



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS E SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
CURSO DE ODONTOLOGIA

Ana Beatriz Acosta Matos Rios

**Análise de microdanos do osso perilésional de lesões periféricas malignas e
intraósseas benignas mandibulares**

Florianópolis
2024

Ana Beatriz Acosta Matos Rios

Análise de microdanos do osso perilesional de lesões periféricas malignas e intraósseas benignas mandibulares

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Odontologia do Centro de Ciências e Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgiã-dentista.

Orientador: Prof. Gustavo Davi Rabelo, Dr.

Coorientadora: Karin Berria Tomazelli, Dra.

Florianópolis

2024

Rios, Ana Beatriz Acosta Matos

Análise de microdanos do osso perilesional de lesões periféricas malignas e intraósseas benignas mandibulares / Ana Beatriz Acosta Matos Rios ; orientador, Gustavo Davi Rabelo, coorientador, Karin Berria Tomazelli, 2024.

47 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

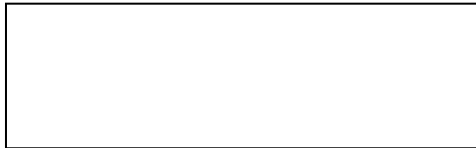
1. Odontologia. 2. Microdanos. 3. lesões ósseas. 4. microscopia de fluorescência. I. Rabelo, Gustavo Davi. II. Tomazelli, Karin Berria . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Odontologia. IV. Título.

Ana Beatriz Acosta Matos Rios

Análise de microdanos do osso perilesional de lesões periféricas malignas e intraósseas benignas mandibulares

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de
Cirurgiã-dentista e aprovado em sua forma final pelo Curso de Odontologia

Local: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), 05 de novembro de 2024.



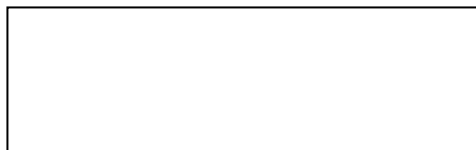
Coordenação do Curso

Banca examinadora



Prof. Gustavo Davi Rabelo, Dr.

Orientador



Prof. Luiz Fernando Gil, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina



Profa. Patrícia dos Santos Cé, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024.

Aos meus pais, Renoir de Matos Rios e Rosemeire Acosta Matos Rios, por tornarem
tudo possível.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por fazer visível e palpável seu amor e cuidado ao me rodear de pessoas que tornam a vida essencial. Por dar oportunidade de eu desfrutar de sonhos e conquistas que eu nem reconhecia, e por me dar forças para superar os desafios e inseguranças.

Aos meus pais, Renoir de Matos Rios e Rosemeire Acosta Matos Rios, por serem as melhores pessoas que já conheci. Por toda dedicação para me oferecer sempre os melhores meios, e me fazerem acreditar que sou digna de coisas grandiosas. Com vocês, e para vocês, tudo fica mais leve. Pessoas de amor genuíno, que respeitam e incentivam a minha liberdade, mas nunca me deixam só. Por sempre ter um lar para voltar, por todo colo, esforço, respeito e zelo, serão para todo sempre meus exemplos.

À minha irmã, Janina Acosta Matos Rios, por ser minha melhor amiga. Minha confidente, guardiã, a mais vibrante torcida em cada passo, e o consolo de dias ruins. Pelo exemplo de mulher forte e corajosa e incrivelmente determinada em tudo que faz, minha eterna companheira da vida.

Ao Maico Jeffi, cunhado que virou irmão. Por fazer de Santa Catarina um pedaço da família, pela paciência e proteção.

Ao meu amor, Leonardo Ramos, por fazer a vida ser extraordinária nos detalhes. Por ser meu melhor amigo, parceiro de qualquer momento, me exaltar todos os dias e por todo cuidado com aquilo que é importante para mim. Pela paciência em me ajudar com formatação, e discutir sobre a resistência de materiais em meio ao nosso encontro romântico.

A minha amiga, Isabela Ramos, por fazer tantas partes da minha vida serem mais felizes, por iniciar no mundo da pesquisa comigo, ser minha parceira em dias infundáveis de laboratório, vizinha, ouvidos e família.

A minha amiga e parceira de estudos, Gabriely Franzoi. Por tornar a constância mais leve e feliz. Por toda troca, seja nos estudos, ou na vida. Por tornar-se tão especial e me permitir crescer ao seu lado.

Aos meus amigos Ana Carolina Carnetti e Marco Antônio de Bem, que tanto admiro. Por serem escape dos dias cansativos, pelo apoio e companheirismo em tantos momentos. São para mim, pessoas, futuros profissionais e amigos de profissão, admiráveis.

A minha dupla Giulia Gaia, por estar ao meu lado sempre. Pela incrível futura profissional com quem tive a honra de partilhar sentimentos de medo em nossos primeiros procedimentos, e alegria extrema ao ver dar certo. Ser paciente, ouvidos e abraço em meio aos desafios. Por tornar tudo possível, ser braço direito, compreensão e conexão.

Aos meus colegas de classe, por compartilharem momentos de desespero e de conquistas. Por tantas pessoas incríveis que conheci, e que levarei comigo.

Aos amigos do meu MS, por darem sentido a palavra amizade, se fazendo presentes e me acolhendo a cada volta, como se eu nunca estivesse fora.

A minha coorientadora, Karin Berria Tomazelli, pelas horas em laboratório me ajudando a encontrar microdanos, pelos conselhos sem hora marcada, sua leveza em conduzir o processo. Minha grande admiração a pesquisadora e mulher inteligente que é.

Ao meu orientador, Gustavo Davi Rabelo, por quem reservo uma imensa admiração. Por ter me acolhido no grupo de pesquisa e me permitir viver experiências inesquecíveis, e ter me colocado no mundo dos microdanos, por quem me apaixonei. Pelo cuidado e zelo em acreditar sempre no meu melhor, mesmo que isso exija muitos puxões de orelha. Por tornar-se além de orientador e professor, um amigo para toda a vida. Foi uma honra trabalhar com tamanha potência de pesquisador e espero que esse seja apenas o começo dessa parceria.

Ao grupo de pesquisa por partilharem saberes e acrescentarem em minha vida, seja em conhecimento técnico ou em exemplos de vida. Em especial ao Matheus de Abreu, Riéli Elis Schulz, Bianca Bianco, Thiago Pires, Pedro Wit.

Aos professores, que se dedicam e exercem a odontologia com respeito e humanidade. Pela referência e por me permitirem usufruir de saberes além da técnica.

A equipe da Cirurgia Bucomaxilofacial, do Hospital Universitário – UFSC, pelo enriquecimento e engrandecimento profissional ao longo de anos participando do projeto de extensão. Especialmente os professores Heitor Fontes, Patrícia Cé e Luiz Fernando Gil. Ao Gil, ainda, pela participação na Liga de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, como membra e diretora, onde conheci pessoas incríveis e me apaixonei ainda mais pela CTBMF. E aos colegas e grandes amigos que dividiram essa etapa comigo. Aos residentes, pelo apoio, incentivo, conselhos e exemplo de determinação.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Às instituições que tornaram a realização do estudo possível: Universidade Federal de Santa Catarina (SC/Brasil); Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG/Brasil); AC Camargo Cancer Center (SP/Brasil); Department of Osteology and Biomechanics - University Medical Center Hamburg - Eppendorf (Alemanha) e a equipe da pesquisa: Doutorando Matheus de Abreu, Dr. Rogério de Oliveira Gondak, Dr. Fábio de Abreu Alves, Dra. Neuza Maria Souza Picorelli Assis, Dra. Aira Maria Bonfim Santos e Dra. Liliane Janete Grando.

O que importa na vida não é o mero fato de termos vivido. A diferença que fizemos na vida dos outros é o que determinará a importância da vida que levamos.

(Mandela, 2003, p. 22)

RESUMO

Os microdanos são considerados marcadores biomecânicos da qualidade óssea e atuam como alvos para a remodelação. Estes podem ser classificados em microtrincas ou *microcracks*, microfraturas e danos difusos. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de microdanos no osso mandibular de pacientes com diversos tipos de lesões e comparar com osso saudável, ainda, identificar se existe uma relação entre a quantidade e morfologia destes danos com a natureza dessas patologias e a idade do paciente. Foi conduzido um estudo retrospectivo, transversal e analítico realizado com pacientes diagnosticados com lesões orais periféricas ou centrais (grupo patológico Pt, subdividido em grupo de lesões benignas (B) em osso mandibular; grupo de lesões malignas (M), de pacientes diagnosticados com carcinoma epidermóide (CEC) com envolvimento mandibular), além de indivíduos sem lesões para o grupo comparativo (grupo controle, C, coleta de fragmento ósseo no transcirúrgico de exodontias). As amostras ósseas foram coradas em Xylenol Orange e incluídas em metilmetacrilato sem desmineralização. Os blocos foram cortados para confecção de lâminas histológicas de ~100 µm de espessura para análise em microscopia de fluorescência e contraste de fase. O número de microdanos por área de tecido ósseo analisada (Cr.D; n/Ar mm²) e tamanho dos mesmos em micrômetros (Cr.Le, µm) foram avaliados por dois operadores simultaneamente. O teste de Shapiro-Wilk revelou distribuição não normal e foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e Spearman. Um total de 55 lâminas provenientes de 26 pacientes dos 3 grupos foram avaliadas (8 no C e 18 no Pt, sendo 7 no B e 11 no M). Foram encontrados microdanos lineares em todos os grupos, morfologicamente representados por fissuras na matriz óssea com coloração amarelada e alaranjada, brilhante, e passível de confirmação na mudança do foco na microscopia de contraste de fase. Não houve diferença significativa entre os três grupos para Cr.D (p 0,50) e Cr.Le (p 0,23), considerando os dois subgrupos de Pt de forma separada. Agrupando os dois subgrupos B e M para comparar Pt e C, notou-se que houve diferença significativa considerando a idade entre os grupos (p 0,005) e Cr.D (p 0,009) com mediana de 0,00 para Pt e 0,08 para C. Não houve significância para Cr.Le. Não houve correlação entre idade, Cr.D e Cr.Le. Conclui-se que existem microdanos na mandíbula, tanto em condições normais, quanto na periferia de lesões em condições patológicas. O número de microdanos no osso perilesional de lesões periféricas e centrais é menor comparado ao osso saudável, e a natureza das lesões e a idade parece não impactar no número dessas microtrincas. Sugere-se que o osso saudável submetido às forças mastigatórias apresenta mais microdanos quando comparado ao osso na vizinhança das lesões.

Palavras-chave: Microdanos; lesões ósseas; microscopia de fluorescência.

ABSTRACT

Microdamage is considered a biomechanical marker of bone quality and works as a target for remodeling. These damages can be classified into microcracks, microfractures, and diffuse damage. This study aimed to evaluate the presence of microdamage in the mandibular bone of patients with different types of lesions and to compare it with healthy bone, as well as to identify whether there is a relation between the amount and morphology of these damages with the nature of the lesions and the age of the patients. A retrospective, cross-sectional, and analytical study was conducted with patients diagnosed with peripheral or central oral lesions (pathological group Pt, subdivided into benign lesions (B) from patients affected by benign lesions in the mandibular bone; malignant lesions (M) from patients diagnosed with oral squamous cell carcinoma (SCC) with mandibular involvement), in addition to individuals without lesions for the comparative group (control group, C, with bone fragments collected during the surgery for tooth extractions). The bone samples were stained with Xylenol Orange and embedded in methyl methacrylate without demineralization. The blocks were cut to obtain histological slides of approximately 100 μm for fluorescence and phase-contrast microscopy analysis. The number of microdamage per area of analyzed bone tissue (Cr.D; n/Ar mm^2) and their size in micrometers (Cr.Le, μm) were evaluated by two operators simultaneously. The Shapiro-Wilk test revealed a non-normal distribution, and the Kruskal-Wallis and Spearman tests were used. A total of 55 slides of 26 patients were included in the study (8 in group C, and 18 in Pt group, being 7 in B, and 11 in M). Linear microdamages were found in all groups, morphologically represented by fissures in the bone matrix with yellowish and orange staining, with a shiny luminance, and confirmed by changing the focus in phase-contrast microscopy. There was no significant difference between the three groups for Cr.D (p 0.50) and Cr.Le (p 0.23), considering the two Pt subgroups separately. Grouping the two subgroups B and M to compare Pt and C, a significant difference was noted regarding age between the groups (p 0.005) and Cr.D (p 0.009), with a median of 0.00 for Pt and 0.08 for C. There was no significance for Cr.Le. No correlation was found between age, Cr.D, and Cr.Le. It can be concluded that microdamage can be found in the mandible, both in normal conditions and in the periphery of lesions in pathological conditions. The number of microdamage in the perilesional bone of peripheral and central lesions is lower than in healthy bone, and the nature of the lesions and patient's age does not seem to impact the number of these microcracks. It is suggested that the healthy bone under masticatory forces exhibits more microdamage than bone near lesions.

Keywords: microdamage; bone lesions; fluorescence microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microscopia de fluorescência: osso trabecular.....	26
Figura 2 - Microscopia de fluorescência: osso cortical.	26
Figura 3 – Fotomicrografias de tecido ósseo avaliado em fluorescência e contraste de fase.	27
Figura 4 - Coleta das amostras <i>in vivo</i>	30
Figura 5 – Esquema demonstrativo da região de coleta das amostras.	31
Figura 6 - Coleta das amostras em laboratório.	32
Figura 7 - Processamento das amostras.....	34
Figura 8 – Análise em microscopia de fluorescência e contraste de fase de um microdano verdadeiro.....	35
Figura 9 - Análise em microscopia de fluorescência e contraste de fase de um canal no osso cortical.	36
Figura 10 – Processo de avaliação das imagens microscópicas para coleta dos parâmetros de densidade de microdanos (Cr.D) e extensão do microdano (Cr.Le). 36	
Figura 11 - Análise Comparativa - Unidade experimental: microdano.	39
Figura 12 - Análise Comparativa - Unidade experimental: microdano.	39
Figura 13 - Análise comparativa - Unidade experimental: paciente	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de correlação entre a variável idade com os parâmetros dos microdanos	40
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Mc Microdanos, Microcracks.

C Amostras ósseas de pacientes identificados como grupo Controle, de pacientes saudáveis.

B Amostras ósseas de pacientes identificados como grupo acometido por lesões benignas em osso mandibular.

M Amostras ósseas de pacientes identificados como grupo acometido por lesões malignas em osso mandibular.

Pt Amostras ósseas de pacientes identificados como grupo acometido tanto por lesões malignas quanto benignas em osso mandibular.

CEC Carcinoma Epidermóide.

DMO Densidade mineral óssea

FRAX *Fracture Risk Assessment Tool*

LISTA DE SÍMBOLOS

μ Micro

μm Micrômetro

m Metro

n Número de microdanos

Ar Área óssea

Cr.D Densidade de microdanos em $n/\text{Ar mm}^2$

Cr.Le Extensão do microdano em micrômetros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1	DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE MICRODANOS.....	20
2.2	LESÕES INTRAÓSSEAS E PERIFÉRICAS COM ENVOLVIMENTO DOS OSSOS MAXILARES.....	21
2.3	MICROSCOPIA E ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS PADRÕES DE MICRODANOS ASSOCIADOS ÀS LESÕES MAXILARES.....	24
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	OBJETIVO GERAL.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4	METODOLOGIA.....	29
4.1	CASUÍSTICA E SELEÇÃO DAS AMOSTRAS.....	29
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	30
4.3	PARTE EXPERIMENTAL: ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA E DE MICRODANOS.....	30
4.3.1	Coleta das amostras.....	30
4.3.2	Processamento.....	32
4.3.3	Análise histomorfométrica.....	34
4.3.4	Análise estatística.....	37
5	RESULTADOS.....	38
6	DISCUSSÃO.....	41
7	CONCLUSÃO.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, constituído por células e pela matriz óssea, sendo essas células originadas de linhagens osteoblásticas e osteoclásticas, que possibilitam o processo de remodelamento ósseo (Junqueira; Carneiro, 2017). O osso tem importante papel de suporte, além de proteção de órgãos internos, depósito de minerais, e até como potencializador a funções de outros tecidos (Junqueira; Carneiro, 2017). No que diz respeito ao funcionamento do osso, e sabendo que estímulos mecânicos em excesso ou sob condições não-equilibradas são capazes de gerar fragilidades que ultrapassam o processo de reparação (Dominguez; Agnew, 2019), faz-se importante entender os fenômenos envolvidos no processo de remodelação, com o intuito da busca por alternativas impeditivas ou atenuantes das condições em que o desequilíbrio está presente. A estrutura óssea e sua interação com o meio é extremamente complexa, e é reflexo de uma organização hierárquica com diferentes escalas, em que cada uma dessas apresenta atributos mecânicos próprios, que contribuem para propriedade geral do osso. Como resultado, o tecido ósseo proporciona uma estrutura forte o suficiente para dar suporte e proteção a outros tecidos, assim como flexibilidade o suficiente para que esse seja leve e eficiente energeticamente (Dominguez; Agnew, 2019).

Avaliar a arquitetura óssea e a composição do tecido resulta em dados importantes sobre a saúde óssea. Em estudos clínicos, atualmente se reconhece que apenas a densidade mineral óssea (DMO) não é suficiente para definir o risco de fratura dos indivíduos que experimentam alterações ósseas, atribuindo a qualidade óssea tanto as propriedades mecânicas quanto as propriedades composicionais (Dominguez; Agnew, 2019). Nessa prerrogativa, os microdanos encontram-se como importantes determinantes na mensuração da fragilidade esquelética, com implicações clínicas significativas, uma vez que são considerados os alvos para a remodelação sítio-dependente (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020).

Microdanos (Mc) são danos a nível microscópico que comprometem estruturalmente o osso, seja em área cortical ou trabecular, e que ocorrem em resposta a uma carga aplicada. São fenômenos essenciais à constante remodelação dos ossos, visto que servem como alvo de reparo, ou seja, quando o osso é lesado e existe a interrupção da comunicação célula-célula dos osteócitos, existe então uma

ativação de vias de liberação de sinais químicos que aquela área de dano precisa ser reparada, instaurando então o processo de remodelação, primeiro com a reabsorção da área lesada pelos osteoclastos e em seguida pela aposição óssea pelos osteoblastos (Rabelo et al. 2018a; Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020). Além disso, a não formação dos Mc seria catastrófica visto seu potencial em dissipar a energia das forças aplicadas e contribuir para a tenacidade óssea, caso contrário, atividades simples como o caminhar seriam tendentes à fratura (Dominguez; Agnew, 2019).

Apesar dessa essencialidade do microdano para adaptação esquelética, sabe-se que estes se tornam prejudiciais quando ocorrem em excesso ou sob condição específica não-balanceada, expondo o tecido ósseo ao acúmulo de danos ou na propagação dos mesmos, tomando grandes extensões, e consequentemente causando uma falha na função óssea (Rabelo et al. 2018a; Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020). Um exemplo de um acúmulo de microdanos levando a uma condição patológica seria no uso prolongado de bisfosfonatos, ou seja, sem a ação dos osteoclastos, os microdanos se acumulam pela supressão da remodelação e, com mais microdanos, existe uma redução na resistência mecânica óssea (Ma et al. 2017).

Especificamente sobre os ossos maxilares, sabe-se que para além das forças mastigatórias e a carga associada, outros fatores e acometimentos também podem alterar a qualidade mecânica óssea e influenciar na presença dos microdanos. As lesões ósseas maxilofaciais podem provocar diferentes respostas, entre àquelas osteolíticas, com perda tecidual, ou osteoblásticas, com formação de osso, com consequente variação na desmineralização, rarefação ou remodelação óssea, a depender da natureza da lesão e da sua relação com o microambiente (Mosier, 2015; Rabelo et al. 2018b). A natureza da lesão óssea, central ou periférica, pode variar entre as lesões císticas, reativas, neoplásicas ou infecciosas, cada qual com suas características clínicas, histopatológicas e radiológicas (Mosier, 2015). Diante do padrão de desenvolvimento, crescimento e grau de infiltração no osso, assume-se o questionamento: Existe relação entre o número de microdanos e as lesões que acometem o osso mandibular? E ainda, há relação dos microdanos com as diferentes naturezas dessas lesões, sendo benignas ou malignas? Diante destes questionamentos, justifica-se entender melhor sobre a presença dos microdanos nos ossos maxilares que são acometidos por lesões ósseas ou àquelas que iniciam no tecido mole e depois invadem o osso. Ainda, qual o papel do microdano na remodelação óssea perilesional e sua relação com as diferentes naturezas das lesões,

para enfim aspirar a utilização dessas informações para poder discutir melhores manejos de diagnóstico e terapêutica clínica para os pacientes acometidos por lesões nos ossos maxilares.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE MICRODANOS

A avaliação da saúde óssea e o risco de fraturas costuma ser baseada principalmente na DMO, em se tratando de uma avaliação *in vivo*, e que tem sido utilizada na prática clínica há anos, porém com uma análise limitada em sua capacidade de prever fraturas. Outra abordagem adotada por médicos foi a ferramenta *Fracture Risk Assessment Tool* (FRAX), que estima a probabilidade de fratura em 10 anos com base em fatores como idade, sexo, peso, altura e histórico médico do paciente. No entanto, essas abordagens da prática clínica não consideram alguns fatores biológicos intrínsecos ao tecido ósseo. Ao se reconhecer essas insuficiências, a avaliação da qualidade óssea passou a incluir propriedades mecânicas, tanto estruturais quanto materiais. Dentre esses aspectos, os microdanos destacam-se como um dos principais indicadores da saúde óssea, sinalizando falhas iminentes no tecido (Dominguez; Agnew, 2019). Frost, em 1960, exemplificou a definição de fadiga para entender o que poderia ocorrer no esqueleto humano em algumas situações. Como por ele mencionado, a fadiga se refere ao enfraquecimento de uma estrutura sob cargas repetidas que levam a falha, resultado do acúmulo de microdanos e da incapacidade do material de resistir a mais um ciclo de tensão ou deformação. Portanto, um preditor da fratura óssea, seria o acúmulo de danos a nível microscópico.

Essa teoria está em consonância ao que foi estabelecido por Chavassieux, Seeman e Delmas (2006) ao compreenderem o osso como um material que possui uma tensão elástica máxima. Ou seja, o tecido ósseo quando submetido a uma carga, se deforma elasticamente, absorve energia e retorna ao seu comprimento inicial quando descarregado. Entretanto, se a carga excede sua tensão elástica máxima, a resposta é dada pelo acúmulo de Mc para propagação da energia. Se o número de Mc ultrapassar a capacidade de reparação celular, então a fragilidade é gerada. Os Mc, como já mencionado, são danos estruturais microscópicos, em resposta a uma carga esquelética (Dominguez; Agnew, 2019). São classificados em três tipos: as microfraturas, os danos difusos e as microfissuras lineares (também conhecidas como microcracks), cada qual com uma aparência microscópica (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020). Para analisar sua presença e morfologia nas amostras ósseas, é necessário o uso de técnicas de microscopia e microtomografia específicas, e a

análise das imagens obtidas requerem avaliações qualitativas respeitando protocolos singulares (Rabelo et al. 2018a; Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020).

Estudos indicam que estes danos microscópicos têm uma atuação importante nos osteócitos. Estas são as células ósseas mais abundantes no osso, compreendendo mais de 90% do conteúdo celular, e estes possuem processos celulares dendríticos que se conectam uns aos outros em rede. Como os osteócitos são considerados os mecanossensores do osso, ou seja, recebem o estímulo mecânico e traduzem os mesmos para sinais químicos, entende-se que estes têm papel fundamental na biomecânica óssea (Rabelo et al. 2020) e em relação aos Mc. A proximidade dessas células às microfissuras faz com que estas desempenhem a função de detectores de Mc. À medida que os processos celulares atravessam as microfissuras, são rompidos de forma proporcional ao aumento do comprimento da fissura e à aplicação de forças além dos limites fisiológicos. Esse rompimento desencadeia a sinalização celular, indicando a necessidade de reparo na área afetada através do remodelamento ósseo (Dooley et al., 2011). A propagação de Mc também contribui para a tenacidade óssea pela capacidade de dissipar a energia das forças aplicadas (Dominguez; Agnew, 2019). Logo, apesar da nomenclatura do termo “microdano” apresentar a ideia de prejuízo, deve-se entender a sua essencialidade à renovação e saúde óssea (Dominguez; Agnew, 2019).

Esse paradigma do Mc, entre um papel benéfico e um indicador de risco, é explicado pela funcionalidade do osso. A interação entre massa, geometria e propriedades do material determinam a resistência do osso e a possibilidade de resistência às cargas aplicadas aos mesmos, logo, esse tecido é adaptativo e restaurador, denotando uma estrutura complexa (Dominguez; Agnew, 2019). Sendo assim, sugere-se que qualquer fator que desequilibre esse sistema se torne um predisponente para alteração da qualidade óssea.

2.2 LESÕES INTRAÓSSEAS E PERIFÉRICAS COM ENVOLVIMENTO DOS OSSOS MAXILARES

O estudo das lesões bucomaxilofaciais é amplo, com desafios que vão desde o correto diagnóstico à melhor escolha de tratamento. O termo diagnóstico é definido como a determinação da natureza de uma doença, que, neste caso, pode variar entre lesões císticas, neoplásicas, reativas e infecciosas (Miloró et al., 2016). Em destaque

às lesões periféricas aos maxilares com envolvimento ósseo e às lesões intraósseas, métodos complementares de diagnóstico são empregados. A radiografia é a modalidade de exame mais utilizada, com a possibilidade de visualização da aparência intralesional, assim como a resposta que ela provoca no osso adjacente. Em exemplo, de forma geral, contornos nítidos apontam para lesões benignas, enquanto limites mal definidos para uma lesão maligna (Miloró et al., 2016; Mosier, 2015).

O osso trabecular e cortical pode responder a presença de lesões a partir de uma resposta osteolítica ou osteoblástica e, conseqüentemente, exibir alguma forma de desmineralização, rarefação ou remodelação do tecido ósseo (Mosier, 2015). Isso junto com as características clínicas da lesão, vão delimitar sua diferenciação e forma de tratamento, variando entre abordagens mais conservadoras pela preservação de estruturas adjacentes e menor acometimento funcional, ou radicais, pelo extenso nível de comprometimento estético-funcional (Miloró et al., 2016). Sobre as lesões de diferentes naturezas que acometem a mandíbula, sabe-se que a remodelação óssea associada que ocorre na periferia destas lesões é variável e pode ainda ditar ou nortear condutas, principalmente devido à importância destes achados. Diversas lesões que acometem os ossos maxilares têm variações em seu padrão de crescimento, nas suas características radiográficas e tomográficas, e na forma de tratamento normalmente utilizada.

Os cistos tendem a apresentar um crescimento gradual, provavelmente como resposta de um discreto aumento da pressão hidrostática luminal, e a maioria é descoberta a partir de um achado radiográfico, já que geralmente são assintomáticos (Neville et al., 2016). O cisto radicular apresenta alta prevalência e refere-se a um cisto de inflamação relacionado aos restos epiteliais de Malassez (Neville et al., 2016), tendo como características radiográficas radiolucências bem circunscritas associadas ao ápice dentário, perda da lâmina dura e reabsorção radicular (Neville et al., 2016). Em suma, são áreas radiolúcidas delimitadas por uma linha radiopaca. O tratamento dessa lesão divide-se em não cirúrgico, pela terapia endodôntica, e cirúrgico pela extração do elemento dentário acometido somado a masupialização, descompressão ou enucleação (Neville et al., 2016). Já o cisto dentígero, é um cisto de desenvolvimento, radiograficamente representado como uma radiolucência unilocular bem definida com margem esclerótica, circundando a coroa de um dente. Estes são em sua maioria assintomáticos, mas podem atingir um tamanho significativo e serem

associados à expansão óssea e dor da região acometida (Miloró et al., 2016). Seu tratamento de escolha na maioria das vezes é a enucleação e remoção do dente afetado (Miloró et al., 2016). Também importante de ser abordado no grupo das lesões císticas é o queratocisto odontogênico, que diferentemente dos outros cistos, apresenta grande potencial de crescimento e alto índice de recidiva. Em radiografias ele pode ser visto como uma radiolucência unilocular com margens bem definidas, confundido muitas vezes com o cisto dentígero, ou como uma lesão multilocular, e tendem a crescer em direção anteroposterior sem causar expansão óssea (Miloró et al., 2016). Sua forma de tratamento normalmente é a enucleação somada à curetagem. Alguns cirurgiões também têm realizado descompressão prévia à remoção e alguns casos mais agressivos podem ser tratados com ressecção local (Miloró et al., 2016; Neville, et al., 2016).

Partindo para o grupo de lesões neoplásicas tem-se o ameloblastoma, uma entidade de crescimento lento e localmente invasivo. Radiograficamente pode ter aspecto multicístico com aparência lembrando “bolhas de sabão” pela formação de septações intralesionais, ou pode aparecer como uma lesão unicística, a depender do seu tipo histológico, podendo causar expansão ou rompimento das corticais ósseas e reabsorção radicular dos dentes adjacentes (Mosier, 2015) (Neville et al., 2016). O tratamento varia da extensão e subtipo histológico, através de uma simples enucleação e curetagem até a ressecção em bloco (Neville et al., 2016).

No grupo das lesões reativas tem-se algumas mais comuns, dentre elas a displasia cemento-óssea, a qual pode ter múltiplas aparências radiográficas. Sua variante focal aparece mais comumente em região posterior de mandíbula como uma lesão completamente radiolúcida ou densamente radiopaca com halo radiolúcido em sua periferia. A variante periapical aparece como múltiplas lesões radiolúcidas nos ápices dentários que podem vir a ter uma aparência mista de radiolucidez e radiopacidade no estágio final, predominantemente em região anterior de mandíbula. Já a variante florida, acomete mais a região anterior de mandíbula, com aparência radiográfica de lesões mistas radiolúcidas e radiopacas múltiplas (Neville et al., 2016). O tratamento, quando assintomático, em geral não requer remoção cirúrgica, apenas consultas de controle com profilaxia e reforço de higiene oral. Porém, quando em fase esclerótica, pode acarretar necrose e infecções secundárias e, neste caso, a curetagem pode ser indicada (Neville et al., 2016). A lesão central de células gigantes é vista nas radiografias como lesões radiolúcidas uniloculares ou multiloculares. Na

sua forma não agressiva, como a maioria dos casos, apresenta crescimento lento e não mostra perfuração cortical ou reabsorção radicular. Já na variante agressiva, o crescimento é rápido e há rompimento da cortical, reabsorção radicular e deslocamento dentário. No geral apresenta-se sem bordas corticais e seu tratamento de escolha é a curetagem ou a ressecção em bloco, caso necessário (Neville et al., 2016).

Como lesão infecciosa tem-se a osteomielite, um processo inflamatório agudo ou crônico, onde é possível um paciente apresentar o diagnóstico da lesão e ter uma aparência normal à radiografia panorâmica, até que as mudanças passem apenas do caráter clínico para ser possível sua visualização em exame de imagem (Miloró et al., 2016). Depois de afetado, aparenta aspecto de roído de traça ou sequestro ósseo, visto a destruição lítica extensa do osso envolvido. Sua forma de tratamento requer intervenção medicamentosa e cirúrgica com excisão de todo o osso necrótico (Miloró et al., 2016).

Para além das lesões benignas, de diferentes naturezas, como as abordadas anteriormente, tem-se também as lesões malignas. Existem lesões malignas centrais, algumas delas do próprio osso, como o osteossarcoma, mas são lesões raras. Já no caso das lesões periféricas que em sua evolução e progressão acometem o osso, tem-se a principal delas o carcinoma epidermóide (também como sinónimo carcinoma espinocelular, que reflete o acrónimo mais utilizado CEC), que representa a mais prevalente neoplasia maligna oral, sendo a idade um fator contribuinte ao aparecimento lesional (Neville et al., 2016). Radiologicamente, a destruição do osso perilesional quando existente aparece como uma radiolucidez em “roído de traça” com margens mal definidas ou bordas irregulares (Neville et al., 2016). O tratamento varia segundo o local que atinge e o estágio da doença, sendo escolha primária o tratamento cirúrgico, e em adjuvância a radioterapia, quimioterapia e imunoterapia (Neville et al., 2016; Liu et al. 2024).

2.3 MICROSCOPIA E ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS PADRÕES DE MICRODANOS ASSOCIADOS ÀS LESÕES MAXILARES

Para analisar a presença e a morfologia dos microdanos é necessário o uso de técnicas específicas de microscopia. As amostras previamente preparadas podem ser analisadas tanto em microscopia de fluorescência de luz polarizada, quanto em

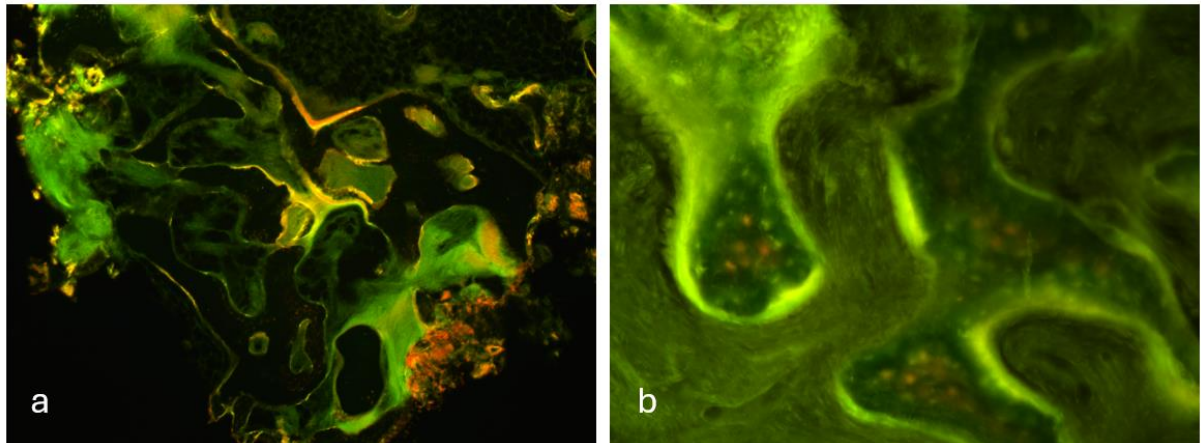
confocal de varredura a laser, para posteriormente ser mensurada a quantidade de Mc, seu tipo, tamanho, e outras características quantitativas e qualitativas (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020).

Anterior à análise em microscopia, há muitos fatores que influenciam o sucesso da técnica. A preparação das amostras de secções ósseas que não passam pelo processo de desmineralização pode requerer alguns dias, ao passo que a análise histomorfométrica pela descalcificação demoraria muito mais tempo. Ainda, para análise dos Mc, talvez a descalcificação seria um fator crítico, podendo produzir danos artefatuais que poderiam ser interpretados de forma errônea. Várias etapas e equipamentos a serem utilizados precisam de treinamento prévio, e, portanto, o comprometimento e cuidado dos operadores desde a coleta das amostras, até as etapas de coloração, inclusão em resina, corte dos blocos e montagem das lâminas são exigências para o sucesso da análise e coleta de dados de estudo (Dominguez; Agnew, 2019).

Para avaliar os microdanos a partir da microscopia convencional, é necessário o treinamento prévio do operador (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020), por isso é importante que as amostras contenham lâminas específicas para esse treinamento. Isso porque no processo de coloração, o corante de escolha infiltra-se não apenas nos Mc, mas também em estruturas anatômicas próprias do osso, como nos sistemas Haversianos e canais de Volkmann (Dominguez; Agnew, 2019), e ainda consegue-se distinguir os Mc verdadeiros e os artefatos produzidos durante o preparo das lâminas. A morfologia óssea clássica da parte cortical, contendo os ósteons e suas lamelas concêntricas, e da parte trabecular, com as trabéculas permeadas pelos espaços medulares (Figuras 1 e 2), pode ser identificada na microscopia de fluorescência. É possível observar de forma separada estas duas porções do osso, para posteriormente identificar a presença do microdano no sítio onde ele está presente (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020).

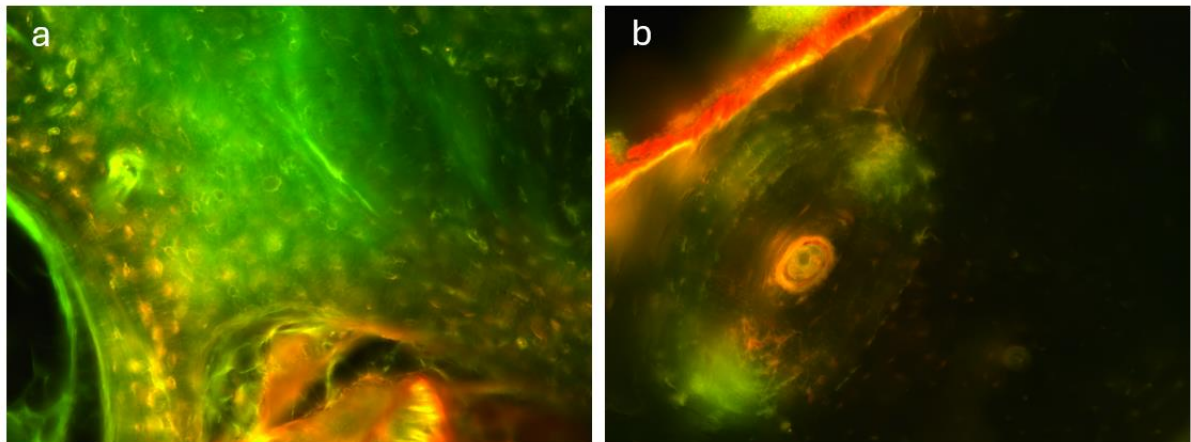
O ponto principal da técnica é imergir o osso no corante antes de qualquer preparo, ou seja, depois de corado, todas as trincas de artefato de técnica que poderão aparecer durante o processamento não estariam coradas, o que diferenciaria das microtrincas originais, que estariam coradas desde o princípio pela imersão no corante antes da inclusão e posterior corte dos blocos nas cortadeiras de precisão (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020).

Figura 1 – Microscopia de fluorescência: osso trabecular.



Legenda: a – Microscopia de fluorescência com padrão de coloração verde brilhante destacando área óssea trabecular (aumento original de 4x). b – Microscopia de fluorescência de área óssea trabecular, com coloração verde mais brilhante em regiões de delimitação entre trabéculas, demonstrando a importância do conhecimento da morfologia óssea com diferenças de impregnação do corante, para a identificação e diferenciação dos microdanos (aumento original de 10x). Fonte: o próprio autor.

Figura 2 - Microscopia de fluorescência: osso cortical.

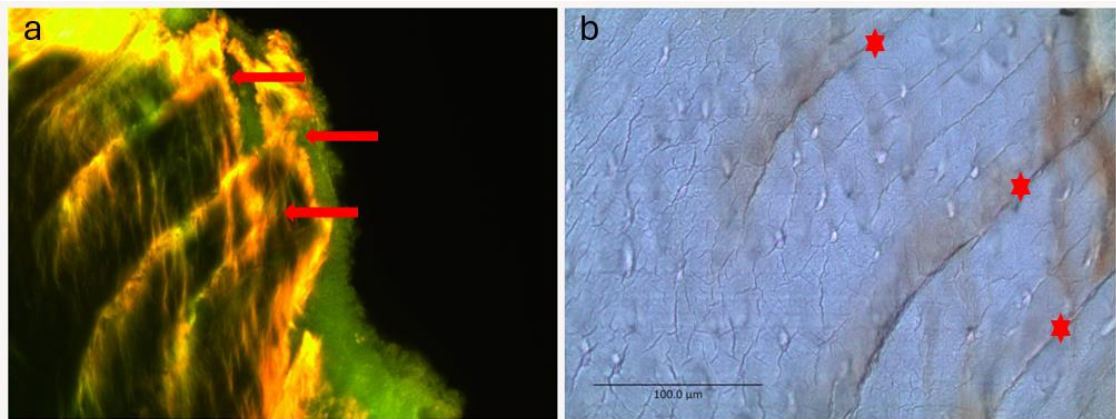


Legenda: a – Microscopia de fluorescência de região cortical, com visualização da presença de alguns canais com colorações mais brilhantes em relação ao osso (aumento original de 10x). b – Microscopia de fluorescência com destaque ao canal de Havers circundado por lamelas concêntricas configurando um Ósteon, com diferença de luminosidade (aumento original de 20x). Fonte: o próprio autor.

Ao utilizar a microscopia de luz, duas etapas são realizadas. Primeiro a análise por microscopia de fluorescência (Figura 3, a), seguida da análise em microscopia ótica de luz polarizada ou contraste de fase (Figura 3, b) (Francisquini; Caldas; Rabelo, 2020). Depois de obter a imagem, softwares podem ser utilizados para coleta de dados, um deles que está disponível gratuitamente é o ImageJ/Fiji (Wayne Rasband and contributors, National Institutes of Health, USA), o qual apresenta ainda a

vantagem de ser utilizado por vários laboratórios, permitindo a comparação de dados entre os pesquisadores (Dominguez; Agnew, 2019). Enfim, deve-se determinar quais dados serão de interesse para o estudo em questão e os registrar de forma fidedigna e organizada, com o objetivo de permitir a sua relação com os grupos lesionais presentes no banco de amostras e a tomada de conclusões.

Figura 3 – Fotomicrografias de tecido ósseo avaliado em fluorescência e contraste de fase.



Legenda: a- Microscopia de fluorescência, destacando pelas setas vermelhas a presença de microdanos. Nota-se a morfologia do microdano linear como uma fissura que se estende da face externa do osso até as regiões mais internas, de coloração amarelo alaranjada, brilhante. É possível observar que estas microtrincas estão paralelas entre si. b- Microscopia de contraste de fase, confirmando a presença dos microdanos em uma coloração escura, revelando a morfologia linear com as bordas afiladas dos Mc, identificadas pelas estrelas vermelhas. Fonte: Produção do próprio autor.

Raros são os estudos que avaliaram a presença de microdanos na mandíbula humana. Um dos únicos estudos que explorou essa variável foi o de Rabelo et al. (2018b), que coletou fragmentos ósseos nos produtos de mandibulectomia de pacientes que foram tratados cirurgicamente para CEC. No osso próximo ao tumor e no osso da margem cirúrgica (osso saudável, na parte mais externa da peça ressecada) foram encontrados microdanos lineares, com média de densidade de microdanos de 0,16 Cr.D;/mm² perto da interface osso/tumor e de 0,10 Cr.D;/mm² na margem cirúrgica de osso normal.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de Mc ósseos na mandíbula de pacientes com lesões em cavidade oral que apresentaram acometimento ósseo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a quantidade e o tamanho dos microdanos ósseos na mandíbula de pacientes com lesões orais periféricas e intraósseas que acometeram a mandíbula por meio da microscopia de fluorescência e contraste de fase.
- Comparar a densidade e tamanho dos microdanos ósseos no osso perilesional com osso normal de indivíduos sem lesões orais, e quanto a natureza sendo lesões benignas ou malignas.
- Verificar a existência de uma correlação entre microdanos e a idade dos pacientes.

4 METODOLOGIA

Esta pesquisa está inserida em um macroprojeto intitulado “Processamento de imagens na avaliação de lesões ósseas orais”, submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH), com registro CAAE 28234620.0.0000.0121 e aprovado sob parecer de número 4.063.334. Um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi disponibilizado ao paciente para que estivesse ciente dos procedimentos desta pesquisa e pudesse se voluntariar a participar da mesma.

4.1 CASUÍSTICA E SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram selecionados no macroprojeto pacientes com lesões orais que tinham como proposta terapêutica a cirurgia de ressecção ou outra cirurgia que incluía a manipulação óssea. Em suma, casos em que houvesse ostectomia na abordagem cirúrgica terapêutica de alguma lesão intraóssea ou periférica eram previamente investigados sobre a possibilidade da coleta de um fragmento ósseo. O grupo patológico tinha pacientes com lesões benignas, podendo ser: cistos, neoplasias e lesões reativas; e no grupo de lesões malignas, apenas o carcinoma epidermóide oral (CEC), sendo estas lesões presentes em sítios que exigissem mandibulectomia durante a cirurgia de tratamento. Também, em segunda fase do macroprojeto, fragmentos ósseos foram coletados de peças cirúrgicas pertencentes ao acervo do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC (LPB UFSC), sendo aqueles configurados como casos de mandibulectomia com possibilidade de remoção de fragmentos ósseos perilesionais. Estes pacientes compuseram o grupo patológico (Pt), que foi dividido em lesões malignas (M) e benignas (B).

Para compor o grupo das amostras tidas como controle (C), o osso foi obtido no transcirúrgico da exodontia realizada em pacientes saudáveis, durante a osteotomia para acesso a elementos dentais que seriam extraídos. Estes indivíduos foram selecionados durante o macroprojeto para exodontia de terceiros molares inferiores impactados, onde haveria a necessidade de osteotomia para acesso ao dente que seria removido, e neste sítio que seria realizada a osteotomia, os fragmentos ósseos eram coletados.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

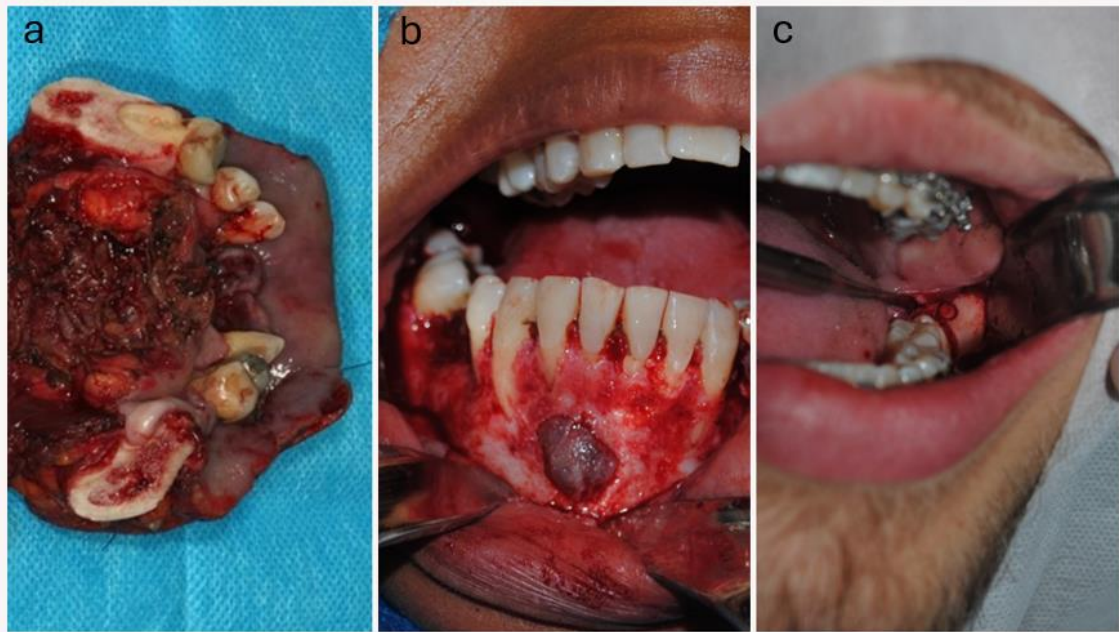
Para o macroprojeto, foram utilizados os seguintes critérios de inclusão e exclusão: pacientes maiores de 18 anos e em concordância com o estudo. Sendo que para o grupo teste refere-se aos pacientes diagnosticados com as referidas lesões para cada subgrupo, com proposta terapêutica envolvendo manipulação óssea. Foram excluídos pacientes em uso (ou que fizeram uso prévio) de medicamentos que alteram o *turnover* ósseo (bisfosfonatos ou outra terapia antireabsortiva) ou em uso prolongado (mais de 3 meses) de corticosteroides, assim como gestantes (gravidez em curso).

4.3 PARTE EXPERIMENTAL: ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA E DE MICRODANOS

4.3.1 Coleta das amostras

A aquisição das amostras foi realizada em dois momentos: *in vivo* e em laboratório (Figura 4 e Figura 6, respectivamente). A coleta *in vivo* foi realizada para aqueles pacientes do macroprojeto que foram submetidos aos procedimentos de osteotomia, de acordo com a proposta terapêutica para cada caso. Durante o transcirúrgico para o tratamento ou até para realização de biópsias das lesões centrais, para o grupo patológico (lesões benignas), fragmentos ósseos foram retirados, com auxílio de trefina em motor cirúrgico, sob irrigação constante, de acordo com o trabalho de Oliveira Loures et al. (2023), como representado na Figura 5. Para os casos de CEC, os fragmentos ósseos foram removidos da peça cirúrgica ressecada do osso perilesional ao tumor, seguindo a metodologia descrita nos trabalhos de Rabelo et al. (2018b) e Lopes et al. (2023). Para o grupo comparativo, durante a extração de terceiros molares pacientes normo-reativos que procuraram o serviço odontológico, e que durante a exodontia, era passível a coleta de fragmento ósseo, compondo o grupo controle (C), também parte da metodologia de Oliveira Loures et al. (2023).

Figura 4 - Coleta das amostras *in vivo*.



Legenda: **a-** Mandibulectomia terapêutica em paciente acometido por lesão bucomaxilofacial maligna (CEC), em fotografia mostra extensão da margem cirúrgica em região de parassínfise de mandíbula bilateralmente, o que gera amplo comprometimento estético funcional e necessidade de reconstrução mandibular como tratamento. **b-** Transcirúrgico de tratamento de enucleação em paciente acometido por lesão benigna em região mentoniana, apical aos incisivos inferiores. É notável margem bem delimitada lesional, o que favorece um tratamento menos invasivo. **c-** Transcirúrgico de exodontia de terceiro molar inferior em paciente normo-reativo, cuja coleta se deu pela osteotomia em região retromolar. Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 5 – Esquema demonstrativo da região de coleta das amostras.

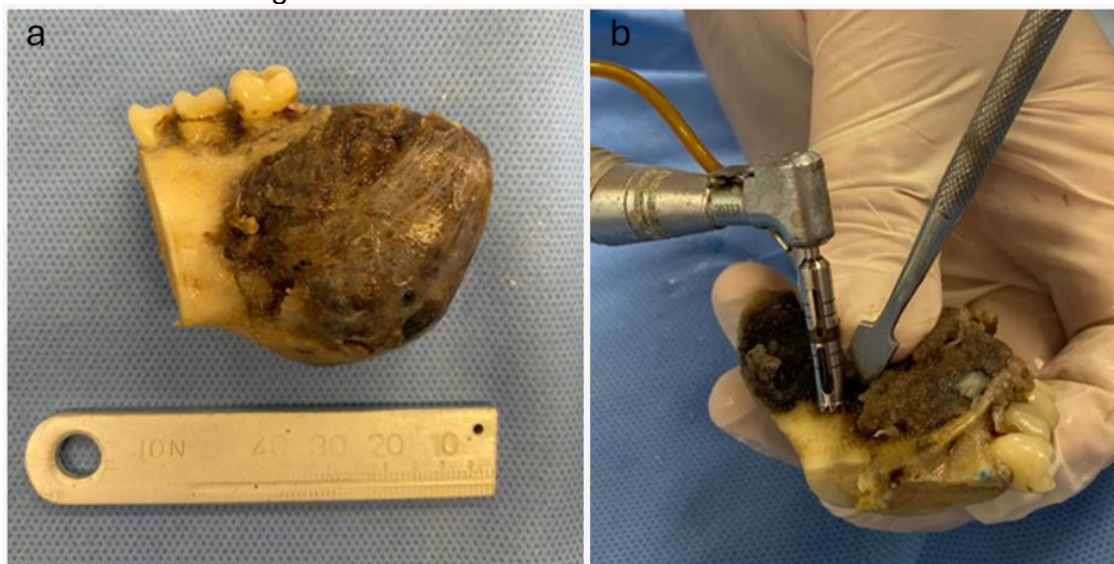


Legenda: **a** – Representação de mandíbula acometida por CEC com acometimento ósseo, cuja coleta se deu pelo uso de trefina em motor cirúrgico em região limítrofe entre lesão e osso. **b** – Representação de mandíbula acometida por lesão benigna cística, a qual o tratamento mais utilizado refere-se a enucleação e não exige extensão da margem cirúrgica como em lesões malignas. Por isso a coleta de fragmento ósseo se deu adjacente a região lesional. **c** – Representação da coleta de fragmento ósseo durante extração dental, em sua maioria de terceiros molares inclusos impactados, em região que já seria submetida a osteotomia para acesso ao elemento dental. Os círculos em vermelho representam a área trefinada para coleta do fragmento ósseo. Fonte: o próprio autor.

Para as coletas em laboratório, realizadas no segundo momento do macroprojeto, apenas os casos pertencentes ao laboratório que compunham grandes peças cirúrgicas de mandibulectomia, fragmentos ósseos foram coletados também com auxílio de trefina (4mm de diâmetro), no osso perilesional, realizado por

profissionais experientes. Tais peças foram devidamente armazenadas no LPB/UFSC. A partir da coleta, tanto os fragmentos ósseos coletados *in vivo* e as coletas de laboratório tiveram o mesmo processamento para análise dos Mc.

Figura 6 - Coleta das amostras em laboratório.



a- Peça cirúrgica de paciente acometido por lesão bucomaxilofacial benigna em corpo de mandíbula, é possível visualizar grande extensão lesional a qual exigiu necessidade de ressecção. b- Coleta do fragmento ósseo de osso perilesional pelo uso de trefina sob irrigação. Fonte: Produção do próprio autor

As amostras obtidas foram prontamente inseridas em álcool 70%, solução de armazenamento ideal, com o objetivo de impedir a desidratação pelo longo tempo de fixação e armazenamento antes da inclusão dessas na solução de coloração.

4.3.2 Processamento

Inicialmente as peças ósseas passaram pela coloração, de modo a possibilitar a distinção entre os microdanos e os artefatos resultantes do preparo das lâminas provenientes dos passos seguintes. O corante utilizado foi o Xylenol Orange - 5 milimolar em uma proporção de 0,4 para cada 10mL de álcool 70%. As amostras foram colocadas em frascos âmbar contendo o corante, devidamente identificadas, com a necessidade de ficarem submersas na solução durante 3 a 8 dias, a depender do tamanho das amostras. Retiradas da solução corante, seguiram para inclusão em 1 ou 2 banhos de álcool absoluto para retirada do excesso de *Xylenol Orange*. Para isso, foram imersas em uma garrafa contendo álcool absoluto e mantidas por 2 dias, e em sequência, submersas em um frasco contendo Xilol.

Para a técnica de inclusão em resina sem a desmineralização do osso, três soluções diferentes foram realizadas para imersão das amostras de forma sequencial, respectivamente em: Metilmetacrilato e Dibutilftalato em concentrações de 80% e 20% (MMA1) por 48 horas, em MMA2 pelo acréscimo de 1g de peróxido de benzoíla a uma solução de 100mL idêntica ao MMA1 por 48 horas, e por último em MMA3, equivalente a incorporação de 2g de Peróxido de Benzoíla à solução equivalente ao MMA1. Todas essas etapas foram realizadas sob armazenamento em meio refrigerado.

As amostras foram retiradas dos cassetes e colocadas em frascos âmbar individuais contendo a solução de MMA3. Esses foram armazenados por 48 horas em geladeira, dentro de uma vasilha contendo água e cobrindo metade de sua extensão, a fim de evitar o início de uma possível polimerização.

A polimerização se deu posteriormente em frascos individualizados, onde cada amostra foi removida dos cassetes nas garradas e colocadas em frascos âmbar de vidro com capacidade de 10 a 15 ml (a depender do tamanho do fragmento ósseo). A inserção dos frascos em estufa, sob temperatura de 36°C a 38°C, foi feita por um período de 2 a 3 dias, até a completa polimerização. Com a polimerização verificada, a remoção dos blocos do frasco âmbar foi obtida pelo uso de um instrumento contuso para quebrá-los (Figura 7, a).

Os cortes a partir dos blocos de resina foram realizados a partir de uma cortadeira de precisão (Isomet 1000) e um disco diamantado com espessura de 15,2 cm X 0,5 mm à velocidade de 250 RPM, para aquisição de uma espessura final de aproximadamente 100 µm dos cortes (Figura 7, b). A obtenção da espessura ideal e o polimento e acabamento se deu pelo uso da máquina Exakt usando lixas de gramatura 1200 ou 800, pó de Pedra Pomes e Branco de Espanha. A limpeza desses foi obtida em água corrente e inserção em cuba de ultrassom por 15 minutos. Posteriormente os cortes foram montados em lâminas, pelo uso de Verniz, possibilitando a conseguinte análise em microscopia (Figura 7, c).

Figura 7 - Processamento das amostras.



a- Resultado da polimerização final em MMA3 pela formação de blocos de resina contendo amostra óssea já corada em Xylenol Orange. b- Corte do bloco de resina realizado a partir de cortadeira de precisão (Isomet 1000) obtendo os cortes histológicos com aproximadamente 100 µm de espessura. c- Montagem de lâminas histológicas a partir dos cortes, pelo uso de Verniz, e devidamente identificadas em caneta vermelha. Fonte: Produção do próprio autor.

4.3.3 Análise histomorfométrica

Para análise dos Mc em microscópio foi necessário treinamento dos operadores para correta identificação desses, por essa razão lâminas de estudo contendo fragmentos ósseos de costela bovina advindas de material de descarte foram utilizadas.

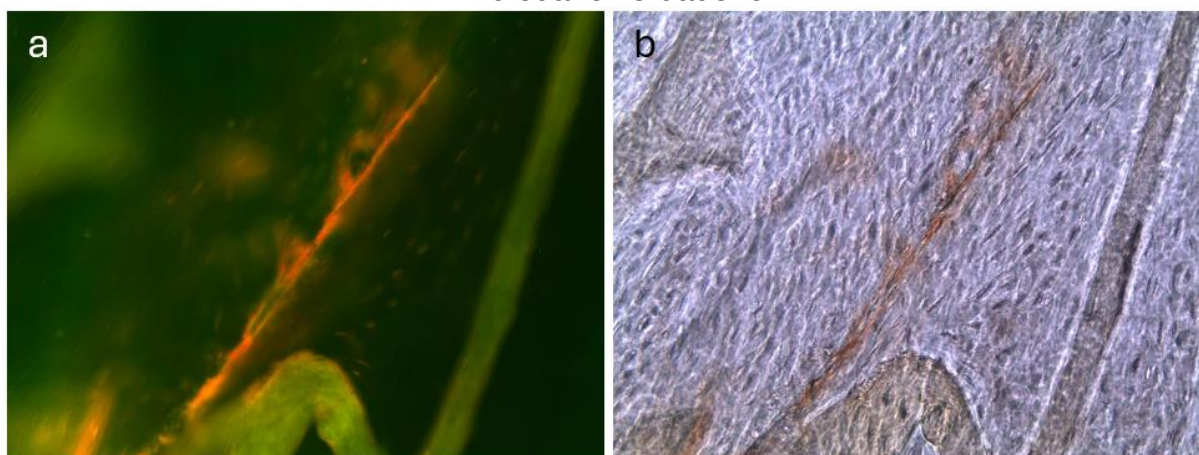
Concluído o treinamento, a avaliação das lâminas se deu em sua totalidade, abrangendo tanto áreas corticais quanto trabeculares. A avaliação foi realizada por dois operadores treinados de forma simultânea, ou seja, um operador manipulando o microscópio e o segundo avaliando via câmera acoplada em computador. Inicialmente, cada lâmina foi avaliada em microscopia de fluorescência (Figura 8, a), utilizando as configurações padronizadas do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB): filtro 2, Excitação (460 a 490 nm) e emissão (520nm), em um aumento de 20x, para detecção de Mc. Ao identificar algum possível microdano, uma fotografia bidimensional foi obtida, e para confirmar a sua veracidade, a mesma região fora analisada em Mc de contraste de fase (Figura 8, b), também em um aumento de 20x, com captura de nova fotografia para comparação das imagens, além da manipulação do micrometro do microscópio, a fim de verificar a veracidade do Mc alternando a resolução para verificação em profundidade. No caso de dúvida da veracidade do Mc, os dois operadores entravam em consenso, seguindo os critérios de Chapurlat e Delmas (2009), sendo eles: tamanho intermediário (maior que os canalículos dos osteócitos e menor que os canais vasculares), bordas afiadas circundadas por um halo brilhante, coloração que atinja os planos mais profundos, e

quando mudar de foco fosse possível identificar a profundidade (contraste de fase). A fidelidade ao uso desses critérios, aliada a familiaridade com a histomorfometria óssea, impedia a identificação de artefatos como microdanos (Figura 9 a e b). Confirmada a veracidade, a extensão desse foi obtida imediatamente, em escala micrométrica, com a segmentação dele usando a inserção de uma linha no esquema ponto-a-ponto, para posterior nova fotografia contendo a mensuração.

Ao fim, toda a extensão do microdano em micrômetro era anotada em planilhas do Excel, além do número deles, para o cálculo das medidas de extensão total do microdano (Cr.Le) e da densidade de microdanos, que seria o número total dividido pela área óssea analisada (Cr.D).

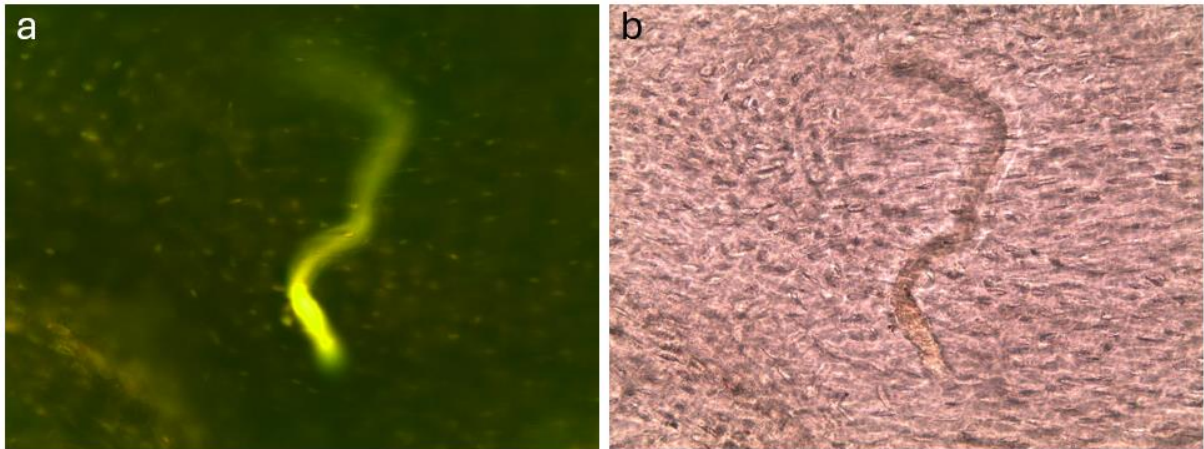
O software ImageJ/FIJI foi a ferramenta operada para o cálculo da área óssea analisada. Imagens bidimensionais adquiridas em microscopia de luz em lupa estereoscópica acoplada a uma câmera possibilitaram o delineamento da área óssea total analisada em cada lâmina. Com o auxílio de uma lâmina calibradora, pôde-se realizar uma escala a qual definisse os fatores para o cálculo da área, e assim a obtenção da densidade óssea. Isso foi essencial na identificação da quantidade de microcracks (Mc) por área (Cr.D;/mm²), como mostra a sequência da Figura 10.

Figura 8 – Análise em microscopia de fluorescência e contraste de fase de um microdano verdadeiro.



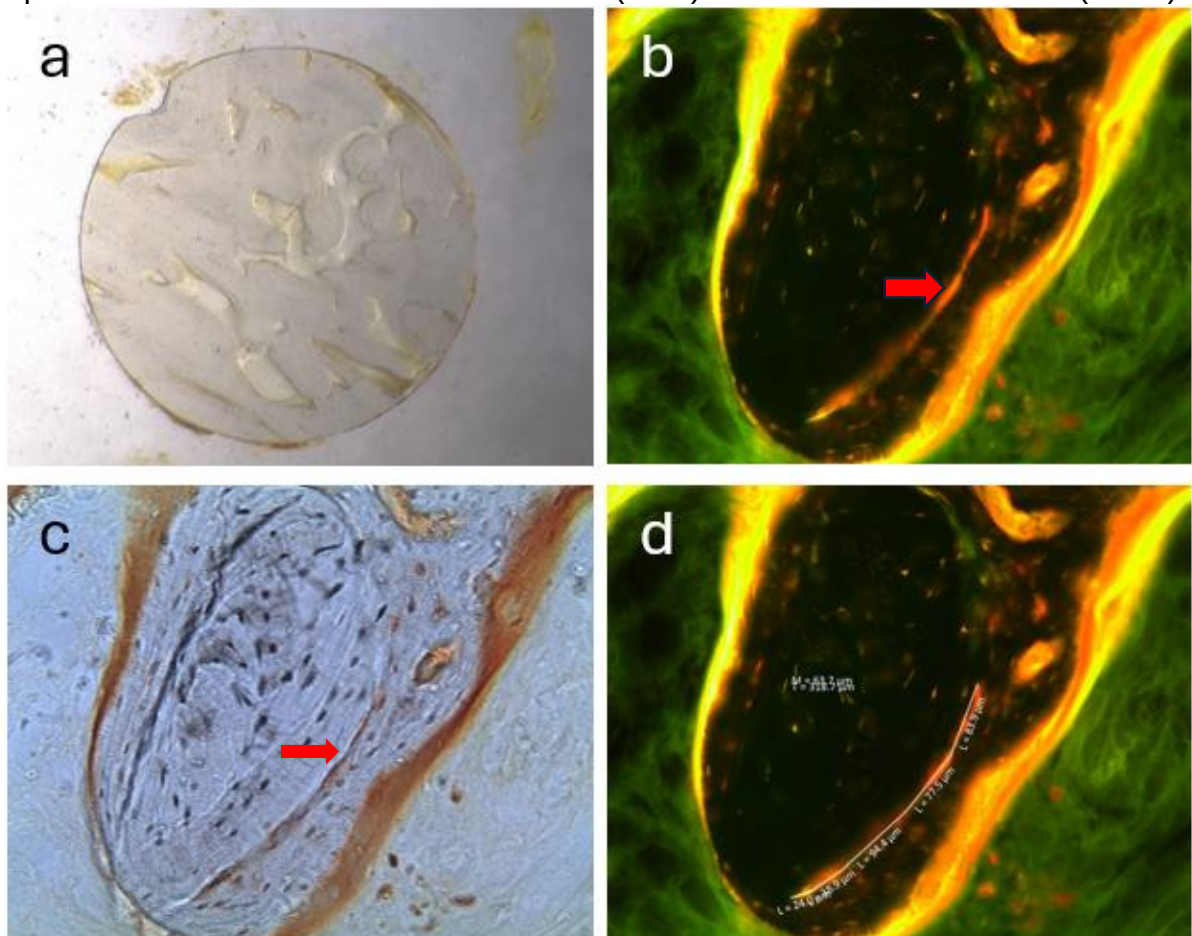
a- Fotografia de possível Microdano sob visualização em microscopia de fluorescência, seguindo os critérios de Chapurlat e Delmas (2009), em coloração alaranjada brilhante, com bordas afiladas. b- Microscopia de contraste de fase confirmando a presença do microdano, possível de visualização ao mudar de foco. Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 9 - Análise em microscopia de fluorescência e contraste de fase de um canal no osso cortical.



a- Microscopia de fluorescência indicando a presença de trajeto fluorescente em cor verde brilhante, porém com bordas pouco definidas e não afiladas, semelhante morfológicamente a um canal de Havers. b- Microscopia de contraste de fase confirmando não se tratar de uma Mc, visto a morfologia não afilada e a não continuidade em mudança de foco. Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 10 – Processo de avaliação das imagens microscópicas para coleta dos parâmetros de densidade de microdanos (Cr.D) e extensão do microdano (Cr.Le).



a- Imagem bidimensional realizada a partir do uso de uma câmera fotográfica acoplada à microscópio de luz, na qual foi possível visualização da amostra óssea em toda sua extensão e a sua delimitação em software ImageJ para o cálculo da área óssea analisada. b- Microscopia de fluorescência evidenciando possível presença de Mc em coloração alaranjada brilhante, próxima à margem da

cortical óssea, evidenciada pela seta vermelha. c- Microscopia de contraste de fase confirmando a presença de Mc linear, a qual era prevalente mesmo em mudança de foco, como apontada pela seta vermelha. d- Mensuração do comprimento do microdano em μm que foi delimitado manualmente, com um total de 318.7 μm . Fonte: Produção do próprio autor

Em suma, após obtenção dos dados adscritos, os parâmetros utilizados a partir dessa análise foram: número de microdanos (microcracks) por área de tecido ósseo analisado (Cr.D;/mm²) e tamanho dos microcracks em micrômetros (Cr.Le, μm).

4.3.4 Análise estatística

Todos os dados passaram por análise de distribuição de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. A análise comparativa foi realizada em dois momentos: a) primeiro considerando os 3 grupos (grupos C, B e M), realizada pelo teste de Kruskal-Wallis; b) segundo, considerando o agrupamento das lesões benignas e malignas no grupo osso patológico (Pt), em comparação com controle, através do teste de Mann-Whitney. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar a correlação da idade com os achados dos microdanos.

5 RESULTADOS

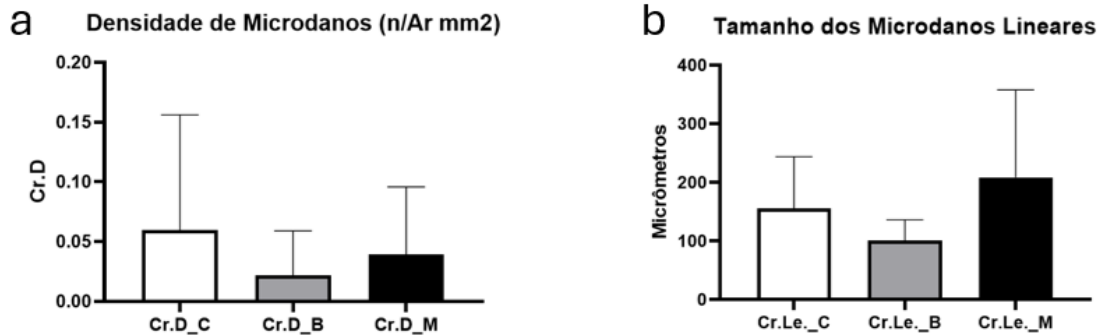
Ao todo foram avaliadas amostras de 26 pacientes, sendo 8 do grupo controle (5 do sexo feminino e 3 do sexo masculino) e 18 no grupo Pt (7 do sexo feminino e 11 do sexo masculino), subdivididos em 7 no subgrupo B (1 neoplásica e 6 císticas) e 11 no M, sendo todas de CEC. Alguns fragmentos ósseos obtidos foram incluídos em mais de uma lâmina, por isso, ao todo o número de lâminas analisadas foi de 55.

Na análise qualitativa foi observada em sua maioria a presença de osso cortical nas lâminas analisadas, sendo que algumas delas também continham osso trabecular. Foram encontrados microdanos em ambas as porções cortical e trabecular, e todos esses eram do tipo de microfissuras lineares (também chamados de microcracks). Na varredura das lâminas, era visível a impregnação do corante fluorescente nas superfícies ósseas, internas ou externas, ou seja, em qualquer espaço aberto presente nos ossos, incluindo os sistemas Haversianos, canais de Volkmann e nas superfícies das trabéculas. Esta impregnação, em algumas vezes, resultava na presença de manchas em regiões focais, que dificultavam a visualização da lâmina em totalidade. Ainda, a diferenciação dos microdanos para trincas de artefatos de técnica incluíam a necessidade de manipulação no ajuste fino do microscópio, com a avaliação da sua existência em profundidade, o que foi possível de se observar em algumas amostras. A proximidade de microdanos com áreas de acúmulo de corante exigia maior meticulosidade em relação a avaliação, uma vez que o brilho se encontrava intenso, e desta forma um consenso entre os dois operadores em casos de dúvida foi realizado. Algumas lâminas mostraram maior nitidez e resplandecência em relação a morfologia óssea e outras com aspectos menos luminosos tiveram também maior dificuldade de avaliação. Lâminas contendo fragmentos ósseos de menor área também em sua maioria apresentavam maior resplandecência visto o acúmulo de material corante em seu perímetro. Já com relação a visualização em contraste de fase, o ajuste de balanço de branco se mostrava necessário para a maioria das lâminas, a fim de melhorar a nitidez e análise da possibilidade de se identificar um microdano verdadeiro.

Na análise quantitativa, a média do tamanho do microdano (Cr.Le) foi de $155,3 \pm 88,57$ para o grupo C, de $101,3 \pm 34,87$ para o subgrupo B e de $208,4 \pm 149,3$ para o subgrupo M. A média do valor de Cr.D foi de $0,05 \pm 0,08$ para o C, de $0,02 \pm 0,03$ para o B e de $0,03 \pm 0,05$ para o M. Não houve diferença significativa na comparação

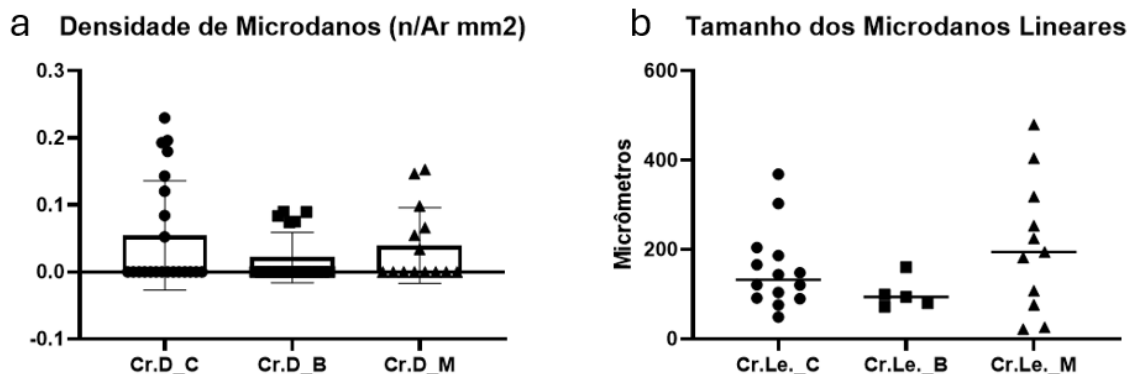
de Cr.D entre os 3 grupos ($p = 0,50$, Figura 11a mostrando as medianas e Figura 12a mostrando os valores individuais) e nem para Cr.Le ($p = 0,23$, Figura 11b mostrando as medianas, e Figura 12b mostrando a distribuição dos valores individuais).

Figura 11 - Análise Comparativa - Unidade experimental: microdano.



a- Gráfico de colunas da densidade (Cr.D) de Mc entre os três grupos, não significativo ($p 0,5$), mas visualmente indicando maior quantidade de danos por área no grupo C, representado pela coluna de cor branca. b- Gráfico de colunas do tamanho dos microdanos lineares entre os três grupos, não significativo ($p 0,23$), porém indicando uma tendência a maior extensão dos microdanos em osso perilesional às lesões malignas na coluna de coloração preta, e alto desvio padrão. Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 12 - Análise Comparativa - Unidade experimental: microdano.

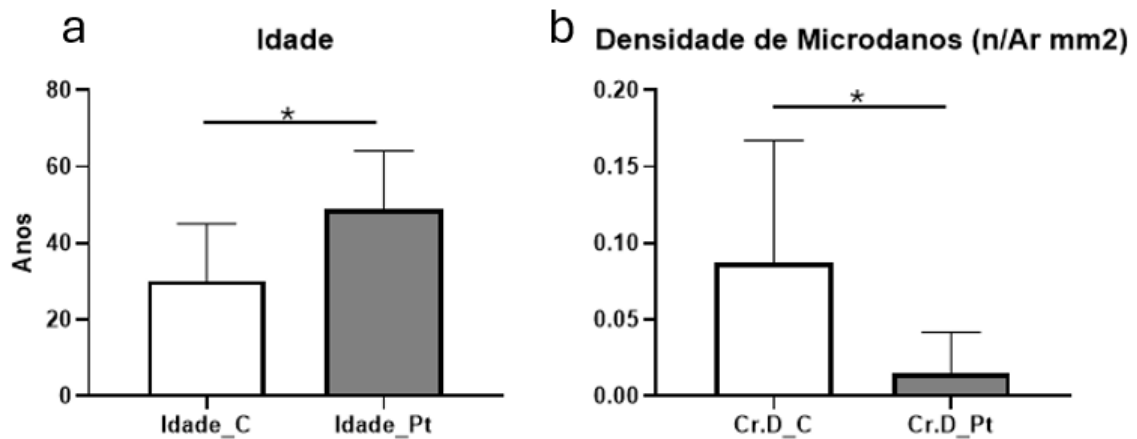


a- Gráfico da densidade de microdanos por lâmina óssea analisada, permitindo análise individual da distribuição amostral em cada grupo, com o grupo controle e grupo de lesões malignas apresentando uma maior variabilidade entre as densidades, e o grupo das lesões benignas valores mais semelhantes. b- Gráfico da mensuração do microdanos dos três grupos, permitindo análise da distribuição individual amostral, e o maior valor de desvio padrão para o grupo das lesões malignas. Fonte: Produção do próprio autor

Agrupando os dois subgrupos B e M com osso perilesional no grupo Pt, em comparação com o grupo C a média de Cr.D foi de $0,08 \pm 0,07$ para o grupo C e de $0,01 \pm 0,02$ para Pt e a média de Cr.Le para o C foi de $166,3 \pm 72,91$ e para o Pt foi de

152,1±87,84. Houve diferença significativa entre os dois grupos para Cr.D ($p = 0,009$, Figura 13b), com mediana de 0,081 (0,007; 0,16) para C e de 0 (0; 0,03) para Pt. Não houve significância para Cr.Le ($p 0,66$) com mediana de 162,4 (102,7; 230,2) para C e de 99,2 (83,05; 247,5). Na comparação da idade considerando os grupos C e Pt, houve diferença significativa ($p = 0,005$, Figura 13a mostrando as medianas) com média de 30,13±14,9 anos para o grupo C e 48,94±15,3 anos para o grupo Pt.

Figura 13 - Análise comparativa - Unidade experimental: paciente



a- Gráfico de colunas da idade entre dois grupos, por paciente, demonstrando grupo acometido por patologias em mandíbula de maior idade, coluna cinza, em relação ao grupo de pacientes saudáveis, coluna branca, ($p 0,005$). b- Gráfico de colunas da densidade de microdanos em Cr.D/ mm², indicando a maior densidade de microdanos em ossos mandibulares de pacientes saudáveis, ($p 0,009$). Fonte: Produção do próprio autor.

A análise de correlação entre a idade e as variáveis de densidade e mensuração do microdano dos grupos C e Pt não revelou nenhuma correlação significativa (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise de correlação entre a variável idade com os parâmetros dos microdanos

Dados Clínicos	Microarquitetura do osso cortical	
	Cr.D (n/Área óssea em mm²)	Cr.Le (micrômetros)
Idade (anos) – Osso Controle	$p 0,99$ $r 0,006$	$p 0,13$ $r 0,71$
Idade (anos) – Osso perilesional	$p 0,53$ $r -0,15$	$p 0,40$ $r 0,56$

Legenda: Teste de correlação de Spearman da variável idade com os parâmetros de densidade e extensão do microdano. Cujos valores de p não foram significantes. E valores de r foram positivos com exceção da correlação entre a idade e a densidade do osso perilesional (Pt). Fonte produção do próprio autor.

6 DISCUSSÃO

Este trabalho visa contribuir para a literatura científica sobre os microdanos, com foco no sistema estomatognático, examinando como os microdanos ósseos podem influenciar o microambiente de desenvolvimento e progressão das lesões bucomaxilofaciais. Compreender a dinâmica dos microdanos poderá, no futuro, complementar o entendimento e a proposição de tratamentos mais eficazes para pacientes com lesões intraósseas ou periféricas aos ossos gnáticos, com o potencial de reduzir a taxa de recidiva e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, uma vez que estes podem realmente influenciar na remodelação perilesional e das margens cirúrgicas. O nosso estudo concentrou em coletas ósseas que foram realizadas exclusivamente em osso mandibular humano, em situações distintas de saúde óssea e em pacientes acometidos por lesões bucomaxilofaciais. Buscou-se verificar a presença de microdanos nessas duas situações, assim como verificar a existência ou não de relação entre a natureza da lesão com os parâmetros de análise dos microdanos. Também foi examinada a correlação entre microdanos e a idade dos pacientes. Os resultados foram ponderados tanto em uma perspectiva qualitativa quanto quantitativa, com dados promissores de significância.

Encontramos que o osso saudável submetido às forças mastigatórias apresenta mais microdanos quando comparado ao osso na vizinhança das lesões, aparentando não ter relação com a natureza delas em benignas ou malignas, ou mesmo, com a idade dos pacientes. A menor densidade de microdanos no osso patológico pode sugerir um comportamento de fragilidade dos materiais, pois a dissipação da energia pode estar alterada com prejuízo à tenacidade óssea na periferia das lesões. Ainda, com menor número de danos, talvez menos sinais para a remodelação possam estar presentes nestas áreas, comparando com o osso sobre influência das forças mastigatórias, encontrado no nosso grupo controle.

A avaliação da qualidade óssea é dependente de multifatores, como a massa óssea, a macro e microarquitetura e as propriedades dos materiais que o compõe. Isso é produto de uma organização tecidual capaz de proporcionar características aparentemente contraditórias entre si, como a rigidez e flexibilidade, leveza e resistência (Chavassieux et al., 2006). Entre os componentes de avaliação da biomecânica do osso mandibular, o estudo dos microdanos é um dos preditores da resistência óssea, atuando como responsável pela renovação, remodelação e

regulação fisiológica (Francisquini, et al. 2020). Para seu estudo, a literatura apresenta protocolos padronizados de avaliação a partir de microscopia de fluorescência somado a de contraste de fase ou de luz polarizada, como eficiente técnica para detecção de microfissuras lineares e comparação entre dados como a densidade de microdanos e a extensão desses (Dominguez; Agnew, 2019).

Foi surpreendente observar que ossos saudáveis de pacientes jovens no grupo controle apresentaram maior densidade de microdanos em comparação com ossos de pacientes mais velhos, que estavam acometidos por lesões. O acúmulo excessivo de microdanos é frequentemente associado a uma menor qualidade e resistência óssea (Dominguez; Agnew, 2019) (Francisquini, et al. 2020). No entanto, a situação avaliada não refletia uma situação de acúmulo em uma condição patológica, e sim uma condição fisiológica com microdanos possivelmente relacionados às forças mastigatórias. Ainda sobre a idade, entendemos também que outros fatores podem influenciar na questão dos microdanos. Segundo o Manual da AO (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen/ Associação para o Estudo da Fixação Interna, 2012), o osso mandibular é um compósito comparável com o concreto reforçado com aço ou polímero reforçado com fibra, e sua microestrutura é responsável pelas características mecânicas dos materiais que o compõe, funcionando como um feixe curvo no plano axial, sustentada pelos músculos e articulações. Com o processo de envelhecimento, há o enfraquecimento do aparelho mastigador, com a reabsorção ou remodelação passiva sendo sobrejacente sobre a aposição óssea, por falta de estímulo mecânico da oclusão dental com as forças dela liberadas (Madeira et al., 2012). Somado a isso o acometimento deste osso por lesões maxilofaciais também corrobora para o desuso do aparelho estomatognático, principalmente pelos sinais e sintomas gerados pelas patologias, como por exemplo a dor relatada em lesões inflamatórias e infecciosas (Neville, et al., 2016).

A formação de microdanos é compreendida em termos de fadiga, e dependentes de uma carga, portanto a maior densidade de microdanos em pacientes jovens e saudáveis, cujo sistema estomatognático é constantemente estimulado durante a mastigação, e a presença de dentes em osso alveolar é capaz de transmitir a força mastigatória para trajetórias de reforço ósseo (Prein, Ehrenfeld, Manson., 2012). Outra hipótese do que explicaria a menor densidade em osso perilesional, seria em razão da mudança na estrutura tridimensional do osso mandibular pela presença de uma lesão. Chavassieux, Seeman e Delmas (2006) atribuíam à heterogeneidade

na orientação do colágeno, densidade mineral do tecido e número de ósteons e linhas cimentantes ao redor de cada um deles como responsáveis para a obstrução à propagação de rachadura. Portanto, sugere-se que a interrupção desta conformação óssea, pela presença de uma região atípica caracterizada por uma patologia presente, poderia funcionar como um local de absorção da energia ou desvio das trajetórias normal de distribuição da carga, com a consequente menor formação de microdanos.

Ainda, sabendo da semelhança do osso com materiais técnicos e ao estudar as propriedades de resistência dos materiais descritas por Hibbeler (2010), podemos atribuir a menor formação de microdanos como um fator preocupante. Isso porque qualquer material submetido a uma carga externa, tende a armazenar energia internamente até um máximo possível antes de uma falha estrutural. E sugere-se que a menor formação de microdanos contribua a um comportamento de fragilidade do osso, no qual pouco ou nenhum escoamento é visualizado antes da falha. Também, essa menor densidade pressupõe menos sinais para remodelação, contando que menos microdanos levam a menos interrupção da comunicação dos osteócitos, dessa forma com menos sinais para a osteoclastogênese e atividade reabsortiva na para remodelação óssea (Dooley, et al. 2011) no osso perilesional.

Mesmo sem significância na comparação, podemos observar que os maiores danos em extensão estavam no grupo M. Podemos sugerir que a provável presença de danos com maior extensão em osso perilesional ao CEC poderia ser um facilitador de progressão tumoral e talvez até suscetibilidade à fratura. Rabelo et al. (2018b) avaliaram a cortical óssea mandibular em pacientes com CEC em duas áreas: uma a pelo menos 5 mm da interface osso/tumor e outra a 1,5 cm da primeira. Eles observaram que a invasão tumoral altera a microarquitetura mandibular, reduzindo a anisotropia no primeiro grupo, embora não houvesse diferença significativa na densidade de microfissuras entre os grupos, e não foi avaliada da extensão dos microdanos. Em nosso estudo, comparamos pacientes com CEC a um grupo saudável e analisamos também a extensão dos microdanos, que se mostrou tendencialmente maior no osso próximo ao CEC, sugerindo que essa extensão pode ser um preditor de alterações na microarquitetura, complementando a menor anisotropia relatada por Rabelo et al. (2018b).

Nosso estudo apresenta limitações, como a dificuldade da coleta de amostras ósseas em mandíbulas humanas, tanto no grupo dos pacientes saudáveis quanto de pacientes acometidos por lesões, com a formação de um espaço amostral menor e

com maior desvio padrão. Outro desafio foi o processo de inclusão das amostras em resina, que precisa ser meticuloso e sistemático, além de depender de fatores externos, como a disponibilidade contínua de refrigeração para armazenamento das amostras durante a etapa de processamento. Por fim, os cortes histológicos para análise microscópica exigiram uma espessura ideal de 100 μm ou menos, o que torna as etapas de corte, acabamento e polimento bastante frágeis e suscetíveis a falhas.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que existem microdanos no osso perilesional mandibular de indivíduos com lesões benignas ou malignas, e em indivíduos sem lesões, no osso em regiões com influência das forças mastigatórias. O número de microdanos lineares é maior no osso próximo aos dentes quando comparado ao osso perilesional de lesões centrais ou periféricas que tiveram o envolvimento mandibular. Parece não haver influência da natureza da lesão, se benigna ou maligna, na quantidade ou tamanho dos microdanos, e não existe relação entre a idade e os microdanos ósseos nesta amostra.

REFERÊNCIAS

- CHAPURLAT, R. D.; DELMAS, P. D. Bone microdamage: a clinical perspective. **Osteoporosis International**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 1299-1308, 17 mar. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-009-0899-9>.
- CHAVASSIEUX, P.; SEEMAN, E.; DELMAS, P. D. Insights into Material and Structural Basis of Bone Fragility from Diseases Associated with Fractures: how determinants of the biomechanical properties of bone are compromised by disease. **Endocrine Reviews**, [S.L.], v. 28, n. 2, p. 151-164, 19 dez. 2006. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/er.2006-0029>.
- DOMINGUEZ, V.M.; AGNEW, A.M. Microdamage as a Bone Quality Component: practical guidelines for the two-dimensional analysis of linear microcracks in human cortical bone. **JBMR Plus**, [S.L.], v. 3, n. 6, p. 1-12, jun. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1002/jbm4.10203>.
- DOOLEY, C.; TISBO, P.; LEE, T. C.; TAYLOR, D. Rupture of osteocyte processes across microcracks: the effect of crack length and stress. **Biomechanics And Modeling In Mechanobiology**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 759-766, 17 set. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10237-011-0349-4>.
- FRANCISQUINI, I. A.; CALDAS, R. A.; RABELO, G. D. Avaliação de microdanos no osso. **Clinical And Laboratorial Research In Dentistry**, [S.L.], p. 1-7, 16 nov. 2020. Universidade de São Paulo <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2357-8041.clrd.2020.170117>.
- FROST, H. L. Presence of Microscopic Cracks In Vivo In Bone. **Henry Ford Hospital Medical Journal**, [s. l], v. 8, n. 1, p. 25-35, 1960. <https://scholarlycommons.henryford.com/hfhmedjournal/vol8/iss1/4>
- HIBBELER, R. C. **Resistência dos Materiais**. 7. ed. São Paulo: Pearson, 2010.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2018.
- LIU, C.; LI, M.; LIU, X.; SHI, T.; WANG, Y.; SUI, C.; ZHANG, W.; WANG, B. Evaluating the efficacy and safety of different neoadjuvant immunotherapy combinations in locally advanced HNSCC: a systematic review and meta-analysis. **Front Immunol**. 2024 Aug 29;15:1467306. doi: 10.3389/fimmu.2024.1467306.
- LOPES, D. G. F.; PATRICIO, É. F.; ASSIS, N. M. S.P.; COUTINHO-CAMILLO, C. M.; ALVES, F. A.; KOWALSKI, L. P.; JÄHN-RICKERT, K.; BUSSE, B.; RABELO, G. D. Cortical microarchitecture and remodeling-associated gene expression related to oral cancer prognosis. **Braz Oral Res**. 2023 Nov 10;37:e109. doi: 10.1590/1807-3107bor-2023.vol37.0109.
- DE OLIVEIRA LOURES, A.; DE ABREU, M.; DEVITO, K. L.; GRISOLIA-SEIFERT, E. F.; JÄHN-RICKERT, K.; RABELO, G. D. Fractal analysis of the mandible cortical bone: correlation among fractal dimension values obtained by two processing methods from periapical radiograph and micro-computed tomography with cone-beam computed

tomography. **Radiat Environ Biophys.** 2023 Nov;62(4):511-518. doi: 10.1007/s00411-023-01045-0.

MA, S.; GOH, E.L.; JIN, A.; BHATTACHARYA, R.; BOUGHTON, O. R.; PATEL, B.; KARUNARATNE, A.; VO, N.T.; ATWOOD, R.; COBB, J.P.; HANSEN, U.; ABEL, R. L. Long-term effects of bisphosphonate therapy: perforations, microcracks and mechanical properties. **Sci Rep.** 2017 Mar 6;7:43399. doi: 10.1038/srep43399.

MADEIRA, M. C. *et al.* **Anatomia da Face:** bases anatomofuncionais para a prática odontológica. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 2012. 244 p. Com desenhos de Paulo Henrique Ferreira Caria, Renata Solci Madeira Cruz.

MILORO, M.; GHALI, G.E.; LARSEN, P. E.; WAITE, P. D. **Princípios de Cirurgia Bucomaxilofacial de Peterson.** 3. ed. São Paulo: Santos, 2016. 1344 p.

MOSIER, K. M. Lesions of the Jaw. **Seminars In Ultrasound, Ct And Mri**, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 444-450, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.sult.2015.08.003>.

NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; CHI, A. C. **Patologia Oral e Maxilofacial.** 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

PREIN, J.; EHRENFELD, M.; MANSON, P. N. **Principles of Internal Fixation of the Craniomaxillofacial Skeleton** – Trauma and Orthognathic Surgery: Manual. 1. ed. Stuttgart: Thieme, 2012. 412 p.

RABELO, G. D.; PORTERO-MUZY, N.; GINEYTS, E.; ROUX, JP; CHAPURLAT, R.; CHAVASSIEUX, P. Spatial Distribution of Microcracks in Osteoarthritic Femoral Neck: influence of osteophytes on microcrack formation. **Calcified Tissue International**, [S.L.], v. 103, n. 6, p. 617-624, 18 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-018-0456-7>.

RABELO, G. D.; COUTINHO-CAMILLO, C.; KOWALSKI, L. P.; PORTERO-MUZY, N.; ROUX, JP.; CHAVASSIEUX, P.; ALVES, F. A. Evaluation of cortical mandibular bone in patients with oral squamous cell carcinoma. **Clinical Oral Investigations**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 783-790, 24 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-017-2153-8>.

RABELO, G. D.; VOM SCHEIDT, A.; KLEBIG, F.; HEMMATIAN, H.; CITAK, M.; AMLING, M.; BUSSE, B.; JÄHN, K. Multiscale bone quality analysis in osteoarthritic knee joints reveal a role of the mechanosensory osteocyte network in osteophytes. **Sci Rep.** 2020 Jan 20;10(1):673. doi: 10.1038/s41598-019-57303-z.

Anexo 1 – Ata da Defesa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 05 dias do mês de novembro de 2024, às 09:30 horas, em sessão pública na sala H006 CCS desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Gustavo Davi Rabelo

e pelos examinadores:

1 – Luiz Fernando Gil ,

2 – Patrícia dos Santos Cé,

o aluno Ana Beatriz Acosta Matos Rios

apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado:

Análise biomecânica do osso perilesional de lesões periféricas e intraósseas dos ossos maxilares como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.

Presidente da Banca Examinadora

Examinador 1

Examinador 2

Aluno