniciam uma intensa proliferação formando um tecido rico em células osteoprogenitoras, que constitui um colar em torno da lesão, enquanto pequenos vasos sanguíneos invadem a região do coágulo. Surge então, um tecido ósseo primário ou imaturo que é substituído por osso secundário sob a estimulação de forças mecânicas aplicadas sobre o tecido quando o órgão retorna às suas funções (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A proliferação dos vasos sanguíneos depende de fatores locais, produzidos pelo tecido ósseo em reparação, que mobilizam células progenitoras endoteliais da medula óssea para a circulação e, finalmente, aos locais de regeneração óssea (LEE et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2008). O pico de neovascularização por ação das células progenitoras endoteliais ocorre aos 7 dias, após a lesão óssea (MATSUMOTO et al., 2008).

As osteotomias e osteoplastias são procedimentos de rotina na prática clínica da periodontia e implantodontia. Durante uma osteotomia, a maior parte da energia que não é usada no processo de corte é transformada em calor (ERCOLI et al., 2004). Durante o corte ósseo, a temperatura pode aumentar até 47°C, podendo causar uma osteonecrose irreversível, comprometendo sua regeneração (AUGUSTIN et al., 2008; ERCOLI et al., 2004). Okamoto et al., (1994) mostraram alterações severas no tecido ósseo e retardo do processo de reparação da loja cirúrgica provocado pelo aquecimento excessivo quando o resfriamento não é realizado durante o emprego de brocas sob alta rotação.

O uso de instrumentos rotatórios pode produzir osteonecrose marginal provocada por injúrias térmicas (ROBIONY et al., 2004), portanto a busca por técnicas de osteotomias seguras que minimizem estes efeitos são extremamente importantes.

A irrigação externa com soro fisiológico ou água é o fator de resfriamento mais importante nas osteotomias realizadas com instrumentos rotatórios sendo capaz de manter a temperatura abaixo de 47°C, minimizando a ocorrência de danos ao tecido ósseo (AUGUSTIN et al., 2008; OKAMOTO et al., 1984; MOSS, 1964).

Recentemente um ultrassom piezoelétrico (Piezosurgery®, Mectron, Carrasco, Itália) foi desenvolvido e lançado no mercado pelo Dr. Tomazo Vercelotti. É um equipamento que utiliza microvibrações para cortar tecidos mineralizados. Funciona pelo efeito da piezoeletricidade, ou seja, a capacidade de alguns cristais se deformarem quando uma corrente elétrica passa por eles resultando em oscilações de frequência ultrassônica (EGGERS et al., 2004).

A cirurgia piezoelétrica tem sido utilizada como uma alternativa aos instrumentos rotatórios convencionais nas cirurgias orais que envolvem osteotomias (STÜBINGER et al., 2005).

O ultrassom piezoelétrico promove um padrão vibratório linear com frequência de 24,7 a 29,5 kHz, com uma opção digital de modo reforçado “boosted” até 30 kHz, com oscilação de 60 a 210 µm e uma potência que pode variar entre 2,8 a 16W, de acordo com a densidade do osso que se pretende cortar (CONSOLARO et al., 2007). As microvibrações criadas na peça de mão do ultrassom piezoelétrico, fazem com que a ponta ativa se mova entre 60 e 210 µm, sendo três vezes mais potente que o ultrassom comum, permitindo somente o corte de tecido altamente

mineralizado (EGGERS et al., 2004; SCHLEE et al., 2006; WALSH, 2007). Estas frequências mais baixas minimizam o risco de danos a tecidos moles, uma vez que para se obter seu corte são necessárias frequências maiores que 50kHz. Portanto o dispositivo é incapaz de cortar tecidos moles como tecidos conjuntivos não mineralizado, nervos, vasos e periósteo (SCHLEE et al., 2006; PIEZOELETRIC BONE SURGERY-HANDBOOK, 2013; LABANCA et al., 2008). Ao utilizar o equipamento, o operador pode controlar a pressão aplicada e o fluxo de irrigação que varia de 0 a 60 ml/min (EGGERS et al., 2004; LABANCA et al., 2008).

A literatura mostra que este equipamento é útil em uma variedade de procedimentos cirúrgicos e apresenta aspectos terapêuticos que incluem: um corte micrométrico; ação precisa e segura que limitam danos teciduais, especialmente aos osteócitos; proporciona um corte seletivo, afetando apenas tecidos mineralizados, não atingindo os tecidos moles ao seu redor, protegendo desta forma estruturas anatômicas importantes; propicia uma área cirúrgica limpa, quase livre de sangramento durante o processo de corte, consequência do efeito de cavitação criado pelo sistema de irrigação e das ondas oscilatórias, resultando em alta visibilidade operatória e proporciona menor estresse para o profissional e paciente, pelo fato de ser menos sonoro e vibrátil (SCHLEE et al., 2006; STÜBINGER et al., 2005; GONZÁLES-GARCIA et al., 2009). Como o equipamento não traumatiza o tecido ósseo termicamente, a cicatrização pós-cirúrgica é rápida (WALSH, 2007).

Em odontologia, as indicações documentadas para o uso do ultrassom piezoelétrico incluem extração dental, cirurgia endodôntica, distração osteogênica, expansão de rebordo, enxertos ósseos em fragmentos e em bloco, levantamento do seio maxilar, osteotomias e osteoplastias, remoção óssea em cirurgias regenerativas, debridamento e alisamento radicular, extração de terceiros molares, descompressão do nervo alveolar e remoção de cistos (PIEZOELECTRIC BONE SURGERY-HANDBOOK, 2013).

Trevisan Junior et al. (2011) fizeram uma revisão de literatura de vários estudos avaliando os efeitos da cirurgia piezoelétrica na secção de tecidos duros e na viabilidade celular pós-operatória. Entre os estudos, Khambay e Walmsley (2000) avaliaram a habilidade de corte e a força aplicada durante a utilização do ultrassom piezoelétrico. Criaram um dispositivo para medição das forças aplicadas, e concluíram que uma força pequena é necessária durante o processo de osteotomia e que o instrumento deve ser posicionado com uma

pequena angulação para promover profundidade de corte adequada. Verificaram que os instrumentos rotatórios são mais rápidos no corte que o ultrassom piezoelétrico, porém, este possui a vantagem de ter um corte mais preciso. Vercellotti et al., (2005) mostraram também uma efetividade superior da piezocirurgia frente as técnicas convencionais com brocas diamantadas e do tipo *carbide*, quando analisado histologicamente o ganho médio de osso. Mauer et al., (2008) realizaram uma análise quantitativa da rugosidade e viabilidade de células em superfícies ósseas que receberam diferentes métodos de osteotomia: brocas, serras cirúrgicas e ultrassom piezoelétrico. As regiões de osteotomia realizada com o ultrassom piezoelétrico mostram estruturas de osso esponjoso intactas, diferentes da osteotomia realizada com instrumentos convencionais. Ainda, estas regiões estavam livres de espículas ósseas, o que possivelmente seria um obstáculo mecânico para o suprimento sanguíneo durante o reparo. Concluíram que a utilização do ultrassom piezoelétrico é um método histocompatível, sem causar necrose do osso trabecular.

Algumas desvantagens da cirurgia piezoelétrica como o aumento do tempo operatório, pode estar relacionado com a potência do aparelho e as características do osso a ser cortado. Por exemplo, os ossos mais compactos requerem uso de equipamentos mais potentes. E ainda, o cirurgião pode necessitar de um período de familiarização ao instrumento para se adaptar a sua ação longitudinal que difere dos instrumentos rotatórios convencionais (EGGERS et al., 2004; ROBIONY, 2004).

O ultrassom piezoelétrico é uma técnica cirúrgica relativamente nova para utilização em periodontia e implantodontia que pode ser usado como um complemento ao procedimento cirúrgico tradicional, e em alguns casos, substituir procedimentos tradicionais (SCHLEE et al., 2006).

Esta técnica tem uma vasta aplicação na área odontológica, mas ainda é necessário fazer uma análise das condições de reparação e regeneração do tecido ósseo, analisando os benefícios e possíveis prejuízos resultados dessa nova técnica em comparação a utilização de brocas cirúrgicas. Embora seja sugerido que o uso do ultrassom piezoelétrico apresente vantagens técnicas em relação a outros métodos convencionais de manipulação cirúrgica do tecido ósseo (VERCELLOTTI et al., 2005), poucas evidências biológicas demonstram a eficácia da técnica em relação ao processo inflamatório agudo e ao reparo deste tecido ósseo em longo prazo.

REFERÊNCIAS

- AUGUSTIN, G.; DAVILA, S.; MIHOCI, K.; UDILJAK, T.; VEDRINA, D. S.; ANTABAK, A. Thermal osteonecrosis and bone drilling parameters revisited. **Arch Orthop Trauma Surg.** v.128, n. 1, p. 71-77, Jan. 2008.
- CONSOLARO, M. F. M-O.; SANT'ANA, E.; MOURA, G. N. Cirurgia piezelétrica ou piezocirurgia em odontologia: o sonho de todo cirurgião. **R. Dental Press. Ortodon. Ortop. Facial.** v. 12, n. 6, p. 17-20, Nov/Dez. 2007.
- EGGERS, G.; KLEIN, J.; BLANK, J.; HASSFELD, S. Piezosurgery: an ultrasound device for cutting bone its use and limitations in maxillofacial surgery. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 42, n. 5, p. 451-453, Oct. 2004.
- ERCOLI, C.; FUNKENBUSH, P. D.; LEE, H.; MOSS, M. E.; GRASER, G. N. The influence of drill wear on cutting efficiency and heat production during osteotomy preparation for dental implants: A study of drill durability. **J. Oral. Maxillofac. Impl.** v. 19, n. 3, p. 335-349, May. 2004.
- GLOSSARY OF PERIODONTAL TERMS. 4.ed. Chicago: American Academy of Periodontology, 2001.
- GONZÁLEZ-GARCIA, A.; DINIZ-FREITAS, M.; SOMOZA-MARTIN, M.; GARCÍA-GARCÍA, A. Ultrasonic osteotomy in oral surgery and implantology. **Oral Surg. Oral Med. Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 108, n. 3, p. 360-367, Sep. 2009.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- KHAMBAY, B. S.; WALMSLEY, A. D. Investigations into the use of an ultrasonic chisel to cut bone. Part 1: forces applied by clinicians. **J. Dent.**, v. 28, n. 1, p. 31-37, Jan. 2000.
- LABANCA, M.; AZZOLA, F.; VINCI, R.; RODELLA, L. F. Piezoelectric surgery: twenty years of use. **J. Oral. Maxillof. Surg.** v. 46, n. 4, p. 265-269, Jun. 2008.
- LEE, D.Y.; CHO, T. J.; KIM, J. A.; LEE, H. R.; YOO, W. J.; CHUNG, C. Y.; CHOI, I. H. Mobilization of endothelial progenitor cells in fracture healing and distraction osteogenesis. **Bone.**, v. 42, n. 5, p. 932-941, May 2008.
- MATSUMOTO, T.; MIFUNE, Y.; KAWAMOTO, A.; KURODA, R.; SHOJI, T.; IWASAKI, H.; SUZUKI, T.; OYAMADA, A.; HORII, M.; YOKOYAMA, A.; NISHIMURA, H.; LEE, S. Y.; MIWA, M.; DOITA, M.; KUROSAKA, M.; ASAHARA, T. Fracture induced mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for bone healing. **J. Cell Physiol.**, v. 215, n. 1, p. 234-242, 2008.
- MAURER, P.; KRIWALSKY, M. S.; VERAS, R. B.; VOGEL, J.; SYROWATKA, F.; HEISS, C. Micromorphometrical analysis of conventional osteotomy techniques and ultrasonic osteotomy at the rabbit skull. **Clin. Oral. Impl. Res.** v. 19; n. 6, p. 570-575, Jun. 2008.

MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. **J. Periodontol.**, v. 47, n. 5, p. 256-260, 1976.

MOOS, R. W. Histopathologic reaction of bone to surgical cutting. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** v. 17, n. 3, p. 405-414, 1964.

OKAMOTO, T.; CARVALHO, A. C. P.; SAAD-NETO, M.; CARVALHO, P. S. P. Efeitos de diferentes tipos de osteotomia sobre a reparação óssea: estudo histológico em cães. **Rev Odontol.** v.13, n. 1/2, p.71-78, 1984.

OKAMOTO, T.; YAMAMOTO, M. E.; SONODA, C. K. Processo de reparação óssea após osteotomia com instrumentos rotatórios de alta rotação. Estudo histológico em cães após emprego de dois tipos de broca com e sem resfriamento. **Rev. Bras. Odontol.**, v. 51, n.1, p. 21-25, Jan/Fev 1994.

PIEZOELECTRIC Bone Surgery - Handbook. Piezosurgery. November, 2002. Disponível em: <<http://www.piezosurgery.nl/documenten/Piezosurgery%20II%20GB.pdf>>. Acesso em: 7 jan. 2013.

ROBIONY, M.; POLINI, F.; COSTA, F.; VERCELLOTTI, T.; POLITI, M. Piezoelectric bone cutting in multipiece maxillary osteotomies. **J. Oral. Maxillofac. Surg.** v. 62, n. 6, p. 759-761, Jun. 2004.

SCHLEE, M.; STEIGMANN, M.; BRATU, E.; GARG, A. K. Piezosurgery: basic and possibilities. **Implant Dent.**, v. 15, n. 4, p. 334-339, Dec. 2006.

STÜBINGER, S.; KUTTENBERGER, J.; FILIPPI, A.; SADER, R.; ZEILBOFER, H-F. Intraoral piezosurgery: preliminary results of a new technique. **J. Oral. Maxillofac. Surg.** v. 63, n. 9, p. 1283-1287, Sep. 2005.

TREVISAN JUNIOR, W.; MIRANDA, J. T.; CASATI, M. Z.; RODRIGUES, M. R.; SCREMIM, E. I. A utilização do ultrassom piezoelétrico na periodontia e implantodontia. . In: SALLUM, A. W.; CICALI, A. J. (coord.) **Centenário da APCD.** São Paulo: Napoleão, 2011. cap. 1, p. 25-38.

VERCELLOTTI, T.; NEVINS, M. L.; KIM, D. M.; NEVINS, M.; WADA, K.; SCHENK, R. K.; FIORELLINI, J. P. Osseous response following resective therapy with piezosurgery. **Int. J. Periodontics Restorative Dent;** v. 25, n. 6, p. 543-549, Dec. 2005.

WALSH, L. J. Piezosurgery: an increasing role in dental hard tissue surgery. **Australasian Dental Practice.** v. 18, n. 5, p. 52-56, Sep/Oct. 2007.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de regeneração óssea de defeitos ósseos confeccionados com instrumento rotatório e ultrassom piezoelétrico em ratos Wistar, em 60 horas, 7 dias, 30 dias e 60 dias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

No processo de regeneração óssea em fêmur de ratos Wistar avaliamos:

- A extensão do infiltrado inflamatório;
- A presença de áreas de hemorragia;
- A presença de áreas de reabsorção e necrose óssea;
- A área relativa de centros ossificação;
- A formação de calo ósseo.

3 ARTIGO 1

Avaliação da regeneração óssea após osteotomia de fêmur de ratos Wistar com ultrassom piezoelétrico e instrumento rotatório.

Maria Beatriz Bergonse Pereira Pedriali²; Wilson Trevisan Junior²;
Solange de Paula Ramos³.

Resumo: O ultrassom piezoelétrico produz menos agressão aos tecidos moles e potencialmente pode provocar respostas inflamatórias menos intensas, favorecendo o reparo do tecido ósseo comparado às osteotomias com instrumentos rotatórios. Nosso objetivo foi avaliar a regeneração óssea e o processo inflamatório local produzido por osteotomia com instrumento rotatório e ultrassom piezoelétrico. Vinte e quatro ratos Wistar foram submetidos à osteotomia na diáfise do fêmur, na região proximal com brocas e na distal com ultrassom. Os animais foram eutanasiados após 60 horas, 7, 30 e 60 dias. A análise histológica foi realizada em microscopia de luz e foi avaliado a presença de infiltrado inflamatório, área do coágulo e hemorragia intramedular, rompimento do endóstio e áreas de ossificação. Os defeitos realizados com ultrassom apresentaram menor extensão do infiltrado inflamatório e menor frequência de áreas de hemorragia intramedular após 60 horas. Aos 7 dias, os defeitos realizados com ultrassom ainda apresentaram menor reação inflamatória, mas os defeitos confeccionados com broca apresentaram maior área de centros de ossificação primária. Após 30 dias, a área de ossificação foi significativamente maior nos defeitos realizados com ultrassom, sendo que aos 60 dias ocorreu remodelamento completo da cortical óssea em ambos os grupos. Os resultados sugerem que o ultrassom piezoelétrico evoca menor resposta inflamatória pós-operatória e promove eficiente regeneração de tecido ósseo após 30 dias.

Palavras-chaves: Osteotomia. Ultrassom piezoelétrico. Neutrófilos. Matriz óssea.

Introdução

As osteotomias e osteoplastias são procedimentos de rotina na prática clínica de algumas cirurgias orais, nas áreas da periodontia, implantodontia e cirurgia buco-maxilo-facial.^{1, 2} Após a osteotomia, o tecido ósseo lesionado é capaz de se regenerar, por meio da proliferação de células osteoprogenitoras do perióstio e endóstio.³ No entanto, a regeneração do tecido pode ser prejudicada por danos

² Departamento de Medicina Oral e Odontologia Infantil, Centro de Ciências da Saúde, Clínica Odontológica Universitária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. Endereço: Maria Beatriz Bergonse Pereira Pedriali, Departamento de Medicina Oral e Odontologia Infantil - Clínica Odontológica Universitária. Rua: Pernambuco, 540 / 86.020-070 Londrina – Paraná – Brasil / (55xx43) 3371-6752 / E-mail: beatrizpedriali@gmail.com.

³ Departamento de Histologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina.

causados ao tecido durante o procedimento cirúrgico, sobretudo em defeitos ósseos de tamanho crítico⁴.

O uso de instrumentos rotatórios para realização de osteotomias pode produzir sérios danos ao tecido ósseo devido à osteonecrose marginal provocado por injúrias térmicas.² Portanto, a busca por técnicas e equipamentos capazes de realizar osteotomias seguras e eficazes, tornou-se extremamente importante na prática odontológica.

Recentemente um ultrassom piezoelétrico (Piezosurgery®, Mectron, Carrasco, Itália) foi desenvolvido e lançado no mercado pelo Dr. Tomazo Vercellotti. O equipamento utiliza microvibrações para cortar somente tecidos mineralizados, apresenta padrão vibratório linear com frequência de 24,7 a 30 kHz e uma potência variando de 2,8 a 16 W sendo três vezes mais potente que o ultrassom comum e utiliza um fluxo de irrigação de 0 a 60ml/min.^{5,6,7}

A cirurgia com ultrassom piezoelétrico tem sido indicada como uma alternativa aos instrumentos rotatórios convencionais nos procedimentos que envolvem osteotomias.^{8,9} Entre as vantagens da técnica cirúrgica com o ultrassom piezoelétrico em relação ao uso de instrumentos rotatórios convencionais, são apontados o menor dano aos tecidos moles, maior precisão de corte e maior conforto pós-operatório^{5,9,10}. No entanto, não se conhecem os efeitos do ultrassom piezoelétrico em relação à evolução do processo de regeneração do tecido ósseo e ao grau de inflamação local produzido pelo procedimento.

O objetivo do presente estudo foi avaliar histologicamente as etapas do processo de regeneração óssea e a evolução do processo inflamatório local após a realização de osteotomia com o emprego de ultrassom piezoelétrico Sonisurgery® (Orthus, Campo Mourão, Brasil) e instrumentos rotatórios.

Materiais e métodos

Ratos Wistar machos com aproximadamente 300g, obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina, foram mantidos em Biotério experimental recebendo ração normocalórica (Nuvitalab, Nuvital, Colombo, Brasil) e água potável à vontade. Os animais foram mantidos em caixas contendo forração de maravalha, em ciclo de claridade e escuridão de 12 horas, à temperatura entre 22 e 25°C. Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados

pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (parecer nº 10079.2012.39/2012).

Para confecção dos defeitos ósseos, os animais foram anestesiados com uma solução de cetamina (50mg/kg, Francotar®, Virbac, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10mg/kg, Virbaxyl 2%, Virbac, São Paulo, Brasil), via intramuscular. A região anterior da pata direita foi submetida à tricotomia e assepsia com álcool iodado (Polividine) e então realizada incisão com bisturi (lâmina 15C), com aproximadamente 3 cm de extensão, da região inguinal à porção anterior do joelho. Após exposição do fêmur, o perióstio foi removido e foram confeccionadas duas cavidades ósseas com aproximadamente 4mm de extensão, 1mm de largura e 1mm de profundidade, distantes aproximadamente 4mm (Figura 1). A perfuração proximal foi realizada com o uso de instrumento rotatório em baixa rotação com brocas de aço esférica odontológica número 2 (Dentsply/Maillefer, Brasil), sob refrigeração com irrigação de soro fisiológico (região instrumento rotatório - IR). A perfuração distal foi realizada com o uso de ultrassom piezoelétrico (Sonisurgery®, Orthus, Campo Mourão, Brasil), correspondente a região ultrassom piezoelétrico (UP). Nesta pesquisa foi utilizado o ultrassom piezoelétrico Sonisurgery® (Ortus, Campo Mourão - Brasil), cuja frequência de oscilação varia de 21 a 26 kHz, potência de 54 W e fluxo de irrigação de 15 a 90 ml/min. Para confecção da perfuração óssea com ultrassom foi utilizada ponta ativa em forma de bisel serrilhado (Figura 2). A região controle de amostras ósseas (RC) correspondeu a parte do fêmur que foi exposta, apenas sob irrigação com soro fisiológico, sem a realização de defeitos ósseos, entre as cavidades ósseas realizadas com ultrassom e broca.

Após preenchimento das cavidades ósseas com coágulo sanguíneo (regiões IR e UP), o tecido mole foi suturado com fio de sutura mononylon 6.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil). Imediatamente após a intervenção cirúrgica os animais foram medicados com dose única de antibiótico cloridrato de ceftriaxona (500 mg/kg, Roche produtos químicos, Rio de Janeiro, Brasil) e analgésico Diripona Sódica (50 mg/Kg, Hoechst Marion Roussel, São Paulo, Brasil), via intramuscular.

Os animais foram divididos em 4 grupos de 6 animais. Após 60 horas, 7 dias, 30 dias e 60 dias os animais foram eutanasiados com overdose da solução anestésica em grupos de 6 ratos, e o fêmur foi imediatamente removido e fixado em solução de Bouin aquoso, por 24 horas. As amostras foram

descalcificadas em solução de ácido diaminotetracético 10% (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) (pH 7.2), com corrente elétrica constante de 75mW, durante 45 dias. Após a descalcificação, o fêmur foi fragmentado para a separação das regiões RC, IR e UP e as amostras foram incluídas em parafina histológica. Secções de 7µm de espessura foram coradas em Hematoxilina e Eosina e Tricrômio de Mallory.

Para análise microscópica, cinco lâminas histológicas de cada região de amostras, por animal, foram fotografadas em microscópio óptico acoplado a câmera digital (Moticam, Motic, Xiamen, China), em aumento de 40X e 100X. As imagens foram analisadas em software Motic Image Plus 2.0 (Motic, Xiamen, China).

Após 60 horas, foi analisada a presença de áreas de hemorragia intramedular, considerada como a presença de coágulos no interior da medula ou a presença de coágulo com volume duas vezes superior a área de defeito ósseo, invadindo a região medular. Também foram avaliadas a extensão do infiltrado inflamatório na margem do coágulo da região intramedular e o rompimento da cortical interna e do endóstio.

Aos 7 dias, foram avaliados a área relativa de centros de ossificação, considerada o percentual de osso primário em formação na região do defeito ósseo, e a presença do infiltrado inflamatório.

Aos 30 e 60 dias, foram avaliados a área relativa de tecido ósseo preenchendo o defeito ósseo, e a espessura do calo ósseo.

A distribuição de normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados com distribuição normal foram apresentados em média e desvio-padrão e avaliados pelo teste de t de Student (comparação entre regiões IR e UP). Dados sem distribuição normal foram avaliados pelo teste de Mann-Whitney U (comparação entre IR e UP) ou teste de Kruskal-Wallis com teste *post hoc* de Dunn (comparação entre as três regiões) e representados em mediana e quartis. A distribuição de frequência da presença de hemorragia medular, infiltrado inflamatório e rompimento de endóstio foram avaliados pelo teste exato de Fisher ou teste de Qui quadrado. Diferenças com $P < 0.05$ foram consideradas significantes.

Resultados

60 horas

Após 60 horas, não foram evidenciadas áreas de necrose e reabsorção óssea nas paredes dos defeitos confeccionados com instrumento rotatório (IR) ou ultrassom piezoelétrico (UP), sendo que todos os defeitos ósseos estavam preenchidos com coágulo sanguíneo (Figura 3). No entanto, fragmentos de tecido ósseo foram encontrados próximos a borda interna do coágulo na região de medula (Figura 4). Áreas de hemorragia intramedular e fragmentos de tecido ósseo (Figura 4) foram menos frequentes na região UP (82%) em relação a região IR (100%) e estavam associadas ao rompimento da cortical interna e endóstio (Figura 5).

Próximo ao limite entre o endóstio e a borda do coágulo foi observado áreas de proliferação fibroblástica e angiogênese em ambas as regiões (Figura 6).

Em relação a extensão do infiltrado inflamatório intramedular, os cortes com ultrassom piezoelétrico apresentaram extensão menor de inflamação, comparado a região dos instrumentos rotatórios. O teste de Qui quadrado demonstrou menor frequência de áreas com infiltrado inflamatório $>100\mu\text{m}$ e $>200\mu\text{m}$ na região UP em relação a região IR ($P < 0.005$) (Figura 7).

7 dias

Aos 7 dias, o coágulo sanguíneo foi substituído por tecido conjuntivo frouxo, muito vascularizado, permeado por centros de ossificação primário, em ambas as regiões (Figura 8).

A região UP apresentou 70% das imagens sem infiltrado inflamatório e no restante das imagens o infiltrado se restringiu até $200\mu\text{m}$ de extensão a partir da margem interna do defeito ósseo. No entanto, a região de defeitos IR apresentou maior frequência de infiltrado inflamatório superior a 100 e $200\mu\text{m}$ (Figura 9).

A região UP apresentou menor área relativa de ossificação, com mediana de 30% (quartis de 18.5 a 38.5%; média de $30,24 \pm 13,78\%$) de ossificação do defeito ósseo, enquanto a mediana da região IR foi de 47% (quartis de 33.5 a 63.7; média de $44,53 \pm 25,12\%$) ($P < 0,001$) (Figura 10).

30 e 60 dias

No período de 30 dias, não foram observados áreas de infiltrado inflamatório em ambas as regiões. Os centros de ossificação ocuparam maior área na região UP $65,89 \pm 14,17\%$, enquanto na região IR a média foi de $56,98 \pm 14,49\%$ ($P < 0.05$) (Figura 11).

Aos 30 dias, a presença de calo ósseo foi evidente nas regiões de defeitos ósseos confeccionados com instrumento rotatório, em relação à região UP e regiões de controle (sem osteomia) (Figura 12). Nos locais onde ocorreu osteotomia com ultrassom, foram observadas espículas ósseas em formação na região intramedular.

Aos 60 dias não foi observado a presença de calo ósseo nas regiões IR e UP e houve completa remodelação da cortical óssea em ambas as regiões (Figura 13).

Discussão

Os resultados do presente estudo corroboram evidências clínicas que a osteotomia realizada com ultrassom piezoelétrico é uma técnica menos traumática aos tecidos moles e promove bom reparo dos tecidos mineralizados.^{5,9,10} No presente estudo, observamos que a técnica promoveu menor extravasamento de sangue nos tecidos circunjacentes à área de osteotomia, diminuiu o dano aos tecidos moles associados ao tecido ósseo e reduziu a área de infiltrado inflamatório intramedular. No entanto, a técnica cirúrgica empregando instrumento rotatório parece favorecer o reparo ósseo mais precocemente, embora a área de ossificação do defeito seja maior aos 30 dias do pós-operatório na região de defeitos confeccionados com ultrassom. Uma outra vantagem observada com o uso do ultrassom em nosso estudo, foi a redução da formação do calo ósseo nas regiões de osteotomias realizadas com ultrassom, em relação aos defeitos realizados com instrumentos rotatórios.

O processo inflamatório tem um papel importante no reparo inicial de defeitos ósseos. A migração de células inflamatórias e a produção de mediadores inflamatórios e fatores de crescimento por leucócitos promove a proliferação e diferenciação de células osteoprogenitoras periosteais.¹¹ A importância da resposta

inflamatória aguda foi demonstrada em camundongos knockout para o receptor TLR4 $-/-$, que apresentam menor reação inflamatória, promovendo um reparo mais rápido de defeitos ósseos de tamanho crítico na calvária de ratos sugerindo que a modulação das respostas inflamatórias iniciais pode favorecer a regeneração do tecido ósseo à partir do sétimo dia.⁴ No presente estudo, a limitação do processo inflamatório após 60 horas e 7 dias não acelerou o processo de reparo ósseo inicial. No entanto, a redução do processo inflamatório inicial pode reduzir o desconforto pós-operatório do paciente. Além disso, o uso do ultrassom favoreceu a preservação de forma mais eficiente do endóstio e a deposição da matriz de tecido ósseo aos 30 dias, com a deposição de matriz óssea mais compacta e melhor organizada posteriormente.

A comparação das características histológicas indicou que o ultrassom piezoelétrico forneceu um reparo e remodelação óssea mais favorável comparado ao uso de instrumentos rotatórios do tipo carbide e diamantada quando realizado procedimento cirúrgico de osteotomia e osteoplastia.¹ Em nosso estudo, o aumento do volume relativo de matriz óssea calcificada aos 30 dias sugere uma melhor evolução do reparo ósseo em relação ao uso de brocas cirúrgicas.

Chiriac et al¹² investigaram a morfologia óssea, a viabilidade celular e sua diferenciação após osteotomia intra-oral realizada com instrumentos rotatórios e ultrassom piezoelétrico. A hipótese do estudo era que as microvibrações geradas pelo ultrassom poderiam ter influência na vitalidade dos fragmentos ósseos coletados, porém os resultados indicaram que ambos os métodos resultaram na proliferação celular e diferenciação em osteoblastos. Corroborando estes resultados, em nosso experimento não foram evidenciadas áreas de necrose no tecido após 60 horas e ambas as regiões evoluíram para o reparo ósseo semelhante aos 60 dias de estudo, embora a região IR tenha apresentado centros de ossificação mais extensos aos 7 dias. Estes resultados estão em desacordo com Preti et al.¹³ que demonstraram que a cirurgia óssea com ultrassom piezoelétrico parece ser mais eficiente nas primeiras fases do reparo ósseo, devido ao aumento mais precoce de proteínas morfogenéticas ósseas. No entanto, encontramos dados semelhantes ao estudo de Preti et al.¹³ em relação a redução do processo inflamatório e estimulação da remodelação óssea 56 dias após o tratamento.

Assim como nos defeitos realizados com instrumentos rotatórios, observamos que o ultrassom piezoelétrico também provocou o rompimento da

cortical óssea interna e do endóstio, provocando hemorragias intramedulares em algumas regiões. No entanto, as áreas de rompimento de endóstio, extravasamento sanguíneo e a extensão do halo inflamatório foram significativamente menores na região UP, em relação a região IR. Esses resultados sugerem que a técnica de osteotomia com ultrassom piezoelétrico promove menor agressão aos tecidos mineralizados e moles.

Dentro dos limites deste estudo podemos sugerir que a menor agressão inicial ao tecido promovida pelo ultrassom piezoelétrico pode ser a responsável pela menor área de inflamação a 60 horas e 7 dias. E aos 30 dias, a presença de crescimento ósseo em espículas no interior da medula na região UP pode estar associada à preservação do endóstio. O aumento da espessura da cortical óssea na região IR pode ser resultado da formação de um calo ósseo, não evidenciado na região UP.

Com os resultados deste estudo podemos concluir que o uso de ultrassom piezoelétrico em procedimentos de osteotomia reduz as áreas de extravasamento sanguíneo intramedular, rompimento do endóstio e halo inflamatório, sugerindo menor agressão aos tecidos. Embora o processo de ossificação seja iniciado mais precocemente na região IR, um melhor padrão de ossificação (com maior volume de matriz óssea), formação de espículas ósseas intramedulares e pouco calo ósseo foi evidenciado na região UP sugerindo características morfológicas mais semelhantes ao tecido normal.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Orthus (Campo Mourão, Brasil) por gentilmente ceder o equipamento Sonisurgery e reagentes para realização do estudo, e à Total Vet (Londrina, Brasil) e Virbax do Brasil pela doação dos anestésicos e relaxantes musculares. Este estudo teve suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

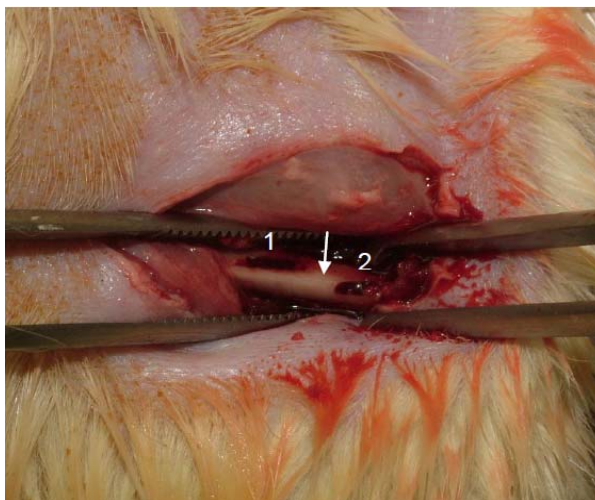
REFERÊNCIAS

1. Vercellotti T, Nevins ML, Kim DM, Nevins M, Wada K, Schenk RK, Fiorellini JP. Osseous response following respective therapy with piezosurgery. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005; 25: 543-549.
2. Robiony M, Polini F, Costa F, Vercellotti T, Politi, M. Piezoelectric bone cutting in multipiece maxillary osteotomies. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 759-761.
3. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976; 47: 256-260.
4. Wang D, Gilbert JR, Cray Jr JJ, Kubala AA, Shaw MA, Billiar TR, Cooper GM. Accelerated calvarial healing in mice lacking toll-like receptor 4. *PLoS One* 2012; 7: e46945. doi: 10.1371/journal.pone.0046945.
5. Eggers G, Klein J, Blank J, Hassfeld S. Piezosurgery: an ultrasound device for cutting bone its use and limitations in maxillofacial surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2004; 42: 451-453.
6. Consolaro MFMO, Sant'ana E, Moura Neto G. Cirurgia piezelétrica ou piezocirurgia em odontologia: o sonho de todo cirurgião. *Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial* 2007; 12: 17-20.
7. Labanca M, Azzola F, Vinci R, Rodella LF. Piezoelectric surgery: twenty years of use. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; 46: 265-269.
8. Stübinger S, Kuttnerberger J, Filippi A, Sader R, Zeilhofer HF. Intraoral piezosurgery: preliminary results of a new technique. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 1283-1287.
9. Schlee M, Steigmann M, Bratu E, Garg AK. Piezosurgery: basic and possibilities. *Implant Dent* 2006; 15: 334-339.
10. Vercellotti T. Technological characteristics and clinical indications of piezoelectric bone surgery. *Minerva Stomatol* 2004; 53: 207-214.
11. Wang X, Yu YY, Lieu S, Yang F, Lang J, Lu C, Werb Z, Hu D, Micalau T, Marcucio R, Colnot C. MMP9 regulates the cellular response to inflammation after skeletal injury. *Bone* 2013; 52: 111-119. doi: 10.1016/j.bone.2012.09.018.
12. Chiriac G, Herten M, Schwarz F, Rothamel D, Becker J. Autogenous bone chips: influence of a new piezoelectric device (piezosurgery®) on chip morphology, cell viability and differentiation. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 994-999.
13. Preti G, Martinasso G, Peirone B, Navone R, Manzella C, Muzio G, Russo C, Canuto RA, Schierano G. Cytokines and growth factors involved in the osseointegration of oral titanium implants positioned using piezoelectric bone surgery versus a drill technique: a pilot study in minipigs. *J Periodontol* 2007; 78: 716-722.

14. Mectron Medical Technology. Piezosurgery II: manual of use and maintenance. Disponível em: <<http://www.piezosurgery.nl/documenten/Piezosurgery%20II%20GB.pdf>>. Acesso em: 7 jan. 2013.

15. González-García A, Diniz-Freitas M, Somoza-Martin M, García-García A. Ultrasonic osteotomy in oral surgery and implantology. Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod 2009; 108: 360-367.

Figura 1 – Defeitos ósseos confeccionados em fêmur de rato Wistar.

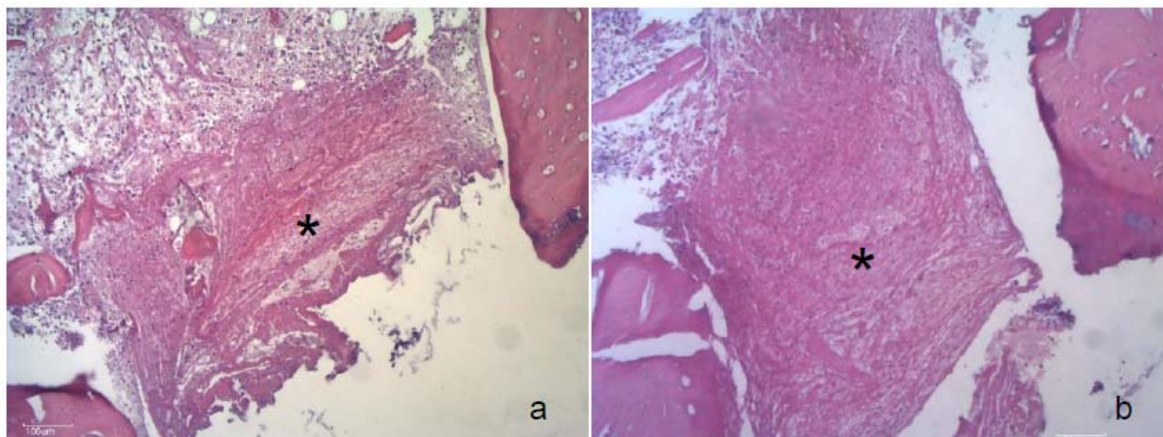


Defeito ósseo confeccionado com instrumento rotatório (1) na porção medial da diáfise (região IR) e defeito ósseo confeccionado com ultrassom piezoelétrico (2) correspondente a região UP. A seta indica a região controle (sem defeito ósseo).

Figura 2 – Ponta ativa em bisel serrilhado do ultrassom piezoelétrico (Ortus, Campo Mourão, Brasil).

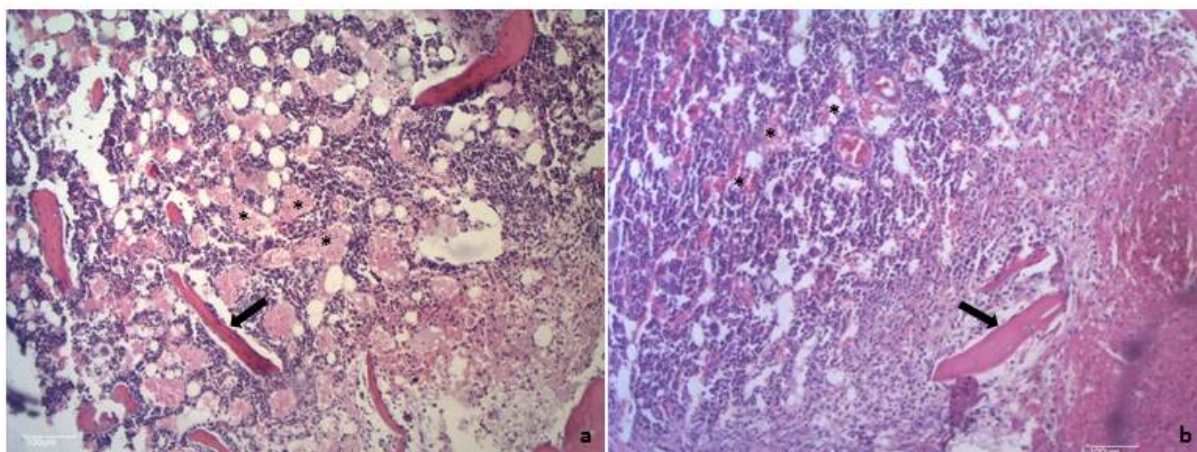


Figura 3 – Defeitos ósseos confeccionados em fêmur de rato Wistar, 60 horas.



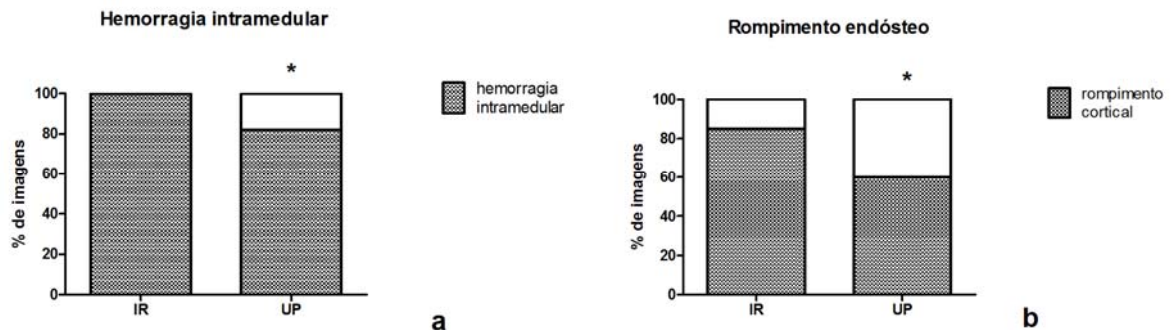
Coágulo sanguíneo (*) preenchendo defeito ósseo na região de osteotomias confeccionados com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b). Não foram observadas áreas de reabsorção ósseas ativas e necrose nas paredes da cavidade óssea. Aumento de 40X, Hematoxilina e Eosina.

Figura 4 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b) após 60 horas.



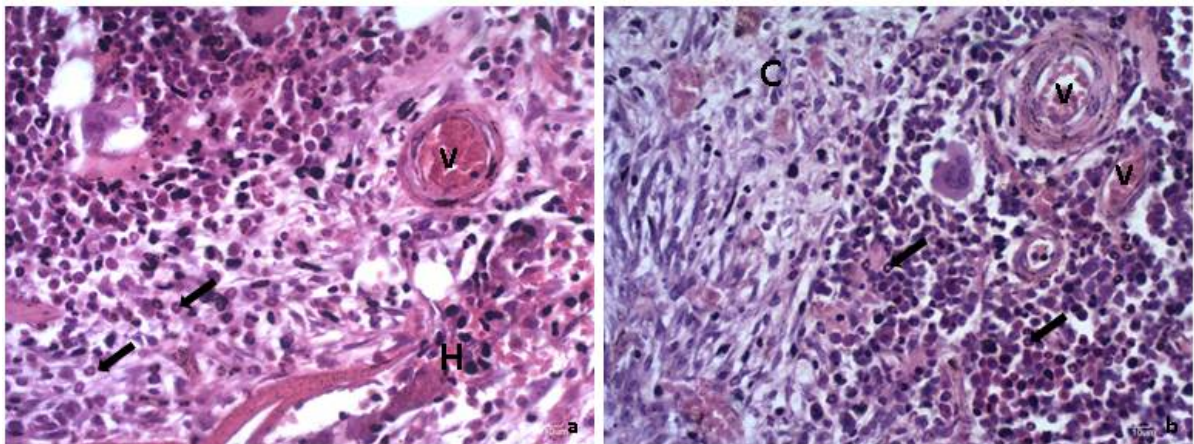
Observa-se infiltrado inflamatório intramedular, com áreas de hemorragia (*), rompimento do endóstio e presença de fragmentos de espículas de tecido ósseo na região medular (seta). Aumento de 40X, Hematoxilina e Eosina.

Figura 5 – Percentagem de áreas com hemorragia intramedular (a) e de rompimento de endósteo (b) na região do instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP).



a) Menor frequência de defeitos ósseos associados à hemorragia intramedular na região UP em relação a região IR (* $P < 0.05$, teste exato de Fisher). b) Menor frequência de rompimento do endósteo na região UP em relação a região IR (* $P < 0.05$, teste de Qui quadrado com correção de Yates).

Figura 6 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b), após 60 horas.



Observa-se extenso infiltrado inflamatório com a presença de células inflamatórias na região intramedular (setas), áreas de proliferação de fibroblastos (C) e capilares próximos ao endósteo e vasos sanguíneos (V) na região medular próxima ao coágulo. Áreas de hemorragias (H) foram mais frequentes na região IR. Aumento de 100X, Hematoxilina e Eosina.

Figura 7 – Avaliação da extensão do infiltrado inflamatório na periferia do coágulo sanguíneo, após 60 horas, no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumentos rotatórios (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP).

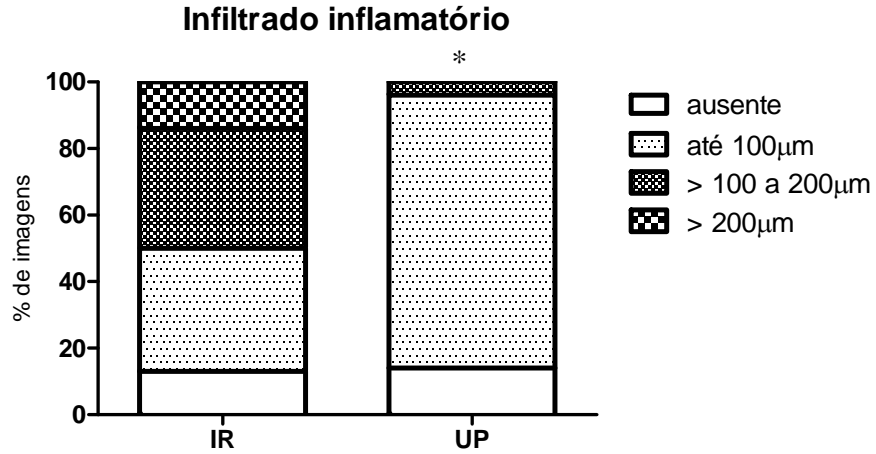
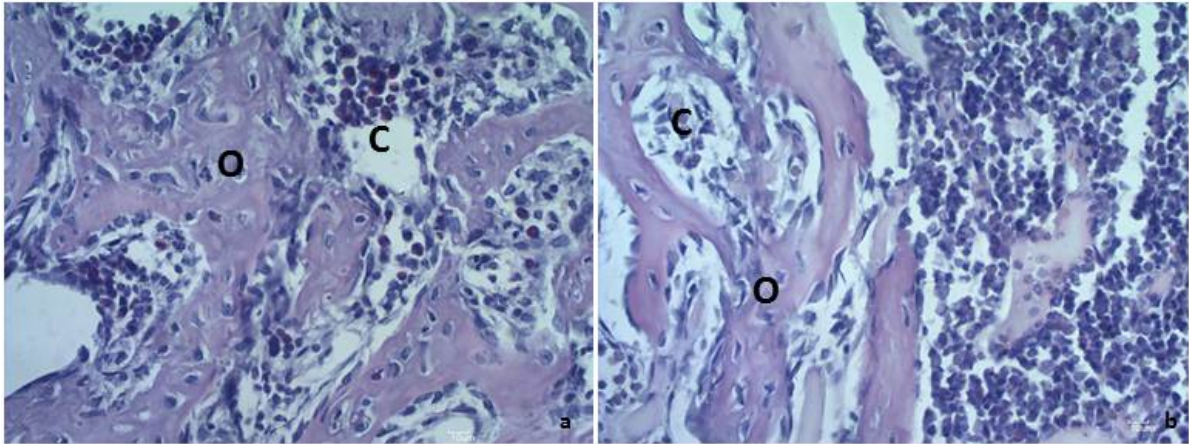


Figura 8 – Defeito ósseo realizado com instrumento rotatório (a) e ultrassom piezoelétrico (b), após 7 dias.



O coágulo ósseo foi substituído por tecido conjuntivo (C) e centros de ossificação primários (O). Aumento de 100X, Hematoxilina e Eosina.

Figura 9 – Avaliação da extensão do infiltrado inflamatório na periferia do defeito ósseo, após 7 dias, no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP).

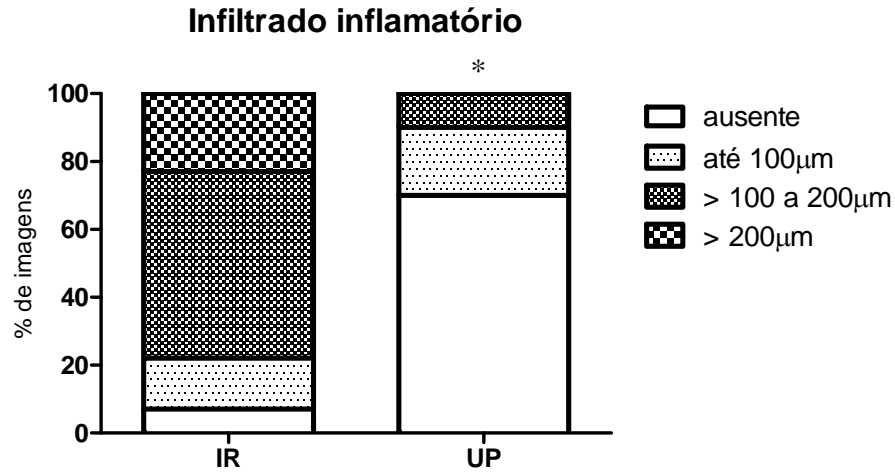
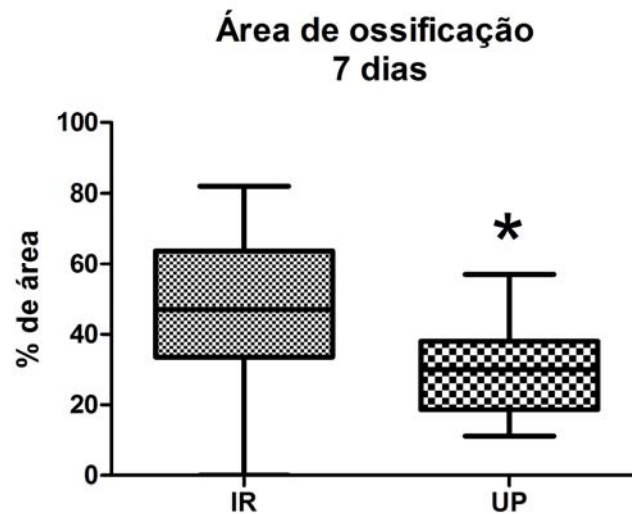
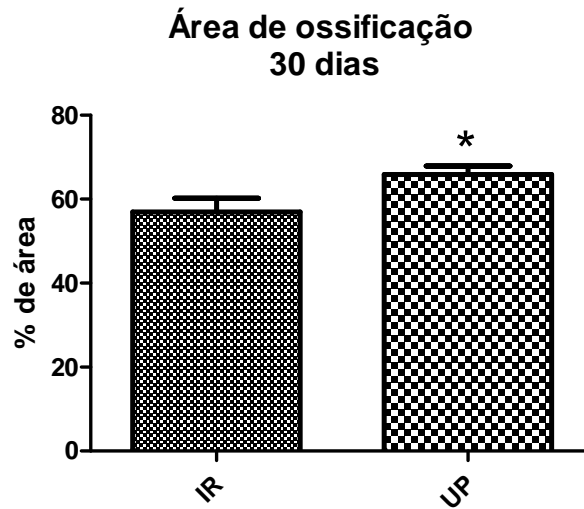


Figura 10 – Percentual de áreas de centros de ossificação no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP) após 7 dias.



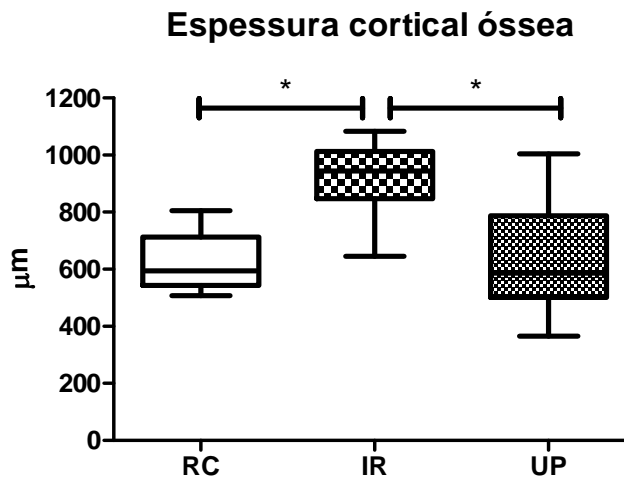
O box representa os quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam os valores de 1 a 99% e a barra horizontal representa a mediana. * $P < 0.001$, teste de Mann-Whitney U.

Figura 11 – Percentual de áreas de centros de ossificação no fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR) e ultrassom piezoelétrico (UP), após 30 dias.



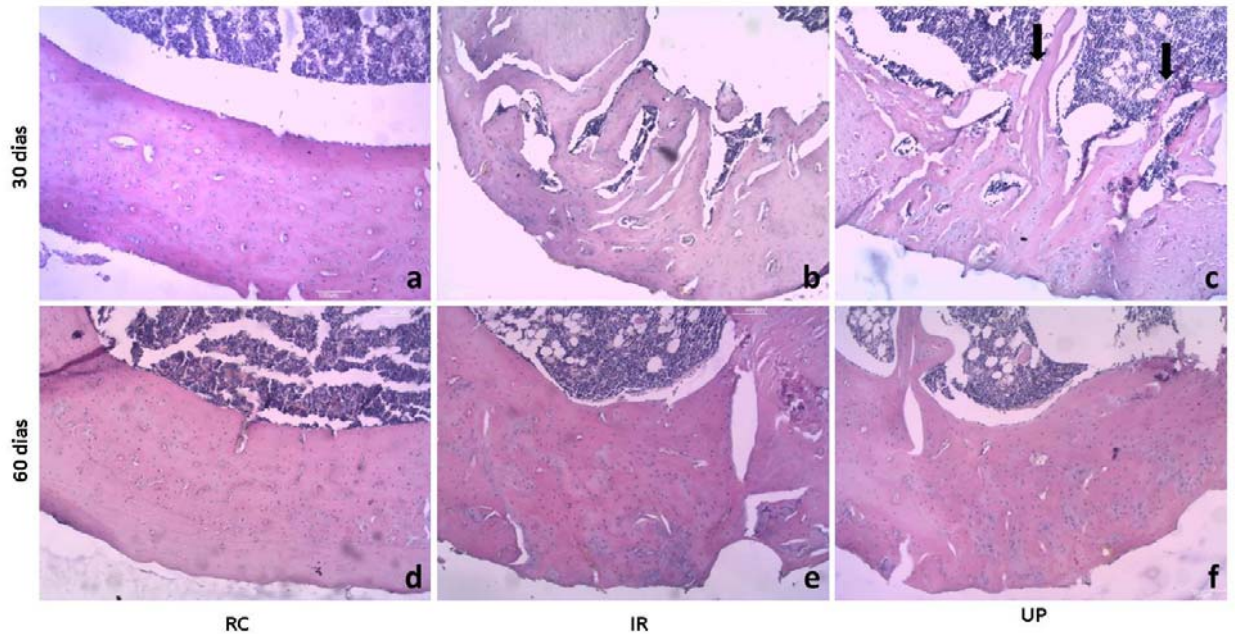
As barras representam a média e o desvio padrão. * $P < 0.05$, teste t de Student.

Figura 12 – Espessura da cortical óssea do fêmur de ratos Wistar submetidos a osteotomia com instrumento rotatório (IR), ultrassom piezoelétrico (UP), ou sem osteotomia (RC), após 30 dias.



O box representa os quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam os valores de 1 a 99% e a barra horizontal representa a mediana. * $P < 0.001$, teste de Dunn.

Figura 13 – Áreas de ossificação em fêmur de rato submetidos a osteotomia com instrumento rotatório, ultrassom piezoelétrico e área sem osteotomia, após 30 e 60 dias.



Após 30 dias, RC (a), IR (b) e UP (c). Observa-se o preenchimento dos defeitos ósseos com osso primário em b e c. Animais submetidos à osteotomia com ultrassom piezoelétrico (c) apresentaram formação de espículas ósseas na região medular (setas). Após 60 dias, RC (d), IR (e) e UP (f). Observa-se a remodelação da cortical óssea em ambas as regiões de osteotomia.