

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL MESTRADO – OPÇÃO IMPLANTODONTIA

ANALISE MICROSCÓPICA DO COMPORTAMENTO TECIDUAL DE PARAFUSOS DE
OSSO BOVINO INSTALADOS EM TÍBIA DE COELHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CINTIA SCHIOCHETT

FLORIANÓPOLIS
2002

**ANÁLISE MICROSCÓPICA DO COMPORTAMENTO TECIDUAL DE PARAFUSOS DE
OSSO BOVINO INSTALADOS EM TÍBIA DE COELHO**

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências da Saúde
Curso de Pós Graduação em Odontologia
Opção Implantodontia

ANÁLISE MICROSCÓPICA DO COMPORTAMENTO TECIDUAL DE PARAFUSOS DE
OSSO BOVINO INSTALADOS EM TÍBIA DE COELHO

Cintia Schiochett

*Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade Federal De Santa Catarina como
parte dos requisitos para Obtenção do Título de Mestre em
Odontologia – Área de concentração Implantodontia*

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

Florianópolis
2002

Cintia Schiochett

"ANÁLISE MICROSCÓPICA DO COMPORTAMENTO TECIDUAL DE PARAFUSOS DE
OSSO BOVINO INSTALADOS EM TÍBIA DE COELHO"

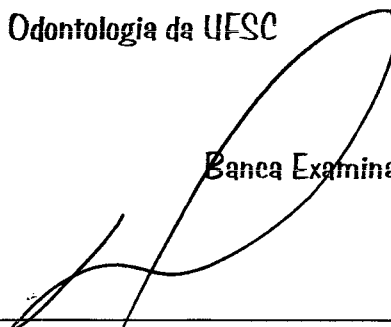
Esta Dissertação foi julgada para obtenção do Título de "Mestre em Odontologia", área de con-
centração Implantodontia, e aprovada em sua forma final pelo Curso de Pós Graduação em
Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 25 de fevereiro de 2002.



Prof. Dr. Mauro Amaral Caldeira de Andrade
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia da UFSC

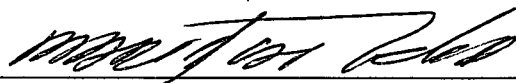
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini - Orientador



Prof. Dr. Waldemar Daudt Polido - Membro



Prof. Dra. Maria José Carvalho Rocha - Membro

**" Se fizer o que sempre fez ...
terá os resultados que sempre teve ...
por isso, mude e lembre-se ...
não existem erros, só experiências ...
não existem fracassos, só resultados."**

Dr. Nelson Spritzer

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A DEUS,

Obrigada...

Por me permitir fazer parte de uma família encantadora e nos
conceder viver com saúde e felicidade.

Pelas oportunidades que insistes, incansavelmente, em me ofere-
cer. Por me permitir sonhar!

Enfim, agradeço sua forte presença em mim!

AOS MEUS PAIS

PAI, ser criança ao seu lado foi...

- ... conviver com uma pessoa de pulso firme, de postura incisiva, olhar penetrante, de caráter disciplinador,
- ... descobrir, com o tempo, as vantagens de *nunca* tentar convencê-lo do contrário,
- ... perceber os benefícios de ficar calada durante seu "sagrado *Jornal Nacional*",
- ... aprender a contentar-me com um amargo "Não fizesses mais que a obrigação" ao lhe mostrar um boletim cheio de notas 10.

Ser criança ao seu lado significou...

- ... alegrar-me com o PAI brincalhão, criança e divertido,
- ... orgulhar-me da PESSOA simples, sincera e com um coração imenso,
- ... envaidecer-me do PROFISSIONAL requisitado, capacitado e disciplinado.

Ser adulta ao seu lado significa...

- ... que tudo que passamos juntos valeu muito a pena e hoje resta uma saudade imensa daquele tempo.

OBRIGADA pela minha formação !!

OBRIGADA pela lição de vida !!

Ao senhor, meu amor, reconhecimento e sincera gratidão.

MÃE, ser criança ao seu lado foi...

... conviver com uma pessoa amável, de postura encantadora, de
olhar meigo e caráter irretocável,

... descobrir que com "jeitinho" *sempre* era possível convencê-la
do contrário,

... satisfazer-me com seu orgulho explícito ao lhe mostrar aquele
mesmo boletim.

Ser criança ao seu lado significou,

... alegrar-me com a MÃE cuidadosa, bonita, companheira,

... orgulhar-me da PESSOA cativante, com um coração imenso e
de uma paz contagiante,

... envaidecer-me da MICRO-EMPRESÁRIA competente, habili-
dosa e ativa.

Ser adulta ao seu lado significa,

... aprender uma lição de vida a cada dia.

OBRIGADA pela minha formação !!

OBRIGADA pelo exemplo de vida !!

À senhora, meu amor, reconhecimento e sincera gratidão.

**AOS MEUS IRMÃOS: CLAUDIA E MARCELO
E AO MEU CUNHADO MARCEL**

Modelos de vida, de força, coragem e determinação!

**Claudia e Marcel, parabéns pela vida que conquistaram
juntos e pelo exemplo de companheirismo, amor e respeito que
mantêm vivos durante esses 12 anos !**

**Marcelo, felicidade e motivação na carreira que inicias !
Pelo amor, carinho e compreensão, obrigada a todos !**

AO MEUS SOGRO (*in memoriam*)

Seu NEY!

Ter lhe conhecido foi um dos grandes privilégios que a vida me
forneceu.

Esses últimos cinco anos ao seu lado foram...

... o bastante para que eu sentisse o grande prazer que era estar
em sua companhia,

mas, muito pouco para que eu pudesse ter ouvido todas as estóri-
as que o senhor tinha para contar.

Cinco anos de convivência foram...

... mais que suficientes para que eu descobrisse o carinho e o
humor que existiam por trás de cada gesto seu,

mas, pouco tempo para que eu desvendasse o segredo (só seu) de
passar pela vida colhendo amigos e sorrisos DIARIAMENTE.

Desse tempo juntos, resta muita saudade e orgulho do meu sogro
querido que me chamava carinhosamente de "rasgaça".

Esteja em paz !!!

À MINHA SOGRA

Dona DAISY !

A convivência diária com a senhora traduz-se sempre na absorção de um novo aprendizado. Vieste ao mundo para ajudar e agradar!

Mulher ... forte, de personalidade marcante, pulso firme, caráter irretocável e com uma generosidade incomum.

Esposa ... dedicada, companheira, afetuosa.

Mãe ... aplicada e vitoriosa. Transmitisse ao teu filho qualidades que fazem dele, hoje, o homem que conhecemos ...

Avó ... com um amor infinito e incondicional.

Sogra... que toda nora gostaria de ter.

Obrigada por tanto carinho e por tanta dedicação !

AO ORIENTADOR E PROFESSOR, RICARDO

Para ser um bom professor, há necessidade de que se preencha alguns requisitos:

- cumprimento de carga horária,
- atualização de conhecimentos,
- dedicação, jogo de cintura,
- oratória, etc ...

Você, sabiamente, consegue reunir todas essas condições e, espontaneamente, acrescentar a elas o grande diferencial ...

O amor pela profissão ...

E é por isso que te ouvir é sempre um grande aprendizado e acima de tudo um grande prazer !!

Obrigada pelo estímulo e ensinamentos !

AO MEU AMOR, MARIDO E COMPANHEIRO

RI !

Dizer-te nesse momento muito obrigada é pouco e simples demais para conseguir transmitir meus reais sentimentos !

Devo a ti não somente esse mestrado, mas principalmente, a oportunidade que me destes de descobrir o verdadeiro sentido das palavras amor, amizade, cumplicidade e sobretudo a possibilidade que venho tendo de viver os melhores e mais inesquecíveis anos da minha vida !!

Não tenho outra forma de expressar meu carinho e meu reconhecimento ...

Por isso, MUITO OBRIGADA !!

A você dedico essa dissertação, o meu amor e a minha vida !!

OUTROS AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Dr. Antônio Carlos Cardoso, pelos ensinamentos e pelo bom convívio durante esses anos.
- À Professora Dra. Maria José Carvalho Rocha, pelos ensinamentos na Graduação e por compartilhar seus conhecimentos na fase final desse trabalho.
- Ao Professor Dr. Waldemar Daudt Polido, pela honra da sua presença como membro examinador desta banca de Mestrado.
- Ao Professor Dr. Telmo Tavares, pela valiosa colaboração na desmistificação e tradução das lâminas histológicas ao microscópio óptico.
- À Baumer, divisão Genius® – biomateriais, pela matéria-prima fornecida para confecção dos parafusos de osso.
- Aos Médicos-Veterinários Marcelo H. Plus e Paulo Coelho pela fundamental contribuição nas cirurgias de instalação dos parafusos nos coelhos.
- Ao colega Diego Vasconcelos pelo importante auxílio na tradução do *abstract*.
- À funcionária Marli, pela disposição e carinho que teve ao iniciar o processamento histológico das lâminas durante as férias, e concluí-las em tempo hábil.
- Aos colegas de curso Bianchini, Nilo, Adriane, Bertholdo, Edson, Titi, Omar e Claudia pelo bom convívio e amizade.

A todos vocês, meu muito obrigada !!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	p. xvi
LISTA DE QUADROS	p. xx
LISTA DE ABREVIATURAS.....	p. xxi
RESUMO	p. xxii
ABSTRACT	p. xxiv
1 INTRODUÇÃO	p. 1
1.1 Material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo	p. 3
1.2 Parafuso para fixação de enxertos ósseos tipo aposicional	p. 5
1.3 Parafuso para fixação de membranas reabsorvíveis	p. 6
1.4 Parafuso para fixação de fraturas ósseas intra e extra-bucais	p. 6
2 REVISÃO DE LITERATURA	p. 8
◦ 2.1 Enxertos ósseos e biomateriais utilizados como substitutos de enxertos ósseos	p. 10
◦ 2.1.1 Enxerto ósseo autógeno	p. 14
2.1.2 Substituto de enxerto ósseo derivado do osso	p. 18
2.1.2.1 "Enxerto" ósseo alógeno	p. 18
2.1.2.2 "Enxerto" xenógeno	p. 21
2.1.3 Substituto de enxerto ósseo derivado de material não-ósseo	p. 24
2.1.3.1 "Enxertos" aloplásticos	p. 24
◦ 2.2 Prevenção e transmissão de doenças através de tecidos humano e bovino contaminados	p. 27
2.2.1 Risco de transmissão de doenças e métodos preventivos	p. 27
2.2.1.1 AIDS	p. 27
2.2.1.2 Creutzfeldt-Jakob	p. 28
2.2.1.3 Encéfalopatia espongiiforme bovina ou doença da "vaca-louca".....	p. 30
✧ 2.3 Processo fisiológico de formação e reabsorção do tecido ósseo	p. 32
2.3.1 Características estruturais do tecido ósseo	p. 32

2.3.2	Processo fisiológico de formação do tecido ósseo: ossificação intramembranosa e endocondral	p. 34
2.3.3	Sobrevivência de enxertos ósseos membranosos e endocondrais	p. 35
2.3.4	A cicatrização dos ossos da face	p. 37
2.4	Enxerto ósseo autógeno: características histológicas e cicatriciais	p. 39
2.4.1	Características histológicas do enxerto autógeno após transplantação.....	p. 39
2.4.1.1	Características histológicas primárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno fresco	p. 41
2.4.1.2	Características histológicas secundárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno esponjoso	p. 42
2.4.1.3	Características histológicas secundárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno cortical	p. 42
2.4.2	Propriedades biomecânicas dos enxertos ósseos	p. 43
2.4.3	Contribuição do enxerto e do hospedeiro para a cicatrização óssea	p. 44
2.5	"Enxerto" ósseo alógeno: características histológicas, imunológicas e cicatriciais	p. 46
2.5.1	Características histológicas do "enxerto" ósseo alógeno após transplantação	p. 46
2.5.2	Características imunológicas da enxertia óssea alógena	p. 47
2.5.3	Mecanismo de rejeição dos "enxertos" ósseos alógenos	p. 48
∇ 2.6	Biomaterial derivado de osso bovino: "enxerto" xenógeno	p. 49
2.6.1	Osso bovino mineral inorgânico	p. 50
2.6.2	Estudos experimentais <i>in vivo</i> utilizando osso bovino mineral inorgânico	p. 51
⊗ 2.7	A fixação rígida na sobrevivência dos enxertos ósseos aposicionais	p. 53
2.8	A fixação rígida na presença de fraturas ósseas	p. 56
2.8.1	Parafusos como implantes ortopédicos	p. 58
∇ 2.8.2	Tipos de parafusos	p. 59
× 2.8.3	Roscas e pontas	p. 61

2.8.3.1 Efeito do tipo de rosca e reação biológica às forças geradas pelo para- fuso	p. 61
3 PROPOSIÇÃO	p. 63
4 MATERIAL E MÉTODOS	p. 65
4.1 Anestesia	p. 66
4.2 Procedimento cirúrgico	p. 67
4.3 Período cicatricial	p. 67
4.4 Sacrifício dos animais e remoção das peças	p. 68
4.5 Técnica histológica para tecido mineralizado	p. 68
4.5.1 Fixação	p. 68
4.5.2 Descalcificação	p. 68
4.5.3 Desidratação	p. 68
4.5.4 Diafanização	p. 69
4.5.5 Impregnação e Inclusão	p. 69
4.5.6 Corte	p. 70
4.5.7 Coloração	p. 70
4.6 Avaliação dos resultados	p. 70
5 RESULTADOS	p. 93
6 DISCUSSÃO	p. 107
7 CONCLUSÕES	p. 114
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	p. 116

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Enxertos ósseos e substitutos de enxertos ósseos	p. 13
FIGURA 2 – Enxerto em <i>veneer</i>	p. 16
FIGURA 3 – Enxerto em sela	p. 16
FIGURA 4 – Enxerto tipo <i>onlay</i>	p. 17
FIGURA 5 – Processo fisiológico de formação do tecido ósseo: ossificação membranosa e endocondral	p. 34
FIGURA 6 – Vista lateral da matéria-prima utilizada na usinagem dos para- fusos. Osso cortical bovino inorgânico	p. 72
FIGURA 7 – Vista axial da matéria-prima utilizada na usinagem dos parafu- sos. Osso cortical bovino inorgânico	p. 72
FIGURA 8 – Embalagem externa do parafuso de osso bovino	p. 73
FIGURA 9 – Primeiro invólucro de segurança da embalagem do parafuso de osso bovino	p. 73
FIGURA 10 – Embalagem interna do parafuso de osso bovino	p. 74
FIGURA 11 – Parafuso de osso bovino	p. 74
FIGURA 12 – Manutenção anestésica com halotano + O ₂	p. 75
FIGURA 13 – Eletrodos para monitoramento cardíaco do coelho	p. 75
FIGURA 14 – Aparelho para monitoramento cardíaco	p. 76
FIGURA 15 – Aplicação de soro fisiológico	p. 76
FIGURA 16 – Tricotomia e antissepsia com álcool iodado	p. 77
FIGURA 17 – Tricotomia e antissepsia com álcool iodado	p. 77
FIGURA 18 – Incisão linear com bisturi Bard Parker lâmina 15	p. 78

FIGURA 19 – Incisão linear em planos	p. 78
FIGURA 20 – Exposição do tecido ósseo	p. 79
FIGURA 21 – Perfuração do tecido ósseo com a broca lança do Sistema Conexão	p. 79
FIGURA 22 – Término da perfuração do tecido ósseo com a broca lança	p. 80
FIGURA 23 – Perfuração do tecido ósseo com a broca <i>twist drill</i> de 2 mm ...	p. 80
FIGURA 24 – Complementação da perfuração do tecido ósseo com a broca <i>twist drill</i> de 2 mm com profundidade de 7 mm	p. 81
FIGURA 25 – Sítio preparado para colocação do parafuso de osso bovino	p. 81
FIGURA 26 – Vista lateral da cabeça do parafuso de osso bovino estabilizado	p. 82
FIGURA 27 – Vista axial da cabeça do parafuso de osso bovino estabilizado ..	p. 82
FIGURA 28 – Visão aproximada da sutura do perióstio e das fáscias musculares com fio de sutura reabsorvível (vicryl 6-0)	p. 83
FIGURA 29 – Evidência da completa cobertura da cabeça do parafuso de osso bovino com tecido mole	p. 83
FIGURA 30 – Sutura da epiderme com fio de sutura de seda (4-0)	p. 84
FIGURA 31 – Visão axial da tíbia do coelho 1. Presença da remanescência de porção do parafuso de osso bovino	p. 84
FIGURA 32 – Crescimento ósseo vertical notório ao redor do sítio do parafuso do animal experimental 1	p. 85
FIGURA 33 – Crescimento ósseo vertical observado no animal experimental 2	p. 85
FIGURA 34 – Visão aproximada do sítio experimental do animal experimental 2	p. 86

FIGURA 35 – Crescimento ósseo vertical acentuado associado ao sítio experimental do animal 3	p. 86
FIGURA 36 – Visão aproximada do crescimento vertical notório no sítio experimental do animal 3	p. 87
FIGURA 37 – Visão lateral da cabeça do parafuso presa por tecido mole do animal experimental 4	p. 87
FIGURA 38 – Visão axial da cabeça do parafuso, em posição, no animal experimental 4	p. 88
FIGURA 39 – Peças experimentais acondicionadas em embalagem metálica perfurada para fixação em formol 10%	p. 88
FIGURA 40 – Embalagens metálicas imersas em formol 10% (fixação das peças por 24 horas)	p. 89
FIGURA 41 – Frascos das soluções descalcificadas (ácido fórmico 50% e citrato de sódio 20%)	p. 89
FIGURA 42 – Embalagens metálicas imersas em solução descalcificadora ...	p. 90
FIGURA 43 – Peças após a descalcificação	p. 90
FIGURA 44 – Visão axial de peça descalcificada	p. 91
FIGURA 45 – Visão lateral da peça experimental descalcificada do animal experimental 8. Presença de crescimento ósseo vertical	p. 91
FIGURA 46 – Visão axial da peça experimental descalcificada do animal experimental 8. Evidência de crescimento ósseo	p. 92
FIGURA 47 – Conjunto dos cortes histológicos	p. 92
FIGURA 48 – Lâmina 1 (L1): referente ao animal experimental 1	p. 98
FIGURA 49 – Lâmina 1 (L1): referente ao animal experimental 1	p. 98

FIGURA 50 – Lâmina 2 (L2): referente ao animal experimental 2	p. 99
FIGURA 51 – Lâmina 2 (L2): referente ao animal experimental 2	p. 99
FIGURA 52 – Lâmina 3 (L3): referente ao animal experimental 3	p. 100
FIGURA 53 – Lâmina 3 (L3): referente ao animal experimental 3	p. 100
FIGURA 54 – Lâmina 4 (L4): referente ao animal experimental 4	p. 101
FIGURA 55 – Lâmina 4 (L4): referente ao animal experimental 4	p. 101
FIGURA 56 – Lâmina 5 (L5): referente ao animal experimental 5	p. 102
FIGURA 57 – Lâmina 5 (L5): referente ao animal experimental 5	p. 102
FIGURA 58 – Lâmina 6 (L6): referente ao animal experimental 6	p. 103
FIGURA 59 – Lâmina 6 (L6): referente ao animal experimental 6	p. 103
FIGURA 60 – Lâmina 7 (L7): referente ao animal experimental controle 7 ..	p. 104
FIGURA 61 – Lâmina 7 (L7): referente ao animal experimental controle 7 ...	p. 104
FIGURA 62 – Lâmina 8 (L8): referente ao animal experimental 8	p. 105
FIGURA 63 – Lâmina 8 (L8): referente ao animal experimental 8	p. 105
FIGURA 64 – Lâmina 9 (L9): referente ao animal experimental 9	p.106
FIGURA 65 – Lâmina 9 (L9): referente ao animal experimental 9	p.106

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1- Preparação de DFDBA (osso alógeno desmineralizado congelado seco)	p. 20
QUADRO 2- Origem dos ossos	p. 35
QUADRO 3- Intervalos de tempo das trocas da solução descalcificadora	p. 69

LISTA DE ABREVIATURAS

FDDBA: osso alógeno congelado seco

DFDBA: osso alógeno desmineralizado congelado seco

OBMD: osso bovino mineral desproteinizado

ROG: regeneração óssea guiada

BMP: proteína óssea morfogenética

HA: hidroxiapatita

β-TCP: Beta fosfato tricálcico

PMMA: poli-metil metacrilato

CJD: doença de Creutzfeldt Jakob

BSE: encéfalopatia espongiforme bovina

AIDS: síndrome da imuno-deficiência adquirida

e-PTFE: poli-tetra-flúor etileno expandido

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A osseointegração é uma realidade. A previsibilidade dos implantes osseointegrados universalizou a utilização dos mesmos para o tratamento dos edentulismos totais, parciais e unitários.

Os casos de insucessos estão, freqüentemente, associados à quantidade insuficiente de tecido ósseo, no sítio receptor, no momento da implantação cirúrgica (LEKHOLM et al., 1986). Muito esforço tem sido direcionado ao desenvolvimento de técnicas e materiais que possam aumentar a espessura e/ou altura do tecido ósseo, obtendo assim, maior superfície de contato entre tecido duro e as roscas do implante (HÄMMERLE et al., 1998).

A literatura descreve métodos para formação óssea: *enxertos ósseos* através dos processos de osteogênese, osteoindução e osteocondução (URIST, 1965; REDDI, WEITROUB, MUTHUKUMARAN, 1987); *substitutos de enxertos ósseos* através dos processos de osteoindução e osteocondução (BURCHARDT, 1983; REDDI, WEITROUB, MUTHUKUMARAN, 1987); *regeneração óssea guiada* que se utiliza de membranas para exclusão tecidual, estabilização do coágulo e manutenção do espaço com conseqüente preenchimento ósseo (DAHLIN et al., 1995) e finalmente a *distração osteogênica* através da tração lenta e contínua de fragmento ósseo fraturado cirurgicamente (ILIZAROV, 1989a, 1989b). Há ainda a possibilidade da associação de técnicas.

Os procedimentos cirúrgicos pré-implantes, freqüentemente, são necessários para melhorar o posicionamento e permitir a utilização do comprimento ideal do(s) implante(s). Atualmente, é inaceitável a seleção de um implante inadequado e/ou a sua colocação em posição desfavorável devido a quantidade de osso insuficiente (MAGINI, 2001).

Esta pesquisa trabalha com parafusos usinados de osso bovino e objetiva analisar, através de microscopia óptica, o comportamento tecidual dos mesmos instalados em tíbias de coelhos. Conforme os resultados obtidos seria uma alternativa interessante a possibilidade de utilizá-los como *material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo*; e como substituto de parafusos metálicos utilizados na odontologia nas técnicas de *fixação de enxertos ósseos tipo aposicional*; *fixação de membranas reabsorvíveis* e *fixação de fraturas ósseas intra e extra-bucais*.

1.1 Material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo

A utilização de materiais de preenchimento é a forma mais comum de terapia reconstrutiva. O biomaterial pode ser retirado do próprio paciente (enxerto autógeno intra ou extra-bucal); obtido em bancos de ossos (material alógeno); derivar de material não-ósseo (materiais aloplásticos) ou ainda ter origem bovina (material xenógeno) (ver item 2.6).

Dentre todos, o enxerto ósseo autógeno é considerado o que mais conserva células viáveis (ROSENBERG & ROSE, 1998). Contém células tronco osteoprogenitoras e osteoblastos ativos, e pode reparar-se através da osteogênese. Além disso, não apresenta problemas potenciais de diferença de histocompatibilidade ¹ e nem risco de transferência de doenças (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993). É considerado, ainda, o melhor material para reconstrução dos rebordos maxilares e mandibulares (OUHAYOUN, 1997).

O enxerto autógeno de áreas doadoras intra-bucalis é comprovadamente uma das técnicas mais realizadas atualmente na Implantodontia. As regiões mais utilizadas são a sínfise e o ramo/corpo mandibular. O uso dessas possibilidades cirúrgicas está crescendo entre cirurgiões buco-maxilo-faciais, periodontistas, implantodontistas e clínicos que praticam a reconstrução do rebordo visando a futura colocação de implantes (TRIPPLET & SCHOW, 1998).

O enxerto ósseo autógeno intra-bucal é um procedimento previsível e aplicável clinicamente nas indicações precisas, contudo, exige a necessidade de um segundo sítio cirúrgico. A quantidade pequena de tecido ósseo disponível nas áreas doadoras intra-bucalis representa a limitação desta técnica. Portanto, freqüentemente necessita-se a utilização de áreas doadoras extra-bucalis, biomateriais alógenos, xenógenos ou substitutos de enxertos ósseos derivados de material não-ósseo (POLIDO & MARINI, 2000).

O "enxerto" ósseo alógeno é obtido e transplantado entre seres de mesma espécie mas geneticamente diferentes. São obtidos em bancos de tecidos a partir da autópsia, de doadores humanos, realizada dentro de 12 horas após a morte. O material é liofilizado ² após uma série de passos para processamentos físico e químico, e objetiva prevenir a transmissão de doenças (ver item 2.2). Inexiste qualquer tipo de resposta imune adversa (OUHAYOUN, 1997).

¹ Capacidade de um tecido ou de um órgão de doador ser aceito por um receptor, permanecendo funcional.

² Processo de secagem e de eliminação de substâncias voláteis realizado em temperatura baixa e sob pressão reduzida.

A grande vantagem para o paciente que utiliza esse substituto de enxerto ósseo é a eliminação de uma cirurgia adicional (intra ou extra-bucal). Pode apresentar-se nas formas: congelado/seco (FDBA) ou desmineralizado/congelado/seco (DFDBA) (OUHAYOUN, 1997). A possibilidade ínfima, mas existente, de transmissão de doenças, faz com que cada vez mais pacientes se recusem a utilizar esse biomaterial.

Os materiais aloplásticos apresentam-se em quantidades ilimitadas e com estabilidade de volume, mas não ficam incorporados ao novo osso; estão associados a altos índices de infecção e a maioria deles (exceto a hidroxiapatita) causa reação de corpo estranho e eventual encapsulamento (HOLMES, 1979; THALLER et al., 1990).

O "enxerto" xenógeno é obtido e transplantado entre seres de espécies diferentes. Dentre todos os materiais, o osso bovino mineral desproteinizado (OBMD) ³ mostra-se com propriedades especialmente favoráveis (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998). Trata-se de carbonato apatita deficiente em cálcio (THALLER et al., 1994), naturalmente poroso, 100% cristalino (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998) e com módulo de elasticidade similar ao osso natural, descrito como hidroxiapatita derivada do boi (HÜRZELER et al., 1997). Devido à sua estrutura natural, é comparável física e quimicamente à matriz óssea mineralizada humana (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998).

O material é processado de modo que se remova todo material orgânico e se mantenha a microestrutura óssea (CALLAN & ROHRER, 1993). A remoção total de proteínas faz esse material ser totalmente destituído de antigenicidade (THALLER et al., 1994), é considerado biocompatível (HÜRZELER et al., 1997), e promove crescimento ósseo por dentro de suas cavidades naturais (THALLER et al., 1993; WETZEL, STICH, CAFFESSE, 1995; BERGLUNDH & LINDHE, 1997; HÄMMERLE et al., 1998).

O material xenógeno facilita a formação óssea na presença de células precursoras osteogênicas (URIST & McLEAN, 1952; BOYNE, 1970a) e é capaz de ser utilizado em reconstruções ósseas alveolares, nas aplicações buco maxilo-faciais (CALLAN & ROHRER 1993).

As partículas de OBMD são bem integradas ao osso regenerado do hospedeiro (FUKUTA et al., 1992; KLINGE et al., 1992; SCHLICKWEI et al., 1993; THALLER et al., 1993; HÄMMERLE et al., 1998), isto é, o material está em contato direto com o novo osso, não apresenta reação imunoló-

³ Bio-Oss®, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland; Bio-Oss® - Osteohealth Co, Shirley, NY e OsteoGraf® CeraMed Corp., Lakewood, CO; Gen-ox®, Baumer, São Paulo, Brasil.

gica (COHEN et al., 1994) e depois sofre processo de reabsorção osteoclástica (HÄMMERLE et al., 1998).

As vantagens de se empregar parafusos de osso nas técnicas de aumento de rebordo seriam: a) ausência de um segundo sítio cirúrgico para obtenção do material de preenchimento; b) desnecessária utilização de membranas para manutenção de espaço; c) desnecessária intervenção cirúrgica adicional para remoção da membrana ou parafuso metálico de fixação da mesma; d) diminuição da morbidade e f) impossibilidade de transmissão de doenças.

A segunda possibilidade de utilização do parafuso de osso bovino é como objeto substituto dos parafusos metálicos utilizados na odontologia nas técnicas de *fixação de enxertos ósseos tipo aposicional*; *fixação de membranas reabsorvíveis* e *estabilização de fraturas ósseas intra e extra-buciais*.

1.2 Parafuso para fixação de enxertos ósseos tipo aposicional

Enxertos ósseos aposicionais são amplamente utilizados na restauração e aumento de rebordos do sistema esqueleto crânio-facial. Estudos clínicos e experimentais demonstram, porém, que existe geralmente perda significativa e imprevisível do volume do enxerto causado pela reabsorção óssea. Este fenômeno tem induzido muitas investigações, e suspeita-se que múltiplos fatores sejam responsáveis pela sobrevivência do enxerto (HARDESTY & MARSH, 1987; PHILLIPS & RAHN, 1988; LIN et al., 1990).

Estudos histológicos demonstraram união óssea nos enxertos fixos rigidamente, enquanto uma união fibrosa predominou nos enxertos com fixação não-rígida. Os autores acreditam que os efeitos da fixação rígida na sobrevivência do enxerto ósseo podem ser explicados de três maneiras: (1) a imobilização favorece a vascularização mais rápida; (2) a compressão permite maior superfície de contato entre o sítio do enxerto e o enxerto, minimizando a fase de reabsorção e estimulando previamente o aparecimento da fase aposicional de cicatrização óssea; (3) a consolidação antecipada do enxerto e o sítio receptor permitem o aparecimento precoce da fase aposicional e um crescimento mais eficiente de células osteogênicas. Neste estudo, o sítio receptor foi considerado como não tendo influência na sobrevivência dos enxertos ósseos (La TRENTA et al., 1989).

1.3 Parafuso para fixação de membranas reabsorvíveis

As reconstruções em regiões estéticas, freqüentemente, requerem aumentos ósseos tanto no sentido horizontal quanto vertical. Entretanto, a crista óssea não proporciona uma cavidade natural para manter enxertos particulados, como ocorre em enxertos no seio maxilar. A utilização de enxertos particulados para a região anterior requer a colocação de membranas de regeneração óssea guiada (ROG), com o intuito de manter o enxerto em posição, permitindo a formação óssea. Apesar do número crescente de membranas de RGO utilizadas no decorrer dos anos 90, os resultados ainda carecem de comprovação a longo prazo, e são de difícil reprodução em larga escala (POLIDO & MARINI, 2001).

Embora as membranas possam minimizar a reabsorção de um enxerto ósseo, o seu uso não é invariavelmente recomendado, devido ao baixo índice de reabsorção apresentado pelos enxertos em bloco de origem mandibular (POLIDO & MARINI, 2001).

Os resultados obtidos com enxertos em bloco ou lâmina têm sido altamente satisfatórios, sem a necessidade do uso de materiais alógenos ou aloplásticos. No entanto, se as dimensões do enxerto forem inadequadas, ou se o enxerto for particulado, as membranas são úteis para estabilizar os grânulos do enxerto, melhorando a cicatrização óssea (RAGHOEBAR et al., 1996).

1.4 Parafuso para fixação de fraturas ósseas intra e extra-buciais

Diante de uma fratura óssea, faz-se necessário recuperar a continuidade estrutural do osso em questão, de modo a restituir sua capacidade de suportar carga. Desde que o alinhamento entre fragmentos seja possível, esta recuperação é feita através da aplicação de placas ou dispositivos de fixação. Quando existe espaço entre os fragmentos, as cargas são transmitidas, de um fragmento ao outro, por meio das placas ou elementos de fixação (MORA, 2000).

A maioria dos defeitos ósseos cicatriza sem complicações devido a capacidade de regeneração desse tecido. No entanto, movimentos excessivos durante o processo de cicatrização podem romper o estroma que serve como estrutura para a regeneração óssea, induzindo à formação de tecido fibroso (cicatriz) (SPECTOR, 1994).

Muitos tipos de fraturas exigem fixação interna ou externa para prevenir a movimentação. Implantes ortopédicos necessitam de macroestrutura ("designs") que lhes forneçam estabilidade durante o processo cicatricial e permitam a osseointegração. Nestas situações clínicas, podem existir

espaços (*gaps*) entre as extremidades ósseas ou entre o osso e o implante. Se esse espaço for suficientemente grande (maior que poucos milímetros), o processo de regeneração óssea pode não alcançar a porção central da lacuna, formando tecido fibroso. Da mesma forma, defeitos ósseos grandes, resultantes da excisão de cistos ou tumores, por exemplo, podem não se preencherem completamente com a regeneração óssea (SPECTOR, 1994).

O desenvolvimento de dispositivos de fixação reabsorvíveis será de grande relevância científica pois acrescenta uma alternativa terapêutica ao conjunto de técnicas que exigem parafusos de fixação ou estabilização em seus protocolos cirúrgicos. Além disso, apresenta importância social já que a segunda intervenção cirúrgica, indicada para remoção dos parafusos metálicos implantados após terem cumprido sua função, será desnecessária. “As vantagens psicológicas para o paciente ao poder tratar sua patologia com um único procedimento cirúrgico são profundamente marcantes e é inquestionável a diminuição do custo do tratamento” (BÖSTMAN et al., 1989).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Inexiste na literatura citações a respeito de parafusos usinados com tecido ósseo bovino, e muito pouco há sobre parafusos usinados com tecido ósseo humano. Por esse motivo, a revisão bibliográfica que segue inclui trabalhos científicos que abordam temas sobre as supostas indicações do parafuso de osso.

Estimando-se que seja possível a utilização do parafuso de osso bovino como material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo; e como elemento de fixação para membranas reabsorvíveis, enxertos ósseos aposicionais e fraturas ósseas, dividiu-se a revisão bibliográfica nos seguintes tópicos:

- 2.1 Enxertos ósseos e biomateriais utilizados como substitutos de enxertos ósseos;
- 2.2 Prevenção e transmissão de doenças através de tecidos humano e bovino contaminados;
- 2.3 Processo fisiológico de formação e reabsorção do tecido ósseo;
- 2.4 Enxerto ósseo autógeno: características histológicas e cicatriciais;
- 2.5 “Enxerto” ósseo alógeno: características histológicas, imunológicas e cicatriciais;
- 2.6 Biomaterial derivado de osso bovino: “enxerto” xenógeno;
- 2.7 A fixação rígida na sobrevivência dos enxertos ósseos aposicionais;
- 2.8 A fixação rígida na presença de fraturas ósseas.

2.1 Enxertos ósseos e biomateriais utilizados como substitutos de enxertos ósseos

O rebordo ósseo de maxilares edêntulos está sujeito à reabsorção progressiva. O processo severo de reabsorção pode impedir o restabelecimento da estética e função. A confecção de próteses com características clínicas harmoniosas e retenção adequada, bem como a instalação de implantes osseointegrados, podem tornar-se tarefas difíceis de serem realizadas diante de quantidade e/ou qualidade ósseas insuficientes. A condição de invalidez oral acarreta problemas graves na mastigação e fonação do indivíduo, além do próprio impacto negativo nas atividades sociais do mesmo.

Os procedimentos cirúrgicos reconstrutivos estão indicados para solucionar problemas de deficiência estrutural e funcional causados pela perda parcial ou total de osso alveolar. Mas para isto, é importante entender que o defeito ósseo consiste de uma combinação de perdas, ou seja, decréscimo ósseo associado à ausência de dentes. Na ausência de dentes, o rebordo ósseo é desprovido de estímulos adequados de carga funcional, promovendo perda de volume e forma originais. Um procedimento reconstrutivo de sucesso, através do uso de implantes osseointegrados, deve restabelecer a estética e função.

Os enxertos ósseos são as formas mais comuns de terapia reconstrutiva. Podem ser utilizados, na odontologia, no tratamento de defeitos ósseos periodontais e no restabelecimento da arquitetura perdida por processos de reabsorção óssea ou devido a traumas acidentais.

Alguns termos são amplamente utilizados sobre o tema enxerto ósseo. Contudo, há carência de consenso sobre suas definições (OUHAYOUN, 1997):

- a) osteogênese: representa todos os passos e processos que induzem à formação óssea. Este termo tem sido usado para definir a capacidade de enxertos ósseos de formar osso através de células osteoblásticas contidas no enxerto transplantado;

- b) osteoindução: é um processo ou parte de um processo que inicia a osteogênese através de células originariamente não envolvidas na formação óssea. Um enxerto, um biomaterial ou uma substância são osteoindutores quando, implantados em um meio não-ósseo, denominado sítio ectópico⁴, possibilitam a formação óssea. O enxerto, o biomaterial ou a substância são capazes de recrutar células pré-osteogênicas, ou di-

reacionar células mesenquimais indiferenciadas em uma diferenciação osteocondrogênica ou até mesmo reverter células já comprometidas direcionando suas diferenciações para células formadoras de osso;

Este processo, primeiramente descrito em uma seqüência de trabalhos realizados por Urist, não necessita de células vivas (URIST, 1965; URIST et al., 1967; URIST & DOWELL, 1968; URIST et al., 1970; URIST & STRATES, 1970; URIST, 1972). Alguns fatores como as Proteínas Ósseas Morfogenéticas (BMPs) estão envolvidas neste mecanismo.

A implantação de material dentro de bolsas criadas no abdômen de animais, como ratos e coelhos, é o modelo experimental mais utilizado para testar o potencial osteoindutivo de um enxerto, de um biomaterial ou de uma substância (OUHAYOUN, 1997).

c) osteocondução: define o processo que permite a osteogênese quando células já comprometidas com a formação óssea estão presentes em um ambiente fechado. Um material é considerado osteocondutivo quando sua estrutura e sua composição química facilitam nova formação óssea a partir de osso pré-existente. Isto significa que este material tem de ser inserido em um sítio ósseo, ou seja, um sítio ortotópico⁵. O modelo experimental mais freqüentemente utilizado é um defeito cirúrgico na calvária de ratos ou coelhos (OUHAYOUN, 1997).

Os enxertos ósseos e substitutos de enxertos ósseos podem derivar de osso vital ou de osso desvitalizado. Há ainda a possibilidade dos substitutos procederem de materiais não-ósseos com composição orgânica ou inorgânica. A FIGURA 1 resume esta classificação (OUHAYOUN, 1997).

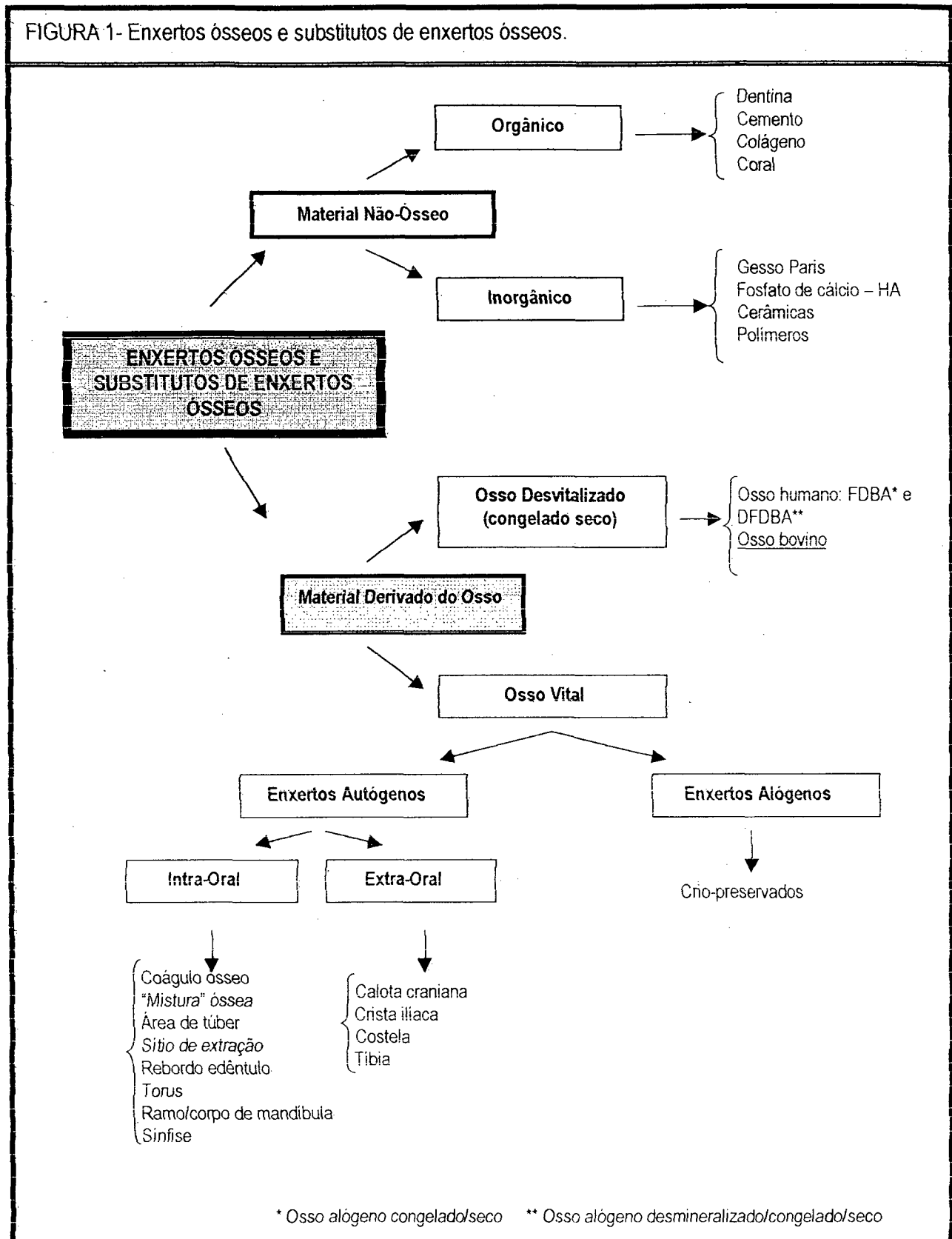
Se definirmos enxerto ósseo como a transplantação de tecido ósseo com células vitais, somente os enxertos autólogo e alógeno fresco ou crio-preservado, podem ser considerados enxertos ósseos verdadeiros. Pois, no momento em que o material ósseo é processado, ou seja, desmineralizado, liofilizado e esterilizado ocorre morte celular e alteração da estrutura original. Isto é válido para o osso alógeno congelado/seco (FDBA) e osso alógeno desmineralizado/congelado/seco (DFDBA). Neste caso, não estamos mais trabalhando com enxerto alógeno mas com biomaterial derivado do

⁴ Que se realiza ou funciona fora da localização normal.

⁵ Que se realiza ou funciona em sítio idêntico.

osso. Da mesma forma, não podemos utilizar o termo enxerto xenógeno para o material derivado do boi, por exemplo, porque o termo biomaterial derivado de osso bovino é mais apropriado (OUHAYOUN, 1997).

FIGURA 1- Enxertos ósseos e substitutos de enxertos ósseos.



Fonte: Adaptado de Ouhayoun, 1997.

2.1.1 Enxerto ósseo autógeno

O enxerto ósseo autógeno é obtido do próprio receptor. Dentre todos os tipos de enxertos, é considerado o que mais conserva células viáveis (ROSENBERG & ROSE, 1998). Contém células tronco osteoprogenitoras e osteoblastos ativos, e cicatriza-se através da osteogênese. Além disso, não apresenta problemas potenciais de diferença de histocompatibilidade⁶ e nem risco de transferência de doenças (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993). É considerado, ainda, o melhor material para reconstrução dos rebordos maxilares e mandibulares (OUHAYOUN, 1997).

Podem ser removidos de sítios intra ou extra-bucais nas formas particuladas ou em blocos. Os sítios intra-bucais mais comumente utilizados são áreas de tuberosidade maxilar, sítios de extração, rebordo edêntulo, tórus, corpo e ramo de mandíbula e área de sínfise mentoniana (ROSENBERG & ROSE, 1998). A calota craniana, crista ilíaca, costela e tibia são exemplos de sítios de remoção óssea autógena extra-bucal. Ambos os sítios de extração óssea autógena apresentam o inconveniente de um segundo campo cirúrgico. A remoção extra-bucal exige ainda internação hospitalar, aumento da morbidade, equipe multidisciplinar e por essas razões apresenta custo mais elevado (TRIPPLET & SCHOW, 1998).

O enxerto autógeno de áreas doadoras intra-bucais é comprovadamente uma das técnicas mais realizadas atualmente em Implantodontia. As regiões mais utilizadas são a sínfise e o corpo/ramo mandibular. O uso dessas possibilidades cirúrgicas está crescendo entre cirurgiões buco-maxilo-faciais, periodontistas, implantodontistas e clínicos que praticam a reconstrução do rebordo visando a futura colocação de implantes (TRIPPLET & SCHOW, 1998).

A região do corpo/ramo mandibular apresenta inúmeras vantagens, como área doadora, sobre a região de sínfise. Essa última, apesar de ser reconhecidamente uma área com facilidade para remoção de boas quantidades de enxerto (MONTAZEM et al., 2000) está melhor indicada para situações onde o osso enxertado possa ser colocado particulado (elevação do seio maxilar), ou em situações que sejam requeridos blocos mais espessos do que as lâminas removidas do corpo/ramo (POLIDO & MARINI, 2001).

⁶ Capacidade de um tecido ou de um órgão de doador ser aceito por um receptor, permanecendo funcional.

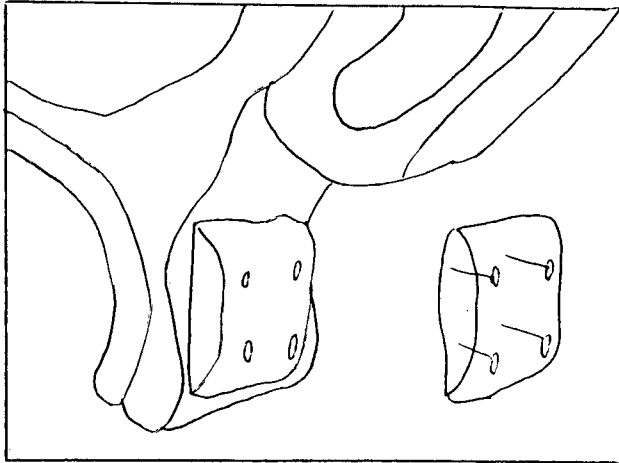
As reconstruções em regiões estéticas, freqüentemente, requerem aumentos ósseos tanto no sentido horizontal quanto vertical. Entretanto, a crista alveolar não proporciona uma cavidade natural para manter enxertos particulados, como ocorre em enxertos no seio maxilar. A utilização de enxertos particulados para a região anterior requer a colocação de membranas de regeneração óssea guiada (ROG), com o intuito de manter o enxerto em posição, permitindo a formação óssea. Apesar do número crescente de membranas de RGO utilizadas no decorrer dos anos 90, os resultados ainda carecem de comprovação a longo prazo, e são de difícil reprodução em larga escala (POLIDO & MARINI, 2001).

O alto risco de complicações clínicas, com membranas de regeneração óssea guiada, é motivo de preocupação na utilização dessa técnica. Em caso de deiscência de tecidos moles com exposição prematura da membrana, poderá haver o desenvolvimento de dor, edema, e abscesso. Em tais situações, a membrana deve ser imediatamente removida, resultando em menor ganho ósseo. Embora as membranas possam minimizar a reabsorção de um enxerto ósseo, o seu uso não é invariavelmente recomendado, devido ao baixo índice de reabsorção apresentado pelos enxertos em bloco de origem mandibular (POLIDO & MARINI, 2001).

Os resultados obtidos com enxertos em bloco ou lâmina têm sido altamente satisfatórios, sem a necessidade do uso de materiais alógenos ou aloplásticos. No entanto, se as dimensões do enxerto forem inadequadas, ou se o enxerto for particulado, as membranas são úteis para estabilizar os grânulos do enxerto, melhorando a cicatrização óssea (RAGHOEBAR et al., 1996).

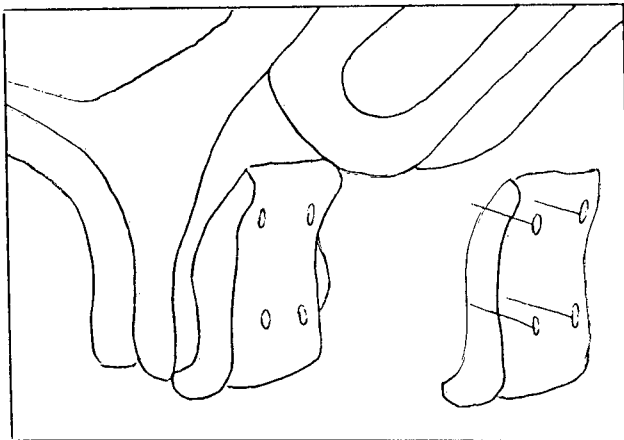
Os enxertos ósseos em bloco ou lâmina podem ser removidos da sínfise, do corpo ou do ramo mandibular. As 3 técnicas mais comumente adotadas são o enxerto em *veneer* (FIGURA 2), o enxerto em sela (FIGURA 3), e o enxerto tipo *onlay* (FIGURA 4). Cada tipo de enxerto é empregado para aumentar a borda alveolar em direções diferentes, dependendo do tipo do defeito. Por exemplo, enxertos em *veneer* são usados para restaurar defeitos horizontais isolados. Enxertos *onlay*, para corrigir defeitos verticais. Os enxertos em sela podem corrigir defeitos nos sentidos horizontal e vertical. Defeitos mais severos, em altura, largura e contorno, podem requerer a associação de técnicas (COLLINS, 1992; MOY & PALACCI, 2000).

FIGURA 2- Enxerto em veneer: restauração de defeitos horizontais isolados

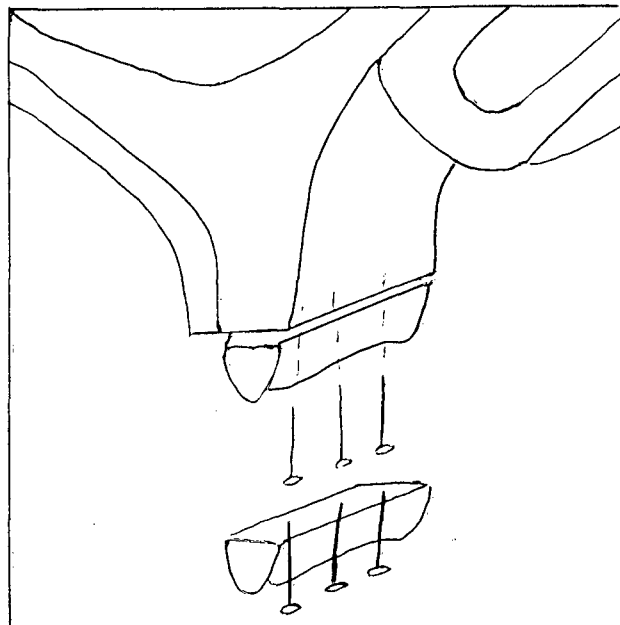


Fonte: Polido & Marini, 2001

FIGURA 3- Enxerto em sela: restauração de defeitos no sentido vertical e horizontal



Fonte: Polido & Marini, 2001

FIGURA 4- Enxerto tipo *onlay*: restauração de defeitos verticais

Fonte: Polido & Marini, 2001

Moy & Palacci (2000) afirmam que a área doadora deve possuir força e rigidez, assim como permitir fixação do enxerto com adaptação segura no local receptor. A região do ramo mandibular enquadra-se nesta descrição.

O enxerto autógeno intra-bucal, apesar da necessidade de um segundo sítio cirúrgico, permanece um procedimento seguro e aplicável clinicamente e deve ser recomendado sempre que possível. Pacientes frequentemente consentem a remoção do enxerto ósseo de sítios intra-bucais. A quantidade limitada de osso para enxertia representa a única limitação deste procedimento. Nestas situações, torna-se necessário recorrer à áreas extra-bucais, aos “enxertos” alógenos, “enxertos” xenógenos ou aos substitutos de enxertos ósseos derivados de material não-ósseo (POLIDO & MARINI, 2001).

2.1.2 Substituto de enxerto ósseo derivado do osso

2.1.2.1 “Enxerto” ósseo alógeno:

- a) FDBA e
- b) DFDBA

O “enxerto” ósseo alógeno é obtido e transplantado entre seres de mesma espécie mas geneticamente diferentes, ou seja, retirado de um ser humano para ser empregado em outro. São obtidos a partir da autópsia, de doadores humanos realizada dentro de 12 horas após a morte. O material é liofilizado após uma série de passos para processamento físico e químico, de acordo com as diretrizes da Associação Americana de Bancos de Tecido (QUADRO 1), e objetiva prevenir a transmissão de doenças (ver item 2.2). Não demonstra qualquer tipo de resposta imune adversa (OUHAYOUN, 1997).

A grande vantagem para o paciente que utiliza esse substituto de enxerto ósseo é a eliminação de uma cirurgia adicional (intra ou extra-bucal). Pode apresentar-se nas formas: congelado/seco (FDBA) ou desmineralizado/congelado/seco (DFDBA). Bancos de tecidos são os responsáveis pela comercialização deste tipo de material (OUHAYOUN, 1997).

a) Osso Humano Congelado/Seco - FDBA (freeze-dried bone)

Esse biomaterial (mineralizado) foi introduzido na terapia periodontal em 1976 (MELLONIG et al., 1976). É um material fundamentalmente osteocondutor – processo pelo qual o enxerto não ativa o crescimento ósseo, mas age como um arcabouço para que o próprio osso natural do paciente cresça sobre ele. Na maioria das vezes, o enxerto é reabsorvido e substituído por novo osso (BOYNE, 1993). O material ainda é utilizado, mas as pesquisas demonstram que FDBA associado ao osso autógeno é mais eficaz no preenchimento ósseo, que quando utilizado de forma isolada (MELLONIG, 1991).

b) Osso Humano Desmineralizado/Congelado/Seco - DFDBA (decalcified freeze-dried bone)

O biomaterial DFDBA sofre processo de desmineralização, com ácido hidrocloreídrico, que expõem as proteínas ósseas morfogenéticas – BMPs ⁷. Há dúvidas a respeito da cicatrização dos en-

⁷ Macro-moléculas solúveis, localizadas na matriz extra-celular do osso, que induzem células mesenquimais indiferenciadas a diferenciarem-se em células formadoras de osso.

xertos DFDBA. Alguns autores afirmam que essa ocorra através da osteoindução (BOYNE, 1993; MELLONIG & BOWERS, 1990). Este processo envolve células pluripotenciais provenientes do osso natural circundante ao enxerto. Essas células são recrutadas e diferenciadas em células formadoras de osso. Na maioria das vezes, o “aloenxerto” é reabsorvido pelo osso receptor. Esse processo regenerativo é induzido pelas BMPs e talvez por outros fatores de crescimento liberados pelo próprio enxerto (ELLIS, 1991; SPAMPATA, WERTHER, HAUSCHKA, 1992).

Alguns autores, porém, não estão convencidos que a osteoindução realmente ocorra, e afirmam que o DFDBA pode cicatrizar-se através da osteocondução. Outros ainda, acreditam que a cicatrização ocorra pela associação da osteoindução e osteocondução (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993).

DFDBA fornece maior preenchimento ósseo que o FDBA (MELLONIG & BOWERS, 1990) e apresenta as seguintes propriedades vantajosas: segurança (mínima chance de infecção cruzada), disponibilidade, osteoindução e osteocondução (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993).

Urist & Strates (1970) demonstraram que quando o enxerto era desmineralizado/congelado/seco aumentava muito seu potencial osteogênico. A remoção da porção mineral do osso é o fator crucial. Esse processo expõem as BMPs, ou outras proteínas do enxerto, e estimulam a formação de novo osso através da osteoindução.

Apesar das evidências histológicas, em humanos, indicarem que o DFDBA promove formação de novo osso, alguns pesquisadores e clínicos começaram a questionar a utilidade desse material ao obterem resultados frustrantes e menos previsíveis (BECKER, BECKER, CAFFESSE, 1994; BECKER et al., 1995b; BECKER et al., 1996; PINHOLT et al., 1992). Uma explicação para tais fracassos é que o material pode variar de lote para lote. Os bancos de ossos, responsáveis pela comercialização do material, não verificam a quantidade específica de BMPs nem o nível da capacidade indutora dos enxertos que vendem. Além disso, a qualidade do enxerto não é padronizada (ROSENBERG & ROSE, 1998).

QUADRO 1: Preparação do DFDBA

1. Remoção do osso cortical de maneira estéril. Os ossos longos são as fontes de enxertia óssea alógena periodontal. O osso cortical é o material de escolha por ser menos antigênico que o osso esponjoso e apresentar maior concentração de proteínas indutoras.
2. O osso é cortado em partículas de 500 μm a 5 mm. Esta fragmentação aumenta a eficácia dos processos de desengorduramento e desmineralização do enxerto.
3. O material de enxerto é imerso em álcool etílico 100%, ou em solvente similar, por 1 hora para remoção de gordura que pode inibir a osteogênese. Além disso, o álcool etílico e outros agentes desengordurantes apresentam atividade anti-virótica. Este procedimento pode ser feito várias vezes.
4. O osso cortical é triturado e peneirado para obtenção de partículas de aproximadamente 250 a 750 μm . Partículas desse tamanho promovem osteogênese, enquanto que partículas menores que 125 μm podem promover uma reação de corpo estranho e serem rapidamente reabsorvidas.
5. Desmineralização em 0,6 ou 0,5 N de ácido hidrocloreídrico para remoção do cálcio e exposição das proteínas ósseo-indutoras. Esse passo não é executado se o produto final desejado for osso mineralizado/congelado/seco – utilizado em aplicações ortopédicas ou em cirurgias orais quando a estabilidade estrutural é necessária.
6. O osso é lavado em solução tampão de fosfato de sódio para remoção do ácido residual.
7. O osso cortical é congelado em temperatura de -80°C durante 1 a 2 semanas para interromper o processo de degradação. Durante esse período, os resultados de culturas bacterianas, testes sorológicos, e testes de antígeno e anticorpo são analisados. Caso alguma contaminação seja encontrada, o osso é descartado ou esterilizado com métodos adicionais e selado em embalagens à vácuo.
O processo de congelamento e secagem remove mais que 95% da água contida no osso e preserva três principais características: tamanho, solubilidade e integridade química. Embora esse processo destrua todas as células tornando o enxerto não-viável, ele apresenta as vantagens de redução da antigenicidade e conservação a longo-prazo
Fonte: Adaptado de Mellonig, 1998

Esta falta de padronização pode ser observada em um estudo de Schwartz et al (1996), que obtiveram DFDBA de seis bancos de ossos e de lotes diferentes de um mesmo banco. Eles avaliaram, em ratos, a capacidade indutora de formação óssea, do material, a partir do segundo mês pós-implantação. Os autores encontraram que preparações diferentes do material variavam o tamanho da partícula óssea e as propriedades indutoras (embora, neste estudo, o tamanho da partícula não pareceu ter nenhuma relação com a capacidade indutora do material). Além disso, os lotes variavam muito nas suas capacidades individuais de formação óssea e cartilaginosa. Tais inconsistências foram também visíveis entre dois lotes de um mesmo banco, onde um, demonstrou alguma atividade

osteointegradora, e o outro, nenhuma. Esses mesmos achados são suportados por outros estudos (BECKER et al., 1995a; SHIGEYAMA et al., 1995).

A quantidade de BMP, no material, é claramente importante. Em um estudo, implantou-se, em tecido muscular de ratos, DFDBA de quatro bancos de ossos. A análise histológica dos sítios, após 21 dias, revelou uma grande quantidade de partículas de DFDBA não vitais retidas e uma quantidade insignificante de nova formação óssea. Quando os enxertos, provenientes dos mesmos bancos de tecido, foram implantados adicionados de 10 mg de BMP, com proteínas não colagenosas, a análise dos sítios demonstrou quase 96% de nova formação óssea (BECKER et al., 1995a).

A demora na obtenção do tecido ósseo doador após a morte, as condições de armazenamento impróprias, ou outros fatores do processamento podem ter papel significativo na bioatividade da preparação final do DFDBA. Os efeitos importantes desses fatores podem ser observados em estudos que comparam produtos preparados laboratorial e comercialmente (BECKER et al., 1995a; SHIGEYAMA et al., 1995).

A idade, o sexo e a história médica dos cadáveres doadores podem também afetar a atividade osteogênica dos materiais. Alguns estudos determinaram que a quantidade ideal de BMP necessária para afetar o crescimento ósseo seria de 10 μ g / 40 mg do peso úmido do enxerto (SATO & URIST, 1984).

2.1.2.2 "Enxerto" xenógeno:

- a) Osso Bovino e
- b) Coral Natural – carbonato de cálcio (derivado de material não-ósseo)

O "enxerto" xenógeno é obtido e transplantado entre seres de espécies diferentes. Existem duas fontes disponíveis de "xeno-enxertos" utilizados como substitutos ósseos: osso bovino e o coral natural. As técnicas de processamento são diferenciadas para cada uma das espécies, mas ambos fornecem produtos finais biocompatíveis e estruturalmente similares ao osso humano (ACHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998).

- a) Osso bovino

O osso bovino é material comumente utilizado nos procedimentos de enxertia. O material tem atraído novamente interesses como material alternativo ao FDDBA ou ao DFDBA, devido ao decréscimo de indivíduos que aceitam receber “enxertos” alógenos em função da possibilidade de transmissão de doenças (ver item 2.2). Os “enxertos” xenógenos são osteocondutores e apresentam a grande vantagem da pronta disponibilidade (OUHAYOUN, 1997).

Uma revisão de literatura de Cross (1957), relata esforços antigos na utilização de osso bovino em defeitos ósseos ou no tratamento bucal. O material foi utilizado pioneiramente em 1934, na forma cozido em pó, em experimento animal com defeitos periodontais confeccionados cirurgicamente. Em 1956 utilizava-se os *purum*, osso bovino tratado onde removia-se lipídios, tecido conjuntivo e proteínas. Um ano depois, Cross (1957) relatou 4 casos utilizando osso bovino tratado com etileno-diamino, similar ao os *purum*.

O Boplant®, osso bovino processado por detergente e clorofórmio-metanol para reduzir o conteúdo de lipídeo, lavado, desinfetado em solução anti-séptica e congelado/seco, foi primeiramente utilizado em humanos em 1966. Trataram-se 60 defeitos periodontais infra-ósseos (sem grupo controle). Seis enxertos esfoliaram. Obteve-se uma redução média de 4 mm de profundidade de sondagem em um período de 12 meses (SCOPP, KASSOUNY, MORGAN, 1966).

O mesmo material foi testado por Arrocha, Wittwer, Gargiulo (1968). Criaram-se pequenas cavidades cirúrgicas na maxila e mandíbula de cães que foram preenchidas com fragmentos de Boplant. Os defeitos dos grupos controles mantiveram-se vazios. A análise histológica demonstrou que o osso bovino apresentou-se intacto e circundado por novo osso durante 180 dias. Os autores questionaram o potencial osteogênico deste material, uma vez que a formação óssea obtida nos sítios controles foram similares às áreas experimentais.

O uso clínico indiscriminado do Boplant, em humanos, comercializado em grande escala, foi frustrante, resultando em falhas e rejeições rotineiras, provavelmente porque esses materiais utilizavam detergentes químicos para extração dos componentes orgânicos. Tais detergentes mantinham proteínas xenogênicas residuais que produziam reações adversas e resultados clínicos inaceitáveis. O material foi subseqüentemente retirado do mercado (EMMINGS, 1974; COHEN et al., 1994).

Este fato induziu Emmings (1974) a submeter o produto à desmineralização em ácido fórmico a 5% por 1 semana, em temperatura ambiente. Implantou-o subperiostealmente nas superfícies vestibulares da mandíbula, e subcutâneamente em 4 cães sacrificados em 1, 2 e 4 meses. O material

incorporou-se à nova formação óssea, e o Boplant passou a ser classificado como material bem tolerado, não-reabsorvível e osteocondutor.

Estes resultados foram posteriormente confirmados quando implantou-se Boplant em alvéolos de extração em cães, e para aumento de rebordo em humanos. O potencial osteogênico do Boplant desmineralizado não pareceu ser maior, porém, que o Boplant mineralizado (OUHAYOUN, 1997).

Estudos mais recentes, utilizam osso bovino inorgânico (com componentes orgânicos completamente removidos) e livre de patógenos (COHEN et al., 1994). O substituto de enxerto ósseo xenogênico, descrito como hidroxiapatita derivada do boi, composto por carbonato apatita, é naturalmente poroso e 100% cristalino; é desengordurado e o colágeno removido⁸. Devido à sua estrutura natural, é comparável física e quimicamente à matriz óssea mineralizada humana (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998).

Dois casos foram descritos em 1993, de pessoas, com defeitos em rebordos edêntulos, que receberam o biomaterial. Análises histológicas de biópsias removidas aos 4,5 meses, demonstraram partículas de material xenogênico em contato íntimo com o novo osso formado, ou seja, havia ausência de tecido fibroso ou espaço interposto entre o biomaterial e o novo tecido (CALLAN & ROHRER, 1993). Esse resultado não é obtido com a hidroxiapatita (HA) sintética (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998).

Thaller et al (1993) e Thaller et al (1994) enxertaram o mesmo material em calvária de coelho. Analisou-se histologicamente, entre a segunda e décima-segunda semanas pós-enxertia, e observou-se grande quantidade de neo-formação óssea. Algumas áreas, em 12 semanas, apresentaram-se com osso não-vital. Nos sítios controles, uma quantidade mínima de formação óssea não permitiu o fechamento do defeito.

O mesmo osso bovino inorgânico, porém adicionado com colágeno⁹, foi testado, em 1996, em defeitos infra-ósseos experimentais em cães. O ganho ósseo foi avaliado após 6, 18 e 36 semanas. A análise demonstrou significativa formação óssea nos sítios implantados com o material ósseo. Nos sítios controles observou-se uma regeneração óssea insignificante. Nenhuma quantificação, porém, foi utilizada para avaliar o total de nova formação óssea (CLERGEAU et al., 1996).

⁸ Bio-Oss - Osteohealth Co, Shirley, NY e OsteoGraf - CeraMed Corp., Lakewood, CO.

⁹ Bio-Oss Collagen Sponge®, E. Geistlich Söhne AG, Wolhusen, Switzerland.

O osso bovino disponível comercialmente é processado de forma que o produto final seja osso natural mineral, sem o componente orgânico. Esse último é removido através de processo químico ou térmico. A estrutura remanescente assemelha-se à HA e se mantém altamente porosa, similar ao osso esponjoso. A vantagem do produto em relação aos outros substitutos ósseos é que se trata de produto natural capaz de fornecer componentes estruturais similares aos do osso humano (JARCHO, 1981).

Atualmente, a HA bovina disponível é desproteínizada, mantendo sua estrutura microporosa natural que sustenta células mediadoras da reabsorção. Característica essa importante, caso o biomaterial seja substituído por novo osso (JARCHO, 1981).

b) Coral natural - carbonato de cálcio (derivado de material não-ósseo)

O esqueleto de Coral Natural utilizado como substituto de enxerto ósseo é do gênero *Porites*, obtido do Grande Recife de Barreira de Coral na Nova Caledônia. Após a coleta do material, ele é deixado secando ao sol por alguns dias. Em seguida, elimina-se a porção orgânica através de tratamento ultra-sônico e esteriliza-se em autoclave durante 60 minutos em temperatura de 131° C (OUHAYOUN, 1997).

O esqueleto de Coral consiste de carbonato de cálcio (99%) na forma de aragonita e o 1% restante é composto de material orgânico: aminoácidos (OUHAYOUN, 1997). Trata-se de material poroso com o diâmetro do poro variando entre 100 μm e 200 μm similar à porosidade do osso esponjoso (GUILLEMIN et al., 1987). É biocompatível e reabsorvível, ao contrário da HA que é derivada do mesmo coral, através da conversão pelo calor, mas é não-reabsorvível. O material apresenta um alto potencial osteocondutor (PIATTELI, PODDA, SCORANO, 1997), nenhum potencial indutor (OUHAYOUN, 1997) e quando comparado a outros substitutos ósseos produz resultados clínicos similares (GAO et al., 1997; KIM et al., 1996; MORA & OUHAYOUN, 1995).

2.1.3 Substitutos de enxertos ósseos derivados de material não-ósseo

2.1.3.1 "Enxertos" aloplásticos:

- a) Cerâmicas de fosfato de cálcio (HA e β -TCP),
- b) Coral natural (carbonato de cálcio) e

c) Polímeros

a) Cerâmicas de fosfato de cálcio

O complexo fosfato de cálcio, geralmente utilizado em cirurgias periodontais, inclui a hidroxiapatita (HA)- porosa e densa, e o Beta fosfato tricálcico (β -TCP). Eles são biomateriais sólidos obtidos a partir da trituração dos fosfatos (OUHAYOUN, 1997).

- A hidroxiapatita (HA):

Os biomateriais de hidroxiapatita podem aparecer sob duas formas: densa e porosa. A HA densa é um substituto de enxerto ósseo não reabsorvível. Alguma reabsorção pode ocorrer quando se utiliza a forma porosa do biomaterial (OUHAYOUN, 1997).

Alguns estudos, em animais, demonstram que ocorre formação óssea ao redor da HA densa quando implantada em defeitos ósseos (WAGNER, WAHLMANN, HEIDEMANN, 1987; HOOGENDOORN et al., 1987), mas quando utilizada em sítios ectópicos, a osteoindução não é observada (NAAMAN BOU-ABBOUD et al., 1994). Biópsias realizadas em humanos, após a implantação de HA densa em defeitos ósseos periodontais, evidenciaram nenhuma atividade osteogênica desse material (FROUM et al., 1982).

A HA porosa forneceu resultados similares ao Coral Natural (MORA & OUHAYOUN, 1995), DFDBA (BOWEN et al., 1989), e FDBA (BARNETT et al., 1989) em estudos clínicos que analisaram redução da profundidade de sondagem e formação óssea em defeitos ósseos periodontais pareados

Um estudo revela dados em favor da HA densa (KREJCI et al., 1987) e outro (OREAMUNO et al., 1990) conclui que a HA porosa apresenta melhores resultados quando comparada ao DFDBA. Existe necessidade de outros estudos longitudinais e de multicentro, para que os resultados possam ser comparados.

É controversa a capacidade da HA porosa de aumentar a formação óssea em sítios ortotópicos. Em um estudo (OUHAYOUN et al., 1992) o material pareceu retardar a cicatrização óssea. Em outro, a HA porosa aumentou somente um pouco a formação óssea quando comparada aos sítios controles sem material de preenchimento (ETTEL et al., 1989). Enquanto muitos outros estudos, sem sítios controles, mostram alguma formação óssea na utilização do material em sua forma porosa (STAHL & FROUM, 1987; KENNEY et al., 1986; CARRANZA et al., 1987).

- β -fosfato tricálcico:

O β -fosfato tricálcico é produzido a partir do fosfato de cálcio em pó, misturado ao naftaleno e submetido a temperaturas elevadas entre 1000° C e 2000° C, permitindo que ele se funda em uma massa sólida. O naftaleno evapora, deixando espaços dentro da cerâmica que fornece uma estrutura porosa ao material (SNYDER et al., 1984).

Poucos estudos clínicos foram realizados utilizando esse biomaterial, e entre eles, nenhum utilizou protocolo de pesquisa rigoroso: sem estudo controle e somente dois com re-aberturas (STRUB et al., 1979; SNYDER et al., 1984). Apesar disso, a maioria deles indica redução na profundidade de sondagem e algum ganho ósseo (BALDOCK et al., 1985).

b) Coral natural (ver 2.1.2.2)

c) Polímeros

O poli-metil-metacrilato (PMMA) é um substituto de enxerto ósseo, não-reabsorvível, bem tolerado pelos tecidos receptores. Fornece resultados favoráveis quando implantado em defeitos infra-ósseos (YUKNA, 1990). O material não apresenta potencial osteoindutor, mas mostra propriedades osteocondutoras (EPPLEY, SADOVE, GERMAN, 1990).

2.2 Prevenção e transmissão de doenças através de tecido humano e bovino contaminados

A possibilidade de transmissão de doenças, apesar de remota, através do sangue e tecidos contaminados é o motivo de preocupação na utilização dos substitutos de enxertos ósseos alógenos e xenógenos.

Duas doenças são consideradas de risco na transplantação alógena: AIDS e doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) – e uma para a transplantação de osso xenógeno: encéfalopatia espongi-forme bovina (BSE). As duas últimas pertencem a um grupo de doenças que afeta o sistema nervoso central.

2.2.1 Risco de transmissão de doenças e métodos preventivos

2.2.1.1 AIDS

A síndrome da imunodeficiência adquirida pode ser transferida para pacientes receptores de transplantes de rins, coração e fígado, assim como, enxertos de pele (ANGERMAN & JEPSEN, 1991) e enxertos ósseos contaminados (SIMONDS et al., 1992).

O primeiro passo na tentativa de evitar a infecção é uma projeção rigorosa dos doadores potenciais e omissão dos doadores de alto risco, através de: revisão médica e social, teste de anticorpo e antígeno ao vírus do HIV, autópsia, exame acurado dos linfonodos (janela imunológica). Se esses procedimentos forem cuidadosamente aplicados, o risco de contaminação é, aproximadamente de 1 para 6 milhões (BUCK, MALININ, BROWN, 1989).

Existem cerca de 150 bancos de ossos nos Estados Unidos, mas somente 60 são vinculados à Associação Americana de Bancos de Tecidos.

Mellonig, Prewett, Moyer (1992) mostraram que o osso cortical, com o vírus do HIV ou já infectado com a doença, ao ser deixado em partículas pequenas e processado segundo as normas do DFDBA (0,6 N HCl e 0,025% de agente antivírus), torna-se livre da contaminação viral. Porém, esses autores mencionam que algumas amostras de osso cortical, obtidas de doadores infectados, podem atestar falso negativo.

O vírus do HIV em 1985, foi transmitido a pacientes que receberam osso congelado fresco de doador soro-negativo. O doador morreu em outubro de 1985, e dele foram removidos e distribuídos 4 órgãos e 54 outros tecidos. Sete pacientes que receberam órgãos não processados ou osso fresco

foram infectados. Nenhum dos receptores de tecidos processados foram contaminados. Essas técnicas de processamento, porém, não fornecem segurança total contra o risco de contaminação ao vírus (SIMONDS et al., 1992).

O vírus do HIV é frágil ao aquecimento em condições laboratoriais, e no estado líquido é desativado em minutos, mas no estado congelado/seco, a desativação pode levar muitas horas, o que acarretaria destruição das proteínas ósseas morfogenéticas e desnaturação do colágeno (OUHAYOUN, 1997).

Concluindo, nenhum dos métodos de esterilização óssea parecem ideais, devido a redução das qualidades biológicas do enxerto, toxicidade ou desativação insuficiente do vírus (ASPENBERG, JOHNSON, THORNGREN, 1990). Isto significa que para se obter uma desativação completa dos agentes contaminantes, existem chances de uma destruição total das propriedades biológicas do osso alógeno ou xenógeno (OUHAYOUN, 1997).

Isso explica porque o osso desmineralizado/congelado/seco, comercializado, não fornece a capacidade osteogênica do osso desmineralizado descrito por Urist (BECKER et al., 1995a).

2.2.1.2 Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD)

A idade para aparecimento da CJD depende do momento em que o enxerto for introduzido. O período de latência para surgimento dos primeiros sintomas é de 59 meses, em média, podendo variar entre 19 e 120 meses (ESMONDE et al., 1993). A doença caracteriza-se pela excitabilidade, coceiras, ataxia¹⁰ e finalmente paralisia e morte. O diagnóstico é confirmado somente após autópsia, com o cérebro demonstrando alterações espongiiformes e formação de placas amielóides (LAPLANCHE et al., 1994).

Presume-se que o paciente que desenvolva CJD, tenha recebido material enxertado de um indivíduo ou indivíduos que morreram da mesma doença (ESMONDE et al., 1993). O agente causai é incomum (PRUSINER, 1993), diferente de bactéria e vírus, e demonstra resistência extraordinária à fervura, à radiação gama e UV, ao tratamento com formaldeído, solventes orgânicos e álcool (WELLS & WILESMITH, 1995).

¹⁰ Incapacidade de coordenação dos movimentos musculares voluntários. Pode fazer parte do quadro clínico de numerosas doenças do sistema nervoso.

A doença é transmitida, experimentalmente, de humanos para animais, e de uma variedade de animais para outros animais, através da inoculação de tecido nervoso contaminado (ASHER et al., 1993). Este fato faz aumentar a hipótese da possibilidade de transmissão de encéfalopatia espongiforme bovina (BSE) a partir de um substituto de enxerto ósseo bovino para um receptor humano (OUHAYOUN, 1997).

Os Centros de Controles de Doenças e a Administração de Droga e Alimento (FDA) foram notificados de um paciente nos Estados Unidos e quatro pacientes na Espanha com CJD após procedimento de transplante de dura máter ¹¹. No entanto, existem relatos de 10 casos (de um total de 12) de implantação de dura máter associada a CJD. A empresa fornecedora do produto relatou que seus procedimentos de coleta e processamento de dura máter após 1º maio de 1987, foram revisados para reduzir o risco de transmissão da doença. Inexiste relato de CJD em pacientes que receberam o material processado após essa data (OUHAYOUN, 1997).

Os receptores dos enxertos contaminados podem permanecer com risco de desenvolver a doença por pelo menos 8 anos seguidos ao procedimento de enxertia (OUHAYOUN, 1997). Existe um intervalo prolongado e inevitável entre o uso do material contaminado e o reconhecimento do risco de CJD. Os protocolos para assegurar que os tecidos alógenos não sejam derivados de indivíduos que morreram de CJD não são plenamente confiáveis (ESMONDE et al., 1993).

Entre 1963 e 1985, aproximadamente 10.000 crianças receberam hormônios de crescimento humano. Cinco casos de CJD foram relatados nos Estados Unidos, e muitos outros em diferentes países (ESMONDE et al., 1993). Outros casos de transmissão iatrogênica foram descritos com a implantação de córnea alogênica e instrumentos cirúrgicos mal esterilizados (OUHAYOUN, 1997).

Prevenção de CJD

A seleção rigorosa do doador e a exclusão da doença são quase impossíveis. O teste final que confirma a presença do agente transmissor do CJD exige o efeito da inoculação de amostras de tecidos doadores dentro de um animal receptor. As taxas de transmissão em não-primatas são baixas, e o tempo de sobrevivência é geralmente longo: 15 a 30 meses. Não existe, até hoje, nenhum

¹¹ A mais externa e espessa das três camadas que envolvem o encéfalo e a medula espinhal : Lyodura®, Braun Mel-sungen, AG.

sinal de contaminação de CJD capaz de projetar potenciais doadores, uma vez que somente a biópsia do cérebro *post mortem* pode identificar encéfalopatias degenerativas (ASHER et al., 1993).

Propõem-se a eliminação ou a inativação do agente contaminante a fim de reduzir ou eliminar a transmissão de CJD através dos biomateriais derivados de osso humano. A Organização Mundial da Saúde recomenda 3 métodos particulares de esterilização do material, embora reconheça que a inativação total do agente causal não seja garantida (OUHAYOUN, 1997):

- Autoclavar em 134° C a 138° C durante 18 minutos ou em 132° C durante 1 hora;
- Manter em solução de hidróxido de sódio, 1M durante 1 hora a 20° C;
- Manter em solução de hipoclorito de sódio (pelo menos a 2%) durante 1 hora em 20° C.

Não há, até os dias atuais, nenhum caso relatado de transmissão de CDJ através de material derivado de osso humano. Mas, deve-se considerar que o período de latência para surgimento dos primeiros sintomas é de 59 meses, em média, podendo variar entre 19 e 120 meses. Este fato representa grande dificuldade na detecção dos pacientes contaminados (ESMONDE et al., 1993).

A ocorrência de encéfalopatias degenerativas em indivíduos expostos a material alógeno sugere a necessidade de uma análise criteriosa da relação riscos/benefícios proveniente dessa técnica (ESMONDE et al., 1993).

2.2.1.3 Encéfalopatia espongiforme bovina (BSE) ou doença da “vaca louca”

Quando o material para enxertia tiver origem bovina, as mesmas considerações feitas ao material de origem humana, permanecem verdadeiras, com algumas pequenas diferenças:

- os animais devem ser selecionados de rebanhos não expostos à encéfalopatia espongiforme bovina desde 1980, e sem evidências de alimentação com carne infectada ou alimentação com ossos (OUHAYOUN, 1997).

Na Grã-Bretanha, um rebanho expôs-se ao agente causador da doença através da ingestão de alimentos derivados de ruminantes e carne com osso. A BSE foi conseqüentemente primeiramente identificada, em bois, na Grã-Bretanha em novembro de 1986. Em junho de 1987 nove casos da doença tinham sido confirmados, e em novembro de 1994, 138.359 casos de BSE foram registrados (OUHAYOUN, 1997).

A doença é transmitida, experimentalmente, de humanos para vários tipos de animais, mas por razões óbvias não existem evidências registradas da contaminação de animal para humano (OUHAYOUN, 1997). Mas, Smith et al (1995) relataram 3 casos de encéfalopatia espongiforme em fazendeiros que tiveram contato com rebanhos afetados com a doença da “vaca louca”.

Não existe, até os dias atuais, nenhum caso relatado de transmissão da doença da “vaca louca” através da utilização de material derivado de osso bovino (OUHAYOUN, 1997).

Deve-se lembrar ainda, que o osso bovino mineral inorgânico oferece a vantagem da impossibilidade de transmissão de doença devido a remoção completa dos elementos orgânicos do material (CALLAN & ROHRER, 1993).

2.3 Processo fisiológico de formação e reabsorção do tecido ósseo

Os enxertos ósseos tornaram-se um dos procedimentos mais freqüentemente realizados nas cirurgias reconstrutivas. O grande número de opções de reconstrução gerado devido aos avanços na cirurgia crânio-facial, criaram a necessidade de grande quantidade de osso doador e de técnicas que permitam a transferência de material ósseo para áreas distantes. O conhecimento da fisiologia de transferência e cicatrização óssea, acompanhado da literatura experimental de sobrevivência do enxerto, irão fornecer as bases para obtenção de melhores resultados na aplicação clínica.

Enquanto a maioria dos tecidos apresenta capacidade limitada de regeneração e cicatrização através da formação de um tecido cicatricial, o tecido ósseo encontra-se em estado constante de regeneração e substituição. Além disso, é capaz de utilizar esses processos para reconstruir osso sempre que uma injúria ou transplantação forneçam um estímulo para iniciar tais eventos (MANSON, 1994).

Embora o osteoblasto tenha sido descrito em 1864, a sua caracterização como o tipo de célula específica que irá orientar a formação e a manutenção do tecido ósseo não ocorreu até a metade do século XX. Marchand postulou, em 1901, que o osteoblasto era derivado de células mesenquimais pluripotentes, mas foram necessários muitos anos para que estes mecanismos fossem realmente aceitos (BASSET & ANDREW, 1972).

Macewen, em 1881, foi o pioneiro clínico na enxertia óssea através da reconstrução do úmero de uma criança. Ele acreditava que o osso continha algumas células osteogênicas que, após a transferência, resultavam em nova formação óssea (BURCHARDT, 1987).

A antiga questão de como o osso se forma foi amplamente discutida nos últimos dois séculos. A vasta literatura existente nos mostra que muito ainda precisa ser conhecido a respeito da complexa fisiologia da cicatrização desse tecido (PROLO & RODRIGO, 1985).

2.3.1 Características estruturais do tecido ósseo

A arquitetura óssea é caracterizada como cortical ou esponjosa (HEIPLE et al., 1987). O osso cortical apresenta uma estrutura compacta densa e forma as superfícies dos ossos planos e longos. A unidade estrutural do osso cortical é o *osteon* no qual um osteócito está centralmente localizado

em uma lacuna e é circundado por camadas concêntricas de osso com suas estruturas de vasos sanguíneos e canal haversiano (MULLIKEN, KABAN, GLOWACKI, 1984).

A estrutura do osso esponjoso é mais aberta, consiste de trabéculas, espaços abertos, e espículas, e é altamente vascularizada. Nas trabéculas grandes, os osteócitos também encontram-se nas lacunas, de forma similar ao osso cortical. No osso esponjoso, a combinação dos espaços e trabéculas com suas estruturas vasculares e a gordura é denominado de osso medular. Diz-se que os eixos das trabéculas são geralmente orientados perpendicularmente ao estresse das forças externas, assim como ao ponto de apoio dos pesos e à contração dos músculos (MULLIKEN, KABAN, GLOWACKI, 1984).

O osso consiste de componentes orgânicos e inorgânicos (MARTIN, NG, SUDA, 1989). Aproximadamente dois terços do peso ósseo é material inorgânico (sais de cálcio), e o restante é basicamente matriz de proteína fibrosa (colágeno). Os osteócitos manufaturam o tecido osteóide que mineraliza-se, e por essa razão, essas células ficam circundadas por lamelas ósseas concêntricas (THOMPSON & CASSON, 1970).

Friedlaender (1987) denominou a proporção que existe entre a formação normal de osso e a reabsorção de "ciclo de remodelamento". Quando a formação é equivalente à reabsorção, o processo é chamado de "equilibrado". Quando os eventos causam ativação ou inativação de um dos processos, a proporção é denominada de "desequilibrada". Tanto os fatores locais como sistêmicos governam o equilíbrio e o grau de velocidade desses processos. Quando a massa óssea é constante, a reabsorção e a formação são equivalentes, e a situação é representativa da "homeostasia".

A formação de osso ocorre quando osteoblastos, derivados do endóstio, perióstio ou fontes induzidas, são influenciados a produzir tecido osteóide, que é subseqüentemente mineralizado (FRIEDLAENDER, 1987). Os osteócitos persistem como *osteons*, circundados por osso e nutridos pelos sistemas haversianos, e mantêm seus meio ambientes através de formação e reabsorção adicionais tanto de mineral como de matriz (HOBAR & BYRD, 1990).

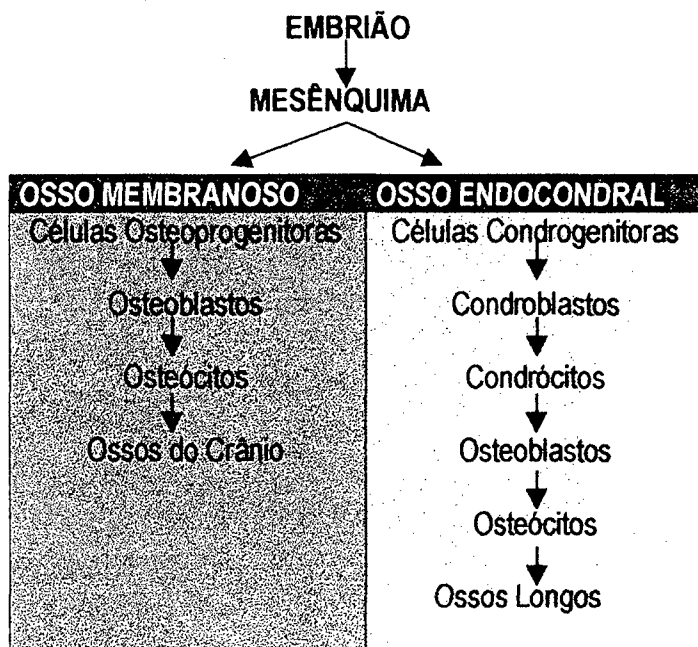
A reabsorção do osso é realizada pelos osteoclastos, células gigantes multinucleadas. Os osteoclastos removem parte do mineral e da matriz, e depois desaparecem (HOBAR & BYRD, 1990).

2.3.2 Processo fisiológico de formação do tecido ósseo: ossificação membranosa e endocondral

O tecido ósseo é derivado do mesênquima por meio de processos fisiológicos de ossificação membranosa ou endocondral. Dependendo do mecanismo de formação, o osso é classificado como membranoso ou endocondral - FIGURA 5 (BASSET & ANDREW, 1972).

A ossificação endocondral envolve a criação prévia de um modelo cartilaginoso, o qual é então substituído por novo osso. A matriz cartilaginosa calcifica-se através do processo de invasão vascular. Esse processo de invasão leva para a área, células mesenquimais indiferenciadas que são induzidas a se diferenciarem em osteoblastos. O tecido osteóide é produzido e mineralizado formando espículas do trabeculado ósseo. O trabeculado ósseo é organizado em tramas (entrelaçamento) ósseas e posteriormente em osso compacto (ALBREKTSSON & ALBREKTSSON, 1978; ALBREKTSSON, 1980).

FIGURA 5- Processo fisiológico de formação do tecido ósseo: ossificação membranosa e endocondral.



Fonte: Adaptado de Manson, 1994

A formação de osso membranoso, de forma contrária, não exige a cartilagem precursora. As células mesenquimais da membrana diferenciam-se diretamente em osteoblastos. Essas células

formam o tecido osteóide que é subsequente convertido em osso mineralizado. Acredita-se que os processos de cicatrização, tanto do osso endocondral como do membranoso, seguem as mesmas seqüências ontológicas especificadas em seus desenvolvimentos, ou seja, formação óssea realizada diretamente por osteoblastos (osso membranoso) ou de um modelo prévio cartilaginoso (osso endocondral) (MANSON, 1994-PM).

Os ossos endocondrais incluem os ossos longos do esqueleto, a crista iliaca, as costelas, as vértebras, e a base do crânio. Os ossos membranosos incluem a abóboda craniana, a maioria dos ossos da face, e a clavícula. Certos ossos, assim como a mandíbula, o esfenoide, o temporal e os ossos occipitais apresentam mecanismos duplos de formação – QUADRO 2. O côndilo mandibular origina-se de fonte endocondral, contudo o ramo, corpo e processo coronóide apresentam formação intra-membranosa (FRIEDLAENDER, 1987).

QUADRO 2- Ossos de origem membranosa, endocondral e de formação dupla.

Osso Membranoso	Osso Endocondral	Osso de formação dupla
Abóboda craniana Maioria dos ossos da face Clavícula	Ossos longos Crista iliaca Costela Vértebras Base do crânio	Mandíbula Esfenoide Temporal Occipital

Fonte: Adaptado de Manson, 1994

2.3.3 Sobrevivência de enxertos ósseos membranosos e endocondrais

Em 1932, Carter demonstrou que um enxerto ósseo pode reter sua estrutura calcificada até mesmo se não estiver em contato com tecido ósseo do hospedeiro, mas somente em contato com tecido mole (apud BURCHARDT, 1987). Mowlem, em 1941, concluiu que a sobrevivência do osso dependia acima de tudo da nutrição que o enxerto recebia após sua transferência (MOWLEM, 1963).

Peer (1951) interessou-se por analisar a relação entre a origem dos enxertos ósseos e o tipo do tecido do hospedeiro com o qual o enxerto estava em contato. Conclui que os ossos de origem membranosa sobreviviam melhor que costela e crista iliaca (origem endocondral). As células, nos enxertos ósseos com pequena capacidade regenerativa (origem membranosa), eram dotadas de uma capacidade persistente de reter sua matriz calcificada sem levar em consideração o contato com tecido ósseo, enquanto que células dos enxertos ósseos com alta capacidade regenerativa (origem

endocondral), não apresentavam esta habilidade a menos que o enxerto estivesse em contato com osso vivo. Peer enfatizou ainda, a importância da nutrição na sobrevivência das células transplantadas, e declarou que a maioria da nutrição ocorre por difusão.

Smith & Abramson (1974) examinaram o destino de enxertos de origem membranosa (região fronto-parietal) e endocondral (crista ilíaca) implantados subcutaneamente e subperiostealmente em 24 coelhos. Encontraram após 1, 3, 6 e 12 meses que os enxertos membranosos mantiveram ou aumentaram seus volumes em todos os períodos de tempo, independente do sítio receptor. Os enxertos endocondrais mostraram evidências de reabsorção e após 1 ano apresentaram-se com apenas 25% de seus volumes iniciais, independente do sítio receptor. Histologicamente, ambos os tipos de enxertos indicaram características similares e quase que totalmente substituídos por novo osso após 12 meses. A diferença foi que os enxertos membranosos mantiveram a arquitetura e os endocondrais foram transformados em uma fina casca de osso lamelar. Eles concluíram que a fonte doadora foi um fator importante na sobrevivência do enxerto, e postularam que ossos mantidos sem condições de estresse (pressão e tensão), como o crânio, teriam melhores chances de sobrevivência em um sítio da mesma natureza. Ossos sujeitos ao estresse, assim como a crista ilíaca, necessitavam de pressão e tensão contínuas para sobreviver.

Zins e Whitaker (1983) confirmaram que enxertos endocondrais sofrem processo de reabsorção muito maior que os enxertos membranosos. Os autores analisaram o comportamento desses dois tipos de enxertos instalados subperiostealmente no crânio de 7 macacos e no focinho de 15 coelhos. Encontraram após 5 meses que, nos dois tipos de animais experimentais, o enxerto membranoso manteve seu volume numa extensão muito maior que o enxerto endocondral. Ao final do experimento, a perda de volume dos enxertos endocondrais, nos coelhos, foi 3 vezes maior que dos membranosos (65% endocondral X 19,5% membranoso) e nos macacos cerca de 4 vezes maior (88% endocondral X 17% membranoso).

Dado e Izquierdo (1989) estudaram o fenômeno da reabsorção em enxertos ósseos aposicionais (em bloco e particulado) de origem membranosa (calvária) e endocondral (crista ilíaca), em 17 coelhos, após 8 e 21 semanas da cirurgia. O osso particulado membranoso e endocondral não se manteve como enxerto aposicional. O osso em bloco membranoso e endocondral passou por um processo significativo de reabsorção (o volume dos enxertos endocondrais diminuiu 78% e dos membranosos 50%). Os autores acrescentam que esse estudo evidenciou os mesmos resultados

obtidos na experiência clínica onde ambos os tipos de enxertos ósseos aposicionais apresentam perda significativa de volume.

Hardesty e Marsh (1990) realizaram estudo em 46 coelhos para avaliar enxertos ósseos aposicionais com diferenças na origem embriológica (membranoso ou endocondral), na morfologia (uni ou bicortical) e na orientação (posição da cortical em relação ao sítio receptor). Dados qualitativos e quantitativos foram analisados durante dois períodos de tempo: 1,5 e 3 meses. Os enxertos membranosos (calvária) mantiveram ou aumentaram seus volumes, após 3 meses, enquanto enxertos endocondrais (crista ilíaca) reabsorveram. O número de corticais e a orientação dos enxertos unicorticais não influenciaram a manutenção dos mesmos. Histologicamente, os enxertos de origem membranosa e endocondral apresentaram diferenças grandes na configuração da arquitetura. Os autores hipotetizaram que a origem embriológica dos enxertos ósseos pode não ser o fator principal para as diferenças encontradas. Parece que a arquitetura do enxerto, que está relacionada à sua origem, poderia ser a responsável por essas diferenças na reabsorção de enxertos ósseos aposicionais em focinhos de coelhos. A cortical dos enxertos endocondrais era mais fina e a camada esponjosa mais facilmente penetrada pela invasão vascular. Dessa maneira ocorria maior reabsorção e por essa razão menor persistência de volume.

2.3.4 A cicatrização dos ossos da face

Durante anos acreditou-se que a cura de fraturas nos ossos da face ocorria através do mecanismo de cicatrização fibrosa. Perren (1979) e Perren & Cordey (1980) previamente revelaram que, se os ossos estiverem perfeitamente adaptados e sob alguma compressão, ocorre cicatrização óssea primária. A formação de osso direta feita por osteoblastos foi observada previamente à invasão do tecido vascular.

Thaleer e Kawamoto (1990) usaram análises clínicas a partir de osteotomias de sítios de fraturas para documentar que a cicatrização observada era na maioria dos casos óssea, apesar de algumas vezes não se mineralizar suficientemente para ser radiopaca.

Rever et al (1991) em modelo com coelho, também demonstraram que a correção facial envolveu cicatrização óssea verdadeira, às vezes com um precursor de cartilagem, similar a formação óssea endocondral. A produção de cartilagem poderia ser relacionada à movimentação ou à lacuna (*gap*) cicatricial. A cicatrização fibrosa ocorreu em ossos da face quando a lacuna entre as extremi-

dades ósseas excedia vários milímetros, especialmente se o osso fosse fino ou se houvesse tecido mole interposto. Na maior parte das vezes, porém, a cicatrização ocorreu com formação óssea.

As condições exigidas pela cicatrização óssea primária de aproximação, compressão e fixação estável são melhores fornecidas pela fixação rígida, através de placas e parafusos de fixação que fornecem estabilidade de forma tri-dimensional (ver item 2.8).

2.4 Enxerto ósseo autógeno- características histológicas e cicatriciais

2.4.1 Características histológicas do enxerto autógeno após transplantação

A seqüência de etapas que seguem à transplantação de um osso consiste de uma série de eventos histológicos básicos que variam dependendo das características do enxerto (cortical ou esponjoso), do grau de vascularização (vascularizado ou não-vascularizado), e das características do sítio receptor (FRIEDLAENDER, 1987; CRAFT & SARGENT, 1989; HOBAR & BYRD, 1990).

Os enxertos autógenos esponjosos e corticais, histologicamente, apresentam três diferenças: (1) os enxertos esponjosos são revascularizados mais rapidamente e de forma mais completa que os enxertos corticais; (2) a "creeping substitution" do osso esponjoso (processo no qual o tecido vascular invade o enxerto, levando consigo osteoblastos que depositam novo osso), inicialmente, envolve uma fase de formação óssea aposicional, seguida por uma fase de reabsorção, enquanto os enxertos corticais sofrem um processo de "creeping substitution" contrário; (3) os enxertos esponjosos tendem a cicatrizar-se completamente com o tempo, enquanto os enxertos corticais permanecem como um agregado de osso necrótico e osso viável (BURCHARDT, 1983).

A incorporação do enxerto é definida como o processo de envolvimento entre um complexo formado por células velhas necróticas e o osso novo viável. O complexo responsabiliza-se tanto pela reabsorção do tecido necrótico como pelo crescimento de novo osso (BURCHARDT, 1983).

A incorporação dos enxertos corticais consiste em parte da produção de novo osso, e em parte da permanência de áreas com reabsorção incompleta do osso necrótico, que tornam-se, apesar da sua não-viabilidade, porções permanentes do enxerto remodelado (BOYNE, 1970b; BERNICK et al., 1989).

Alguns autores acreditam que exista diferenças substanciais no modelo de incorporação dos enxertos corticais e esponjosos (THOROGOOD & GRAY, 1975; BURCHARDT, 1983; BURCHARDT, 1987). Os enxertos esponjosos, em virtude de suas estruturas abertas, acredita-se que sejam mais rapidamente e completamente revascularizados, tanto como resultado final das re-anastomoses com os vasos sanguíneos do sítio receptor, como pela invasão do enxerto de vasos do tecido inflamatório no sítio do hospedeiro (BURCHARDT, 1983; BURCHARDT, 1987; HEIPLE et al., 1987). Os osteoblastos, desenvolvidos a partir de células osteogênicas precursoras, começam a produzir novo osso, aumentando a densidade do enxerto. Os osteoclastos, então, aparecem para reabsorver áreas de

osso necrótico, reduzindo a densidade do enxerto rumo à normalidade (BURCHARDT, 1983; BURCHARDT, 1987).

Os enxertos esponjosos passam por cicatrização mais completa que os corticais. O processo de reparo envolve 2 fases. A maior parte do remodelamento ocorre na fase final, responsabilizando-se por alterações severas no volume e na aparência do material enxertado (BURCHARDT, 1987).

Burchardt (1987) comenta que a diferença mais aparente na cicatrização histológica dos enxertos esponjosos e corticais é o grau de velocidade da vascularização. Os vasos entram, inicialmente, no enxerto cortical no 6º dia, e o processo de vascularização total pode levar 2 meses. De forma contrária, nos enxertos esponjosos, o mesmo processo pode estar finalizado em 2 a 3 dias. A maior diferença é que, os enxertos corticais dependem da reabsorção osteoclástica ao longo dos canais harvesianos e de Volkmann, para permitir que o crescimento vascular penetre na estrutura cortical densa, e inicie o processo de vascularização. Nesses enxertos, a fase aposicional da cicatrização inicia 2 a 3 meses após a cirurgia, enquanto que nos enxertos esponjosos o processo aposicional é visto muito mais cedo.

O processo de incorporação do enxerto é função do leito receptor e depende do íntimo contato deste com o tecido doador, e da interdependência dos processos de (1) fornecimento de células osteoprogenitoras pelo sítio do enxerto; (2) iniciação do estímulo que faz estas células serem diferenciadas em osteoblastos; (3) osteocondução e osteoindução; e (4) propriedades biomecânicas do enxerto (BURCHARDT, 1983).

O processo de invasão de novo tecido, feito por vasos sanguíneos ao longo de canais pré-existentes ou não, no osso transplantado foi denominado de "Schleichender ersatz" por Axhausen. Posteriormente, esta frase alemã foi traduzida literalmente como "creeping substitution", para descrever o processo dinâmico de reconstrução e de cicatrização do enxerto ósseo (RAY, 1972b). Para o propósito de discussão o termo "creeping substitution" será utilizado para descrever as atividades reparadoras temporárias por meio das quais o osso novo viável substitui o osso necrótico.

A "creeping substitution" representa a osteocondução, e o enxerto serve como arcabouço no qual o novo osso é depositado. Esse processo também ocorre em arcabouços de materiais não-biológicos (aloplásticos) e materiais biológicos não-viáveis (alógenos e xenógenos) (URIST, 1972).

O processo da osteoindução refere-se à capacidade de porções do osso do enxerto, agirem como indutores locais para células indiferenciadas do sítio receptor diferenciarem-se em osteoblas-

tos. Fatores ativos liberados por componentes do enxerto, e mais provavelmente por componentes da matriz (assim como as proteínas ósseas morfogenéticas –BMP) estimulam células sensíveis no sítio receptor a invadir o enxerto e iniciar a atividade osteogênica (URIST et al., 1968; URIST, DELANGE, FINERMAN, 1983; MULLIKEN, KABAN, GLOWACKI, 1984; BERNICK et al., 1989; MARK et al., 1990). Alguns estudos indicam que a proteína morfogenética, na matriz óssea, aumenta a diferenciação celular. Osteoblastos sobreviventes do enxerto podem produzir osso diretamente por eles mesmos, representando a osteogênese (IWATA & URIST, 1972; URIST & HERNANDEZ, 1974).

Muitos autores acreditam que a influência do estresse (movimentação) no enxerto ósseo seja importante tanto para a manutenção a longo prazo de seu volume como para a iniciação do processo osteogênico. O conceito da necessidade do estresse e sua relação com a preservação do volume e da resistência do enxerto foi previamente descrito por Wolff e é conhecido como “Lei de Wolff” (FRIEDLAENDER, 1987).

A ação do estresse nos enxertos corticais e esponjosos varia de acordo com o período de tempo estudado. Os enxertos corticais, inicialmente, sofrem processo de reabsorção osteoclástica, posteriormente, seguida pela formação óssea. Com os enxertos esponjosos, há formação inicial de osso, e a resistência do enxerto permanece relativamente constante ou levemente maior enquanto os elementos do osso necrótico são reabsorvidos (HEIPLE et al., 1987; PELKER & FRIEDLAENDER, 1987). A resistência dos enxertos corticais chega a metade da resistência inicial após a reabsorção osteoclástica, enquanto que a resistência dos enxertos esponjosos é preservada (BURCHARDT, 1987).

2.4.1.1 Características histológicas primárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno fresco

As características histológicas do processo cicatricial dos enxertos autógenos esponjosos e corticais, durante as primeiras duas semanas, são similares: evidencia-se sangue coagulado sobre o enxerto que previne perda sangüínea, e o enxerto é o foco de uma resposta inflamatória caracterizada pelo crescimento de vasos invadindo o mesmo. A partir da segunda semana, um tecido de granulação fibroso torna-se predominante no enxerto, o número de células inflamatórias diminui, e a atividade osteoclástica aumenta (ENNEKING et al, 1975). Algumas células periféricas são mantidas

pela difusão de nutrientes dos tecidos moles circundantes do hospedeiro. Até essa fase, existe pouca diferença entre o processo cicatricial dos enxertos ósseos esponjosos e corticais (BURCHARDT, 1987).

2.4.1.2 Características histológicas secundárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno esponjoso

Os enxertos ósseos esponjosos diferem dos corticais pelo grau de revascularização obtido através do mecanismo de "creeping substitution", e pela integralidade da cicatrização. Muitos autores sugerem que a revascularização dos enxertos esponjosos pode ocorrer dentro de horas após a enxertia, como resultado de re-anastomoses entre os vasos do hospedeiro com aqueles do enxerto. Dependendo da espécie, os enxertos esponjosos podem estar totalmente cobertos com vasos em 2 dias, e a revascularização totalizada em 2 semanas (BURCHARDT, 1987).

A invasão de vasos sanguíneos faz com que células mesenquimais primitivas diferenciem-se em células osteogênicas. É ainda controverso se as células osteogênicas são descendentes das células enxertadas ou as células do hospedeiro são induzidas pelo enxerto. Porém, tanto doador como receptor podem contribuir para a nova população celular (BURWELL, 1966; AMSEL & DELL, 1971; ELVES & PRATT, 1975; GRAY & ELVES, 1979).

Nos enxertos esponjosos estas células osteogênicas diferenciam-se, inicialmente, em osteoblastos que revestem as margens do osso trabeculado necrótico e depositam tecido osteóide no núcleo central do mesmo. Assim, ocorre um aumento inicial na radiopacidade do enxerto. Subseqüentemente, o núcleo do osso necrótico é gradualmente reabsorvido pelos osteoclastos, e percebe-se um decréscimo gradual na radiopacidade geral do enxerto esponjoso. Ao mesmo tempo, elementos medulares hematopoiéticos acumulam-se no osso enxertado. Dessa maneira, o enxerto esponjoso é integralmente cicatrizado - o osso necrótico é completamente substituído por osso novo viável (URIST & McLEAN, 1952).

2.4.1.3 Características histológicas secundárias da cicatrização de enxerto ósseo autógeno cortical

A diferença histológica mais aparente entre a cicatrização do enxerto esponjoso e o cortical é o grau de velocidade pelo qual este último é revascularizado. Geralmente, o enxerto cortical não é

penetrado pelos vasos sanguíneos até o 6º dia. A completa revascularização geralmente ocorre dentro de 1 a 2 meses, pelo menos 2 vezes o período exigido pelos enxertos esponjosos. Este atraso pode ser atribuído à estrutura do osso cortical, uma vez que a penetração vascular do enxerto é originalmente o resultado da reabsorção osteoclástica periférica e infiltração vascular dos canais de Volkmann e haversianos (ENNEKING et al., 1975).

A segunda diferença histológica entre enxertos esponjosos e corticais é que a cicatrização do material cortical é primeiramente iniciado pelos osteoclastos mais que pelos osteoblastos. O agregado de osso necrótico e osso viável no enxerto cortical basicamente permanece inalterado até que os estágios catabólicos ¹² e anabólicos ¹³ do reparo tenham sido completados. Alterações menores podem aumentar a proporção de novo osso ao tecido necrótico. Assim, enxertos esponjosos tendem a ser completamente cicatrizados, enquanto enxertos corticais tendem a permanecer como uma "mistura" de osso necrótico e osso viável (ENNEKING et al., 1975).

2.4.2 Propriedades biomecânicas dos enxertos ósseos

A resistência de um enxerto ósseo pode estar relacionada ao seu processo de cicatrização. Enxertos esponjosos são cicatrizados por um processo que, inicialmente, forma novo osso nas superfícies ósseas necróticas. Um estudo prévio mostra que a necrose óssea não alterou a resistência mecânica do osso. Por essa razão, enxertos esponjosos inicialmente fortalecidos com a adição de novo osso; passam a ter a resistência mecânica da área enxertada normalizada, após a remoção do núcleo de osso necrótico (ENNEKING et al., 1975).

De forma contrária, os enxertos corticais são cicatrizados inicialmente pelo aumento da atividade osteoclástica e diminuição da atividade osteoblástica. O efeito acumulado diminui a massa e a radiopacidade do material e concomitantemente aumenta a porosidade interna. O resultado final é o enfraquecimento mecânico do enxerto. No modelo experimental, enxertos de osso cortical estavam 40% menos resistentes que o normal, entre as 6 semanas e 6 meses após o enxerto, com a porosidade interna do enxerto aumentada. Por 1 a 2 anos após o enxerto, a porosi-

¹² Processo metabólico destrutivo, por meio do qual células do organismo transformam substâncias complexas em outras mais simples.

¹³ Conjunto de fenômenos bioquímicos que se processam no organismo vivo, destinados à regenerar, a partir de substâncias simples; a matéria viva que se gasta durante a fase metabólica do metabolismo.

dade, a força mecânica, e as densidades radiográficas foram iguais àquelas de um osso normal (BURCHARDT & ENNEKING, 1978).

Estudos indicaram que o mecanismo de cicatrização em humanos é o mesmo que em cães, mas o processo de cicatrização em humanos demora 2 vezes mais. Além disso, um segmento de enxerto cortical humano perde mais ou menos a metade de sua resistência nos primeiros 6 meses, se mantém durante outros 6 meses, e diminui sua resistência durante o 2º ano. Com o passar do tempo, a mistura de osso viável e osso necrótico, em ambas espécies, aproxima-se da resistência do osso normal. Esta conclusão é suportada por observações que mostram que as falhas por fadiga, em humanos, ocorrem 6 a 18 meses após a enxertia e depois disso são infreqüentes (ENNEKING, EADY, BURCHARDT, 1980).

Por essa razão, clinicamente deve-se proteger os segmentos de enxertos durante o intervalo crítico no qual a fase reabsortiva sobrepõe a fase aposicional. Desconhece-se, precisamente, quando estas fases críticas ocorrem em humanos, embora o tempo de aparecimento provavelmente varie em função da idade, da capacidade de cicatrização fisiológica, e de acordo com o tipo, tamanho e localização do enxerto (BURCHARDT, 1983).

2.4.3 Contribuição do enxerto e do hospedeiro para a cicatrização óssea

A incorporação de um enxerto pode ser considerada uma função tanto das células do hospedeiro como das células viáveis remanescentes dentro do enxerto (RAY, 1972a; ALBREKTSSON, 1980). O grau de participação de cada população de célula é incerto, embora a falha no transplante de células viáveis retarda o grau de incorporação e cicatrização. As células osteogênicas transplantadas podem ser derivadas de quatro fontes: (1) do perióstio; (2) da zona intracortical; (3) do endóstio; e (4) da medula.

- Perióstio: muitos estudos têm indicado que as células nos enxertos com perióstio, sobrevivem e são capazes de osteogênese (URIST & McLEAN, 1952; KING, 1976). Observou-se em enxertos sem perióstio, atrasos na união enxerto-hospedeiro, diminuição na formação do calo, e atraso na iniciação da "creeping substitution". De modo contrário, em um estudo experimental enxertos com perióstio resultaram, em alguns casos, em completa ossificação (KING, 1976).

- Zona intracortical: alguns osteócitos podem sobreviver à transplantação através da difusão de nutrientes por canaliculos. Estudos *in vitro* têm mostrado que, mesmo sem a presença de um fluido, alguns osteócitos podem sobreviver mais de 24 horas. Embora os osteócitos não possam sofrer mitoses para fornecer uma população de células osteogênicas, o fato de alguns osteócitos sobreviverem dentro do córtex do enxerto, sugere a sobrevivência (permanência) de outras células potencialmente osteogênicas. Assim, pré-osteoclastos e/ou pré-osteoblastos podem sobreviver à transplantação e iniciar a "creeping substitution" (DELEU & TRUETA, 1965). Outra investigação sugere que células intracorticais apresentam somente uma pequena participação, especialmente na formação óssea (GRAY & ELVES, 1979).
- Endósteeo e medula: a facilidade com que o endósteeo e as células medulares do enxerto ganham acesso aos nutrientes foi comprovado em um estudo de Amsel & Dell (1971). Se as células do endósteeo e da medula apresentam papel equivalente na osteogênese, ainda não se sabe. Estudos sugerem que as células do endósteeo e o estroma medular produzem juntos, mais da metade do novo osso, enquanto que as células hematopoiéticas da medula não trazem contribuição significativa à formação óssea (GRAY & ELVES, 1979).
- Contribuições do hospedeiro: a sobrevivência de um enxerto ósseo depende principalmente do hospedeiro, uma vez que os elementos citológicos do enxerto, comparativamente, não apresentam atividade (são inertes). Além disso, as contribuições do periósteeo, endósteeo, da região intra-cortical e medular do osso do hospedeiro são similares àquelas do enxerto (BURCHARDT, 1983).

Alguns fatores envolvidos no sucesso da enxertia óssea são: a idade do receptor, o sítio do enxerto, e a intensidade do trauma empregado na cirurgia. Watson-Jones (1955) relatou um decréscimo de tecido cicatricial ao redor de defeitos ósseos após grande pressão com brocas e irrigação inadequada. O trauma cirúrgico deve ser reduzido para aumentar a sobrevivência do osso transplantado. Parrish (1973) relatou que uma resposta osteogênica mais forte é obtida em leito ósseo, e que o leito esponjoso é superior ao leito cortical para o processo de enxertia.

2.5 "Enxerto" ósseo alógeno: características histológicas, imunológicas e cicatriciais

Os "enxertos" alógenos são utilizados como fonte imediata de material de substituição óssea. Dois fatores fazem a incorporação dos "aloenxertos" mais difíceis e menos previsíveis quando comparados aos autoenxertos: (1) a resposta imunológica aos componentes do tecido transplantado é maior devido a disparidade genética entre o doador e o hospedeiro (teoricamente, quanto maior a disparidade genética, maior é a resposta do hospedeiro e mais difícil é a incorporação e sobrevivência do enxerto); (2) os mecanismos de preservação do enxerto (técnicas de desmineralização, liofilização e esterilização) alteram os elementos do mesmo. As células morrem em resposta a maioria das técnicas de preservação e por essa razão reduzem a capacidade do enxerto de agir em sua capacidade produtiva óssea normal (WATROUS & ANDREWS, 1989).

2.5.1 Características histológicas do "enxerto" ósseo alógeno após transplantação

A incorporação dos "enxertos" alógenos difere, em vários pontos, da incorporação dos enxertos autógenos. O crescimento vascular e a formação óssea, nos "aloenxertos", apresentam-se de forma mais lenta e menos completa. Além disso, tendem a ser caracterizados pela presença de maior atividade de reabsorção (GOLDBERG & LANCE, 1972; KING, 1976; BURCHARDT & ENNEKING, 1978).

A resposta histológica inicial do hospedeiro frente a um "enxerto" alógeno fresco é similar àquela para um enxerto autógeno. Ao final da primeira semana, uma resposta inflamatória pode ser vista na periferia do enxerto. A reação inflamatória alcança o pico de atividade próximo ao final da segunda semana, com linfócitos como o principal tipo de célula presente. Durante os próximos dois meses, os linfócitos continuam a predominar, e uma barreira fibrosa encapsula o "enxerto" alógeno (BURWELL & GOWLAND, 1961; BURWELL & GOWLAND, 1962; BONFIGLIO & JETER, 1972; ELVES, 1974). A resposta inflamatória pode parar neste ponto ou pode continuar como uma inflamação crônica, persistindo por 8 ou mais meses (BONFIGLIO & JETER, 1972; BURCHARDT, 1983).

Os modelos iniciais de regeneração vascular ao redor do "aloenxerto" são quase os mesmos dos autoenxertos, embora as anastomoses ocorram com pouca frequência (HAMMACK & ENNEKING, 1960).

O grau pelo qual o enxerto é incorporado ao esqueleto do hospedeiro indica aprovação ou rejeição do mesmo. A incorporação com sucesso inclui a formação de um "calo" ao redor da junção enxerto-hospedeiro, bem como o reparo interno do enxerto. Nova formação óssea tem sido observada na periferia do enxerto autógeno durante a primeira semana, com o pico osteogênico máximo próximo ao final dela. Um processo similar ocorre com os "enxertos" alógenos, embora a osteogênese possa ser quantitativamente inferior nos criopreservados ou frescos (BURCHARDT, 1983).

Uma vez que o "aloenxerto" inicia a necrose como resultado de insuficiência vascular, aproximadamente 4 semanas após a enxertia, uma segunda fase de formação óssea pode ser iniciada pelo tecido do hospedeiro (ELVES & PRATT, 1975). Esta fase osteogênica secundária nos "aloenxertos" não é tão promissora quanto a osteogênese nos enxertos autógenos frescos, uma vez que o remodelamento daqueles, aos 2 meses, é menos completo, ou seja, com ausência de reabsorção e de nova formação óssea (BURWELL, 1976). Oito meses após a cirurgia, a revascularização do enxerto não é tão completa como é a vascularização dos enxertos autógenos durante o primeiro mês pós-enxertia (BURCHARDT, 1983).

2.5.2 Características imunológicas da enxertia óssea alógena

A superioridade clínica e experimental dos autoenxertos sobre os "aloenxertos" tem sido bem documentada. O enxerto autógeno é reconhecido como "próprio" ao hospedeiro, enquanto o "aloenxerto" e o "xenoenxerto" são reconhecidos como "não-próprios". Este reconhecimento de "não-próprio" é consequência da histo-incompatibilidade entre doador e hospedeiro (MICHAELI & EPSTEIN, 1971; ELVES & PRATT, 1975; LANGER et al., 1975) e segue as mesmas regras imunológicas que age sobre qualquer outro sistema de enxerto tecidual (BURWELL, 1966; BONFIGLIO & JETER, 1972; BURCHARDT, 1983).

Embora os "enxertos" ósseos alógenos demonstrem uma resposta imunológica no hospedeiro, não se conhece o tipo imunológico ¹⁴ responsável pela reação. O principal componente imunológico nos "enxertos" alógenos parece ser a medula. Supõem-se que as células e o soro de dentro do

¹⁴ Relativo à imunologia. Imunologia: ramo da medicina que estuda os mecanismos pelos quais o organismo responde a antígenos, reconhece a si o que é estranho a si, e se ocupa ainda, dos aspectos biológicos (observados *in vivo*), sorológicos (observados *in vitro*) e físico-químicos dos fenômenos imunológicos.

transplante são antigênicos ¹⁵, enquanto que a matriz do transplante, que é composta de glicoproteína, colágeno e mucopolissacarídeo, pode ou não ser antigênica (BURCHARDT, 1983).

A maioria dos estudos considera os antígenos da superfície celular a principal fonte de antigenicidade, apesar de alguns autores, também considerarem imunogênicos ¹⁶, os componentes da matriz (POOLE et al., 1980; FRIEDLAENDER, LADENBAUER, CHRISMAN, 1980).

Vários experimentos evidenciam a imunogenicidade óssea quando demonstram reações secundárias nos linfonódos, aumento da inflamação nos "enxertos" alógenos, reações inflamatórias prolongadas e modelos alterados de cicatrização do enxerto. (BONFIGLIO & JETER, 1972).

Em resumo, as evidências experimentais sugerem que o osso é imunogênico, apesar de não serem identificados, ainda, os agentes imunógenos (BURCHARDT, 1983).

2.5.3 Mecanismo de rejeição dos "enxertos" ósseos alógenos

A imunidade celular é considerada o fator mais importante na destruição dos "aloenxertos". As respostas imunes humorais são, geralmente, insignificantes na rejeição primária dos mesmos (BURCHARDT, 1983).

Anticorpos circulantes não são causa significativa de rejeição de "enxertos" ósseos alógenos (BONFIGLIO & JETER, 1972). Estudos de Langer et al (1975) demonstraram que o pico da produção de anticorpos citotóxicos aos "aloenxertos" ósseos coincide com o grau máximo da imunidade celular.

Friedlaender, Strong e Sell (1976), e Muscolo, Kawai e Ray (1976) também relataram a presença de anticorpos citotóxicos aos "aloenxertos". A evidência sugere que os anticorpos são formados para os "aloenxertos" ósseos, mas eles não devem estar envolvidos diretamente na rejeição. Outros fatores imunológicos da rejeição podem incluir os fatores de ativação quimiotática e osteoclastica, liberados da anafilotoxinas, e as características inflamatórias associadas à vasoconstrição, vasodilatação, ao agregado de plaquetas, e à formação de trombos (HAUSMANN et al., 1973).

¹⁵ Relativo a antígeno. Antígeno: qualquer substância a que, em circunstâncias favoráveis, um indivíduo é exposto, e que pode produzir uma resposta imunológica específica, com a formação de anticorpos específicos ou de linfócitos T especificamente sensibilizados, ou ambos.

¹⁶ Que toma imune, produz imunidade.

2.6 Biomaterial derivado de osso bovino: “enxerto” xenógeno

Vários biomateriais podem ser utilizados nos procedimentos de aumento do tecido ósseo.

A utilização de enxertos ósseos autógenos, na correção de defeitos de rebordos, é um procedimento de rotina previsível. No entanto, apresenta a desvantagem de se fazer necessário um segundo campo cirúrgico para remoção do tecido doador. Além disso, mostra níveis de reabsorção irregulares que podem fazer com que seja necessária nova cirurgia para correção e conseqüentemente, novos sítios individuais de remoção de osso (KORLOF, NYLEN, RIETZ, 1973).

O desejo de evitar-se a cirurgia de remoção do tecido doador fez aumentar o emprego dos “enxertos” alógenos- principalmente de osso desmineralizado/congelado /seco. Porém, a possibilidade – pequena, mas existente - de transmissão de doenças através de sangue e tecidos contaminados, tem deixado muitas pessoas receosas quanto à utilização desse material, apesar de nenhum caso ter sido documentado, até hoje, a respeito de material congelado/seco (KORLOF, NYLEN, RIETZ, 1973).

Os materiais aloplásticos apresentam-se em quantidades ilimitadas e com estabilidade de volume, mas não ficam incorporados ao novo osso; estão associados a altos índices de infecção e a maioria deles (exceto a hidroxiapatita) causa reação de corpo estranho e eventual encapsulamento (HOLMES, 1979; THALLER et al., 1990).

Estas substâncias não apresentam as características químicas e cristalinas do osso mineral (carbonato apatita) que são determinantes críticos da resposta biológica. A hidroxiapatita sintética também difere do osso natural mineral no tamanho dos cristais, na forma e percentual de cristalização. Essas diferenças químicas e estruturais podem resultar em diferenças na performance biológica das substâncias (SPECTOR, 1994). A HA sintética carece de atividade osteogênica sendo melhor classificada como material osteocondutor (KENT et al., 1983; JARCHO, 1986).

O sulfato de cálcio e o fosfato tricálcio são duas das substâncias contendo cálcio primeiramente estudadas. Os problemas desses materiais estão no fato de que geralmente sofrem dissolução físico-química logo após o processo de enxertia (SPECTOR, 1994).

O substituto ósseo ideal deveria ser biocompatível, reabsorvível e substituído por novo osso (THALLER et al., 1994). Por esses motivos, os materiais compostos de fosfato de cálcio são extremamente atraentes. Eles apresentam similaridades químicas e físicas com o osso humano

(OHGUSHI, GOLDBERG, CAPLAN, 1989). Essas vantagens são confirmadas por vários estudos (HOLMES & HAGLER, 1988; THALLER, KIM, KAWAMOTO, 1989; THALLER et al., 1990).

2.6.1 Osso bovino mineral inorgânico

Dentre todos os materiais o osso bovino mineral desproteínizado (OBMD)¹⁷ mostra-se com propriedades especialmente favoráveis (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998). Trata-se de carbonato apatita (THALLER et al., 1994), naturalmente poroso, 100% cristalino (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998) e com módulo de elasticidade similar ao osso natural, descrito como hidroxiapatita derivada do boi (HÜRZELER et al., 1997). Devido à sua estrutura natural, é comparável física e quimicamente à matriz óssea mineralizada humana (AICHELMANN-REIDY & YUKNA, 1998).

O material é processado de modo que se remova todo material orgânico e se mantenha a microestrutura óssea (CALLAN & ROHRER, 1993). A remoção total de proteínas faz esse material ser totalmente destituído de antigenicidade (THALLER et al., 1994), é considerado biocompatível (HÜRZELER et al., 1997), e promove crescimento ósseo por dentro de suas cavidades naturais (FUKUTA et al., 1992; KLINGE et al., 1992; SCHLICKWEI et al., 1993; THALLER et al., 1993; WETZEL, STICH, CAFFESSE, 1995; BERGLUNDH & LINDHE, 1997; HÄMMERLE et al., 1998).

O material xenógeno facilita a formação óssea na presença de células precursoras osteogênicas (URIST & McLEAN, 1952; BOYNE, 1970a) e é capaz de ser utilizado em reconstruções ósseas alveolares, nas aplicações buco maxilo-faciais (CALLAN & ROHRER 1993).

As partículas de OBMD são bem integradas ao osso regenerado do hospedeiro THALLER et al., 1993; HÄMMERLE et al., 1998), isto é, o material está em contato direto com o novo osso, não apresenta reação imunológica (COHEN et al., 1994) e depois sofre processo de reabsorção osteoclástica (HÄMMERLE et al., 1998).

O Bio-Oss® é viável em várias formas: esponjoso, fragmentos de cortical, particulado e blocos esponjosos cobertos de colágeno¹⁸. A grande vantagem desses materiais sobre os substitutos aloplásticos são os grupamentos carbonatos, responsáveis pelo íntimo relacionamento do material bovino com o osso humano. Além disso, Bio-Oss® particulado apresenta como vantagem adicional,

¹⁷ Bio-Oss®, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland; Bio-Oss® - Osteohealth Co, Shirley, NY e OsteoGraf® CeraMed Corp., Lakewood, CO.

¹⁸ Bio-Oss® Collagen Sponge

maior área de superfície, que faz dele um material com maiores propriedades osteocondutoras (BOYNE, 1993). Clinicamente, a forma particulada do Bio-Oss® já foi utilizada com sucesso nas técnicas de aumento de rebordo alveolar e de colocação de implantes osseointegrados (SHAFFER, 1991; BOYNE, 1993).

Pouco foi escrito sobre o efeito do colágeno na regeneração óssea. Trata-se de osso bovino inorgânico esponjoso acrescido de 10% de colágeno bovino tipo I (COHEN et al., 1994). Alguns autores, em estudos com animais, relataram que o colágeno gerou uma resposta inflamatória que retardou a reconstituição do tecido duro até que o colágeno fosse completamente reabsorvido (THALLER et al., 1994).

A hidroxiapatita bovina compartilha muitas características e vantagens com o osso desmineralizado/ congelado/seco: 1) os pacientes não necessitam de sítio doador próprio, 2) viabilidade de quantidade ilimitada de material, 3) material de fácil manuseio e 4) os resultados são previsíveis quando aplica-se os princípios cirúrgicos e de esterilização. Porém, o osso xenógeno mineral oferece uma vantagem a mais: a impossibilidade de transmissão de doença devido a remoção completa dos elementos orgânicos do material (CALLAN & ROHRER, 1993).

2.6.2 Estudos experimentais *in vivo* utilizando osso bovino mineral inorgânico

Callan e Rohrer (1993) utilizaram OBMD em dois pacientes com defeitos em rebordos edêntulos, associado à colocação de implantes osseointegrados. Após análise histológica, ambos pacientes demonstraram excelentes resultados clínicos com confirmação de formação óssea. O material foi bem tolerado e não causou reação inflamatória adversa. Clinicamente, melhorou-se o contorno do rebordo fornecendo sítio favorável à colocação de implantes. Conclusão dos autores: material apropriado para procedimentos de enxertia e para transformação em tecido ósseo.

Cohen et al (1994) avaliaram as alterações inflamatórias, causadas no tecido subcutâneo de ratos, associadas à utilização de enxertos de osso bovino inorgânico. Os anticorpos circulantes das proteínas do soro bovino não foram encontradas em nenhum animal examinado, e indicou a ausência, sistêmica ou local, de resposta imune mediada por células.

Paul et al encontraram nenhuma reação de corpo estranho, contra o biomaterial ósseo bovino, quando utilizaram-no em tíbias de coelhos durante acompanhamento de 1, 6 e 12 meses. Além dis-

so, descreveram osteoclastos nas suas lacunas sugerindo remodelamento ósseo fisiológico ao redor das partículas do material (apud HÜRZELER et al., 1997).

Alguns estudos de 1997, avaliaram o OBMD como material de preenchimento em procedimentos de regeneração óssea guiada, na calvária de coelhos. O material, combinado à membrana reabsorvível de ácido polilático, possibilitou aumento da taxa de formação óssea quando comparado aos sítios controles preenchidos com sangue (HÄMMERLE et al., 1997; SCHMID et al., 1997).

Hürzeler et al (1997) utilizaram osso bovino mineral inorgânico, em macacos, durante procedimento de enxertia no seio maxilar e colocação de implantes osseointegrados. Histologicamente, os seios enxertados exibiram significativa formação óssea com integração das partículas do osso bovino ao novo osso. O contato direto de osso mineralizado sobre a superfícies dos implantes foi maior naqueles instalados 4 meses após a enxertia, do que naqueles instalados simultaneamente à cirurgia. Conclusão dos autores: osso bovino inorgânico facilitou a formação óssea e a osseointegração dos implantes.

Hämmerle et al (1998) testaram, em macacos, o efeito do OBMD em procedimentos de regeneração óssea guiada, em defeitos ao redor de implantes osseointegrados. Os resultados demonstraram que o material exibe propriedades osteocondutoras e que pode ser usado com sucesso, também, em defeitos ósseos ao redor de implantes, mas sempre associados à membranas. A utilização de membranas de ePTFE, apresentou maior influência no grau de regeneração óssea que o próprio substituto ósseo.

Esses achados estão de acordo com outros estudos, nos quais a utilização isolada de enxertos ósseos ou materiais substitutos de enxertos ósseos, demonstraram resultados muito inferiores àqueles obtidos com os mesmos materiais, porém, combinados à membranas (PINHOLT et al., 1992; JENSEN et al., 1995).

A utilização do OBMD, na implantodontia, não representa obstáculo para a migração de células ósseas junto à superfície dos implantes. Vários estudos demonstram nenhum contato entre as partículas do material e a superfície do implante (BERGLUNDH & LINDHE, 1997; HÄMMERLE et al., 1998).

A hidroxiapatita bovina merece consideração como alternativa de enxerto para o material alógeno congelado/seco, principalmente porque é cada vez maior o número de pessoas que não aceita receber material alógeno frente ao risco de transmissão de doenças.

2.7 A fixação rígida na presença de enxertos ósseos aposicionais

Enxertos ósseos aposicionais são amplamente utilizados na restauração e aumento de rebordos do sistema esqueleto crânio-facial. Estudos clínicos e experimentais demonstram, porém, que existe geralmente perda significativa e imprevisível do volume do enxerto causado pela reabsorção óssea. Este fenômeno tem induzido muitas investigações, e suspeita-se que múltiplos fatores sejam responsáveis pela sobrevivência do enxerto (HARDESTY & MARSH, 1987; PHILLIPS & RAHN, 1988; LIN et al., 1990).

O efeito da fixação rígida na sobrevivência do enxerto ósseo foi estudado por Philips e Rahn (1988). Utilizando mandíbula de ovelha como sítio para o procedimento de enxertia, demonstraram uma melhor sobrevivência dos enxertos fixos sobre aqueles sem fixação. Enxertos membranosos fixos sobreviveram 10% mais (85% de sobrevivência) que os enxertos membranosos sem fixação. Os enxertos endocondrais fixos sobreviveram com 75% de seus volumes, enquanto os enxertos endocondrais sem fixação mantiveram somente 17% do volume. Qualquer movimento entre os ossos induz a um aumento da reabsorção.

La Trenta et al (1989) em modelo com cães, determinaram que enxertos ósseos "inlays" sobreviviam 10% melhor que os enxertos "onlays", e que a fixação rígida aumentava a sobrevivência sobre aqueles fixos com sutura. A sobrevivência do osso endocondral foi aumentada em 50% e a sobrevivência do osso membranoso foi aumentada em 10%. A origem embriológica foi o único determinante significativo da manutenção do volume nos ossos sobreviventes. Estudos histológicos demonstraram união óssea nos enxertos fixos rigidamente, enquanto uma união fibrosa predominou nos enxertos com fixação não-rígida.

Os autores acreditam que os efeitos da fixação rígida na sobrevivência do enxerto ósseo pode ser explicada de três maneiras: (1) a imobilização favoreceu a vascularização mais rápida; (2) a compressão permitiu maior superfície de contato entre o sítio do enxerto e o enxerto, permitindo melhor "creeping substitution", minimizando a fase reabsortiva e estimulando mais cedo o aparecimento da fase aposicional de cicatrização óssea; (3) a consolidação antecipada do enxerto e o sítio receptor permitiram o aparecimento mais cedo da fase aposicional e um crescimento mais eficiente de células osteogênicas. Neste estudo, o sítio receptor foi considerado como não tendo influência na sobrevivência dos enxertos ósseos.

Phillips e Rahn (1990) avaliaram os efeitos da fixação na revascularização e deposição óssea de enxertos ósseos aposicionais membranosos e endocondrais. Eles notaram que, em 2 semanas, o osso membranoso demonstrou maior revascularização quando fixo do que quando sem fixação. O resultado oposto foi observado para os enxertos endocondrais, onde a revascularização foi maior nos enxertos sem fixação. Outros fatores, além da revascularização propriamente dita, determinaram a manutenção do enxerto ósseo devido aos resultados variados.

Lin e colaboradores (1990) demonstraram que, em áreas de grande movimentação (fêmur de coelho), a fixação rígida aumenta a sobrevivência do enxerto ósseo, enquanto que em áreas de baixa movimentação (focinho de coelho), nenhuma melhora na manutenção do volume do enxerto foi percebida. Este estudo também confirma observações prévias que enxertos de ossos membranosos apresentam maiores sobrevivências que os endocondrais quando colocados em posições idênticas e submetidos aos mesmos fatores ambientais locais. Muito importante notar também que embora a sobrevivência do enxerto endocondral seja melhorada pela fixação, este fato fez deles equivalentes aos ossos membranosos sem fixação. Eles perceberam diminuição na reabsorção, no período logo após o enxerto, com a fixação rígida (o período mais importante para perda de osso) e acreditam que esta exerce sua influência somente neste período imediato pós-enxerto. Uma vez que o enxerto tenha se tornado aderente ao sítio, a fixação rígida não teria mais papel prolongado na manutenção do mesmo. Os autores demonstram nenhuma diferença nos modelos de revascularização dos enxertos com e sem fixação, a exceto de um pequeno aumento no crescimento vascular ao redor do parafuso de fixação (LIN et al., 1990).

Os autores concluem o trabalho da seguinte maneira:

“Como sempre, extrapolar observações experimentais às situações clínicas demanda cuidado e observação continuada. Porém, baseado nos estudos relatados, nós acreditamos que as recomendações que seguem podem ser feitas quando utiliza-se enxertos ósseos aposicionais:

- a) enxertos ósseos membranosos são os autoenxertos preferidos, independente do sítio receptor ou método de fixação;
- b) em áreas onde alto estresse é esperado, a fixação rígida deveria ser utilizada com o objetivo de minimizar a reabsorção óssea do enxerto. Isto torna-se

especialmente verdadeiro quando enxertos endocondrais são utilizados (ex: crista ilíaca);

- c) em áreas de baixo estresse, qualquer método que garanta o contato do enxerto ao sítio receptor pode ser utilizado. Isto inclui qualquer forma de parafuso e placas, amarras ou simplesmente um envelope aderente de tecido mole (LIN et al., 1990)."

2.8 A fixação rígida na presença de fraturas ósseas

Diante de uma fratura óssea, faz-se necessário recuperar a continuidade estrutural do osso em questão, de modo a restituir sua capacidade de suportar carga. Desde que o alinhamento entre fragmentos seja possível, esta recuperação é feita através da aplicação de placas ou dispositivos de fixação. Quando existe espaço entre os fragmentos, as cargas são transmitidas, de um fragmento ao outro, por meio das placas ou elementos de fixação (MORA, 2000).

A maioria dos defeitos ósseos cicatriza-se sem complicações devido a capacidade de regeneração desse tecido (ao contrário do reparo por tecido cicatricial). No entanto, movimentos excessivos, durante o processo de cicatrização, podem romper o estroma que serve como estrutura para a regeneração óssea, induzindo à formação de tecido fibroso (cicatriz) (SPECTOR, 1994).

Muitos tipos de fraturas exigem fixação interna ou externa para prevenir a movimentação. Implantes ortopédicos necessitam de macroestrutura ("designs") que lhes forneçam estabilidade durante o processo cicatricial e permitam a osseointegração. Nestas situações clínicas, podem existir espaços (*gaps*) entre as extremidades ósseas ou entre o osso e o implante. Se esse espaço for suficientemente grande (maior que poucos milímetros), o processo de regeneração óssea pode não alcançar a porção central da lacuna, formando tecido fibroso. Da mesma forma, defeitos ósseos grandes, resultantes da excisão de cistos ou tumores, por exemplo, podem não se preencherem completamente com a regeneração óssea (SPECTOR, 1994).

Infelizmente, é difícil prever quais cavidades ou defeitos ósseos serão completamente preenchidos com tecido duro, devido as diferenças intrínsecas a cada situação: quantidade de osteoblastos viáveis, vascularização e outros fatores. Um desses fatores está relacionado à estrutura do estroma viável para suportar migração e proliferação celular (SPECTOR, 1994).

Estudos prévios mostram que os espaços tornam-se completamente unidos, pela regeneração óssea, se preenchidos com material alógeno ou com material substituto de enxerto ósseo apropriado. Outro benefício dessas substâncias, é que ainda servem como "agentes de adesão", proporcionando estabilidade mecânica adicional ao sítio da ferida durante a cicatrização (SPECTOR, 1994).

Muita atenção tem-se dispensado ao papel da fixação rígida na promoção da cicatrização de fraturas crânio-faciais (PHILLIPS & RAHN, 1988). Mecanicamente, tem-se demonstrado que a fixa-

ção, através da compressão interfragmental, tende a neutralizar forças de torção e cisalhamento, permitindo o crescimento de novo osso sem a interposição de tecido cartilaginoso. Quando este método é aplicado a dois segmentos viáveis de fratura, tem-se demonstrado melhora da cicatrização (PERREN, 1979).

Perren (1980) postulou que o tecido não pode se manter sob condições que excedam seu módulo de elasticidade. Nesta teoria, alongamento ou tolerância ao esforço identifica a capacidade de um determinado tecido de tolerar deformação antes de se romper. Estas características descrevem a deformação relativa que um tecido pode suportar. O autor demonstrou que o tecido de granulação pode tolerar 100% de alongamento, a cartilagem 10%, e o osso 2%. O osso, por essa razão, apresenta tolerância limitada aos esforços.

Phillips e Rahn (1988) enfatizaram que a reabsorção óssea predomina na presença de movimentação em áreas com contatos intermitentes ou pouca fixação. O processo é bem conhecido na ortopedia (áreas de grande esforço) e resulta na formação de tecido fibroso ou fibrocartilagem, como se o corpo estivesse desenvolvendo um tipo de tecido que fosse capaz de se manter sob estas circunstâncias de esforço (estresse).

A fixação rígida apresenta vantagens e desvantagens. Tem sido muito questionada a utilização da fixação rígida em crianças e em adolescentes. Marchac (1991) comentou que não recomendava a utilização de micro-placas na região frontal devido a possível migração, através do crescimento ósseo, e penetração da dura-máter pelos parafusos ou placas. Achados similares foram observados por Munro (1993), Morales (apud MANSON, 1994) e Vender Kolk (apud MANSON, 1994).

Losken et al (1991) demonstraram que os efeitos positivos da fixação com placas em relação a estabilidade são suficientes para superar os poucos efeitos nos distúrbios do crescimento. Estes achados suportam a utilidade da fixação rígida apesar de seus pequenos efeitos no crescimento.

Um dos mais promissores trabalhos na manipulação óssea tem envolvido a utilização da distração gradual de ossos seguida de corticotomia limitada (DeBASTIANI et al., 1987; KARP et al., 1992). O processo de "prolongamento ósseo" tem se tornado uma realidade clínica após os trabalhos de Ilizarov (1988, 1989a, 1989b) na Rússia e de DeBastiani (1987) na Itália.

Recente ênfase tem sido dado ao desenvolvimento de fatores químicos que poderiam induzir a formação óssea (URIST, DELANGE, FINERMAN, 1983; BERNICK et al., 1989; MARK et al., 1990).

Os complexos fatores que envolvem a manutenção do enxerto ósseo têm sido revistos em termos de sua fisiologia. Os enxertos ósseos, essenciais para a reconstrução das injúrias faciais, reconstrução de tumores, cirurgias crânio-faciais e ortognáticas, são essenciais para as terapias reconstrutivas. A enxertia óssea, reparo de fratura, e expansão do esqueleto crânio facial demonstram modelos de cicatrização similares histológica e clinicamente. Os processos descritos são essenciais para o sucesso da cirurgia crânio-facial (MANSON, 1994).

2.8.1 Parafusos como implantes ortopédicos

O sistema de fixação mais utilizado na ortopedia é o parafuso metálico. Ultimamente estão sendo utilizados diferentes materiais bioabsorvíveis para construção desses parafusos, com objetivo de eliminar uma série de complicações associadas ao uso do metal. A principal desvantagem dos parafusos metálicos é a necessidade da segunda intervenção cirúrgica para remoção dos mesmos após terem cumprido suas funções. Este ato implica em desconforto para o paciente e aumento do custo do procedimento (MORA, 2000).

Recomenda-se que todos os implantes metálicos utilizados na fixação de fraturas sejam removidos (MÜLLER et al., 1991). O desenvolvimento de implantes bioabsorvíveis é uma meta de pesquisa a curto prazo, uma vez que não necessitam de remoção e oferecem vantagens clínicas maiores (BÖSTMAN, 1991).

A reconstrução arquitetônica de defeitos ósseos causados por infecções, malformações, remoção de cistos e tumores e outros, conduzem os especialistas a uma tarefa ortopédica de grandes dimensões. A necessidade de induzir a regeneração óssea com o fim de recuperar deficiências estruturais tem inspirado o desenvolvimento e a aplicação de um vasto número de materiais (HOLLINGER et al., 1996).

A equipe de pesquisadores do Curso de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina, representados no trabalho de tese de Mora (2000), confeccionou parafuso de osso humano alógeno, com objetivo de substituir os equivalentes metálicos nas cirurgias ortopédicas. Estudos prévios demonstraram que a preservação e o congelamento de material alógeno de cortical, permitem que o mesmo conserve suas propriedades de resistência às forças de compressão, torção e flexão (apud MORA, 2000).

Estudos feitos ao longo de anos tem levado os fabricantes de parafusos ortopédicos a desenvolver geometrias especiais tanto do corpo do parafuso como de suas roscas. A diferença da geometria entre os parafusos de uso comum na engenharia e os ortopédicos está no fato que os perfis de roscas destes últimos são previstos tanto para otimizar a função mecânica como a biológica (MORA, 2000).

A geometria dos parafusos para implantes ortopédicos da Associação Suíça para o Estudo da Osteosíntese (*Arbeitsgemeinschaft Osteosynthesefragen – Tipo AO*) tornaram-se padrão universal. A rosca presente é conhecida como “rosca assimétrica” ou de “apoio”, dada a forma do seu perfil, e trata-se de rosca não-auto-rosqueável. Existe uma relação importante entre a forma da rosca e o comportamento celular próximo a ela (MORA, 2000).

2.8.2 Tipos de parafusos

Os parafusos ortopédicos são classificados de acordo com a sua função e geometria, mas, seguindo a orientação apresentada em Müller et al (1991), na prática ortopédica eles são diferenciados segundo os seguintes critérios:

a) forma como são inseridos no osso (auto-rosqueáveis e não-auto-rosqueáveis)

Os parafusos auto-rosqueáveis são aqueles introduzidos após confecção de um furo piloto. Na medida em que são girados, criam suas próprias roscas no osso de modo similar ao que ocorre com um parafuso para madeira. Quando introduzidos criam uma elevada resistência ao avanço, especialmente em ossos corticais. É possível que ocorra a ruptura do parafuso devido à elevada força e torque necessários para sua introdução. Em geral, um parafuso auto-rosqueável pode ser utilizado uma única vez dada a possibilidade de dano ao perfil da rosca.

De forma contrária, os parafusos não-auto-rosqueáveis são aqueles introduzidos após confecção prévia da rosca por um macho espiralado com mesma dimensão do parafuso. Podem ser utilizados de forma semelhante aos parafusos da engenharia mecânica ou como parafusos interfragmentários na ortopedia. A precisão geométrica da união e a resistência à introdução são menores que nos parafusos auto-rosqueáveis.

b) tipo ósseo para o qual foram concebidos

- Parafuso de osso cortical

- Parafuso de osso esponjoso
- Parafusos de osso maleolar

Um parafuso de osso cortical é concebido para unir fragmentos de osso cortical, geralmente apresenta o comprimento totalmente rosqueado e classifica-se como parafuso não-auto-rosqueável. As razões que justificam a grande variedade de tamanhos desses parafusos pode ser encontrada em Müller et al (1991), que afirma que o poder de fixação de um parafuso diminui à medida que o diâmetro deste fica em torno de 40% do diâmetro do osso.

Os parafusos de osso esponjoso possuem profundidade de rosca maior e diâmetro de núcleo menor. Esta geometria promove um poder maior de fixação do parafuso quando utilizado em tecido ósseo esponjoso. Podem ser encontrados total ou parcialmente rosqueados. Assim, tanto a rosca como o tamanho do parafuso são diferentes daqueles do parafuso para osso cortical. São projetados para serem não-auto-rosqueáveis, dessa forma são utilizados para gerar a rosca na medida em que penetram no osso esponjoso dada a facilidade para fazê-lo neste tipo de tecido (MÜLLER et al., 1991).

Quando for necessário confeccionar a rosca (caso de algumas fraturas), somente a parte cortical do osso é rosqueada, permitindo assim a introdução do parafuso no tecido esponjoso sem maiores dificuldades. Este método é conveniente uma vez que a penetração da rosca do parafuso, no osso esponjoso, comprime o material e promove maior poder de fixação (MÜLLER et al., 1991).

Os parafusos de osso maleolar foram desenvolvidos para a fixação do malleolus médio (parte anatômica da tíbia na articulação com os ossos do pé). São parcialmente rosqueados e são exemplo da mistura de características de parafusos auto-rosqueáveis e não. O perfil da rosca é concebido como para um parafuso não-auto-rosqueável, mas a ponta atua como um gume que promove a auto-geração da rosca. A aplicação mais comum é como parafuso de união inter-fragmentária (MÜLLER et al., 1991).

c) função (inter-fragmentários)

Um parafuso inter-fragmentário é aquele cuja rosca somente é utilizada na cortical mais afastada de um dos fragmentos que precisam ser fixados. Existem parafusos inter-fragmentários para osso cortical, para osso esponjoso e maleolares de diversos tamanhos e com rosca completa ou parcial no corpo.

2.8.3 Roscas e pontas

A rosca tipo AO é conhecida como “Rosca Assimétrica” ou de “Apoio”, dada a forma do seu perfil, e trata-se de rosca não-auto-rosqueável. Uma segunda forma de rosca corresponde à “Rosca Simétrica”, mais propriamente a rosca tipo V, é auto-rosqueável. Teoricamente, os dois tipos de rosca devem apresentar um poder de fixação igual quando utilizados nas mesmas condições, desde que possuam o mesmo diâmetro interno. Contudo, o mesmo não ocorre quando se considera o comportamento biomecânico destes tipos de roscas. Existe uma relação importante entre a forma da rosca e o comportamento celular próximo a ela (MORA, 2000).

A ponta nos parafusos ortopédicos é utilizada, em muitos casos como ferramenta para guiar a rosca do parafuso sobre o osso. São três os tipos de pontas presentes nos parafusos mais utilizados na ortopedia: redonda, aflautada e trocar (MORA, 2000):

A ponta aflautada é própria dos parafusos auto-rosqueáveis, assim como a ponta redonda é característica dos parafusos não-auto-rosqueáveis. Esta última ponta permite um poder de fixação maior dos parafusos quando comparado àqueles de ponta aflautada, uma vez que uma parcela maior de rosca trabalha.

A ponta trocar é utilizada em parafusos para osso maleolar. Essa classe de ponta não confecciona a rosca no osso ao penetrá-lo, mas desloca material produzindo efeito de acúmulo ou compactação desse na periferia do parafuso. O resultado é maior poder de fixação do parafuso (MORA, 2000).

2.8.3.1 Efeito do tipo de rosca e reação biológica às forças geradas pelo parafuso

O tecido ósseo reage biologicamente à presença de forças atuantes em sua estrutura celular, e considera o “implante” um corpo estranho em maior ou menor grau. Dependendo do material, da geometria e do tipo de superfície que o parafuso tenha sido construído, haverá resposta óssea à excitação mecânica (induzida pelos fios da rosca), e à própria presença do implante com consequentes efeitos celulares, químicos e estruturais (MORA, 2000).

Caso o parafuso seja construído de material que possa ser metabolizado pelo organismo, ocorre, além da reação do tecido ósseo às forças induzidas pela rosca, interação das reações de natureza química e biológica na interface osso/rosca. Essas últimas reações geram efeitos determi-

nantes tanto no poder de fixação como na rejeição que possa ter o tecido ao implante (MORA, 2000).

A presença de micro-movimentações entre as roscas do parafuso e o osso inibe a formação de novo osso, a revascularização e em geral o remodelamento do osso necrótico. O parafuso torna-se envolvido por tecido fibroso, ou seja, ocorre encapsulamento do material com conseqüente afrouxamento do parafuso (JOHNSON, URIST, FINERMAN, 1990).

Conclui-se que, em casos de fixação estável ocorrerá a formação de células osteoblásticas, mas se a fixação estiver sujeita à micro-movimentações formar-se-ão fibroblastos ou condroblastos e o resultado será uma união instável (MORA, 2000).

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar, através da microscopia de luz (óptica), o comportamento tecidual do parafuso de osso bovino instalado em tibia de coelho em relação a presença ou ausência de:

- a) reabsorção do parafuso de osso
- b) tecido ósseo neo-formado
- c) osso necrótico
- d) células inflamatórias e
- e) fibrose para que possamos inferir a possibilidade da sua utilização como:

- 1) material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo;
- 2) dispositivo de fixação de membranas reabsorvíveis;
- 3) dispositivo de fixação de enxertos ósseos tipo aposicional;
- 4) dispositivo de estabilização de fraturas ósseas intra e extra-buciais em seres humanos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa utilizou 09 coelhos adultos, machos albinos, da raça New Zealand, com peso médio de 3,5 Kg. Todos os animais tinham entre 9 e 12 meses de idade. Oito (08) coelhos receberam 01 parafuso de osso cortical bovino inorgânico rosqueável na tíbia traseira direita. Um (01) animal controle passou pela cirurgia, no entanto, não recebeu parafuso.

Os animais foram mantidos tempo integral na Clínica Veterinária "Green Cross", (localizada no bairro do Kobrasol em Florianópolis-SC) em gaiolas isoladas e assistidos diariamente pelos Médicos Veterinários: Marcelo H. Plus da Silveira (CRMV-SC 1646) e Paulo Coelho Castilho (CRMV-SC 1625).

Todos os parafusos de osso bovino empregados foram usinados no Curso de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina. A matéria-prima (osso cortical bovino inorgânico) foi fornecida pela empresa brasileira Baumer¹⁹, divisão Genius® biomateriais, cujos produtos encontram-se devidamente registrados no Ministério da Saúde (FIGURAS 6, 7, 8, 9, 10 e 11). As diretrizes de usinagem e maiores detalhes técnicos sobre a confecção do parafuso podem ser encontrados no trabalho de dissertação de Bertholdo Werner Salles (2002).

4.1 Anestesia

Os animais foram submetidos à aplicação intramuscular de um pré-anestésico relaxante muscular, cloridrato de xilazina²⁰ na dose de 3 miligramas por Kg de peso corporal. Para sedação completa injetou-se, via intramuscular após 5 minutos, o anestésico cloridrato de quetamina²¹ na dose de 25 miligramas por Kg de peso corporal. A manutenção anestésica foi feita com halotano + O₂ (FIGURA 12).

Todas as anestésias foram aplicadas pelo médico-veterinário Paulo Coelho Castilho.

¹⁹ Av. Arnolfo de Azevedo, 210. Pacaembu – 01236-030. São Paulo/SP. Brasil. Fone: (11) 263 8555. E-mail: baumer@baumer.com.br.

²⁰ ROMPUM, Bayer, São Paulo/SP

4.2 Procedimento cirúrgico

Durante todo o procedimento cirúrgico, os animais foram controlados com monitor cardíaco (FIGURAS 13 e 14) e aplicação de soro intra-venoso (FIGURA 15).

Primeiramente, foram realizadas a tricotomia da área interna da tibia traseira direita, seguida pela antissepsia da pele com álcool iodado 3% e isolamento da área com campos cirúrgicos estéreis (FIGURAS 16 e 17).

A incisão linear de, aproximadamente, 2cm foi executada com bisturi Bard Parker e lâmina nº 15. As fáscias musculares foram separadas em camadas até exposição do tecido ósseo (FIGURAS 18, 19 e 20).

Com o tecido ósseo exposto, cada animal recebeu uma perfuração de 7 mm de profundidade e 2 mm de diâmetro executada com as brocas lança e *twist drill* de 2 mm do Kit Cirúrgico para colocação de implantes do Sistema Conexão. As perfurações foram executadas em alta velocidade (1600 rpm) e com irrigação profusa de soro fisiológico estéril (FIGURAS 21, 22, 23, 24 e 25).

Os parafusos foram instalados e estabilizados manualmente utilizando a catraca do mesmo Kit Cirúrgico e sob irrigação contínua de soro fisiológico (FIGURAS 26 e 27).

Após inserção do parafuso, as fáscias musculares foram suturadas com fio reabsorvível vicryl 6-0 (FIGURAS 28 e 29), e o tecido mole externo com fio de sutura de seda 4-0 (FIGURA 30).

Terminada a sutura, a área foi limpa com gaze embebida em água oxigenada e como medicação pós-operatória injetou-se antibiótico enrofloxacina 2,5%, na dose de 3 miligramas/Kg via intra-muscular, e a associação de analgésico + anti-inflamatório ketoprofeno 10% na dosagem de 1 miligrama/Kg, via intra-muscular.

Todas as cirurgias foram auxiliadas pelo médico-veterinário Marcelo H. Plus da Silveira.

4.3 Período experimental

Todos os animais foram sacrificados após 60 dias da colocação dos parafusos de osso bovino.

²¹ KETALAR, Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A, Guarulhos/SP

4.4 Sacrifício dos animais e remoção da peças

Os animais foram sacrificados aos 60 dias pós-operatórios, com uma overdose intravenosa de barbitúricos diluídos em solução salina. As peças (patas amputadas) foram dissecadas dos tecidos adjacentes (FIGURAS 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 e 38) e mantidas em solução fixadora de formol a 10% dentro de embalagens metálicas perfuradas (FIGURAS 39 e 40).

4.5 Técnica histológica para tecido duro

4.5.1 Fixação

Os fixadores são substâncias químicas que mantêm a integridade do tecido após a morte sem alteração da estrutura celular. O tempo de fixação depende muito do tamanho da peça. Os cortes de tecido duro não devem ter mais de 4 mm de espessura. A fixação geralmente é feita de 12 a 24 horas no formol à 10% (FIGURA 40).

4.5.2 Descalcificação

Consiste na remoção dos sais de cálcio que se encontram depositados nos tecidos orgânicos sem alteração da sua estrutura. Os descalcificadores usados foram: ácido fórmico à 50% e citrato de sódio à 20% (meio a meio) (FIGURA 41). As peças foram colocadas em solução descalcificadora em um volume 100 vezes maior ao da peça (FIGURA 42). Essa solução foi renovada, inicialmente, a cada 24 horas durante 3 dias. Posteriormente houve nova renovação após 48 horas; 2 novas trocas a cada 72 horas; e finalmente a última troca após 96 horas (QUADRO 3).

Algumas peças, imediatamente após a descalcificação, podem ser observadas nas FIGURAS 43, 44, 45 e 46.

4.5.3 Desidratação

A remoção de água do interior da célula é chamada desidratação. Todo tecido, antes de ser tratado pelo álcool absoluto, deve obrigatoriamente, ser progressivamente desidratado.

Desidratação: - tratar pelo álcool 70% por 24 horas

- tratar pelo álcool 80% por 2 horas
- tratar pelo álcool 90% por 2 horas
- tratar pelo álcool absoluto por 2 horas (trocar 2 vezes)

QUADRO 3: Datas das trocas da solução descalcificadora

DATAS DAS TROCAS DA SOLUÇÃO	
Solução descalcificadora: 100 ml ÁCIDO FÓRMICO 50% + 100 ml CITRATO DE SÓDIO 20%	09/01/2002: imersão das peças em solução
	10/01/2002: 1ª troca da solução
	11/01/2002: 2ª troca da solução
	12/01/2002: 3ª troca da solução
	14/01/2002: 4ª troca da solução
	17/01/2002: 5ª troca da solução
	20/01/2002: 6ª troca da solução
	24/01/2002: 7ª troca da solução
	28/01/2002: peças foram para laboratório continuar o processamento

4.5.4 Diafanização

Consiste na infiltração dos tecidos por um solvente da parafina, que seja ao mesmo tempo desalcoolizante. A parafina não se mistura com água nem com álcool. Ambos devem ser completamente removidos para que a parafina possa penetrar eficientemente no tecido. O solvente usado é o xilol, a quantidade é de 10 a 20 vezes o volume do tecido. São feitas 3 trocas a cada 1 hora.

4.5.5 Impregnação e Inclusão

O processo dos tecidos se faz por meio de parafina com uma temperatura de 56°C a 60°C. A inclusão é feita em parafina em caixas apropriadas, em uma temperatura de 60°C.

4.5.6 Corte

Para um bom corte a navalha tem que estar bem afiada. A má fixação dos tecidos não é a única responsável pela dificuldade em se cortar o material; os problemas de corte geralmente são ocasionados pela navalha ou pelo processamento.

Os tecidos duros geralmente são cortados com 5 ou 7 μ de espessura. O tecido mole com 3 a 4 μ de espessura.

4.5.7 Coloração

São as técnicas empregadas para facilitar o estudo dos tecidos sob microscopia. A coloração utilizada foi a hematoxilina-eosina.

A FIGURA 47 representa o conjunto das 09 lâminas e estão assim designadas:

- L1: lâmina do animal experimental 1
- L2: lâmina do animal experimental 2
- L3: lâmina do animal experimental 3
- L4: lâmina do animal experimental 4
- L5: lâmina do animal experimental 5
- L6: lâmina do animal experimental 6
- L7: lâmina do animal experimental 7 (coelho controle, que não recebeu parafuso na tibia)
- L8: lâmina do animal experimental 8
- L9: lâmina do animal experimental 9

4.6 Avaliação dos resultados

As lâminas foram examinadas em microscópio óptico com aumento final de 250 vezes e realizado análise descritiva quanto à presença ou ausência de:

- reabsorção do parafuso de osso
- tecido ósseo neo-formado
- osso necrótico
- células inflamatórias e
- fibrose

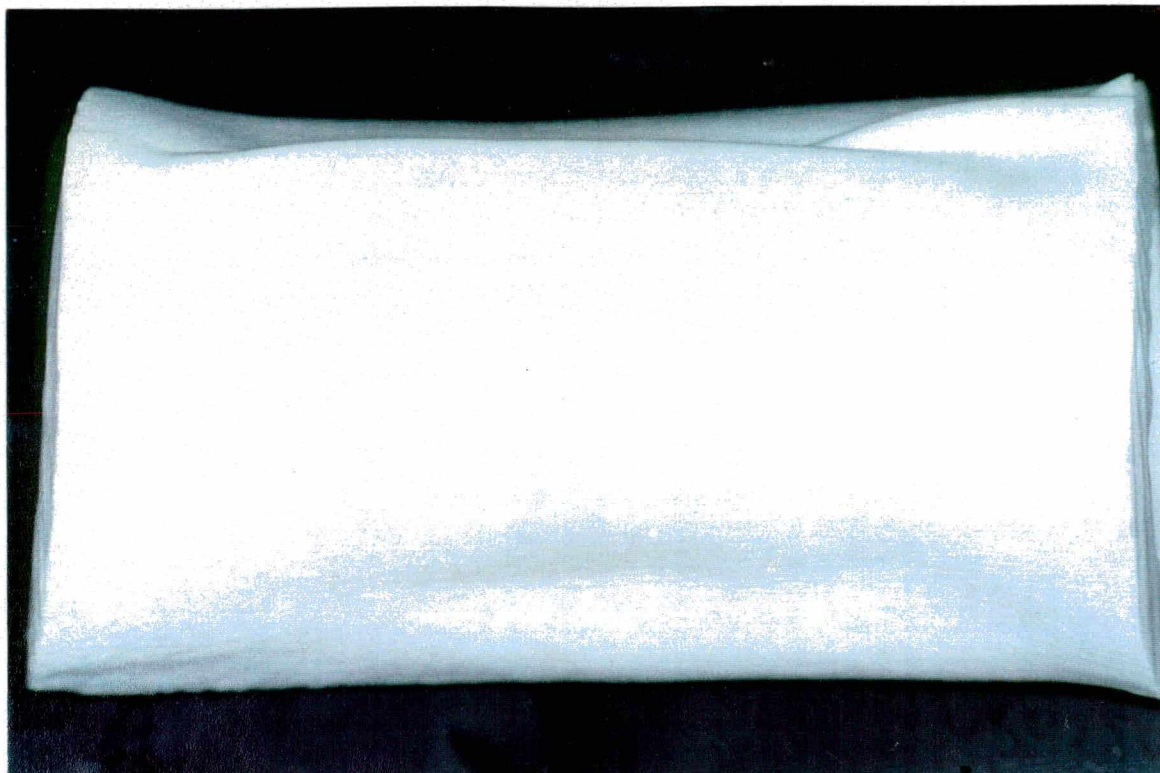


FIGURA 6: Vista lateral da matéria prima utilizada na usinagem dos parafusos.
Osso cortical bovino inorgânico

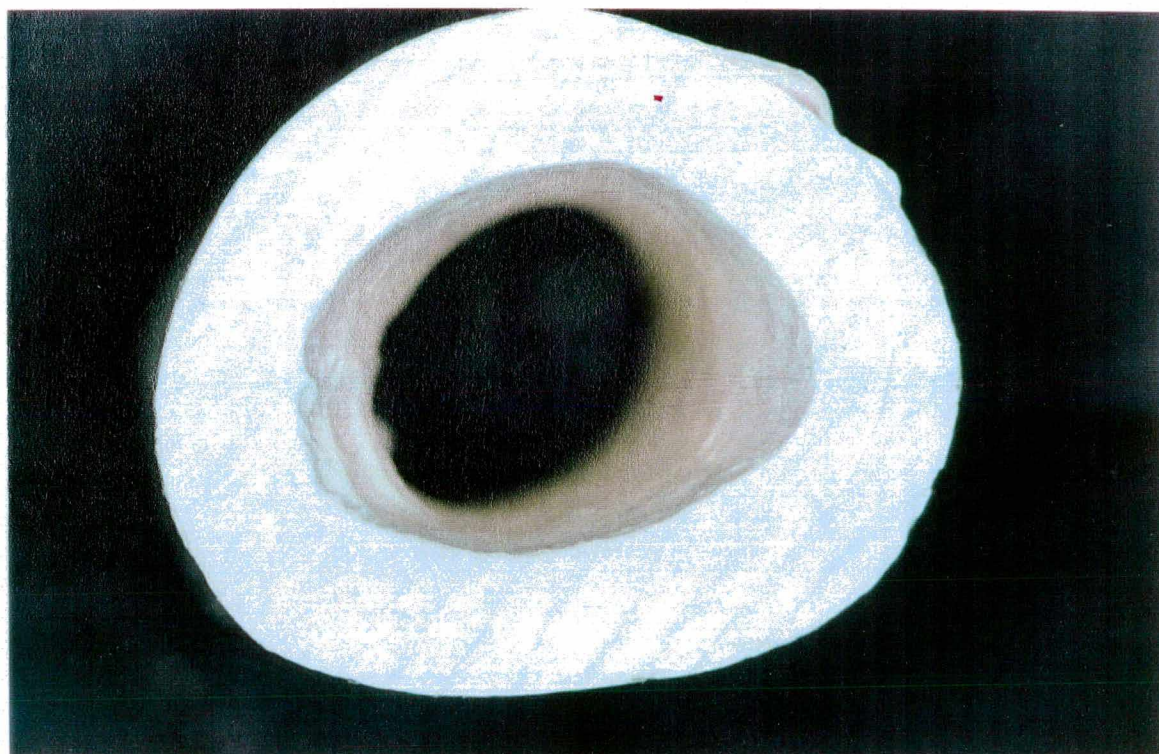


FIGURA 7: Vista axial da matéria prima utilizada na usinagem dos parafusos.
Osso cortical bovino inorgânico

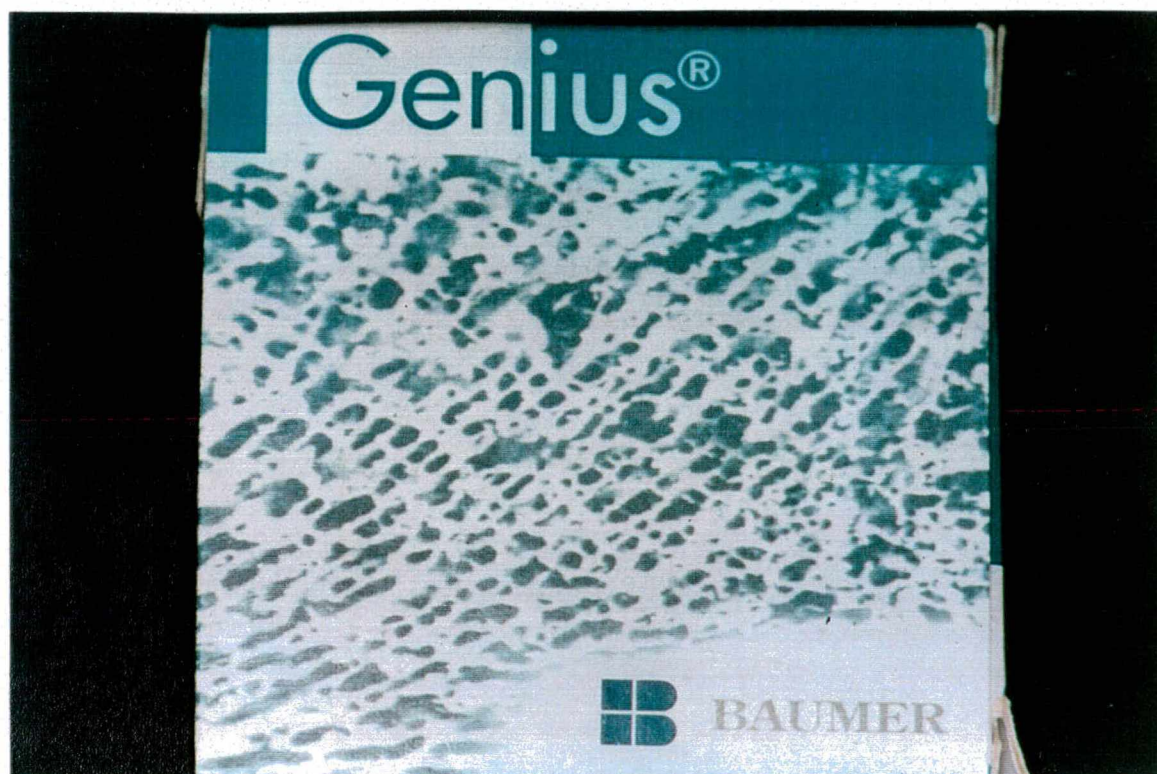


FIGURA 8: Embalagem externa do parafuso de osso bovino. Embalado pela empresa Baumer, divisão Genius®, biomateriais



FIGURA 9: Primeiro invólucro de segurança da embalagem do parafuso de osso bovino

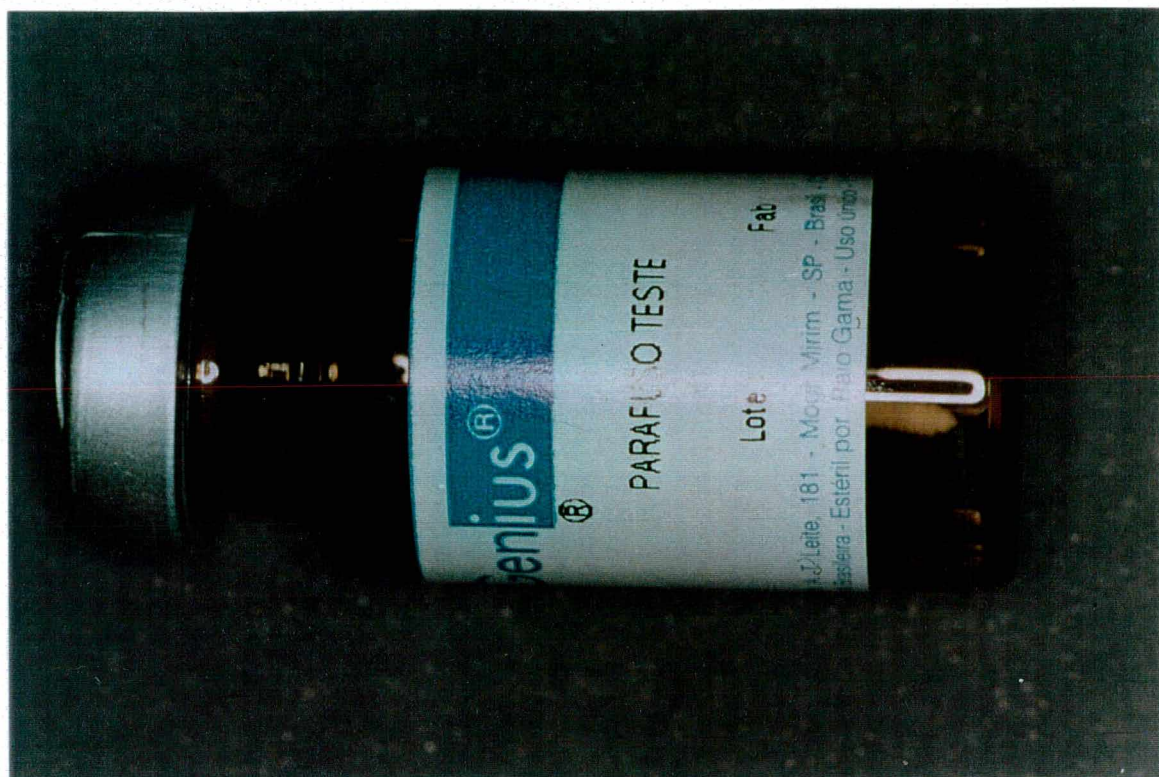


FIGURA 10: Embalagem interna do parafuso de osso bovino

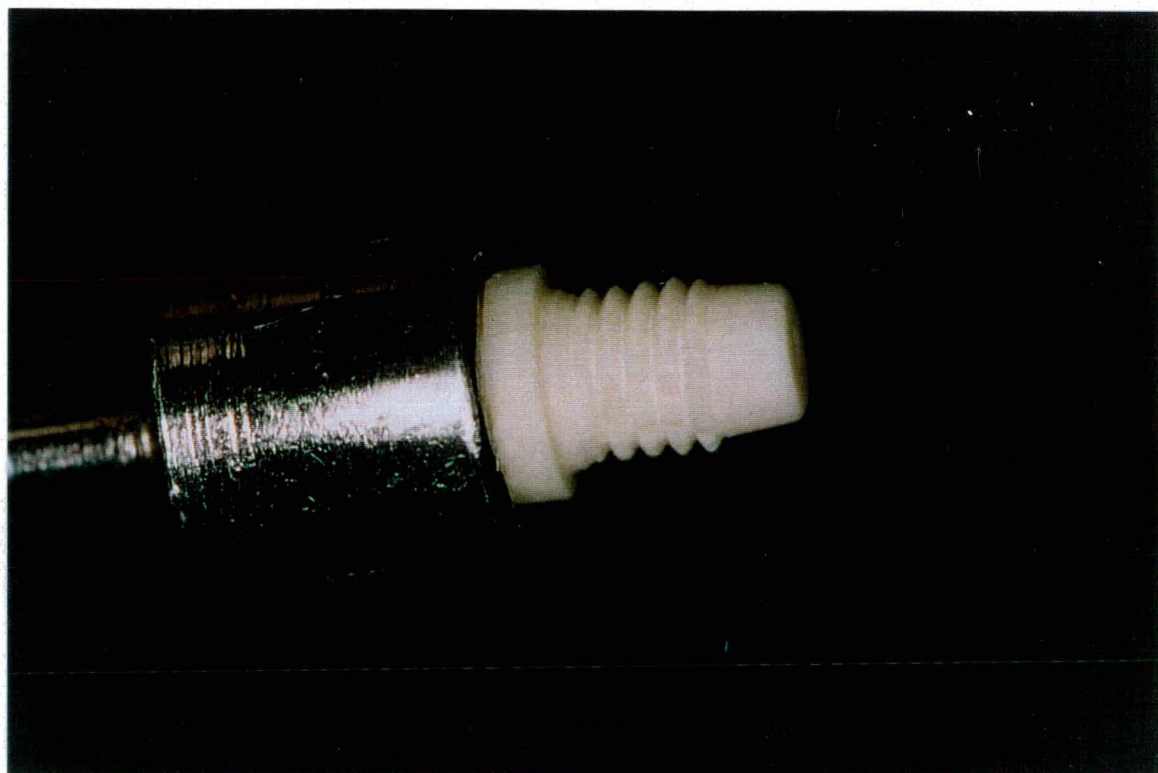


FIGURA 11: Parafuso de osso bovino



FIGURA 12: Manutenção anestésica com halotano + O₂

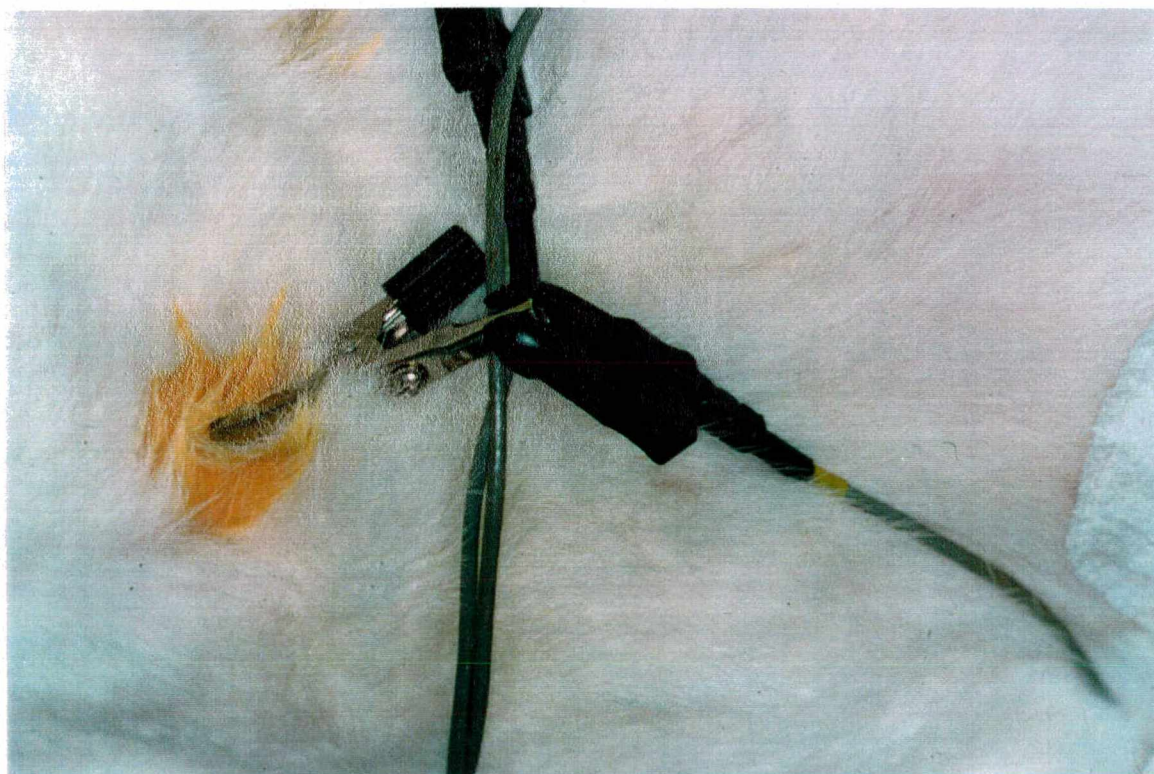


FIGURA 13: Eletrodos para monitoramento cardíaco do coelho

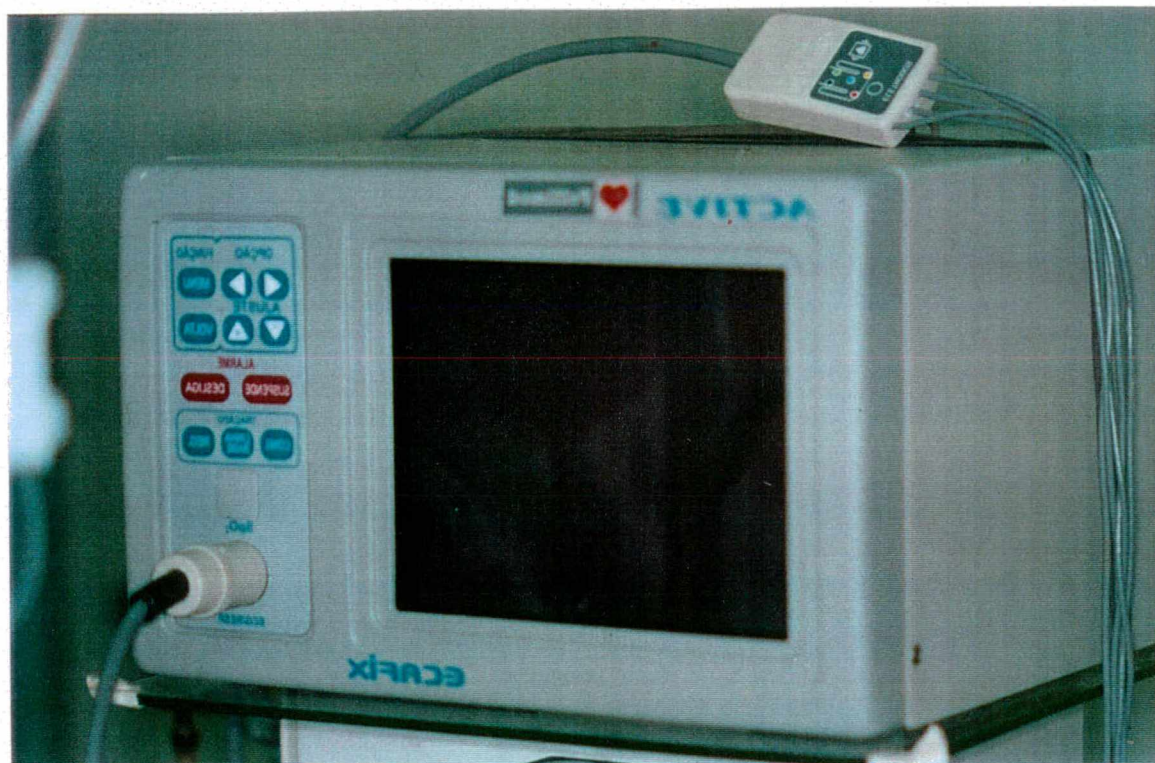


FIGURA 14: Aparelho para monitoramento cardíaco

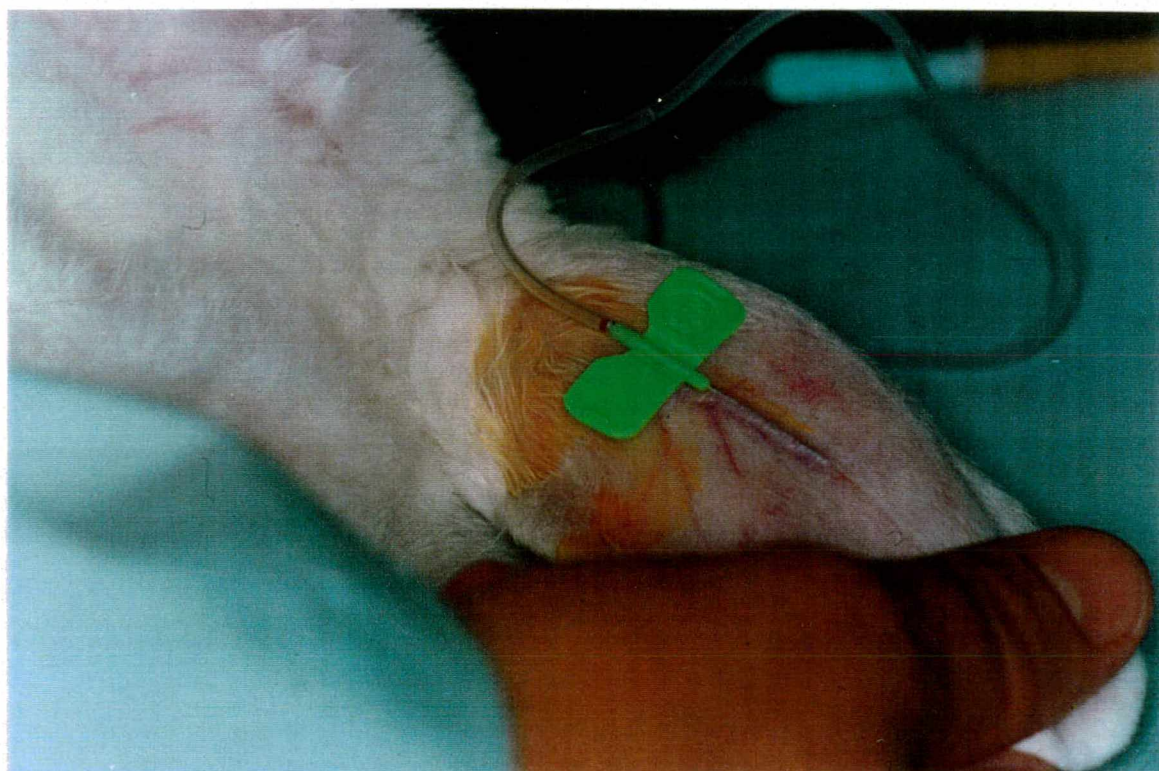


FIGURA 15: Aplicação de soro fisiológico



FIGURA 16: Tricotomia e antisepsia com álcool iodado



FIGURA 17: Tricotomia e antisepsia com álcool iodado



FIGURA 18: Incisão linear com bisturi Bard Paker lâmina 15



FIGURA 19: Incisão linear em planos



FIGURA 20: Exposição do tecido ósseo

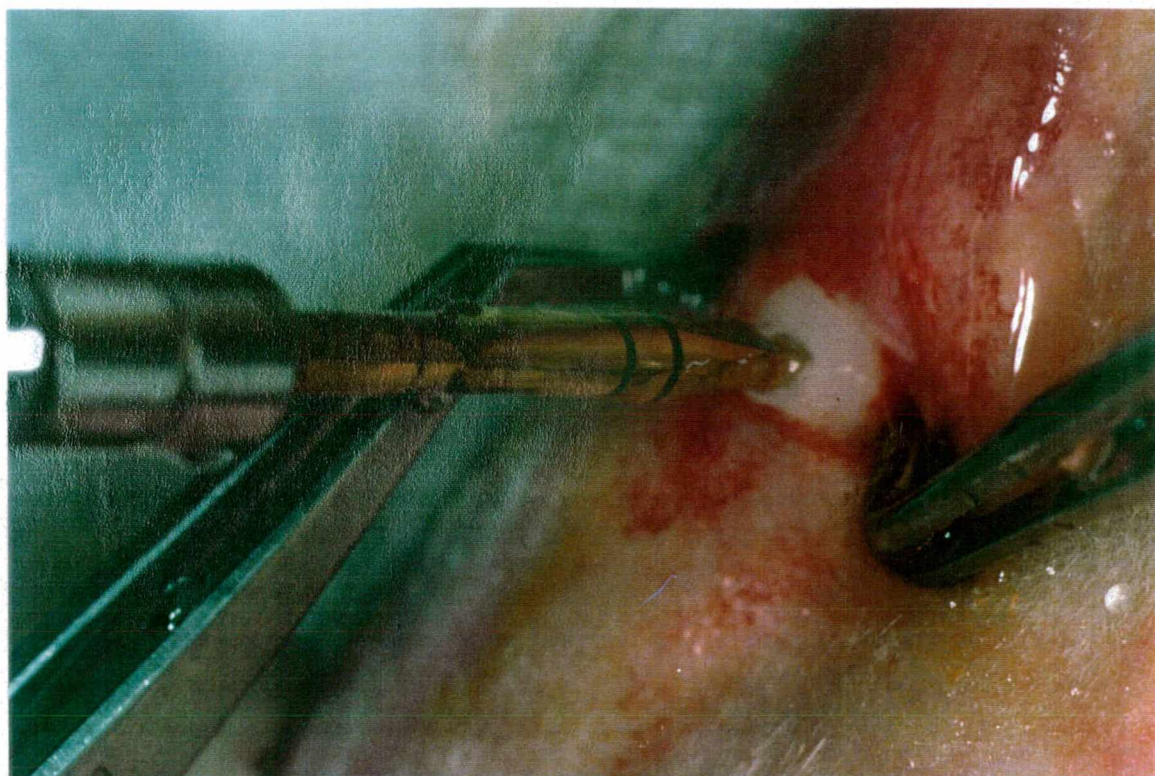


FIGURA 21: Perfuração do tecido ósseo com a broca lança do Sistema Conexão em alta rotação (aproximadamente 1600 rpm) e irrigação profusa com soro fisiológico

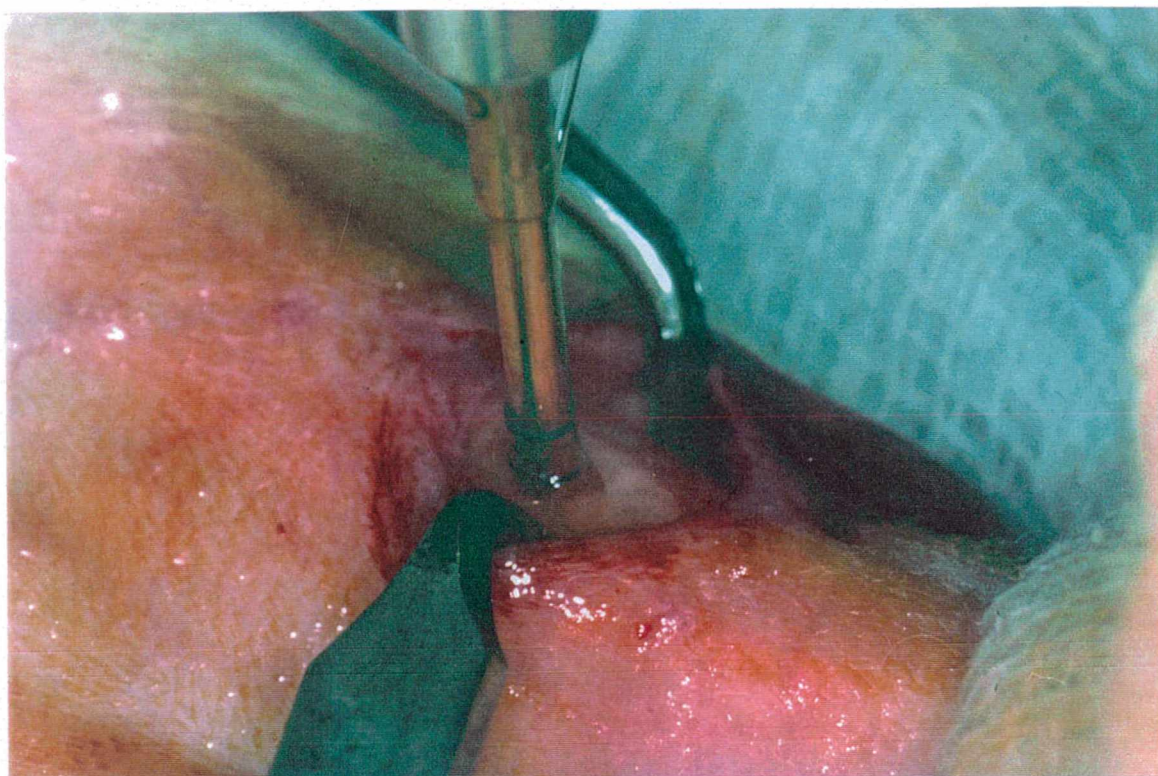


FIGURA 22: Término da perfuração do tecido ósseo com a broca lança

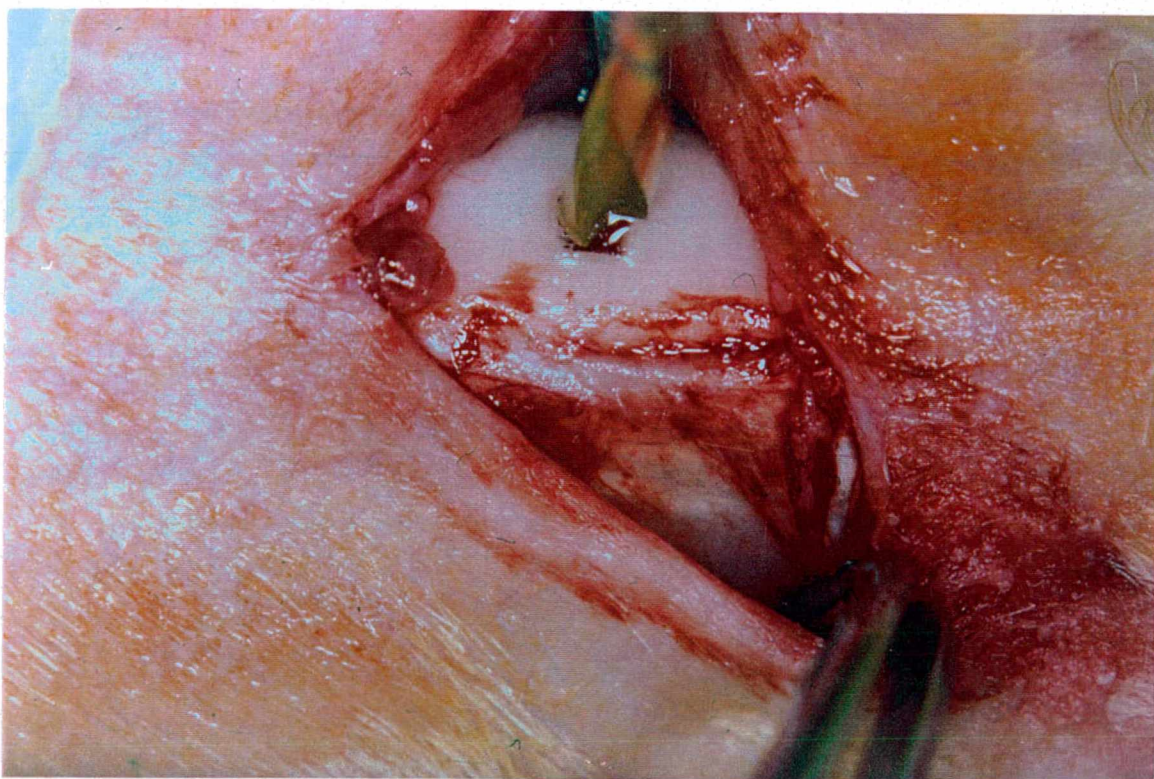


FIGURA 23: Perfuração do tecido ósseo com a broca *twist drill* de 2mm com alta rotação (aproximadamente 1600 rpm) e irrigação profusa com soro fisiológico

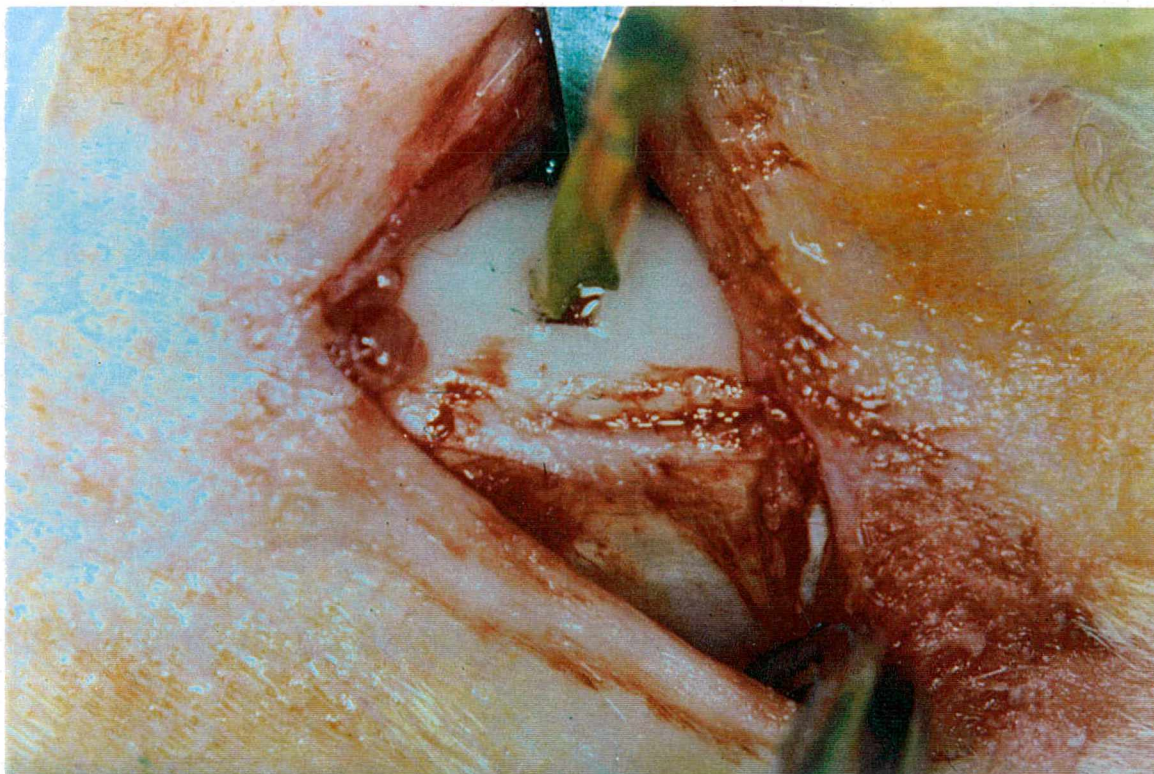


FIGURA 24: Complementação da perfuração do tecido ósseo com a broca twist drill de 2mm com profundidade de 7mm

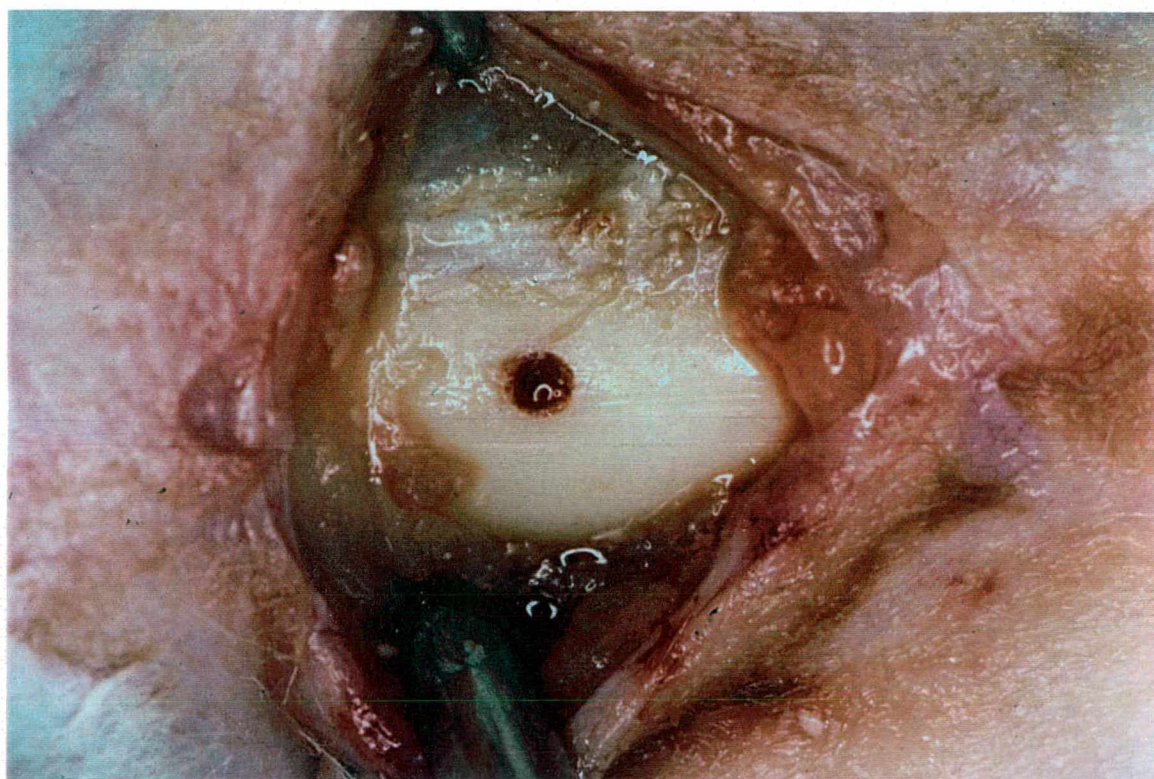


FIGURA 25: Sítio preparado para colocação do parafuso de osso bovino

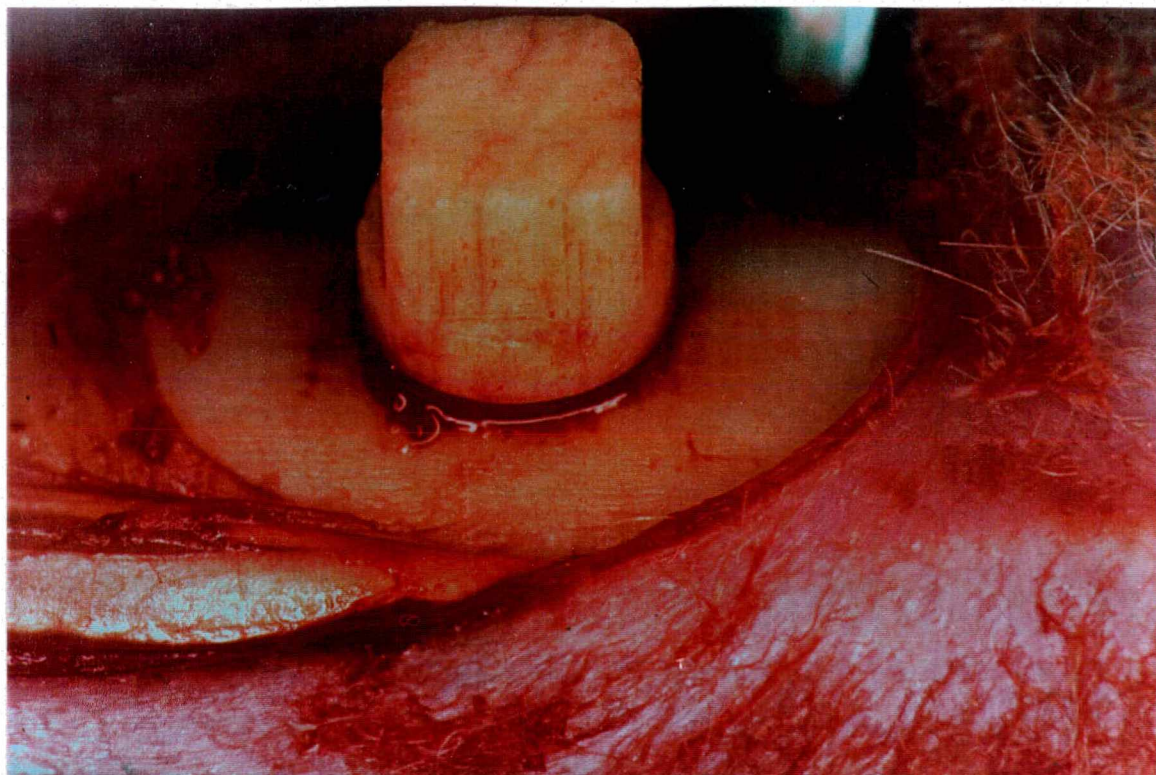


FIGURA 26: Vista lateral da cabeça do parafuso de osso bovino estabilizado (travamento mono cortical)

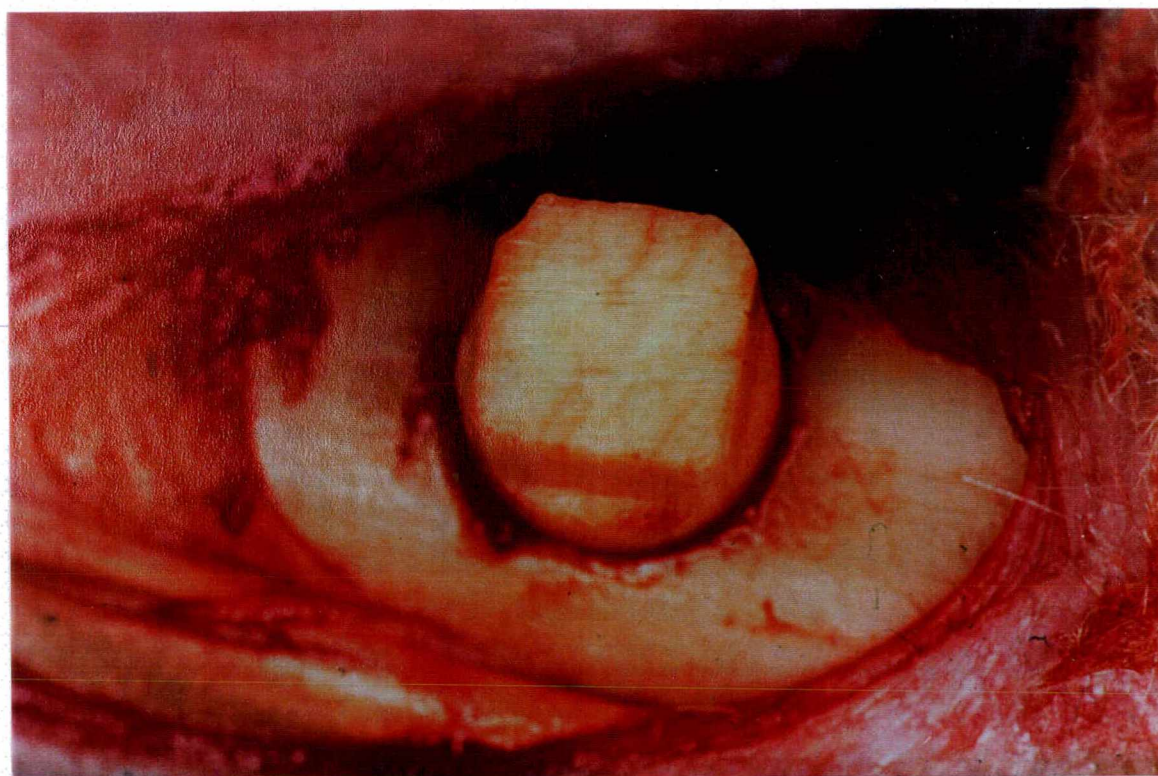


FIGURA 27: Vista axial da cabeça do parafuso de osso bovino

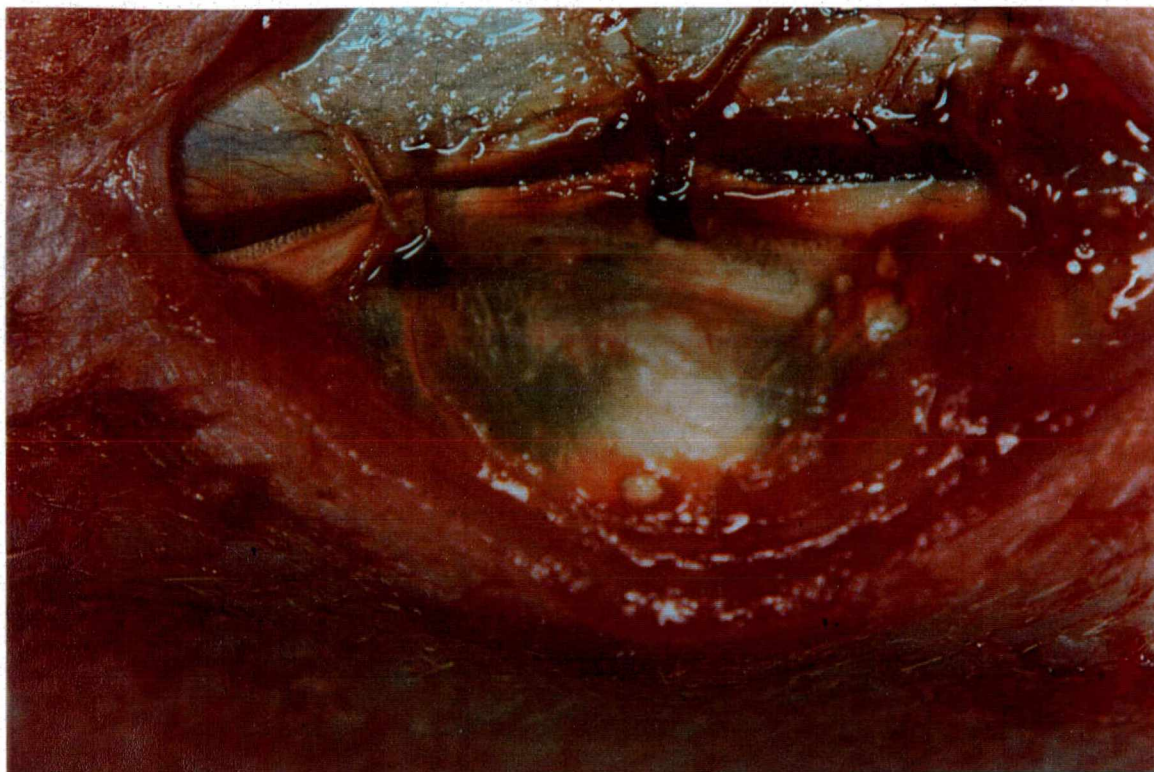


FIGURA 28: Visão aproximada da sutura do periósteo e das fâscias musculares com fio de sutura reabsorvível (vicryl 6-0)

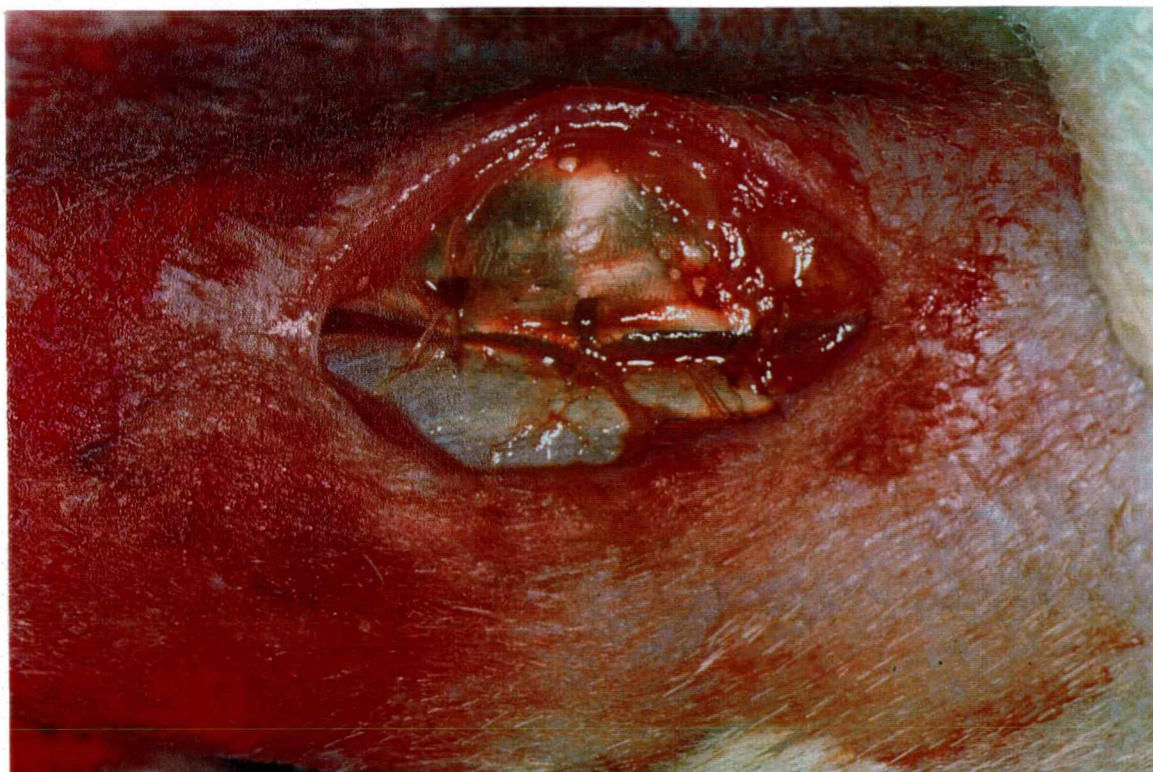


FIGURA 29: Evidência da completa cobertura da cabeça do parafuso de osso bovino com tecido mole

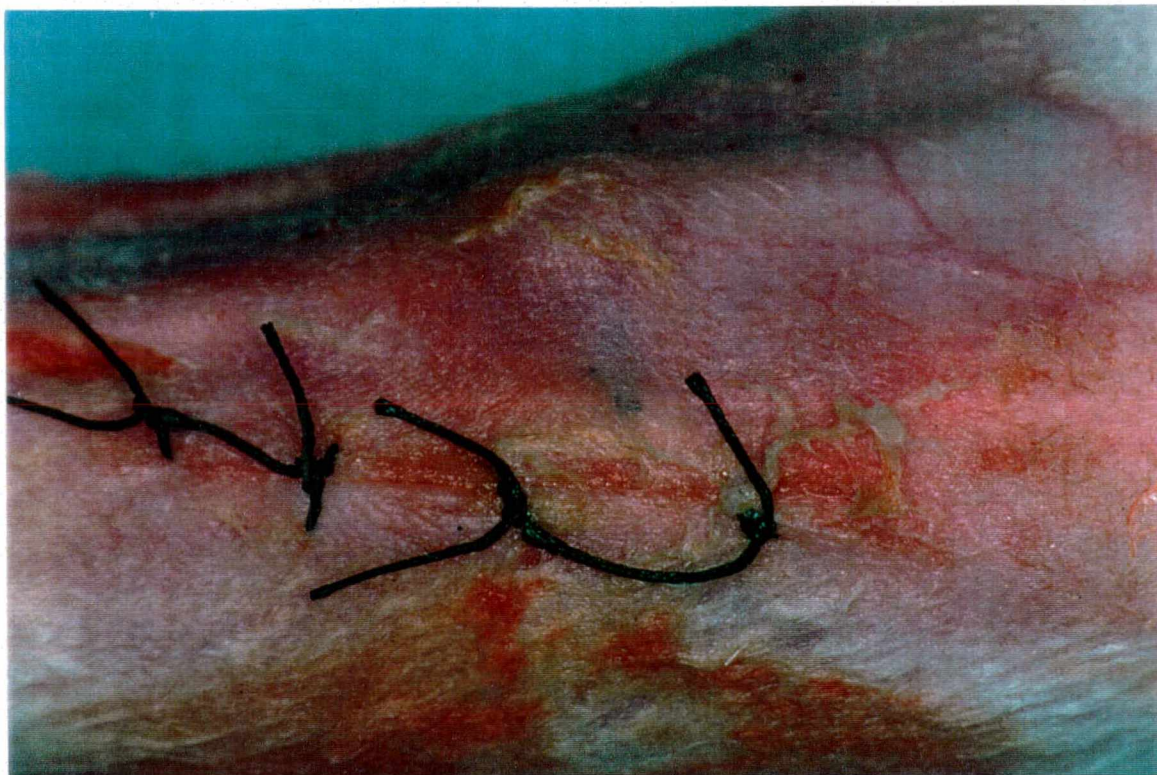


FIGURA 30: Sutura da epiderme com fio de sutura de seda (4-0)

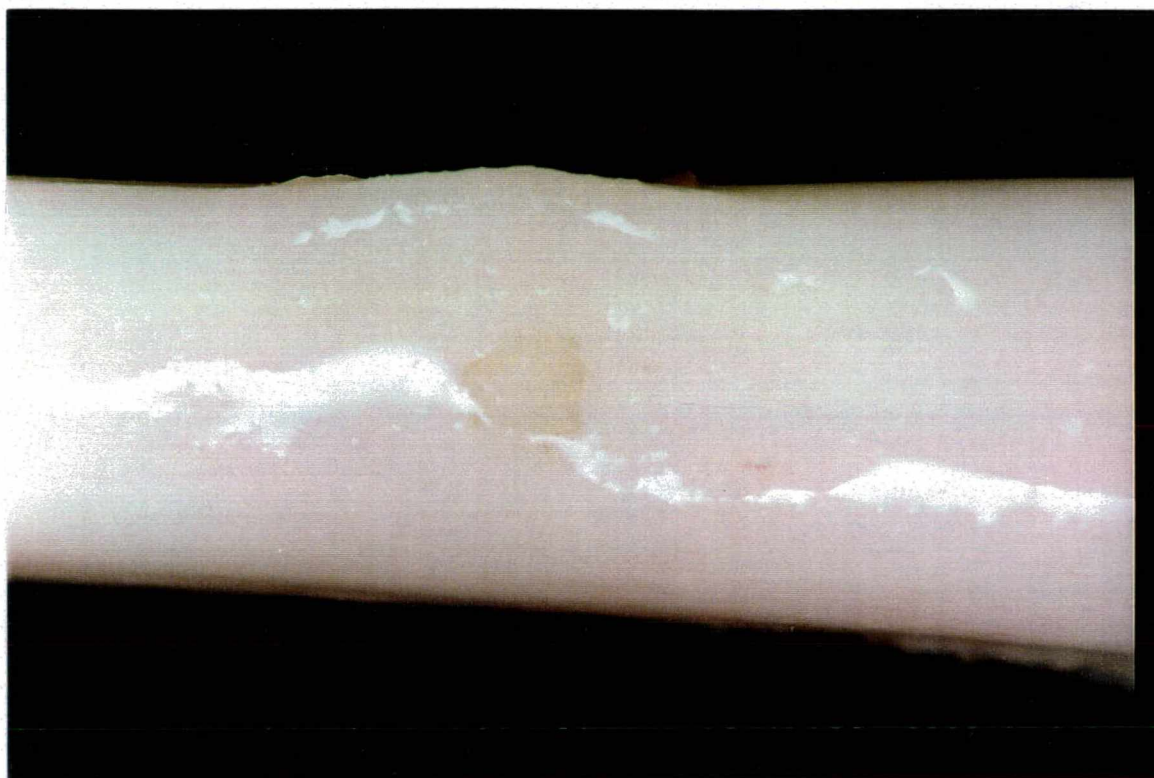


FIGURA 31: Visão axial da tíbia do coelho 1. Observe a remanescência de porção do parafuso de osso bovino



FIGURA 32: Crescimento ósseo vertical notório ao redor do sítio do parafuso do coelho 1



FIGURA 33: Crescimento ósseo vertical observado no coelho 2



FIGURA 34: Visão aproximada do sítio experimental do coelho 2



FIGURA 35: Crescimento ósseo vertical acentuado associado ao sítio experimental do coelho 3



FIGURA 36: Visão aproximada do crescimento vertical no sítio experimental do coelho 3



FIGURA 37: Visão lateral da cabeça do parafuso presa por tecido mole do coelho 4

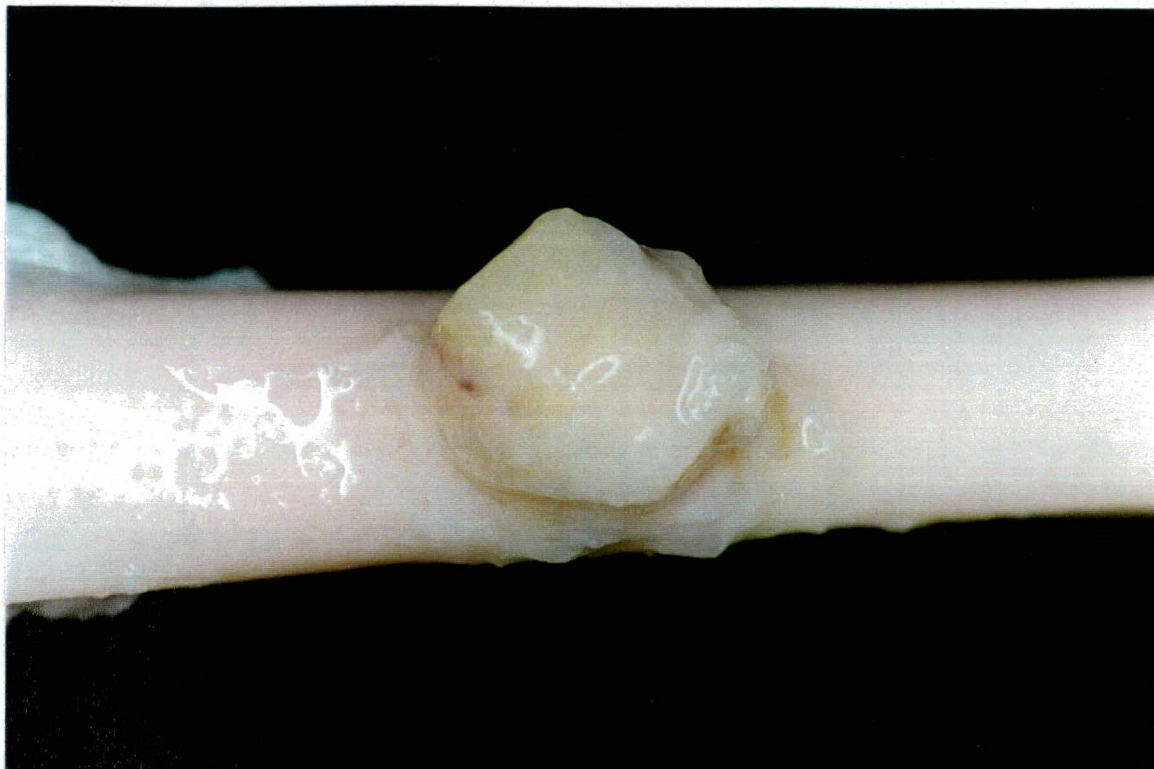


FIGURA 38: Visão axial da cabeça do parafuso, em posição, no coelho 4



FIGURA 39: Peças experimentais acondicionadas em embalagem metálica perfurada para fixação em formol 10%

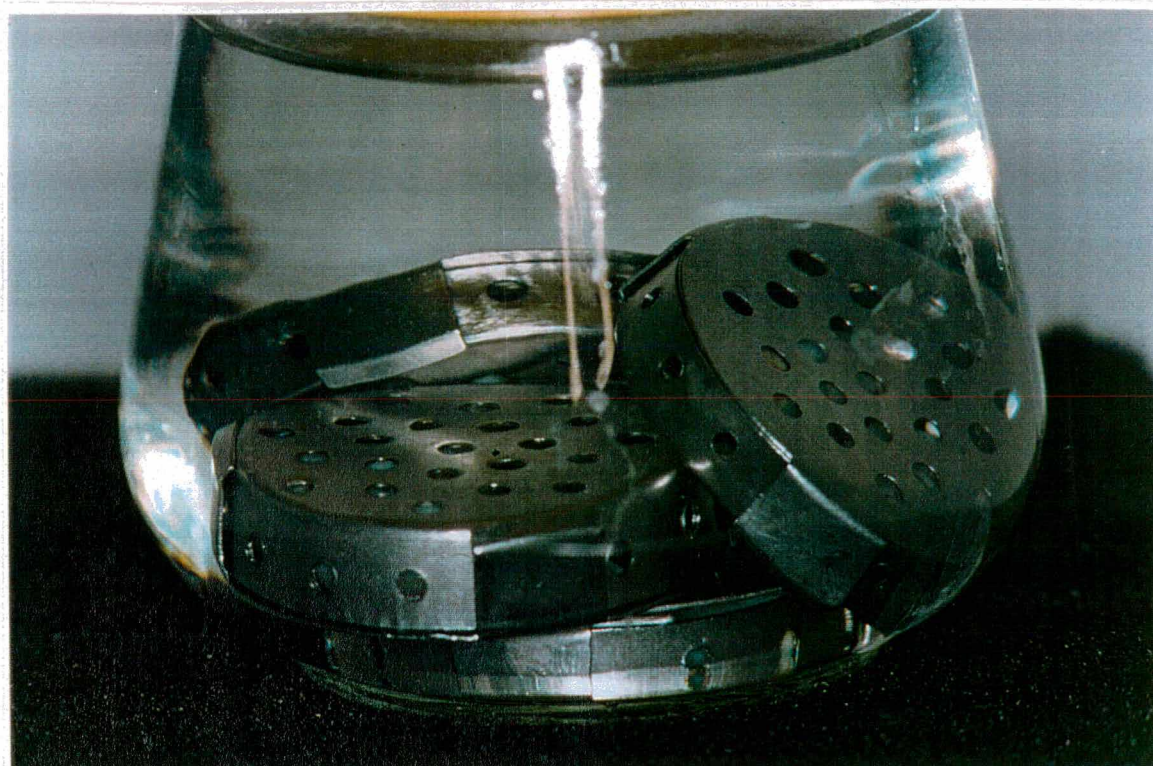


FIGURA 40: Embalagens metálicas imersas em formol 10% (fixação das peças por 24 horas)

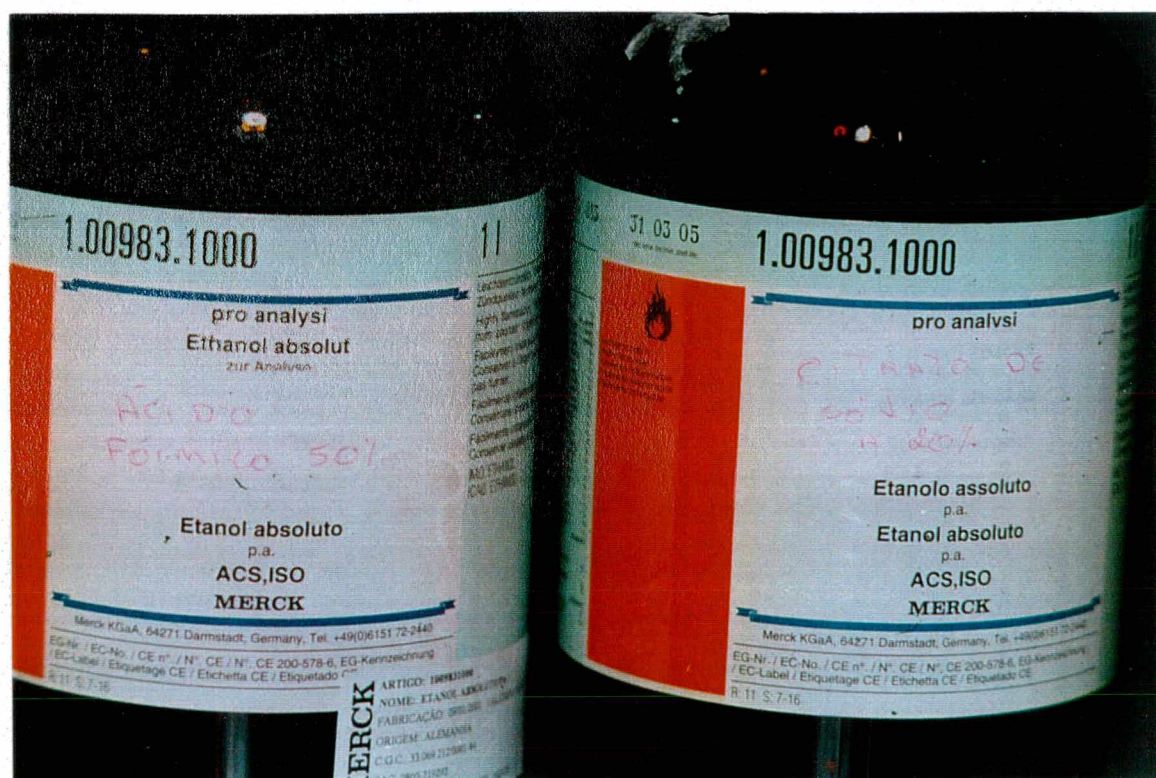


FIGURA 41: Frascos das soluções descalcificadoras (ácido fórmico 50% e citrato de sódio 20%)

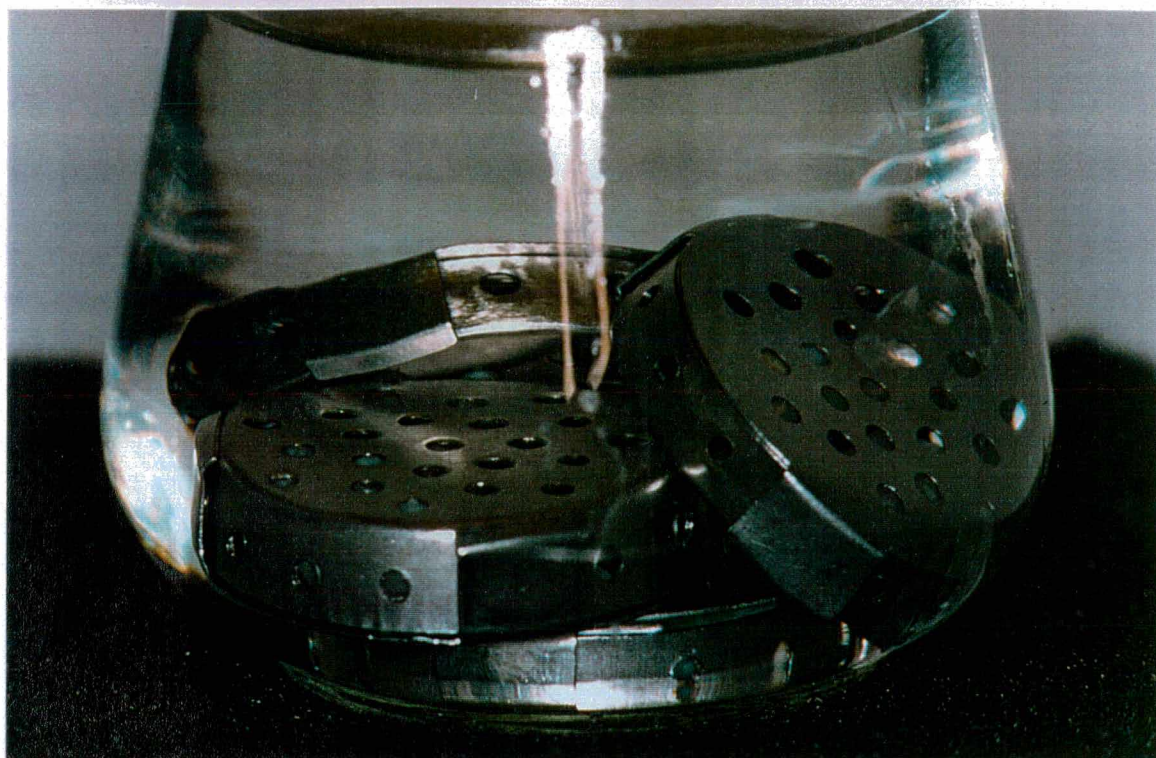


FIGURA 42: Embalagens metálicas imersas em solução descalcificadora

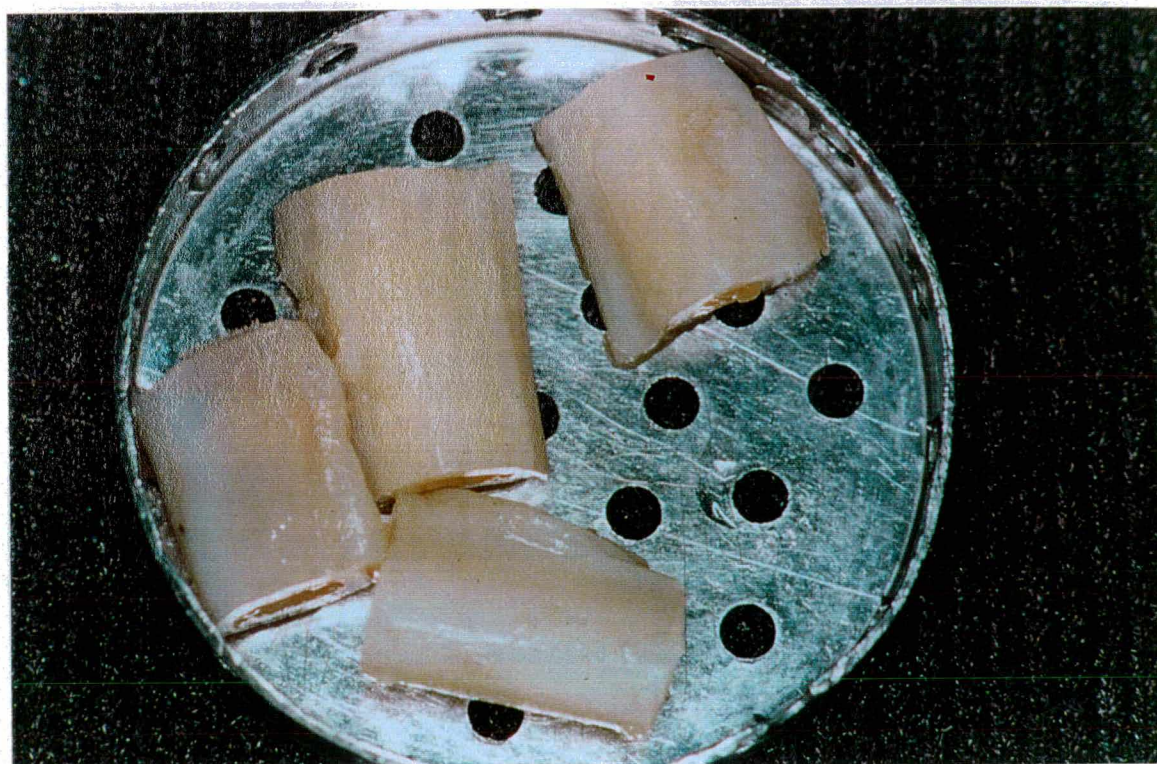


FIGURA 43: Peças após a descalcificação

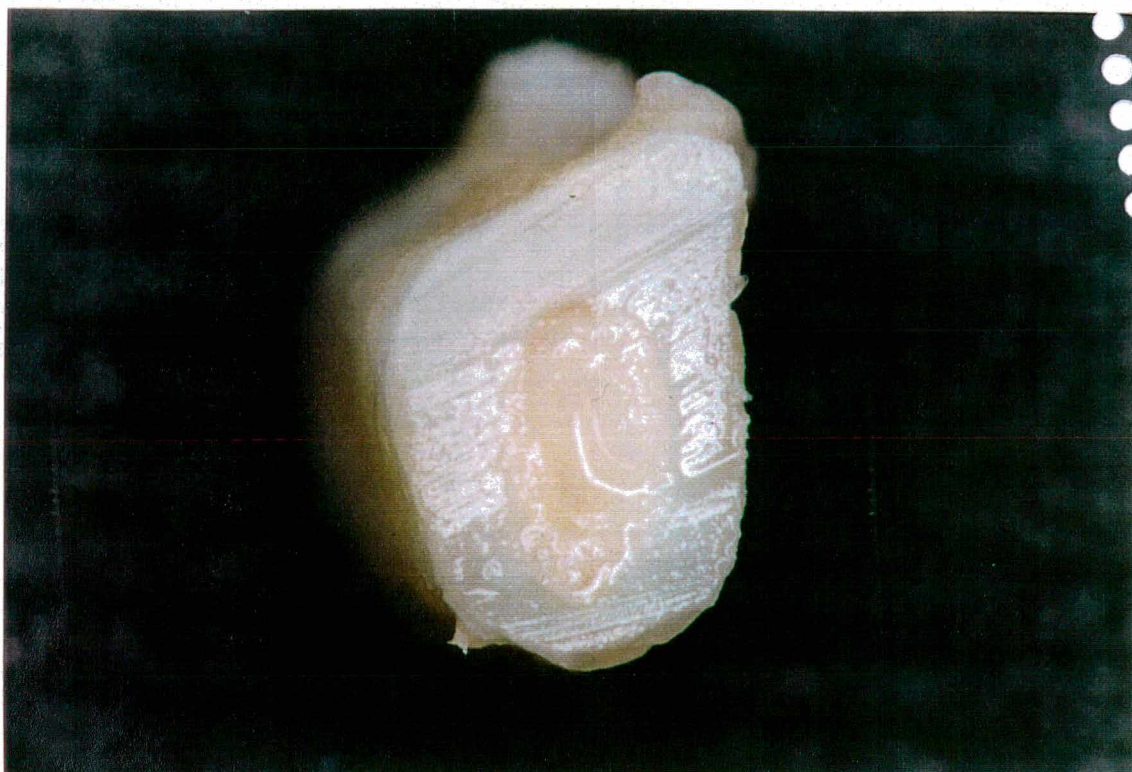


FIGURA 44: Visão axial de peça descalcificada. Observe crescimento ósseo vertical, osso cortical e medular

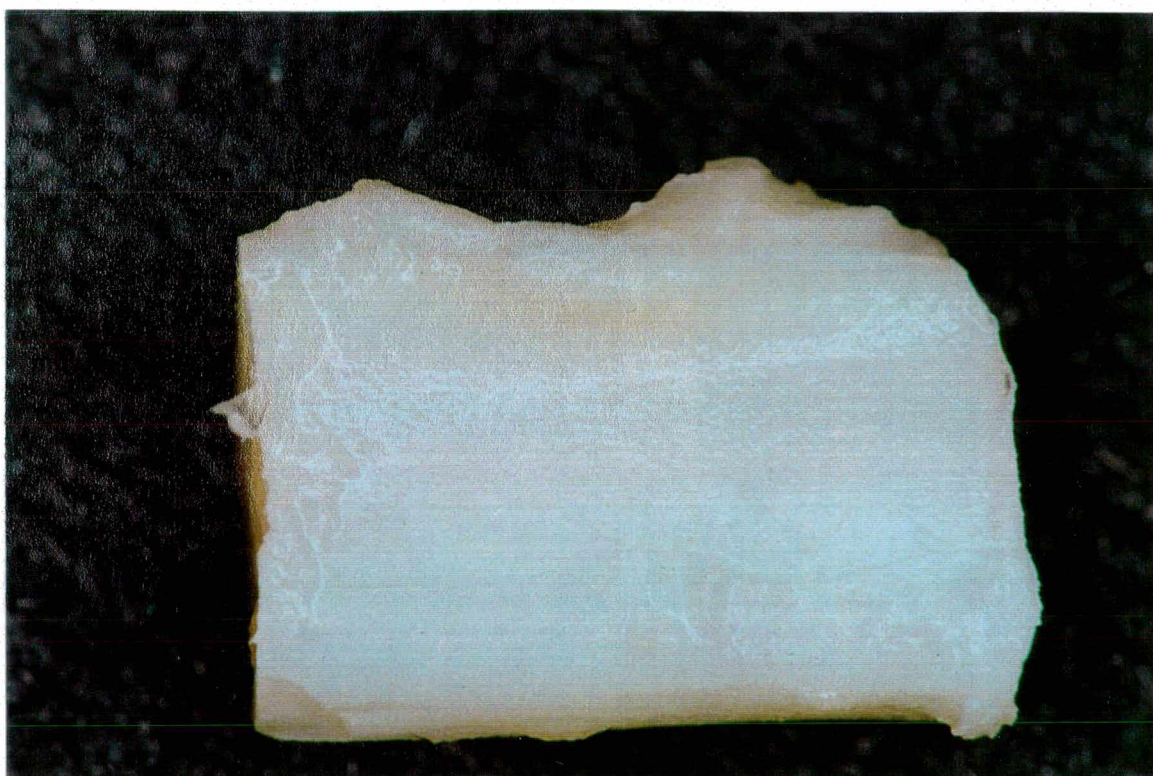


FIGURA 45: Visão lateral da peça experimental descalcificada do coelho 8. Observe crescimento ósseo vertical

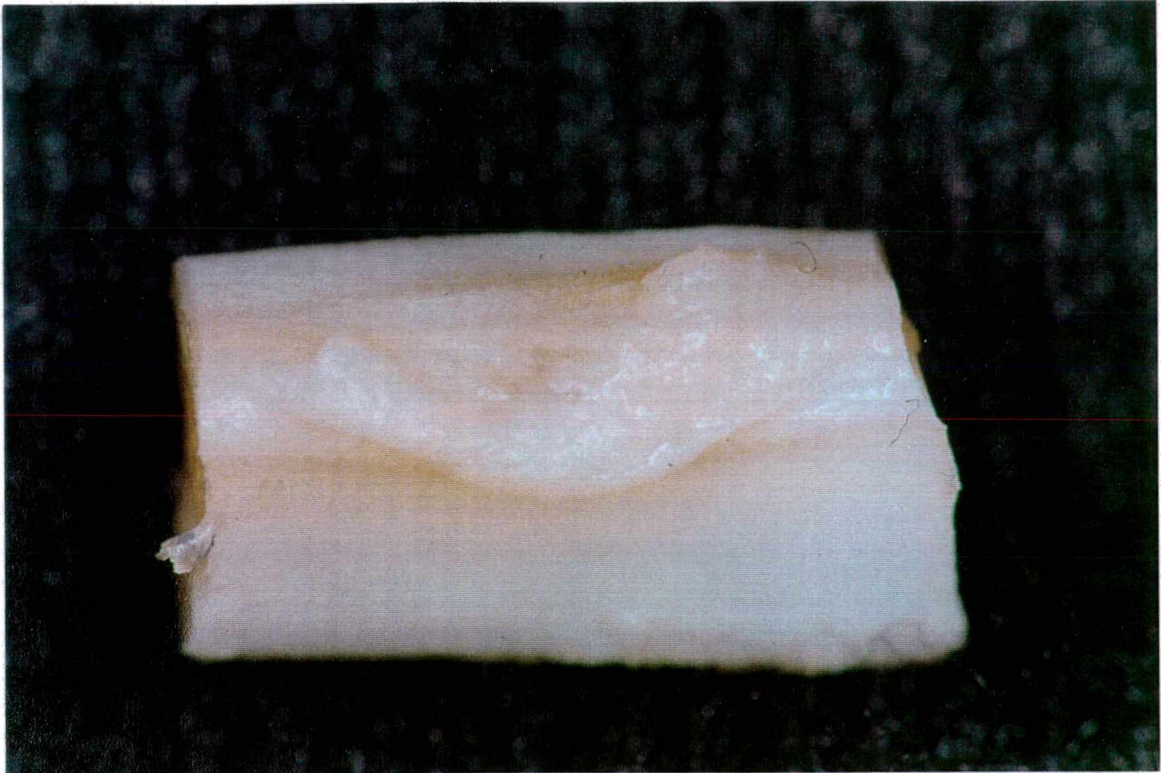


FIGURA 46: Visão axial da peça experimental descalcificada do coelho 8. Evidência de crescimento ósseo

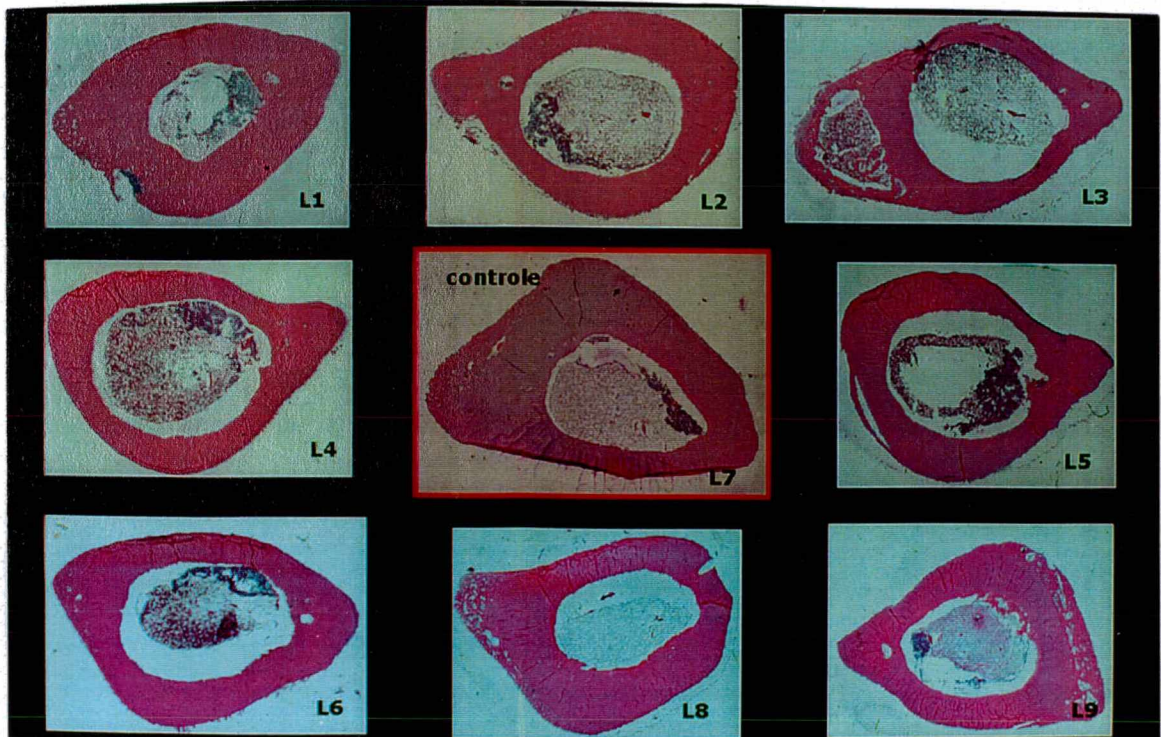


FIGURA 47: Conjunto dos cortes histológicos. Note que a lâmina 7 foi utilizada como controle (sem instalação de parafuso de osso bovino). A comparação nos permite observar um padrão compatível com a normalidade em todos os espécimes

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos através de análises histológicas feitas em microscópio óptico com aumento final de 250 vezes. O objetivo único foi verificar o comportamento tecidual dos parafusos de osso bovino, após 60 dias instalados em tíbias de coelhos.

Macroscopicamente, todas as amostras apresentaram-se com a cabeça do parafuso presente mas completamente liberada do corpo do mesmo, demonstrando que na região de junção cabeça/corpo houve reabsorção da peça.

O aspecto clínico macroscópico das peças, no momento da dissecação das mesmas, comprovou a presença de um grande crescimento ósseo vertical localizado na região onde fora instalado o parafuso ósseo conforme as FIGURAS 32 (coelho 1), 33 e 34 (coelho 2), FIGURAS 35 e 36 (coelho 3). Estes achados foram ratificados microscopicamente nas lâminas L2 (FIGURAS 50 e 51), L3 (FIGURAS 52 e 53), L5 (FIGURAS 56 e 57), L8 (FIGURAS 62 e 63) e L9 (FIGURAS 64 e 65).

Observou-se também remanescentes da porção do parafuso de osso bovino (FIGURA 31) na lâmina L1 referente ao animal experimental 1.

As lâminas histológicas foram analisadas por um histologista e resultaram nos seguintes achados:

- LÂMINA 1 (L1): referente ao animal experimental 1 (FIGURAS 48 e 49)

O parafuso de osso bovino encontra-se fragmentado e sendo substituído por tecido ósseo normal. O osso necrótico (fragmento do parafuso) está representado por áreas basófilas (roxas) com lacunas vazias, ou seja, sem osteócitos.

Os fragmentos de parafuso estão circundados por osteoblastos caracterizando neo-formação óssea (remodelamento). Nestas regiões existem lacunas preenchidas por osteócitos.

O tecido ósseo em formação é osso primário devido a presença de muitos osteócitos e de poucos Sistemas de Havers.

Ausência de células inflamatórias.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos)

Há uma região com alteração do padrão celular do tecido adiposo (células vazias) da medula, com acúmulo de estruturas acidófilas (vermelhas). Nessa massa de tecido acidófilo não é possível

distinguir perfis de células ou de vasos, no entanto ocorre acúmulo de hemácias (indicando pequenos focos hemorrágicos que foge do padrão normal).

- LÂMINA 2 (L2): referente ao animal experimental 2 (FIGURAS 50 e 51)

Inexistem fragmentos de parafuso ósseo.

Há osso primário em neo-formação devido a presença de muitos osteócitos (aprisionamento dos osteoblastos).

Há um grande crescimento ósseo, com espaços medulares grandes, por fora do osso compacto. O crescimento ósseo está partindo do perióstio remanescente o qual está bem representado nas suas camadas osteoblásticas (mais interna) e fibrosa (mais externa, com fibroblastos e fibras colágenas).

Ausência de fibrose (sem fibroblastos)

Ausência de células inflamatórias.

Existe uma alteração da medula caracterizada por diferenciação do padrão celular do tecido adiposo, com acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 3 (L3): referente ao animal experimental 3 (FIGURAS 52 e 53)

Ausência de fragmentos de parafuso de osso.

Há um grande crescimento ósseo partindo do perióstio remanescente com medulas grandes.

O crescimento ósseo é externo ao osso compacto.

O tecido ósseo está em neo-formação devido a grande quantidade de osteócitos.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Existe alteração do modelo padrão da medula devido a ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 4 (L4): referente ao animal experimental 4 (FIGURAS 54 e 55)

Ausência de fragmentos de parafuso de osso.

Tecido ósseo normal sem áreas necróticas e sem reabsorção acentuada.

A presença de arteríolas e osteoclastos indica apenas remodelamento ósseo normal.

Presença de uma área com pequenas regiões medulares com Sistemas de Havers em formação. Todo o contorno da lâmina é formado por tecido ósseo compacto, com sistemas de Havers caracterizando osso sem alteração.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Área com alteração da medula representada pela ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 5 (L5): referente ao animal experimental 5 (FIGURAS 56 e 57)

Ausência de fragmentos de parafuso ósseo.

Área de grande neo-formação óssea, partindo do periósteo remanescente, representada pela presença de osteoblastos e muitos osteócitos.

Osso primário caracterizado pelos poucos Sistemas de Havers em formação.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Área com alteração no padrão medular representada pela ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 6 (L6): referente ao animal experimental 6 (FIGURAS 58 e 59)

Ausência de fragmentos de parafuso ósseo.

Tecido ósseo normal, sem áreas necróticas e sem áreas de reabsorção acentuada.

Área com pequenas regiões medulares com Sistemas de Havers em formação.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Existe uma alteração da medula caracterizada por diferenciação do padrão celular do tecido adiposo, com acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 7 (L7) ou lâmina controle: referente ao animal experimental 7 que não recebeu parafuso (FIGURAS 60 e 61)

Grande quantidade de osso compacto (sem cavidades medulares) com Sistemas de Havers limitando toda a lâmina.

Ausência de células reabsortivas.

Tecido ósseo normal sem áreas necróticas e sem áreas de reabsorção acentuada.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Região de alteração do padrão celular da medula representada pela ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 8 (L8): referente ao animal experimental 8 (FIGURAS 62 e 63)

Ausência de fragmentos de parafuso de osso.

Grande crescimento ósseo partindo do perióstio com áreas ósseas com medulas grandes. O crescimento ósseo é externo ao osso compacto.

O osso está em neo-formação devido a grande quantidade de osteócitos e ausência de Sistemas de Havers.

Ausência de fibrose (sem fibroblastos).

Ausência de células inflamatórias.

Alteração do padrão da medula representada por ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

- LÂMINA 9 (L9): referente ao animal experimental 9 (FIGURAS 64 e 65)

Ausência de fragmentos de parafuso de osso.

Área de grande crescimento ósseo partindo do perióstio representado por grande regiões medulares.

Presença de muitos osteócitos caracterizando osso primário.

Poucos Sistemas de Havers formados.

Ausência de fibrose.

Ausência de células inflamatórias.

Região da medula alterada devido a ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas.

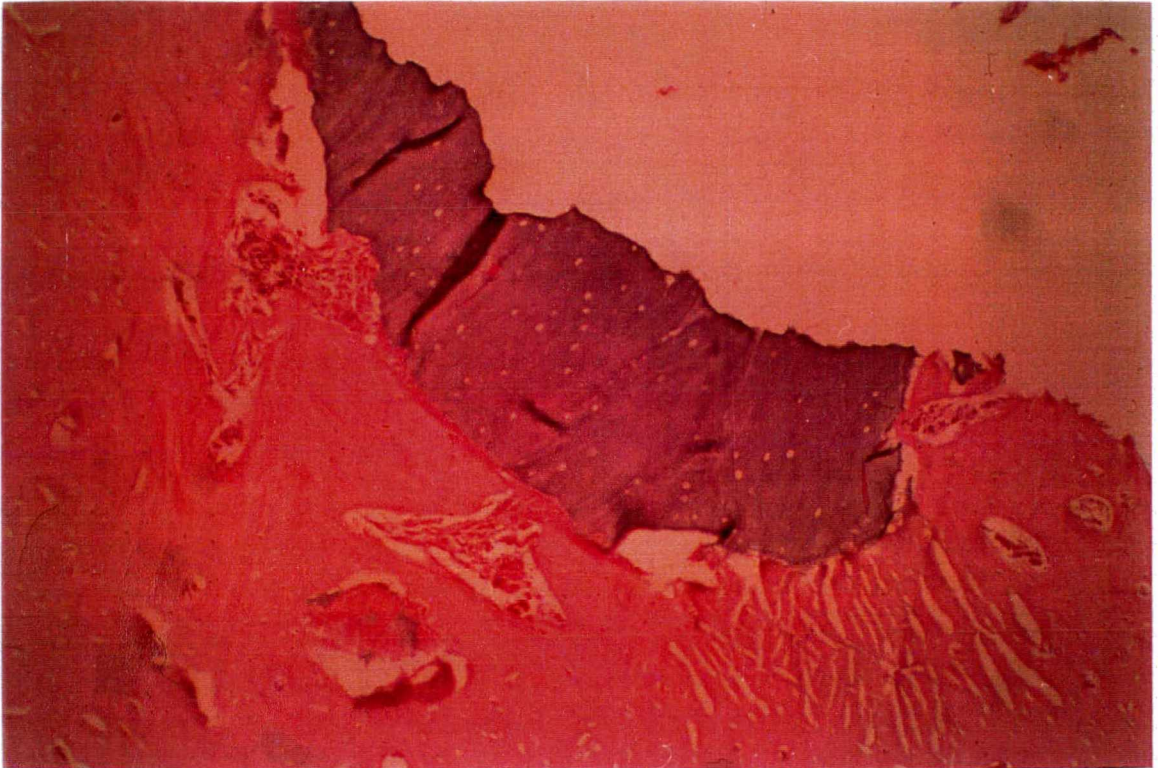


FIGURA 48: Lâmina 1 (L1) – referente ao animal experimental 1. Aumento de 10X. Remanescente de parafuso caracterizado pela coloração basófila.

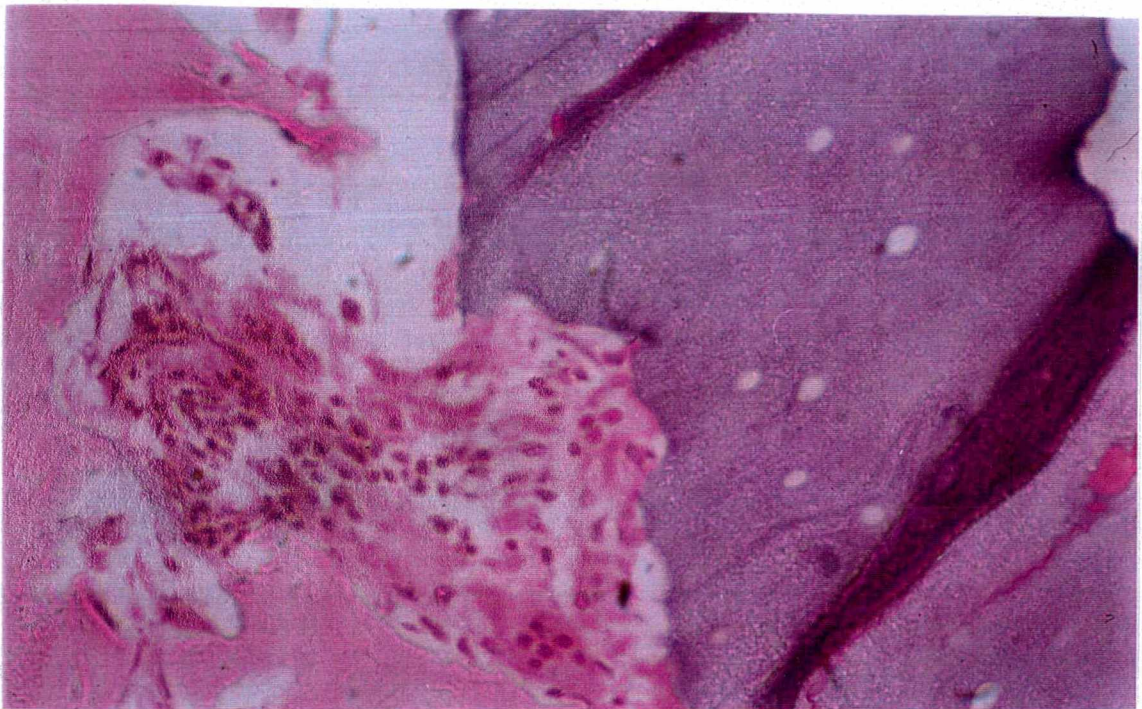


FIGURA 49: Lâmina 1 (L1) – referente ao animal experimental 1. Aumento de 40X. Evidência de área de reabsorção do parafuso. Observe ausência de osteócitos nas lacunas caracterizando osso necrótico.

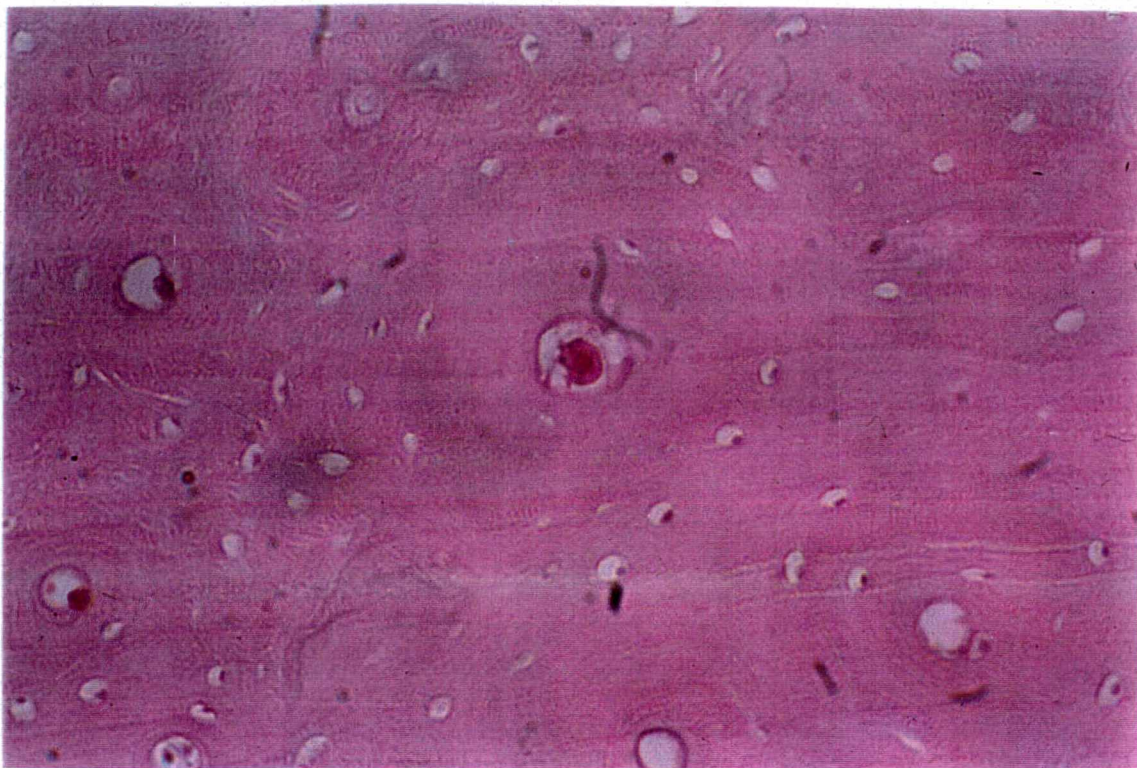


FIGURA 50: Lâmina 2 (L2) – referente ao animal experimental 2. Aumento de 10X. Osso neoformado caracterizado pelos Sistemas de Havers em desenvolvimento.

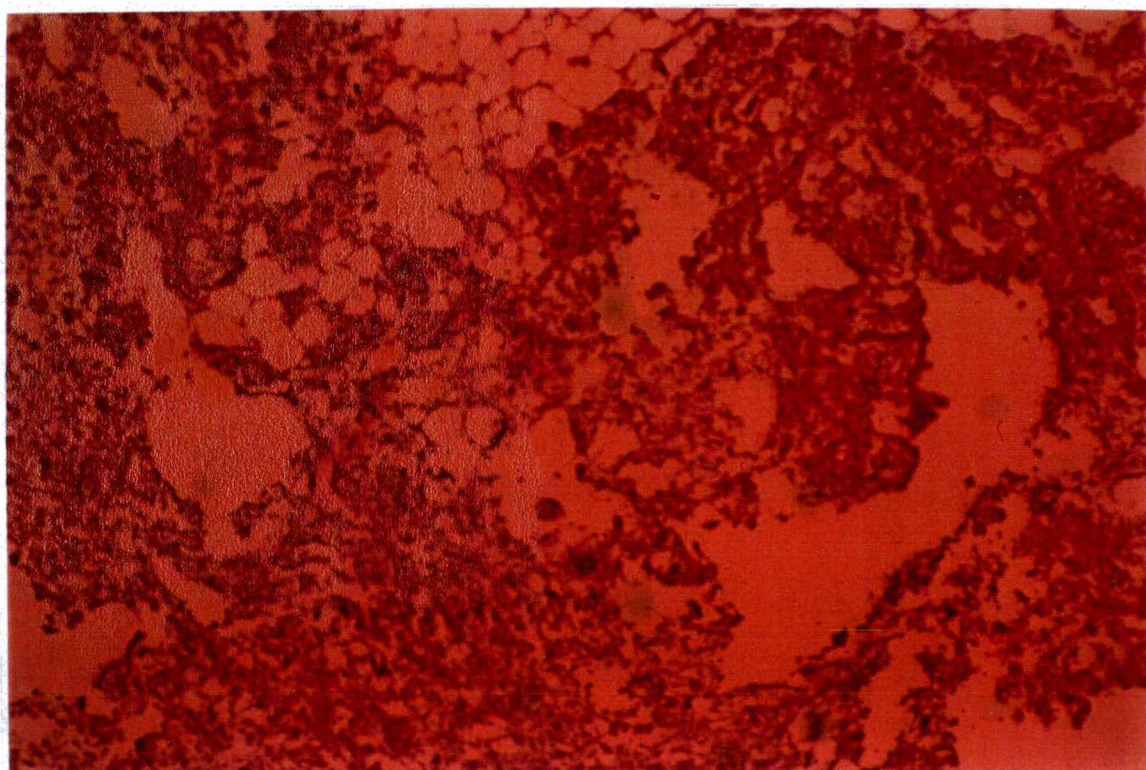


FIGURA 51: Lâmina 2 (L2) – referente ao animal experimental 2. Aumento de 4X. Padrão normal de osso medular com ausência de células inflamatórias e células de fibrose.

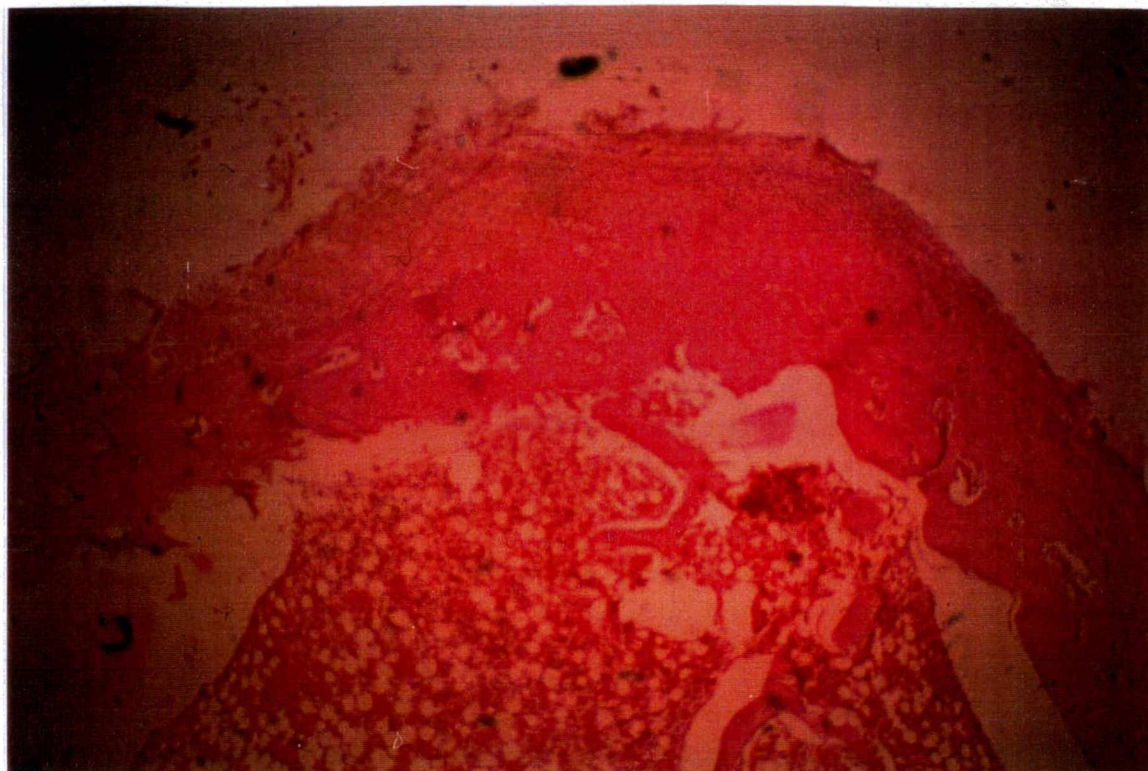


FIGURA 52: Lâmina 3 (L3) – referente ao animal experimental 3. Aumento de 4X. Presença de crescimento ósseo vertical. Observe a remanescência do perióstio.

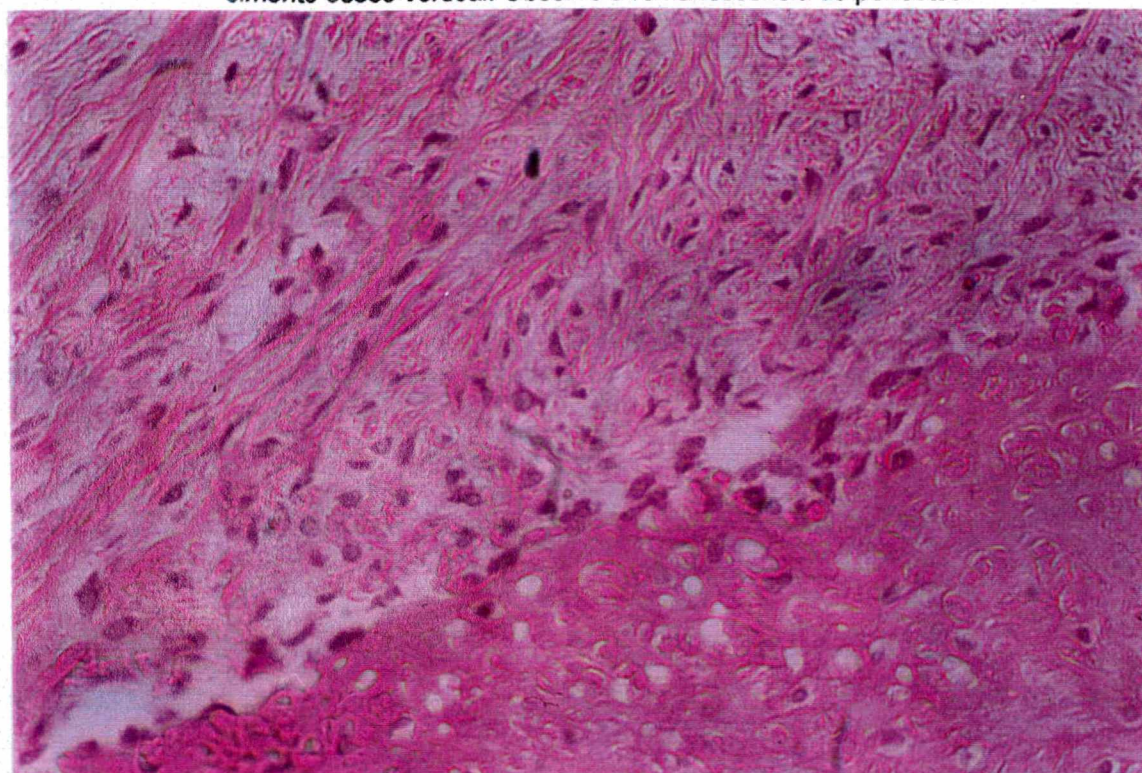


FIGURA 53: Lâmina 3 (L3) – referente ao animal experimental 3. Aumento de 10X. Observe as camadas do perióstio interna (celular – com abundância de osteoblastos adjacentes ao tecido ósseo) e externa (fibrosa – com abundância de fibras colágenas e fibroblastos).



FIGURA 54: Lâmina 4 (L4) – referente ao animal experimental 4. Aumento de 4X. Evidência de crescimento ósseo vertical com sistemas de Havers em formação e abundância de osteócitos.



FIGURA 55: Lâmina 4 (L4) – referente ao animal experimental 4. Aumento de 10X. Osso medular com padrão de normalidade. Ausência de células inflamatórias e de fibrose.

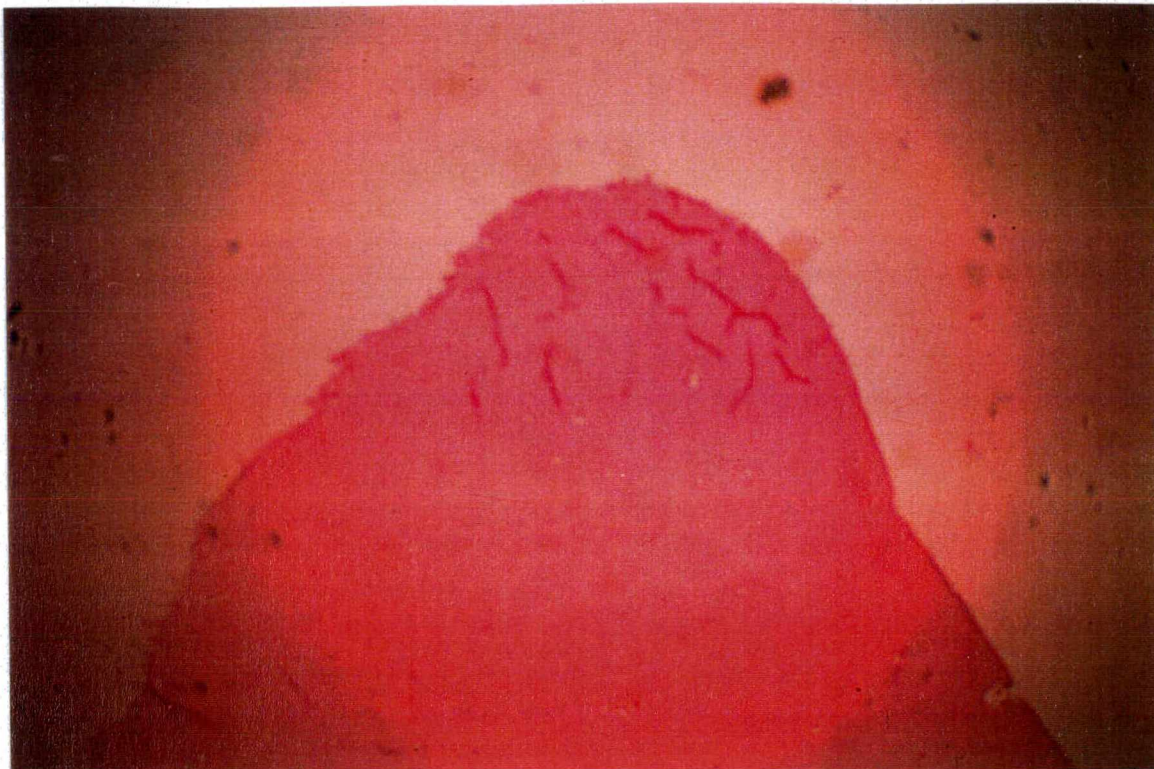


FIGURA 56: Lâmina 5 (L5) – referente ao animal experimental 5. Aumento de 4X. Evidência de crescimento ósseo vertical

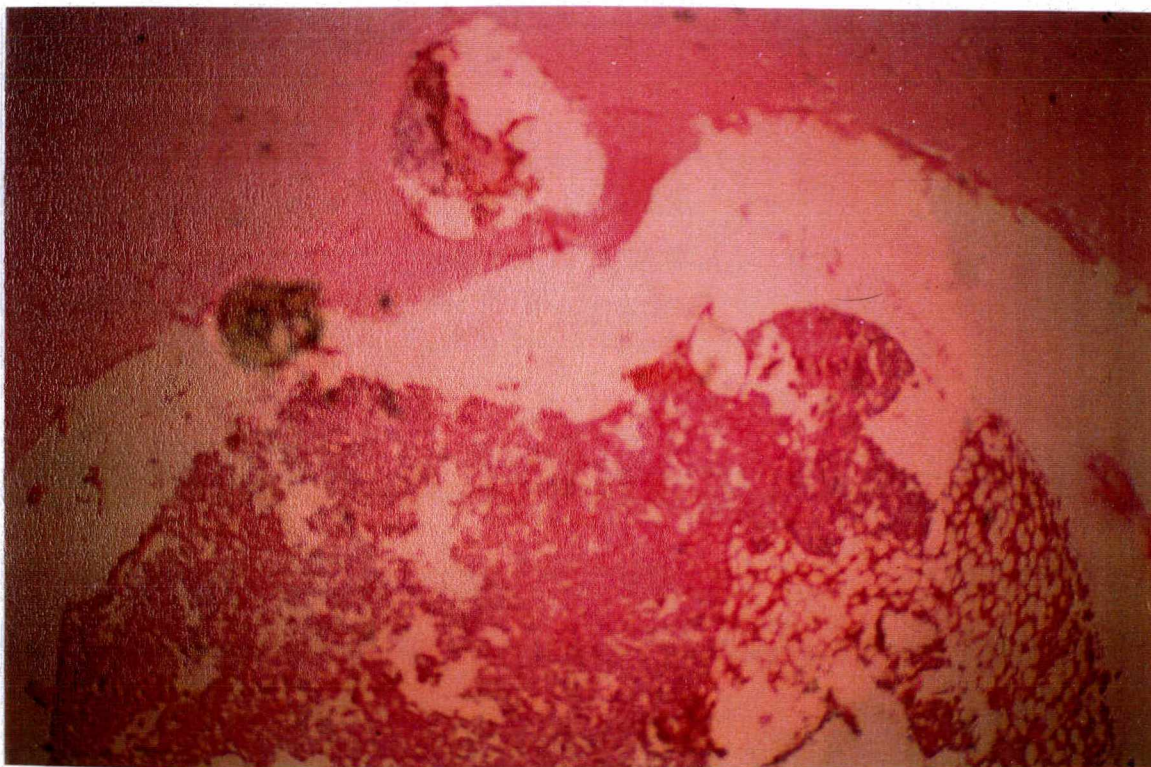


FIGURA 57: Lâmina 5 (L5) – referente ao animal experimental 5. Aumento de 4X. Osso medular com padrão de normalidade. Ausência de células inflamatórias e fibrose.

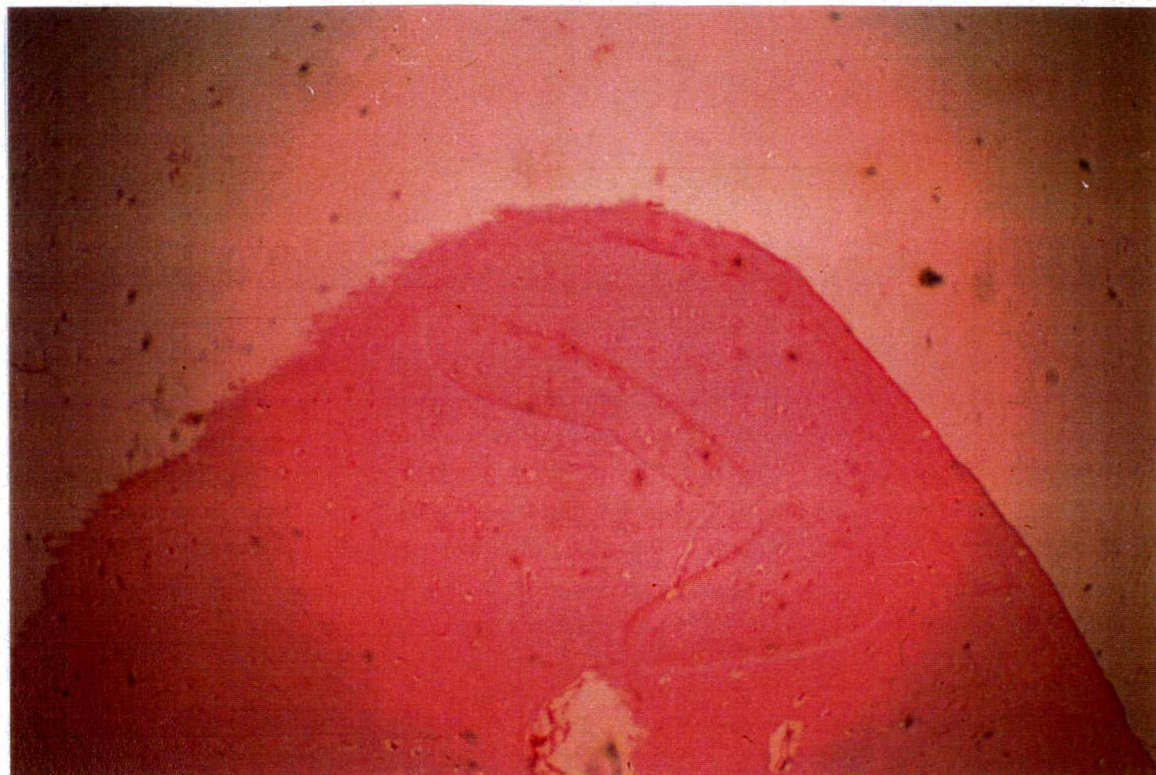


FIGURA 58: Lâmina 6 (L6) – referente ao animal experimental 6. Aumento de 4X. Crescimento ósseo vertical.

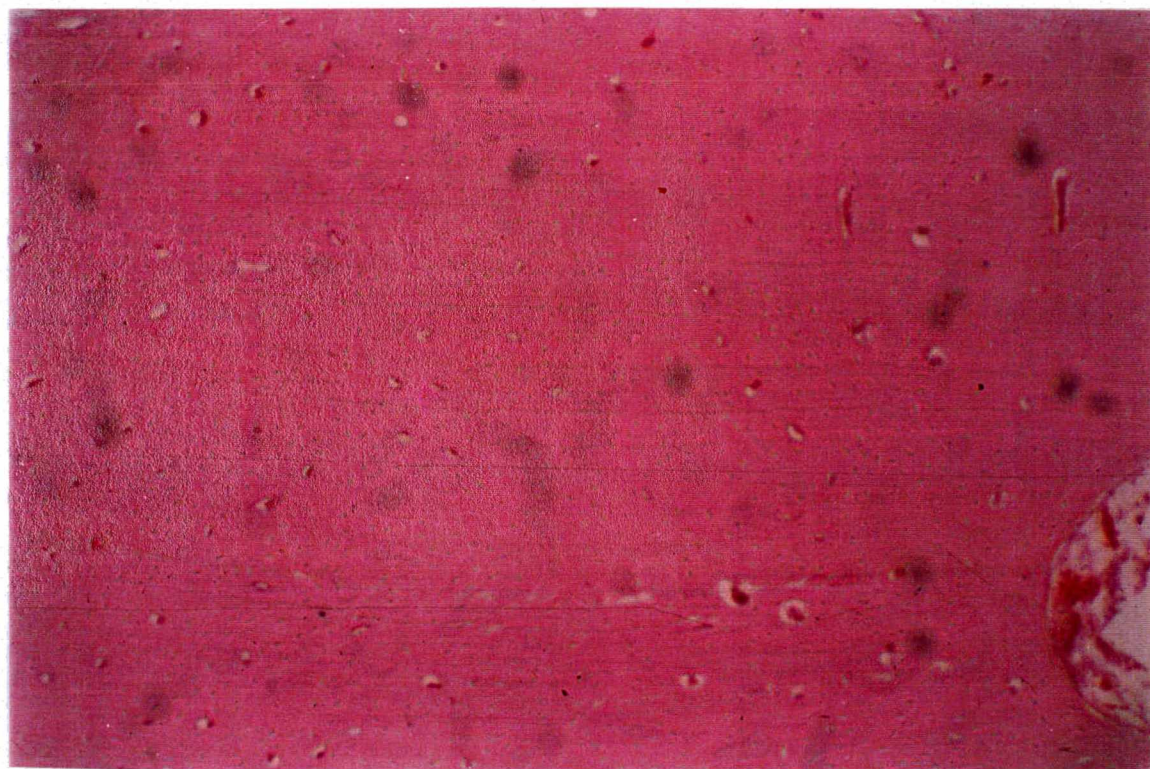


FIGURA 59: Lâmina 6 (L6) – referente ao animal experimental 6. Aumento de 10X. Abundância de osteócitos e sistema de Havers em formação.

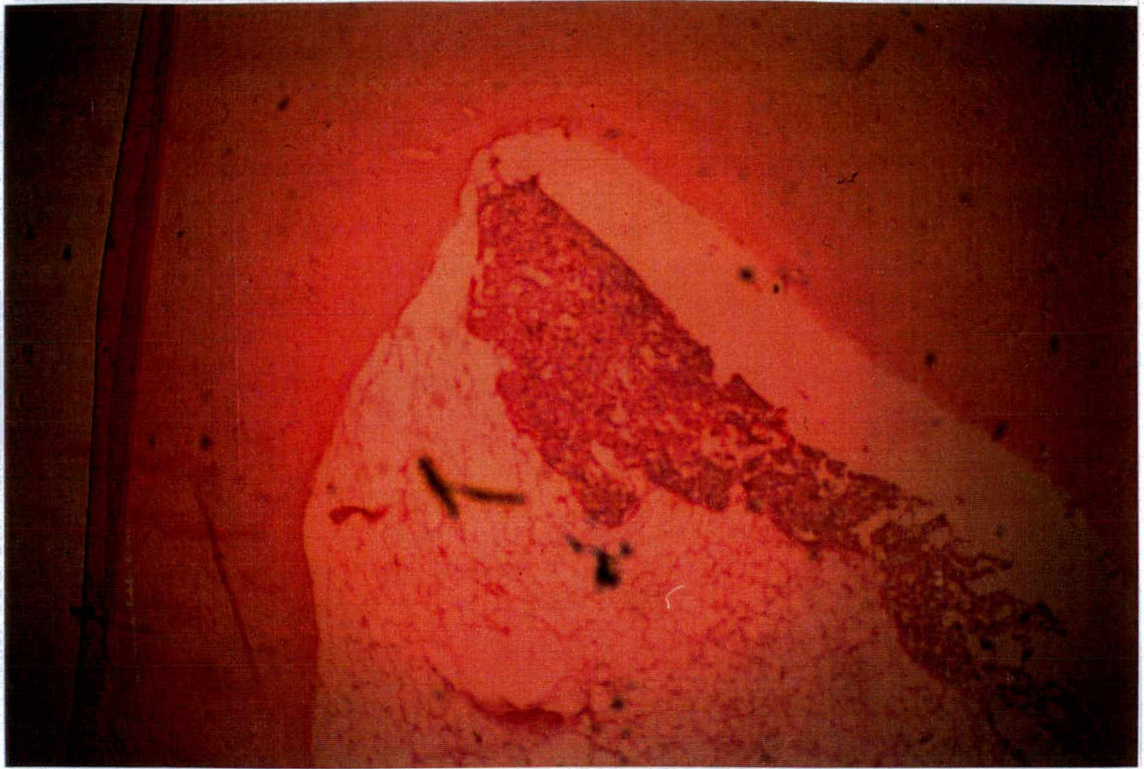


FIGURA 60: Lâmina 7 (L7) – referente ao animal experimental controle 7. Aumento de 4X. Osso medular com discreta alteração do padrão (área basófila). Evidência observada em todas as lâminas.

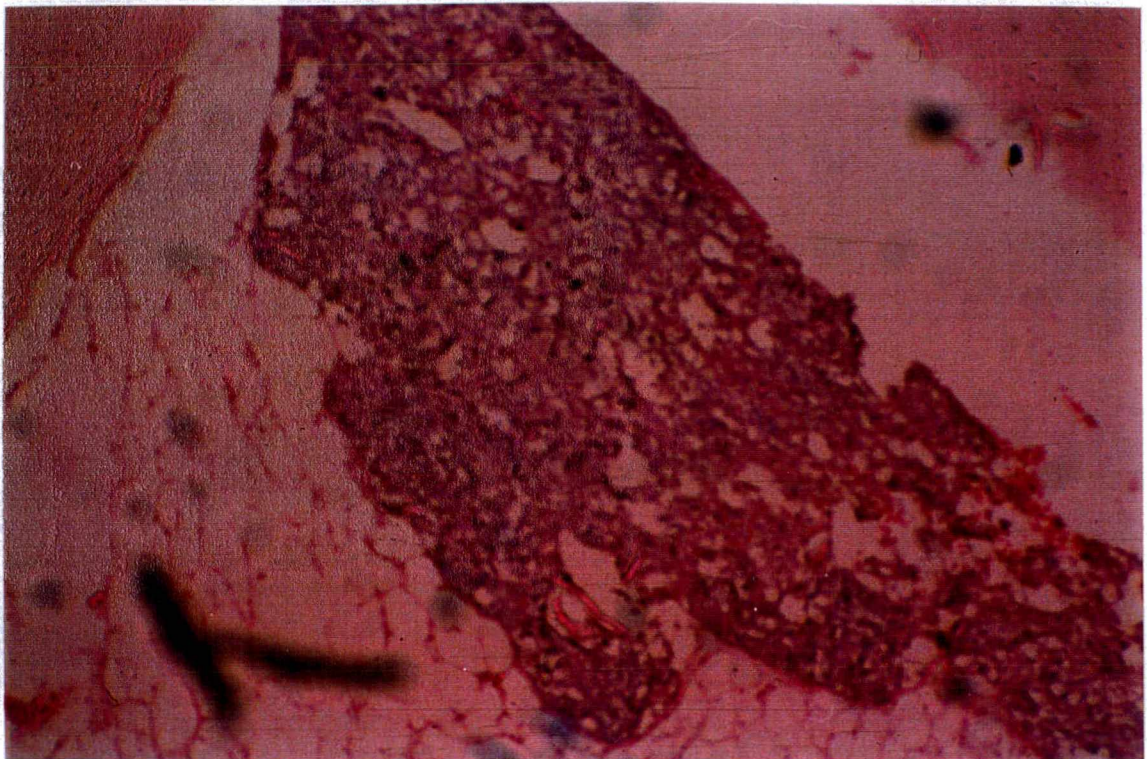


FIGURA 61: Lâmina 7 (L7) – referente ao animal experimental controle 7. Aumento de 10X. Mesma observação da foto anterior com vista mais aproximada.



FIGURA 62: Lâmina 8 (L8) – referente ao animal experimental 8. Aumento de 4X. Crescimento ósseo vertical demonstrado pelo osso cortical em neoformação.

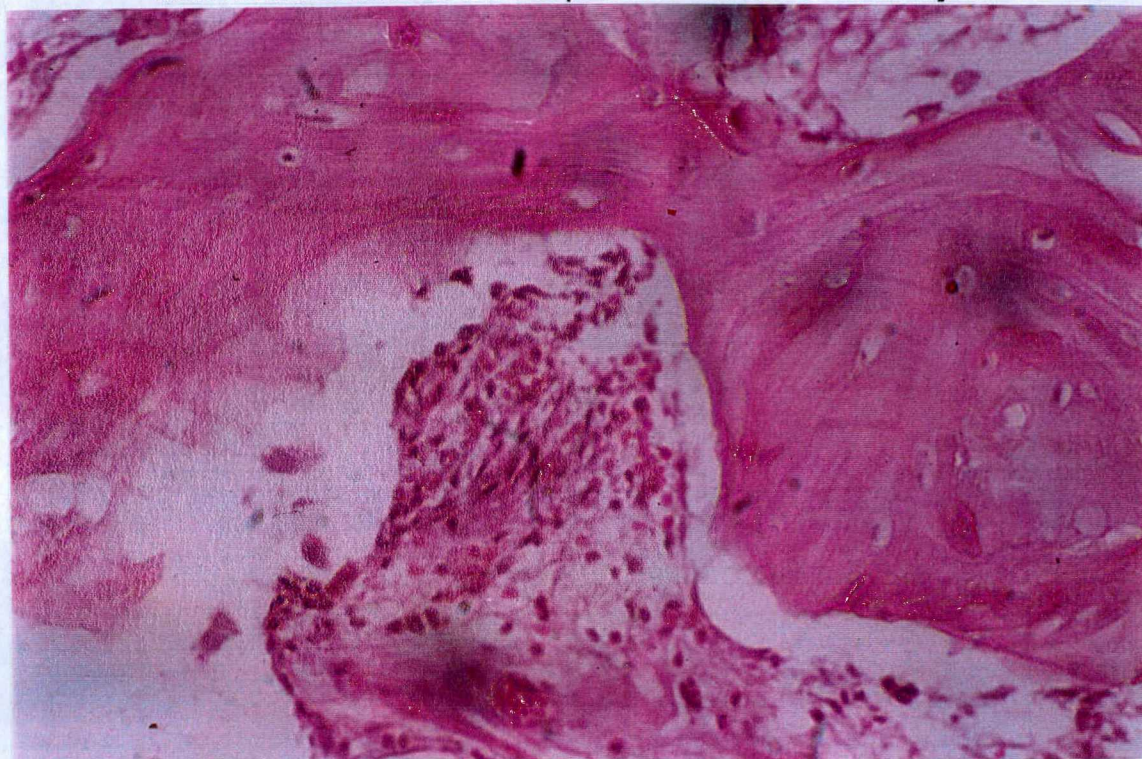


FIGURA 63: Lâmina 8 (L8) – referente ao animal experimental 8. Aumento de 40X. Lacuna de howship com osteoclasto realizando a reabsorção óssea. Evidência de remodelamento ósseo fisiológico.

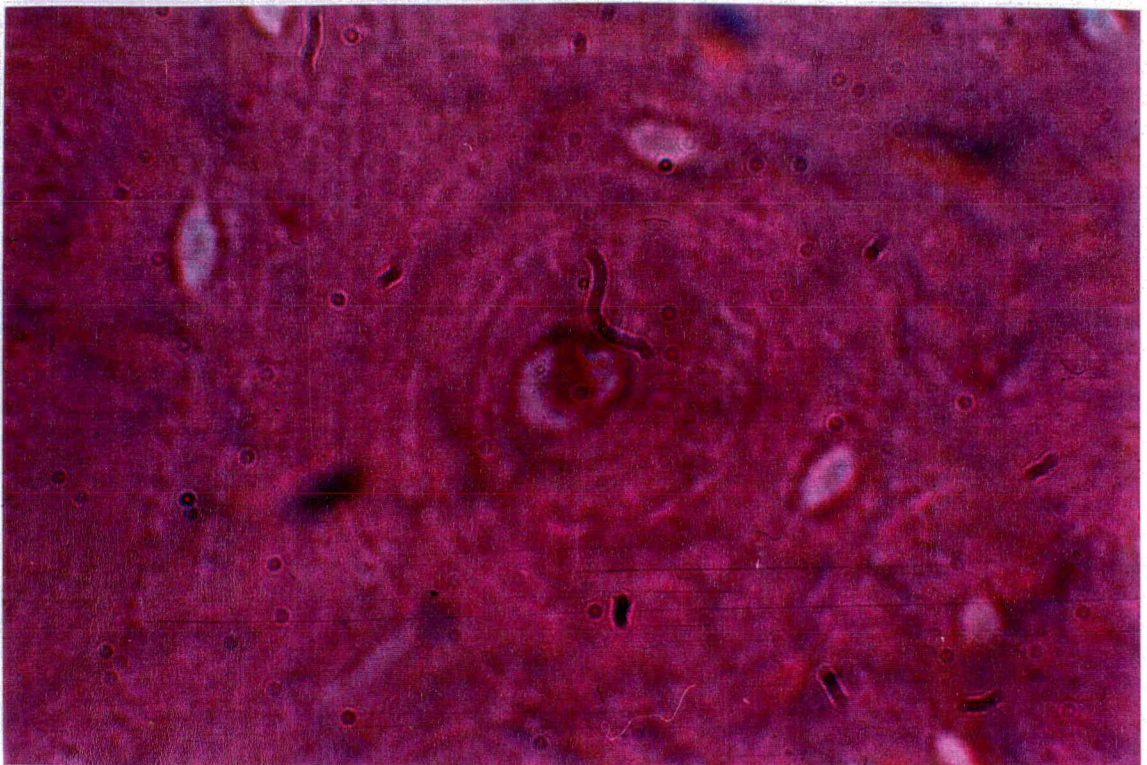


FIGURA 64: Lâmina 9 (L9) – referente ao animal experimental 9. Aumento de 100X. Sistema de Havers (ósteon) com canal de Havers e deposição óssea concêntrica.

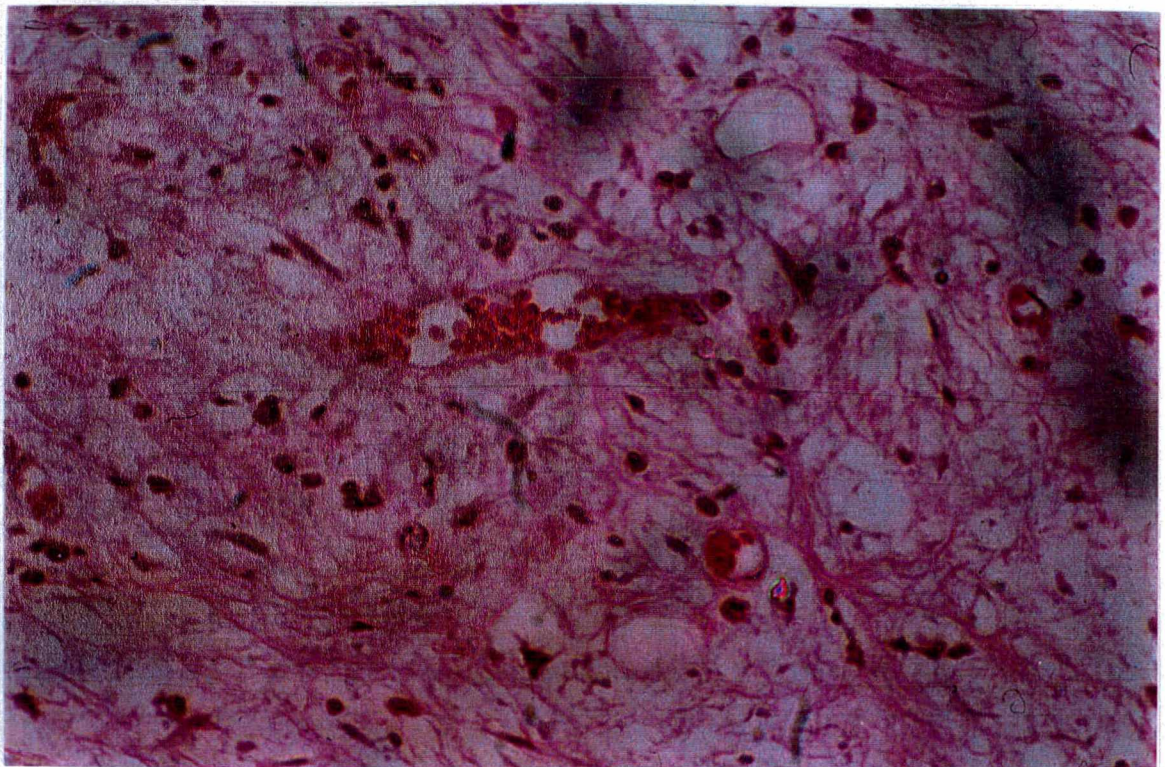


FIGURA 65: Lâmina 9 (L9) – referente ao animal experimental 9. Aumento de 40X. Osso medular com ausência de células inflamatórias e fibrose. Presença abundante de vasos.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A escolha do de um trabalho de dissertação deve preencher a tríade: originalidade, relevância e viabilidade.

A originalidade da utilização de parafusos de osso bovino é inquestionável. A ausência absoluta de trabalhos nesta linha de pesquisa impossibilita, até mesmo, um dos objetivos da discussão, ou seja, comparar os resultados encontrados com outros estudos pertinentes e relevantes.

A relevância do objeto desta pesquisa também é indiscutível. A previsibilidade das próteses sobre implantes osseointegrados alterou paradigmas e incrementou o arsenal terapêutico para as formas diversas de edentulismo. Contudo, algumas limitações anatômicas do osso residual prejudicam a obtenção da estética e função.

Os procedimentos cirúrgicos pré-implante, freqüentemente, são necessários para melhorar o posicionamento e permitir a utilização do comprimento e diâmetro ideais do(s) implante(s). Atualmente, é inaceitável a contra-indicação por atrofia óssea, a seleção de implante inadequado e/ou a sua colocação em posição desfavorável (MAGINI, 2001).

Os procedimentos cirúrgicos pré-implante visam, através do aumento do tecido ósseo, a melhora da estética e biomecânica das próteses, e transmissão das forças oclusais pela obtenção da posição implante ótima final (PIOF) (MAGINI, 2001).

Os enxertos ósseos (intra e extra-bucais) são os materiais mais utilizados para a reconstrução (espessura e/ou altura) dos rebordos atroficos. Contêm células tronco osteoprogenitoras e osteoblastos ativos, não apresentam problemas potenciais de diferença de histocompatibilidade e nem risco de transferência de doenças (BRUNSVOLD & MELLONIG, 1993).

Os enxertos ósseos de origem intra-bucal, da região da mandíbula (sínfise e corpo/ramo), apresentam previsível ganho de volume ósseo e algumas vantagens em relação aos enxertos de origem extra-bucal: complicações mínimas no sítio doador, reabsorção significativamente menor, qualidade óssea superior, baixa morbidade, desconforto mínimo, não altera a locomoção, ausência de cicatriz cutânea, período de cicatrização mais curto e ausência de hospitalização (MISCH, 2000).

A quantidade limitada de tecido ósseo disponível nas áreas doadoras intra-bucais representa a limitação desta técnica. Portanto, freqüentemente necessita-se a utilização de áreas doadoras

extra-buciais, biomateriais alógenos, xenógenos ou substitutos de enxertos ósseos derivados de material não-ósseo (POLIDO & MARINI, 2000).

Os enxertos extra-buciais podem ser obtidos da crista ilíaca, calota-craniana, tibia e costela. As principais vantagens e desvantagens de cada região doadora podem ser assim citadas (NARY FILHO & ILG, 2001):

a) Crista ilíaca (região anterior ou posterior)

Vantagens:

- Grande disponibilidade óssea
- Fácil manipulação
- Obtenção de osso córtico-medular

Desvantagens:

- Necessidade de anestesia geral e internação hospitalar
- Cicatriz
- Potencial para deformidade aparente
- Maior morbidade pós-operatória
- Dificuldade de locomoção
- Osso de origem endocondral (maior tendência à reabsorção)

b) Tábua externa da calota craniana (normalmente da região parietal por ser mais espessa)

Vantagens:

- Grande disponibilidade óssea
- Cicatriz oculta
- Baixa morbidade
- Osso de origem membranosa (menor tendência à reabsorção)

Desvantagens:

- Paciente refratário
- Quantidade pequena de osso medular

- Manipulação difícil
- Potencial para complicações severas

c) Tibia (face anterior mais proximal, imediatamente abaixo do joelho)

Vantagens:

- Boa quantidade de osso medular
- Fácil acesso
- Índice baixo de complicações

Desvantagens:

- Quantidade praticamente inexistente de osso cortical
- Cicatriz muito evidente
- Osso de origem endocondral (maior tendência à reabsorção)

d) Costela: por ter formato muito específico, praticamente não é utilizada para fins de reconstrução de maxila.

As reconstruções em regiões estéticas, freqüentemente, requerem aumentos ósseos tanto em espessura como em altura. O enxerto ósseo aposicional é a primeira opção de tratamento na presença de defeito horizontal ou defeito vertical de pequeno a médio porte. Quando a deficiência em altura for muito grande (maior que seis milímetros) não se pode descartar a possibilidade de necrose e reabsorção do enxerto devido à dificuldade de vascularização inicial (ZÉTOLA, 2001).

A regeneração óssea guiada também não é a melhor alternativa terapêutica para solucionar casos de atrofia óssea vertical grande. A técnica está associada à utilização de enxertos ósseos e/ou substitutos de enxertos ósseos particulados e apresenta previsibilidade dependente da técnica utilizada pelo operador. Além disso, a membrana empregada com o propósito de exclusão tecidual, estabilização do coágulo e manutenção do espaço apresenta alto risco de complicações clínicas. Em caso de deiscência de tecidos moles, com exposição prematura da mesma, poderá haver o desenvolvimento de dor, edema, e abscesso (POLIDO & MARINI, 2001).

Os fatores de crescimento têm sido usados isoladamente ou como agentes capazes de potencializar a regeneração óssea, em conjunto com os enxertos ou outros biomateriais. Todavia, são ainda de difícil isolamento, havendo dificuldades na definição do carreador ideal (PINTO et al., 2001).

A distração osteogênica é uma excelente opção para o aumento ósseo no sentido vertical. Trata-se de processo biológico de formação de novo osso entre os segmentos ósseos gradualmente separados pela tração incremental. A tensão gerada ao "calo" ósseo, estimula a osteogênese e proporciona correção simultânea de tecidos duro e moles (PINTO et al, 2001).

A principais vantagens e desvantagens da técnica podem ser assim citadas:

Vantagens:

- ausência de sítio doador
- inexistência de limite para aumento
- crescimento simultâneo de tecido mole

Desvantagens:

- período de tratamento mais longo
- necessidade do aparelho distrator
- risco de infecção

A técnica exige, ainda, altura óssea mínima de 6 mm para confecção da corticotomia e instalação do aparelho no segmento e remanescente ósseo.

Os resultados apresentados nessa pesquisa em nada contra-indicam a utilização de parafusos de osso bovino como material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo. Caso novas pesquisas, com acompanhamento cronológico dos fatos, venham comprovar a eficácia da técnica, poderemos ressaltar como vantagens do parafuso de osso bovino:

- ausência da necessidade de sítio doador (diminui morbidade)
- ausência de risco de transmissão de doença por se tratar de osso bovino inorgânico

As visões macroscópicas dos espécimes demonstraram, nesse trabalho, evidente crescimento ósseo vertical associados aos sítios experimentais dos coelhos. Todas as peças apresentaram a

cabeça do parafuso completamente liberada do corpo do mesmo. Somente no coelho 1 havia ainda, após 60 dias, fragmentos do parafuso (FIGURAS 31 e 32).

As análises histológicas realizadas em microscópio óptico (com aumento final de 250 vezes) demonstraram reabsorção completa dos parafusos (exceto no coelho 1), com substituição por tecido ósseo normal, sem áreas necróticas e sem áreas de reabsorção acentuada. A presença abundante de osteócitos (osteoblastos aprisionados devido a velocidade da formação da matriz orgânica) caracterizou o tecido ósseo em neo-formação.

Em algumas amostras observou-se grande crescimento ósseo a partir do periósteo remanente. Este fato sugere que a presença física do parafuso pode criar e manter um espaço subjacente ao periósteo que pode ser preenchido por tecido ósseo oriundo do mesmo (papel semelhante a ROG). Constatou-se, ainda, em todos os espécimes ausência de células inflamatórias e de fibrose.

Todas as amostras apresentaram-se com alteração do padrão medular caracterizada por ausência de células adiposas e acúmulo de estruturas acidófilas. Contudo, o coelho 7 (controle, que não recebeu parafuso) também demonstrou a mesma alteração no padrão celular da medula.

Esses resultados são sugestivos e promissores para a utilização dos parafusos de osso bovino com o objetivo de promover crescimento ósseo.

Essa pesquisa não é conclusiva. O uso do parafuso de osso bovino como objeto de fixação de membranas (ROG), de enxertos aposicionais e de fraturas ósseas intra e extra-bucais, também exige confirmação de estudos adicionais com acompanhamento cronológico dos acontecimentos aos 7, 15, 30 e 60 dias. Esta metodologia não foi aplicada pela dificuldade de manutenção dos coelhos (ausência de biotério) e pelo grande número de amostras necessárias.

A viabilidade da fabricação de parafusos de osso bovino está fundamentada:

- em um trabalho de tese de Mora (2000), que expõe todos os passos necessários para usinagem dos parafusos;
- na presença de espaço físico e máquinas necessárias para usinagem dos parafusos da Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina;
- no fácil acesso a matéria-prima fornecida pela empresa Baumer, divisão biomateriais.

Em resumo, os resultados transversais deste estudo sugerem que os parafusos de osso bovino podem ser utilizados, em humanos, nas técnicas de cirurgias ósseas reconstrutivas. Todavia, estudos adicionais são necessários para acompanhamento cronológico dos eventos teciduais.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa, tais como:

- a) presença de reabsorção do parafuso de osso bovino com conseqüente preenchimento ósseo;
- b) obtenção de ganho ósseo vertical na maioria das peças experimentais e presença de tecido ósseo em neo-formação;
- c) ausência de osso necrótico;
- d) ausência de células inflamatórias e
- e) ausência de fibrose sugerem que os parafusos de osso bovino possam ser utilizados, em humanos, como material de preenchimento nas técnicas de aumento de rebordo. Todavia, sugere-se estudo adicional com acompanhamento cronológico dos eventos teciduais aos 7, 15, 30 e 60 dias.

Novos estudos são necessários, ainda, para verificar a possibilidade da utilização dos parafusos de osso bovino como substituto de parafusos metálicos utilizados na odontologia nas técnicas de :

- 1) fixação de enxertos ósseos tipo aposicional;
- 2) fixação de membranas reabsorvíveis e
- 3) fixação de fraturas ósseas intra e extra-bucais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AICHELMANN-REIDY, M.E., YUKNA, R.A. Bone replacement grafts: the bone substitutes. *Dent Clin North Am*, Philadelphia, v.42, n.3, p.491-503, July 1998.
- ALBREKTSSON, T. The healing of autologous bone grafts after varying degrees of surgical trauma. A microscopic and histochemical study in the rabbit. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.62, n.3, p.403-410, Aug. 1980.
- ALBREKTSSON, T., ALBREKTSSON, B. Microcirculation in grafted bone. A chamber technique for vital microscopy of rabbit bone transplants. *Acta Orthop Scand*, Oslo, v.49, n.1, p.1-7, Feb. 1978.
- AMSEL, S. DELL, E.S. Bone marrow repopulation of subcutaneously grafted mouse femurs. *Proc Soc Exp Biol Med*, Malden, v.138, n.2, p.550-552, Nov. 1971.
- ANGERMANN, P., JEPSEN, O.B. Procurement, banking and decontamination of bone and collagenous tissue allografts. Guidelines for infection control. *J Hosp Infect*, Sidcup Kent, v.17, n.3, p.159-169, Mar. 1991.
- ARROCHA, R., WITWER, J.W., GARGIULO, A.W. Tissue response to heterogenous bone implantation in dogs. *J Periodontol*, Chicago, v.39, n.3, p.162-166, May 1968.
- ASHER, D.M. et al. Transmission of human spongiform encephalopathies to experimental animals: comparison of the chimpanzee and squirrel monkey. *Dev Biol Stand*, Allschwilerstrasse, v.80, n.6, p.9-13, 1993.
- ASPENBERG, P., JOHNSON, E., THORNGREN, K.G. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.72, n.6, p.1036-1037, Nov. 1990.
- BALDOCK, W.T. et al. An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. *J Periodontol*, Chicago, v.56, n.1, p.1-7, Jan. 1985.
- BARNETT, J.D. et al. Comparison of freeze-dried bone allograft and porous hydroxyapatite in human periodontal defects. *J Periodontol*, Chicago, v.60, n.5, p.231-237, May 1989.
- BASSET, C., ANDREW, L. Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.87, p.49-59, 1972.
- BECKER, W., BECKER, B.E., CAFFESSE, R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol*, Chicago, v.65, n.12, p.1128-1133, Dec. 1994.
- BECKER, W. et al. Clinical and histologic observations of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts: 15 human case reports. *J Periodontol*, Chicago, v.67, n.10, p.1025-1033, Oct. 1996.

BECKER,W. et al. Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice: a preliminary report. *J Periodontol*, Chicago, v.66, n.9, p.822-829, Sept. 1995a.

BECKER,W. et al. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous graft: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard, v.10, n.2, p.143-154, Mar./Apr. 1995b.

BERGLUNDH,T., LINDHE,J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.8, n.2, p.117-124, Apr. 1997.

BERNICK,S. et al. Cellular events associated with the induction of bone by demineralized bone. *J Orthop Res*, New York, v.1, n.1, p.1-11, Sept. 1989.

BONFIGLIO,M., JETER,W.S. Immunological responses to bone. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.87, p.19-27, Sept. 1972.

BÖSTMAN,O.M. Current concepts review absorbable implants for the fixation of fractures. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.73, n.1, p.148-153, Jan. 1991.

BOWEN,J.A. et al. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol*, Chicago, v.60, n.12, p.647-654, Dec. 1989.

BOYNE,P.J. Autogenous cancellous bone and marrow transplants. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.73, p.199-209, Nov./Dec. 1970a.

BOYNE,P.J. Edentulous alveolar ridge augmentation and restorative grafting. In: MISCH,C.E. CONTEMPORARY IMPLANT DENTISTRY. St Louis: Mosby. 1993. 419p. p.210-247.

BOYNE,P.J. Physiology of bone and response of osseous tissue to injury and environmental changes. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.28, p.12-16, Jan. 1970b.

BRUNSVOLD,M.A., MELLONIG,J.T. Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontol 2000*, Copenhagen, v.1, n.1, p.80-91, Feb. 1993.

BUCK,B., MALININ,T., BROWN,M. Bone transplantation and human immunodeficiency virus: an estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Orthop*, Philadelphia, v.240, p.129-136, Mar. 1989.

BURCHARDT,H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am*, Philadelphia, v.18, n.2, p.187-196, Apr. 1987.

BURCHARDT,H., ENNEKING,W.F. Transplantation of bone. *Surg Clin North Am*, Philadelphia, v.58, n.2, p.403-427, Apr. 1978.

BURCHARDT,H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.1, n.174, p.28-42, Apr. 1983.

BURWELL,R.G. Studies in the transplantation of bone. VIII treated composite homograft-autograft of cancellous bone: an analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.48, n.3, p.532-566, Aug. 1966.

BURWELL,R.G. The fate of freeze-dried bone allografts. *Transplant Proc*, New York, v.8, (2 suppl 1), p.95-111, June 1976.

CALLAN,D.P., ROHRER,M.D. Use of bovine-derived hydroxyapatite in the treatment of edentulous ridge defects: a human clinical and histological case report. *J Periodontol*, Chicago, v.64, n.6, p.575-582, June, 1993.

CARRANZA,F.A. et al. Histologic study of healing of human periodontal defects after placement of porous hydroxyapatite implants. *J Periodontol*, Chicago, v.58, n.10, p.682-688, Oct. 1987.

CLERGEAU,L.P. et al. Healing response to anorganic bone implantation in periodontal intrabony defects in dogs. Part I. Bone regeneration. A microradiographic study. *J Periodontol*, Chicago, v.67, n.2, p.140-149, Feb. 1996.

COHEN,R.E. et al. Phenotypic characterization of mononuclear cells following anorganic bovine bone implantation in rats. *J Periodontol*, Chicago, v.65, n.11, p.1008-1015, Nov. 1994.

COLLINS,T. Advanced grafting: Bränemark implants with autogenous grafts. In: BELL,W.H. MODERN PRACTICE IN ORTHOGNATHIC AND RECONSTRUCTIVE SURGERY. Philadelphia: Saunders. 1992. 1304p. p.1191-1206.

CRAFT,P.D., SARGENT,L.A. Membranous bone healing and techniques in calvarial bone grafting. *Clin Plast Surg*, Philadelphia, v.16, n.1, p.11-19, Jan. 1989.

CROSS,W.G. Bone implants in periodontal diseases: a further study. *J Periodontol*, Chicago, v.28, p.184.191, 1957

DADO,D.V., IZQUIERDO,R. Absorption of onlay bone grafts in immature rabbits: membranous versus endochondral bone and bone struts versus paste. *Ann Plast Surg*, Philadelphia, v.23, n.1, p.39-48, July 1989.

DAHLIN,C. et al. Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using the guided tissue regeneration technique: a prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard, v.10, n.3, p.312-318, May/June 1995.

DeBASTIANI,G. et al. Limb lengthening by callus distraction. *J Pediatr Orthop*, Philadelphia, v.7, n.2, p.129-134, Mar./Apr. 1987.

DELEU,J., TRUETA.J. Vascularization of bone grafts in the anterior chamber of the eye. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.47, n.3, p.319-326, Mar. 1965.

ELLIS,E. Biology and bone grafting: an overview. *Selected Readings in Oral and Maxillofacial Surgery*, Philadelphia, v.2, p.1-7, 1991.

ELVES,M.W., PRATT,L.M. The pattern of new bone formation in isografts of bone. *Acta Orthop Scand*, Oslo, v.46, n.4, p.549-560, Sept. 1975.

EMMINGS,F.G. Chemically modified osseous material for the restoration of bone defects. *J Periodontol*, Chicago, v.45, n.5, p.385-390, May 1974.

ENNEKING,W.F., EADY,J.L., BURCHARDT,H. Autogenous cortical bone grafts in the construction of segmental skeletal defects. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.62, n.7, p.1039-1058, Oct. 1980.

ENNEKING,W.F. et al. Physical and biological aspects of repair in dog cortical bone transplants. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.57, n.2, p.237-252, Mar. 1975.

EPPLEY,B.L., SADOVE,A.M., GERMAN,R.Z. Evaluation of HTR polymer as a craniomaxillofacial graft material. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.86, n.6, p.1085-1092, Dec. 1990.

ESMONDE,T. et al. Creutzfeldt-Jakob disease and lyophilised dura mater grafts: report of two cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, London, v.56, n.9, p.999-1000, Sept. 1993.

ETTEL,R.G. et al. Porous hydroxyapatite grafts in chronic subcrestal periodontal defects in rhesus monkeys: a histological investigation. *J Periodontol*, Chicago, v.60, n.6, p.342-351, June 1989.

FRIEDLAENDER,G.E. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.69, n.5, p.786-790, June 1987.

FRIEDLAENDER,G.E., LADENBAUER,B.I., CHRISMAN,O.D. Immunogenicity of xenogeneic cartilage matrix components in a rabbit model. *Yale J Biol Med*, New Haven, v.56, n.3, p.211-217, May/June 1980.

FRIEDLAENDER,G.E., STRONG,D.M., SELL,K.W. Studies on the antigenicity of bone. I. Freeze-dried and deep frozen bone allografts in rabbits. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.58, n.6, p.854-858, Sept. 1976.

FROUM,S.J. et al. Human clinical and histologic responses to durapatite implants in intraosseous lesions. Case reports. *J Periodontol*, Chicago, v.53, n.12, p.719-725, Dec. 1982.

FUKUTA,K. et al. Comparison of inorganic bovine bone mineral particles with porous hydroxyapatite granules and cranial bone dust in the reconstruction of full thickness skull defect. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.3, n.1, p.25-29, July 1992.

GAO,T.J., et al. Morphological and biomechanical difference in healing in segmental tibial defects implanted with Biocoral or tricalcium phosphate cylinders. *Biomaterials*, Oxford, v.18, n.3, p.219-223, Feb. 1997.

GOLDBERG,V.M., LANCE,E.M. Revascularization and accretion in transplantation. Quantitative studies of the role of the allograft barrier. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.54, n.4, p.807-816, June 1972.

GRAY,J.C., ELVES,M.W. Early osteogenesis in compact bone isografts. A quantitative study of the contributions of the different graft cells. *Calcif Tissue Int*, New York, v.29, n.3, p.225-237, Mar. 1979.

GUILLEMIN,G. et al. The use of coral as a bone graft substitute. *J Biomed Mater Res*, New York, v.21, n.5, p.557-567, May 1987.

HÄMMERLE,C.H. et al. The biological effect of natural bone mineral on bone neoformation on the rabbit skull. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.8, n.3, p.198-207, June 1997.

HÄMMERLE,C.H. et al. The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.9, n.3, p.151-162, June 1998.

HARDESTY,R.A., MARSH,J.L. Bone grafting: a comparative prospective analysis of graft morphology, orientation and embryonic origin. *Surg Forum*, Chicago, v.38, n.3, p.609-613, May 1987.

HARDESTY,R.A., MARSH,J.L. Craniofacial onlay bone grafting: a prospective evaluation of graft morphology, orientation, and embryonic origin. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.85, n.1, p.5-14, Jan. 1990.

HAUSMANN,E. et al. Effects of sera on bone resorption in tissue culture. *Calcif Tissue Int*, New York, v.13, n.4, p.311-317, Dec. 1973.

HEIPLE,K.G. et al. Biology of cancellous bone grafts. *Orthop Clin North Am*, Philadelphia, v.18, n.2, p.179-185, Apr. 1987.

HOBAR,P.C., BYRD,H.S. Implantation: bone, cartilage and alloplasts. *Selected Readings in Plastic Surgery*, Philadelphia, v.6, p.1-7, 1990.

HOLLINGER,J.O. et al. Role of bone substitutes. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.324, p.55-65, Mar. 1996.

HOLMES,R. Bone regeneration within a coralline hydroxyapatite implant. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.63, n.5, p.626-633, May 1979.

HOLMES,R., HAGLER,H. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in maxillary augmentation: a histometric study. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.16, n.5, p.199-205, Mar. 1988.

HÜRZELER,M.B. et al. Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.8, n.6, p.476-486, Dec. 1997.

ILIZAROV,G.A. The principles of the Ilizarov method. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst*, Andover, v.48, n.1, p.1-11, Spring 1988.

ILIZAROV,G.A. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.238, p.249-281, Jan. 1989a.

ILIZAROV,G.A. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.239, p.263-285, Feb. 1989b.

IWATA,H., URIST,M.R. Protein polysaccharide of bone morphogenetic matrix. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.87, p.257-274, Sept. 1972.

JARCHO,M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and application. *Dent Clin North Am*, Philadelphia, v.30, n.1, p.25-47, Jan. 1986.

JARCHO,M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.157, p.259-278, June 1981.

JENSEN,O.T. et al. Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard, v.13, suppl 11-45, 1998.

JENSEN,O.T. et al. Vertical guided bone-graft augmentation in a new canine mandibular model. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard, v.10, n.3, p.335-344, May/June 1995.

JOHNSON,E.E., URIST,M.R., FINERMAN,A.M. Distal metaphyseal tibial nonunion. Deformity and bone loss treated by open reduction, internal fixation, and human bone morphogenetic protein (BMP). *Clin Orthop*, Philadelphia, v.250, p. 234-240, Jan. 1990.

KARP,N.S. et al. Membranous bone lengthening. A serial histological study. *Ann Plast Surg*, Philadelphia, v.29, n.1, p.2-7, July 1992.

KENNEY,E.B. et al. Bone formation within porous hydroxyapatite implants in humans periodontal defects. *J Periodontol*, Chicago, v.57, n.2, p.76-83, Feb. 1986.

KENT,J.N. et al. Alveolar ridge augmentation using non-resorbable HA with and without autologous cancellous bone. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.41, n.10, p.629-642, Oct. 1983.

KIM,C.K. et al. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium carbonate implant and guided tissue regeneration. *J Periodontol*, Chicago, v.67, n.12, p.1301-1306, Dec. 1996.

- KING,K.F. Periosteal pedicle grafting in dogs. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.58, n.1, p.117-121, Feb. 1976.
- KLINGE,B. et al. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hidroxyapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.50, n.3, p.241-249, Mar. 1992.
- KORLOF,B., NYLEN,B., RIETZ,K. Bone grafting of skull defects: a report of 55 cases. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.52, n.4, p.378-383, Oct. 1973.
- KREJCI,C.B. et al. Clinical evaluation of porous and non porous hydroxyapatite in the treatment of human periodontal bony defects. *J Periodontol*, Chicago, v.58, n.8, p.521-528, Aug. 1987.
- LANGER,F. et al. The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.57, n.2, p.216-220, Mar. 1975.
- LAPLANCHE,J.L. et al. Molecular genetics of prion diseases in France. French research group on Epidemiology of Human Spongiform Encephalopathies. *Arch Neurol*, Chicago, v.44, n.12, p.2347-2351, Dec. 1994.
- La TRENTA,G.S. et al. The role of rigid skeletal fixation in bone-graft augmentation of the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.84, n.4, p.578-588, Oct. 1989.
- LEKHOLM,U. et al. The condition of the soft tissues at tooth and fixture abutments supporting fixed bridges. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.13, n.6, p.558-562, July 1986.
- LIN,K.Y. et al. The effect of rigid fixation on the survival of onlay bone grafts: an experimental study. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.86, n.3, p.449-456, Sept. 1990.
- LOSKEN,H.W. et al. Frontal bone advancement stability with or without microplate fixation: an experimental study in rabbits. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.2, n.1, p.22-26, Apr. 1991.
- MAGINI,R. et al. Cirurgias ósseas pré implante. Livro eletrônico produzido por Sonopress – Indústria Brasileira. São Paulo. 2001.
- MANSON,P.N. Facial bone healing and bone grafts. *Clin Plast Surg*, Philadelphia, v.21, n.3, p.331-348, July 1994.
- MARCHAC,D. Commentary on frontal bone advancement. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.2,n.4, p.26-31, Mar. 1991.
- MARK,D. et al. Repair of calvarial nonunions by osteogenin, a bone-inductive protein. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.86, n.4, p.623-630, Oct. 1990.
- MARTIN,T.J., NG,K.W., SUDA,T. Bone cell physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am*, Philadelphia, v.18, n.4, p.833-858, Dec. 1989.

MELLONIG, J.T., BOWERS, G.M. Regenerating bone in clinical periodontics. *J Am Dent Assoc*, Chicago, v.121, n.4, p.497-502, Oct. 1990.

MELLONIG, J.T. et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. *J Periodontol*, Chicago, v.47, n.3, p.125-131, Mar. 1976.

MELLONIG, J.T. Freeze-dried bone allografts in periodontal reconstructive surgery. *Dent Clin North Am*, Philadelphia, v.35, n.3, p.505-520, July 1991.

MELLONIG, J.T. Periodontal regeneration: bone grafts. In: NEVINS, M., MELLONIG, J.T. PERIODONTAL THERAPY: clinical approaches and evidence of success. Illinois: Quintessence. 1998. 400p. p.233-248.

MELLONIG, J.T., PREWETT, A.B., MOYER, M.P. HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol*, Chicago, v.63, n.12, p.979-983, Dec. 1992.

MICHAELI, D., EPSTEIN, E.H.Jr. Isolation and identification of the antigenic determinants of human collagen. In: MENEZEL, J. HARELL, A. CALCIFIED TISSUE: structural, functional and metabolic aspects. New York: Academic Press. 1971. 236p. p.25-47.

MISCH, C.E. IMPLANTES DENTÁRIOS CONTEMPORÂNEOS. São Paulo: Santos, 2000. 685p. Cap. 29. p.451-468: Aumento do osso para a inserção do implante: soluções para o enxerto ósseo.

MONTAZEM, A. et al. The mandibular symphysis as a donor site in maxillofacial bone grafting: a quantitative anatomic study. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.58, n.12, p.1368-1371, Dec. 2000.

MORA, F., OUHAYOUN, J.P. Clinical evaluation of natural coral and porous hydroxyapatite implants in periodontal bone lesions: results of a 1 year follow-up. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.22, n.11, p.877-884, Nov. 1995.

MORA, F.A.R. Fabricação de implantes ortopédicos a partir de usinagem de osso humano, 2000. 221f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

MOWLEN, R. Bone grafting. *Br J Plast Surg*, Sidcup Kent, v.16, p.293-300, 1963.

MOY, P., PALACCI, P. Minor bone augmentation procedures. In: PALACCI, P. ESTHETIC IMPLANT DENTISTRY SOFT AND HARD TISSUE MANAGEMENT. Chicago: Quintessence. 2000. 364p. p.137-158.

MÜLLER, M.E. et al. Screws and plates and their application. In: MANUAL OF INTERNAL FIXATION. Technique recommended by the AO-ASIF group. Chicago: Quintessence. 1991. 334p. p.179-198.

MULLIKEN, J.B., KABAN, L.B., GLOWACKI, J. Induced osteogenesis: the biological principle and clinical applications. *J Surg Res*, Orlando, v.37, n.6, p.487-496, Dec. 1984.

MUSCOLO, D.L., KAWAI, S., RAY, R.D. Cellular and humoral immune response analysis of bone-allografted rats. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.58, n.6, p.826-832, Sept. 1976.

NAAMAN BOU-ABBOUD, N. et al. Evaluation of the osteogenic potential of biomaterials implanted in the palatal connective tissue of miniature pigs using undecalcified sections. *Biomaterials*, Oxford, v.15, n.3, p.201-207, Feb. 1994.

NARY FILHO, H., ILG, J.P. Atrofia severa da maxila. In: DINATO, J.C., POLIDO, W.D. *IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: cirurgia e prótese*. São paulo: Artes Médicas. 2001. 529p. p.343-372.

OHGUSHI, H., GOLDBERG, V., CAPLAN, A. Repair of bone defects with marrow cells and porous ceramic. Experiments in rats. *Acta Orthop Scand*, Oslo, v.60, n.3, p.334-339, June 1989.

OREAMUNO, S. et al. Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. *J Periodontol*, Chicago, v.61, n.7, p.399-404, July 1990.

OUHAYOUN, J.P. Bone grafts and biomaterials used as bone graft substitutes. In: LANG, N.P., KARRING, T., LINDHE, J. *PROCEEDINGS OF THE 2ND EUROPEAN WORKSHOP ON PERIODONTOLOGY: chemicals in periodontics*. Berlim: Quintessenz. 1997. 427p. p.313-358.

OUHAYOUN, J.P. et al. Histological evaluation of natural coral skeleton as a grafting material in miniature swine mandible. *J Mater Sci Mater Med*, Dordrecht, v.3, p.222-228, 1992.

PARRISH, F.F. Allograft replacement of all or part of the end of the long bone following excision of a tumor. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.55, n.1, p.1-22, Jan. 1973.

PEER, L.A. The fate of autogenous human bone grafts. *Br J Plast Surg*, Sidcup Kent, v.3, p.233-238, 1951.

PELKER, R.R., FRIEDLAENDER, G.E. Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. *Orthop Clin North Am*, Philadelphia, v.18, n.2, p.235-239, Apr. 1987.

PERREN, S.M., CORDEY, J. The concept of interfragmentary strain. In: UHTHOFF, H.G. (ed). *CURRENT CONCEPTS OF INTERNAL FIXATION OF FRACTURES*. Berlim. 1980. 189p. p.63.

PERREN S.M. Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.138, p.175-196, Jan./Feb. 1979.

PHILLIPS, J.H., RAHN, B.A. Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone graft resorption. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.82, n.5, p.872-877, Nov. 1988.

PHILLIPS,J.H., RAHN,B.A. Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone graft revascularization and bone deposition. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.85, n.6, p.891-897, June 1990.

PIATTELI,A., PODDA,G., SCORANO,A. Clinical and histological results in alveolar ridge enlargement using coralline calcium carbonate. *Biomaterials*, Oxford, v.18, n.8, p.623-629, Apr. 1997.

PINHOLT,E.M. et al. Alveolar ridge augmentation by osteoinductive materials in goats. *Scand J Dent Res*, Copenhagen, v.100, n.6, p.361-365, Dec. 1992.

PINHOLT,E.M. et al. Chemical, physical, and histologic studies on four commercial apatites used for alveolar ridge augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.50, n.8, p.859-867, Aug. 1992.

PINTO,A.V.S. et al. Distração osteogênica. In: DINATO,J.C., POLIDO,W.D. IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: cirurgia e prótese. São Paulo: Artes Médicas. 2001. 529p. p.397-421.

POLIDO,W.D., MARINI,E. Enxertos ósseos do ramo mandibular com finalidade estética. In: DINATO,J.C., POLIDO,W.D. IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: cirurgia e prótese. São Paulo: Artes Médicas. 2001. 529p. p.261-282.

POOLE,A.R. et al. Proteoglycans from bovine nasal cartilage. Immunochemical studies of link protein. *J Biol Chem*, Bethesda, v.255, n.19, p.9295-9305, Oct. 1980.

PROLO,D.J., RODRIGO,J.J. Contemporary bone graft physiology and surgery. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.200, p.322-342, Nov. 1985.

PRUSINER,S.B. Genetic and infectious prion diseases. *Arch Neurol*, Chicago, v.50, n.11, p.1129-1153, Nov. 1993.

RAGHOEBAR et al. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge with autogenous bone before insertion of implants. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.54, n.10, p.1180-1185, Oct. 1996.

RAY,R.D. Vascularization of bone grafts and implants. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.87, p.43-48, Sept. 1972a.

RAY,R.D. Bone grafts and implants. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.87, p.2-4, Sept. 1972b.

REDDI,A.H., WEINTROUB,S., MUTHUKUMARAN,N. biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am*, Philadelphia, v.18, n.2, p.207-212, Apr. 1987.

REVER,L.J. et al. The healing of facial bone fractures by the process of secondary union. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.87, n.3, p.451-458, Mar. 1991.

- ROSENBERG,E., ROSE,L.F. Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. *Dent Clin North Am*, Philadelphia, v.42, n.3, p.467-490, July 1998.
- SATO,K., URIST,M.R. Bone morphogenetic protein induced cartilage development in tissue culture. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.183, p.180-187, Mar. 1984.
- SCHLICKWEI,W. et al. Influence of humate on calcium hydroxyapatite implants. *Arch Orthop Trauma Surg*, Berlin, v.112, n.6, p.275-279, Mar. 1993.
- SCHMID,J. et al. Blood filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration. A comparative experimental study in the rabbit using bioresorbable membranes. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.8, n.2, p.75-81, Apr. 1997.
- SCHWARTZ,Z. et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol*, Chicago, v.67, n.9, p.918-926, Sept. 1996.
- SCOPP,I.W., KASSOUNY,D.Y., MORGAN,F.H. Bovine bone (boplant). *J Periodontol*, Chicago, v.37, n.5, p.400-407, Sept./Oct. 1966.
- SHAFFER,A. Interceptive preprosthetic oral surgery envisioned for the perceptive dentist. *Dent Today*, Fairfield, v.10, n.3, p.42-45, Apr. 1991.
- SHIGEYAMA,Y. et al. Commercially prepared allograft material has biological activity in vitro. *J Periodontol*, Chicago, v.66, n.6, p.478-487, June 1995.
- SIMONDS,R.J. et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a sero-negative organ and tissue donor. *N Engl J Med*, Waltham, v.326, n.11, p.726-732, Mar. 1992.
- SMITH,J.C., ABRAMSON,M. Membranous vs. endochondral bone autografts. *Arch Otolaryngol*, Chicago, v.99, n.3, p.203-205, Mar. 1974.
- SMITH,P.E. et al. Creutzfeldt-Jakob disease in a dairy farmer. *Lancet*, London, v.346, n.8979, p.898, Sept. 1995.
- SNYDER,A.J. et al. Alloplastic implants of tricalcium phosphate ceramic in human periodontal osseous defects. *J Periodontol*, Chicago, v.55, n.5, p.273-277, May 1984.
- SPAMPATA,R., WERTHER,J.R., HAUSCHKA,P.V. Accelerated endochondral osteoinduction in the absence of bone matrix particles in a rat model system. *J Oral Maxillofac Surg*, Philadelphia, v.50, n.2, p.140-151, Feb. 1992.
- SPECTOR,M. Anorganic bovine bone and ceramic analogs of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. *Clin Plast Surg*, Philadelphia, v.21, n.3, p.437-444, July 1994.

- STAHL,S.S., FROUM,S.J. Histologic and clinical responses to porous hydroxyapatite implants in human periodontal defects. Three to twelve months postimplantation. *J Periodontol*, Chicago, v.58, n.10, p.689-695, Oct. 1987.
- STRUB,J.R. et al. Comparison of tricalcium phosphaste and frozen allogenic bone implants in man. *J Periodontol*, Chicago, v.50, n.12, p.624-629, Dec. 1979.
- THALLER,S.R., KAWAMOTO,H.K. A histologic evaluation of fracture repair in the midface. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.85, n.2, p.196-201, Feb. 1990.
- THALLER,S.R., KIM,J.C., KAWAMOTO,H.K. Calvarial bone graft donor site: a histological study in a rabbit model. *Ann Plast Surg*, Philadelphia, v.23, n.5, p.390-395, Nov. 1989.
- THALLER,S.R. et al. Reconstruction of calvarial defects with anorganic bovine mineral (Bio-Oss) in a rabbit model. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.4, n.2, p.79-84, Apr. 1993.
- THALLER,S.R. et al. Repair of experimental calvarial defects with Bio-Oss particles and collagen sponges in a rabbit model. *J Craniofac Surg*, Philadelphia, v.5, n.4, p.242-246, Sept. 1994.
- THALLER,S.R. et al. The split calvarial bone graft donor site: the effects of surgical and hydroxyapatite impregnated with collagen. *Ann Plast Surg*, Philadelphia, v.25, n.6, p.435-439, Dec. 1990.
- THOMPSON,N., CASSON,J.A. Experimental onlay bone grafts to the jaws. A preliminary study in dogs. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.46, n.4, p.341-349, Oct. 1970.
- THOROGOOD,P.V., GRAY,J.C. The cellular changes during osteogenesis in bone and bone marrow composite autografts. *J Anat*, New York, v.120, n.1, p.27-47, Sept. 1975.
- TRIPPLET,R.G., SCHOW,S.R. Osseous regeneration with bone harvested from the anterior mandible. In: NEVINS,M., MELLONIG,J.T. *IMPLANT THERAPY: clinical approaches and evidence of success*. Chicago: Quintessence. 1998. 604p. p.209-217.
- URIST,M.R. Bone formation by autoinduction. *Am J Sci*, New Haven, v.150, n.36, p.893-899, June 1965.
- URIST,M.R., DeLANGE,R.J., FINERMAN,G.A.. Bone cell differentiation and growth factors. *Am J Sci*, New Haven, v.220, n.4598, p.680-686, May 1983.
- URIST,M.R., DOWELL,T.A. Inductive substratum for osteogenesis in pellets of particulate bone matrix. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.61, p.61-78, Nov./Dec. 1968.
- URIST,M.R., et al. Inductive substrates for bone formation. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.59, p.59-96, July/Aug. 1968.

URIST,M.R. et al. Quantification of new bone formation in intramuscular implants of bone matrix in rabbits. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.68, p.279-293, Jan./Feb. 1970.

URIST,M.R. et al. The bone induction principle. *Clin Orthop*, Philadelphia, v.53, n.13, p.243-283, May 1967. (J)

URIST,M.R., HERNANDEZ,A. Excitation transfer in bone. Deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. *Arch Surg*, Chicago, v.109, n.4, p.486-493, Oct. 1974.

URIST,M.R., McLEAN,F.C. Osteogenic potential and new bone formation by induction in transplants tthe anterior chamber of the eye. *J Bone Joint Surg*, Boston, v.34, p.443-476, 1952.

URIST,M.R. Osteoinduction in undemineralized bone implants modified by chemical inhibitors of endogenous matrix enzymes. A preliminary report. *Clinic Orthop*, Philadelphia, v.87, p.132-137, Sept. 1972.

URIST,M.R., STRATES,B.S. Bone formation in implants of partially and wholly demineralized bone matrix. Including observations on acetone-fixed intra and extracellular proteins. *Clin Orthop*, Phialdelphia, v.71, p.271-278, June 1970.

WAGNER,W., WAHLMANN,U.W., HEIDEMANN,D. Tissue reaction and biodegradation behavior of various calcium phosphate materials. In: PIZZOFERRATO,A. et al. *BIOMATERIALS: clinical application* eds. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. 1987. 630p. p.609-614.

WATROUS,D.A., ANDREWS,B.S. The metabolism and immunology of bone. *Semin Arthritis Rheum*, Philadelphia, v.19, n.1, p.45-65, Aug. 1989.

WATSON-JONES,R. *Fracture and joint injuries*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1955. 856p. p.283-297: Transplantation of bone.

WEISSMANN,C. Molecular biology of tansmissible spongiform encephalopathies. *Prog Brain Res*, Amsterdam, v.105, p.15-22, 1995.

WELLS,G.A.H., WILESMITH,J.W. The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. *Brain Pathology*, Pittsburgh, v.5, n.1, p.91-103, Jan. 1995.

WETZEL,A.C., STICH,H., CAFFESSE,R.G. Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials. A histologic study in beagle dogs. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v.6, n.3, p.155-163, Sept. 1995.

YUKNA,R.A. HTR polymer grafts in human periodontal osseous defects. 6-month clinical results. *J Periodontol*, Chicago, v.61, n.10, p.633-642, Oct. 1990.

ZÉTOLA,A. Reconstrução da mandíbula posterior atrófica. In: DINATO,J.C., POLIDO,W.D. *IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: cirurgia e prótese*. São Paulo: Artes Médicas. 2001. 529p. p. 373-397.

ZINS, J.E., WHITAKER, L.A. Membranous versus endochondral bone: implications for craniofacial reconstruction. *Plast Reconstr Surg*, Philadelphia, v.72, n.6, p.778-784, Jan. 1983.