

Rogério da Silva Jorge

Enxerto autógeno de osso ilíaco em defeito de tamanho
crítico na mandíbula de rato.

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Universidade Estadual de Campinas

1999

Rogério da Silva Jorge

Enxerto autógeno de osso ilíaco em defeito de tamanho
crítico na mandíbula de rato.

Tese apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Biologia e Patologia Buc-
Dental, Faculdade de Odontologia de
Piracicaba, Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG, 07 / 10 / 1999


Assinatura do Orientador

Orientador: Prof.Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz

Piracicaba

São Paulo



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V.	Ex.
TOMBO BC/	3924F
PROG	229/99
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	28/10/99
N.º CPO	

CM-00136599-1

Ficha Catalográfica

J768e Jorge, Rogério da Silva.
 Enxerto autógeno de osso ilíaco em defeito de tamanho crítico na mandíbula de rato. / Rogério da Silva Jorge. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.
 101p. : il.

Orientador : Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Ossos - Enxerto. 2. Mandíbula. 3. Rato. I. Luz, João Gualberto de Cerqueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 08 de Julho de 1999, considerou o candidato ROGERIO DA SILVA JORGE aprovado.

1. Prof. Dr. JOÃO GUALBERTO DE CERQUEIRA LUZ

2. Prof. Dr. FABIO DAUMAS NUNES

3. Prof. Dr. EDGARD GRANER

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado ao meu avô Antônio Mendes da Silva, "Toineca", presença marcante na minha infância, que com poucas palavras e um grande coração, mostrou como a vida dá seus frutos e como eles são bons.

À minha mãe, Abadia, pelo carinho e cuidado que me dedicou, sempre presente, nas horas certas e incertas.

À incansável Mariliana, colega, amiga e namorada

Ao Prof.Dr. João Gualberto, detentor do mérito da realização da pesquisa,
através de incentivo, trabalho e persistência.

Personalidade admirável, sendo muito mais um amigo e exemplo a ser
seguido que somente um orientador.

Ao Prof.Dr. Jacks Jorge Júnior, pelo cuidado e apoio que recebi durante os últimos anos, tanto em atividades profissionais quanto pessoais, sendo para mim um verdadeiro irmão mais velho.

Ao Prof.Dr. Oslei Paes de Almeida, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos na Área de Patologia Oral e incentivo às demais atividades acadêmicas que tanto ajudaram na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus

"Todas as coisas foram feitas por intermédio dele, e sem ele nada do que foi feito se fez"

João, 1.3

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Estado de São Paulo, pelo apoio dado durante a realização da pesquisa (Proc. N. 97/03657-6).

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, na pessoa do Diretor, Prof.Dr. Antônio Wilson Sallum, e também ao Diretor anterior, Prof.Dr. José Ranali.

À Coordenação de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, na pessoa da Profa.Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury pelo apoio e assistência.

À Coordenação do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental, na pessoa da Profa.Dra. Darcy de Oliveira Tosello e Carlos Roberto Hoppe Fortinguerra.

Ao Prof.Dr. Oslei Paes de Almeida, chefe da Área de Patologia da FOP-UNICAMP.

Aos professores da Área de Patologia Oslei Paes de Almeida, Jacks Jorge de Almeida, Edgard Graner, Márcio Ajudarte Lopes, Ricardo Coletta e Pablo Agustin Vargas.

Aos professores da Disciplina de Histologia da FOP-UNICAMP, Pedro Duarte Novaes e José Merzel.

À secretária do Departamento Rosa Maria Fornasiari e aos técnicos do Laboratório Adriano, Ana Cristina e Maria Helena.

Aos colegas da pós-graduação do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP, em especial ao Rui Barbosa Brito Júnior, Hannah Carmem Ribeiro, Fábio Alves de Abreu e Fábio Ramoa Pires.

À aluna de graduação Karina Gotardello Zechin.

Ao Departamento de Cirurgia, Prótese e Traumatologia da FOUSP, na pessoa do seu Chefe, Prof.Dr. Francisco Antônio dos Santos Corrêa e ao Prof.Dr. José Carlos Mesquita de Carvalho.

Aos professores da Disciplina de Traumatologia da FOUSP, João Gualberto de Cerqueira Luz, Antônio Castelo Branco Teixeira, José Benedito Dias Lemos, Antônio Sílvio Fontão Procópio, Francisco Antônio dos Santos Corrêa e Oswaldo Crivello Júnior.

Ao Prof.Dr. Josué Lourenço Santiago, da Disciplina de Cirurgia da FOUSP.

À Profa.Dra Vera Cavalcanti de Araújo, pelo acolhimento e apoio.

Ao secretário da Disciplina de Traumatologia, Édison Henrique Vicente, pelos prestimosos serviços prestados nestes últimos anos.

Às técnicas do Laboratório da Patologia da FOUSP, Elisa e Edna.

Aos colegas do Laboratório Experimental da Disciplina de Traumatologia da FOUSP, Alan Cruvinel, Elza Fernandes e Lucimar Rodrigues.

À aluna da Graduação Luciane Ito Queiroz, que em muito contribuiu na realização dos experimentos.

Ao Dr. Cássius Dias, pelo apoio às minhas atividades acadêmicas.

À Maria Aparecida e Júlia Beatriz.

Aos eternos amigos Ricardo Mesquita, Guilherme Lopes, Feris Biller, Jhony Freitas, Pilón, Danny, Manoel Humberto, Rodrigo Burgos e Gessivaldo Ramos.

SUMÁRIO

	p
LISTA DE SIGLAS E TERMOS UTILIZADOS.....	1
LISTA DAS FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS.....	3
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1- INTRODUÇÃO.....	9
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1- REVISÃO DOS ESTUDOS CLÍNICOS.....	13
2.2- REVISÃO DOS ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	18
3- PROPOSIÇÃO.....	47
4- MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
5- RESULTADOS.....	57
5.1- ESTUDO HISTOLÓGICO.....	58
5.2- ESTUDO RADIOGRÁFICO E DE DENSITOMETRIA ÓPTICA....	71
6- DISCUSSÃO.....	75
7- CONCLUSÕES.....	95
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXOS.....	107

Companheiros, sem esquecer de modo algum as antigas desgraças, tendes sofrido maiores; um deus dará fim também a estas. Vistes, de perto, a fúria de Sila em seus ruidosos rochedos, enfrentastes a rocha dos ciclopes: erguei o ânimo e deixai de lado o triste temor; talvez, futuramente, seja prazeroso recordar estes fatos. Através de muitas desgraças, através de tantos riscos, dirigimo-nos ao Lácio, onde os fados nos reservam tranquila morada; ali a boa sorte fará ressurgir Tróia. Perseverai e guardai-vos para estes dias favoráveis.

Eneida, Publius Virgilius Maro

LISTA DE SIGLAS E TERMOS UTILIZADOS

ANOVA - análise da variância, abreviação do termo inglês "analysis of variance".

BMP - proteína morfogênica do osso, do inglês "bone morphogenic protein". Nome dado a um grupo de fatores de crescimento (BMP 2-7) envolvidos no processo de formação óssea. A BMP-2 e 7 estão mais intimamente relacionadas com a neoformação óssea. A BMP faz parte da superfamília dos TGF- β .

DO - densidade óptica.

Densidade óptica média - valor médio do volume dos pixels selecionados na área de interesse, sendo este valor referente ao tom de cinza. Quanto mais escuro o tom de cinza maior será o volume do pixel, desta forma, quanto mais radiolúcida a imagem maior será a densidade óptica média.

Dpi - pontos por polegada, do inglês "dots per inch".

FGF - fator de crescimento do fibroblasto, do inglês "fibroblast growth factor". Existem três tipos ligados à reparação, FGF ácido, FGF básico e KGF. O FGF básico é potente agente mitogênico para células endoteliais, além de estimular formação de tecido de granulação.

Gy - unidade de medida de radiação, igual a 100 rads. Gy é abreviação de Gray.

HA - hidroxiapatita.

OHB - oxigênio hiperbárico.

PIXEL - palavra de origem inglesa, adotada na forma de neologismo no Brasil, é o resultado da contração de "pictures elements". Significa menor ponto bidimensional encontrado na tela do vídeo.

PMN - leucócitos polimorfonucleares.

PVPI - polivinilpirrolidona-Iodo.

TGF- β - fator de crescimento transformante tipo beta, do inglês "transforming growth factor beta". Superfamília de fatores de crescimento, subdividida em TGF beta 1 a 14 e BMP 2-7. Os TGF- β 1, 2 e 3 têm estrutura e função semelhante, entretanto a TGF- β 1 é o tipo predominante, estimulando a migração de células inflamatórias e induzindo a síntese de matriz extracelular.

UI - unidade internacional.

VEGF - fator de crescimento vascular endotelial, do inglês "vascular endothelial growth factor", subtipo de fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), sendo potente agente mitogênico para células endoteliais.

VPF - fator de permeabilidade vascular, do inglês "vascular permeability factor", possui função semelhante ao VEGF.

LISTA DAS FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

	P
Gráfico 1. Distribuição dos artigos de literatura indexada por tipo de enxerto, nos últimos dois lustros.	12
Figura 1. Defeito ósseo mandibular de tamanho crítico sem tratamento após seis meses. Margem mandibular (M). Tecido fibroso e tecido muscular ocupam o defeito. Foto gentilmente cedida pelo autor. Aumento de 75x.	35
Figura 2. Detalhe anatômico das estruturas ósseas da região pélvica do rato. Seta indica o local da remoção do enxerto.	50
Figura 3. Obtenção do enxerto ósseo da crista ilíaca com aparelho de biópsia. O detalhe mostra o bloco ósseo já removido, com diâmetro de quatro milímetros.	51
Figura 4. Detalhe anatômico das estruturas ósseas da mandíbula. Seta indica o local da realização do defeito bicortical.	52
Figura 5. Trefina utilizada, com diâmetro de três milímetros.	52
Figura 6. Realização do defeito no ramo da mandíbula, com uso de trefina em baixa rotação, sob irrigação com soro fisiológico.	53
Figura 7. Defeito mandibular bicortical obtido.	53
Figura 8. Enxerto ósseo preenchendo o defeito mandibular.	54
Tabela 1. Peso médio inicial e final dos animais utilizados nesta pesquisa. Valores expressos em gramas.	57

- Figura 9. Enxerto posicionado no defeito mandibular após um dia. Amplo espaço medular preenchido por tecido hematopoético e células adiposas uniloculares. Tecido muscular inserido na face interna da mandíbula. As setas indicam as margens da mandíbula. Corte frontal. Aumento de 30x. 59
- Figura 10. Margem mandibular (M) mostrando necrose da superfície após um dia. Enxerto vitalizado e recoberto por periosteio na face externa. Medula óssea ocupada por tecido hematopoético. Corte frontal. Aumento de 75x. 60
- Figura 11. Margem do defeito mandibular (M) e trabécula do enxerto (E), ambos vitalizados. Grupo de um dia. Rede de fibrina permeada por leucócitos mononucleares e hemácias. Corte sagital. Aumento de 190x. 60
- Figura 12. Grupo de um dia. Detalhe da adaptação das corticais do enxerto (E) do defeito mandibular (M). Corte sagital. Aumento de 190x. 61
- Figura 13. Margem mandibular com neoformação óssea (NO), após uma semana. Enxerto desvitalizado e recoberto por periosteio. Corte frontal. Aumento de 75x. 62
- Figura 14. Margem mandibular (M) após uma semana, com superfície desvitalizada e corticais com proliferação óssea. Tecido de granulação na margem do enxerto. Corte frontal. Aumento de 190x. 63
- Figura 15. Detalhe da medula óssea após uma semana. Atividade osteoblástica e tecido de granulação. Ilha de matriz osteóide cercada por osteoblastos. Trabéculas do enxerto desvitalizadas. Corte frontal. Aumento de 190x. 63
- Figura 16. Margem mandibular (M), com neoformação óssea (NO) nas corticais. Enxerto com espaço medular ocupado por proliferação óssea e tecido de granulação. A neoformação óssea une trabéculas vizinhas. Corte frontal. Tempo de duas semanas Aumento de 30x. 65

Figura 17. Detalhe da margem do defeito mandibular (M) após duas semanas. Neoformação óssea em direção ao espaço medular, que é ocupado por tecido de granulação. Trabéculas do enxerto (E) desvitalizadas. Corte sagital. Aumento de 75x.	65
Figura 18. Trabécula óssea do enxerto (E) em meio a intensa neoformação óssea. Grupo de duas semanas. Tecido condróide (C). Corte frontal. Aumento de 75x.	66
Figura 19. Margem do defeito mandibular (M) após um mês. Neoformação óssea (NO). Espaço medular com tecido hematopoético. Corte frontal. Aumento de 75x.	67
Figura 20. Osso mandibular (M) com neoformação óssea. Trabécula do enxerto desvitalizada (E) e tecido hematopoético com células adiposas. Grupo de um mês. Corte sagital. Aumento de 75x.	68
Figura 21. Osso mandibular (M) com neoformação óssea (NO), unindo-a ao enxerto (E), que mostra mescla de osso desvitalizado e neoformado. Grupo de um mês. Corte sagital. Aumento de 75x.	68
Figura 22. Local do enxerto após três meses, mostrando intenso remodelamento ósseo. Espaço medular reduzido e ocupado por tecido hematopoético. Fibras musculares inseridas no osso mandibular. Corte frontal. Aumento de 48x.	70
Figura 23. Margem do defeito mandibular, indicada por setas. Lamelas concêntricas do sistema circunferencial externo (LC). Grupo de três meses. Corte frontal. Aumento de 75x.	70
Figura 24. Enxerto após três meses, setas indicam parte da cortical do osso ilíaco. Corte frontal. Aumento de 75x.	71
Figura 25. Radiografias obtidas. (1d) um dia, (1s) uma semana, (2s) duas semanas, (1m) um mês, (3m) três meses.	72
Tabela 2. Média de densidade óptica no lado controle e experimental, com desvio padrão. Valores expressos em DO.	73

Gráfico 2 - Média de densidade óptica nos lados controle e experimental nos cinco tempos avaliados. Valores expressos em DO. 74

Tabela 3 - Significância da diferença entre as médias da densidade óptica do lado controle e experimental na análise de variância (ANOVA). 74 e 109

RESUMO

Esta pesquisa teve por objetivo a avaliação da reparação de enxerto ósseo do íliaco em defeito de tamanho crítico na mandíbula de rato, histologicamente e por densitometria óptica de radiografias. Os animais deste estudo foram 25 ratos Wistar adultos. Sob anestesia geral foi realizado defeito ósseo bicortical no ramo direito da mandíbula, preenchido com enxerto da crista ilíaca. Os animais foram divididos em cinco grupos, com cinco ratos cada. Estes foram sacrificados após um, sete e 14 dias, um e três meses. As mandíbulas foram removidas, fixadas em formol e posteriormente radiografadas. As hemi-mandíbulas direitas foram descalcificadas e cortes foram obtidos e corados com hematoxilina e eosina. Inicialmente foi notado processo inflamatório agudo ao redor do enxerto, o qual estava bem adaptado ao leito receptor. A maior parte do enxerto era formado por osso esponjoso, com amplo espaço medular ocupado por tecido hematopoético. Em seguida foi observada intensa neoformação óssea a partir da cortical mandibular e dentro do próprio enxerto. Os espaços medulares estavam ocupados por tecido de granulação e osteoblastos. Houve remodelamento do leito receptor, com diminuição do volume do enxerto e espaço medular, bem como substituição do osso esponjoso por osso compacto. Por fim, do enxerto, somente remanescentes corticais desvitalizados foram encontrados, estando o local do enxerto semelhante à mandíbula normal. A densitometria óptica das radiografias revelou diferenças estatisticamente significantes entre o lado experimental e controle. Este modelo experimental mostrou ser valioso no estudo da reparação óssea. Foi concluído que o enxerto do osso ilíaco promoveu a reparação do defeito crítico mandibular, com remodelamento ósseo completo.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the healing of critical size defect in the rat mandible filled with iliac graft, histologically and by optical densitometry of radiographs. The study animals were 25 adult Wistar rats. Under general anesthesia a bicortical osseous defect was created in the right mandibular ramus, and filled with iliac crest graft. The animals were divided into five groups, with five rats in each. They were sacrificed after one, seven and fourteen days, one and three months. The mandibles were removed, fixed in formalin, and later radiographed. The right hemi-mandibles were decalcified, and sections were cut and stained with hematoxylin and eosin. Initially, acute inflammatory process was noted along the graft, which was tightly fitted to the defect. Subsequently, intense bone neoformation from external corticals and in the inner spaces of the graft was observed. Medular spaces were occupied by granulation tissue and osteoblasts. There was remodeling of the receptor site, with decrease in the graft volume and medulary space, as well as cancellous bone replaced by compact bone. Later, devitalized remnants of corticals of the graft were found, and receptor site was similar to the normal mandible. Optical densitometry of radiographs revealed statistically significant differences between experimental and control sites. This experimental model was valuable in the bone healing study. It was concluded that iliac graft promoted healing of the critical size defect of the mandible, with complete bony remodeling.

1- INTRODUÇÃO

A reparação óssea é um assunto de grande importância e grandes avanços no entendimento na reparação deste tecido singular no organismo humano têm sido obtidos graças aos estudos experimentais em animais. A utilização destes é recomendada para melhoria do entendimento do processo biológico, desenvolvimento de técnica cirúrgica e teste de materiais para enxerto ósseo (LANE & SANDHU, 1987; GUTTU & LASKIN, 1989; HOLLINGER & KLEINSCHMIDT, 1990; AABOE *et al.*, 1995). Dentre os vários tópicos da reparação óssea, destaque é dado ao estudo dos transplantes ósseos, pois estes procedimentos têm sido utilizados para correção de defeitos congênitos, perdas de substância, como no trauma e infecção ou de remoção de tumores, representando o segundo tipo de tecido transplantado mais comum, após a transfusão sanguínea (BURCHARDT, 1987). Estes defeitos podem ocorrer em qualquer parte do esqueleto humano, mas quando acometem a região de crânio ou face, causam profundas sequelas funcionais e estéticas. Embora existam vários materiais para substituição óssea, como hidroxiapatita, osso de origem bovina ou ainda osso humano desmineralizado, o osso removido do próprio paciente parece ser ainda a melhor opção para correção de tais defeitos (BURCHARDT, 1987; CHEN *et al.*, 1994; AABOE *et al.*, 1995), a despeito de gerar ferida cirúrgica adicional e ser fonte limitada de osso em quantidade e qualidade (BURCHARDT, 1987). Para reconstrução de

defeitos faciais, o ilíaco é tido como um bom leito doador (CANADY *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 1994; KALK *et al.*, 1996; POGREL *et al.*, 1997).

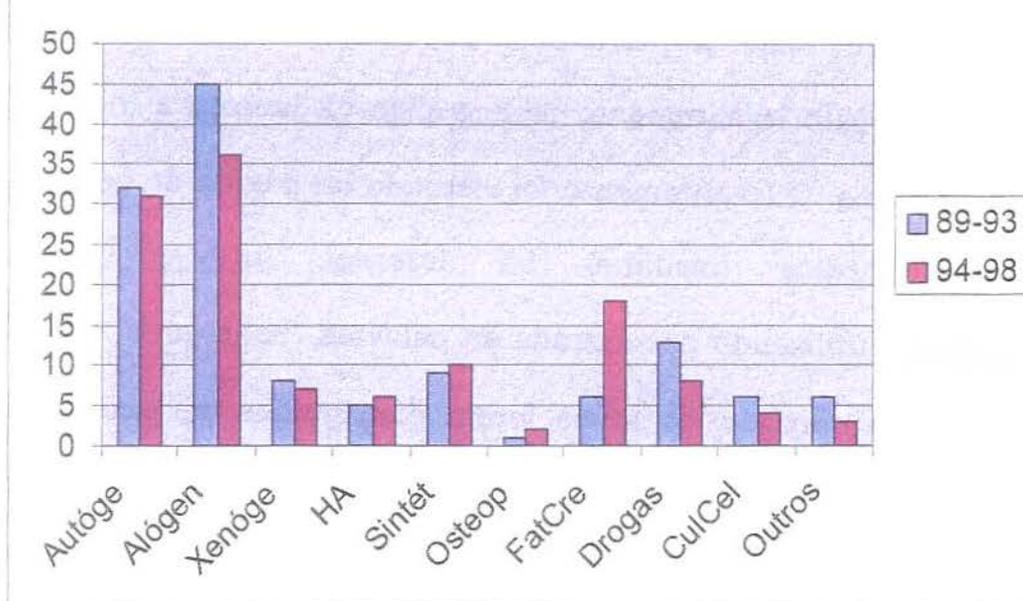
Estudos nesta área são escassos, sobretudo utilizando defeitos de tamanho crítico na mandíbula. Tais defeitos são ideais para estudo de enxertos, por não sofrerem reparação espontânea (HOLLINGER & KLEINSCHMIDT, 1990).

2- REVISÃO DA LITERATURA

Com objetivo de saber a distribuição dos artigos abordando o tema aqui estudado, foi feito levantamento bibliográfico da literatura indexada nos últimos dez anos. O levantamento foi efetuado na página de pesquisa de literatura médica (medline) na Internet (<http://www.nlm.nih.gov/PubMed/>) utilizando por entrada as palavras “bone graft” e “rat”. Foram listados 231 artigos, os quais foram distribuídos em grupos de acordo com o tipo de enxerto ou material utilizado, a saber, autógeno, alógeno, xenógeno, hidroxiapatita, sintéticos, osteopromoção, fatores de crescimento, drogas com interferência na reparação óssea, cultura celular e os não especificados de outra forma. Os resultados estão expressos no Gráfico 1.

Foi notado que enxertos autógenos ou alógenos são merecedores de aproximadamente metade da atenção dos artigos nestas duas épocas. Outro dado relevante foi o aumento do número de artigos sobre fatores de crescimento no último lustro.

Gráfico 1. Distribuição dos artigos de literatura indexada por tipo de enxerto, nos últimos dois lustros



Autógeno = Autógeno; Alógeno = Alógeno; Xenógeno = Xenógeno; HA = Hidroxiapatita; Sintético = Sintético; Osteopromoção = Osteopromoção; Fatores de crescimento = Fatores de crescimento; Drogas = Drogas; Cultura celular = Cultura celular; Outros = Outros.

BERNARD (1991) classificou os enxertos de acordo com sua origem, diferenciando quatro tipos, o autógeno, quando é removido do mesmo indivíduo que irá recebê-lo; alógeno, quando o enxerto é realizado entre indivíduos da mesma espécie, com genótipos diferentes; xenógeno, quando é removido de uma espécie diferente daquela do receptor e aloplásticos, quando o enxerto é de fonte sintética, sendo o material do enxerto, por vezes, chamado implante. O transplante ósseo entre indivíduos com o mesmo genótipo é chamado singênico.

2.1- REVISÃO DOS ESTUDOS CLÍNICOS

LAURIE *et al.* (1984) estudaram comparativamente as complicações encontradas após a remoção de enxerto do osso ilíaco e costela para reconstrução de defeitos cranio-maxilo-faciais. Foram analisados 72 pacientes, com 60 transplantes de ilíaco e 44 de costela, com tempo médio de avaliação de 4,2 anos. Os autores concluíram que inicialmente as complicações são maiores no ilíaco, com tendência à resolução, ao passo que a costela mostrou maior número de complicações em tempos mais prolongados.

CANADY *et al.* (1993) avaliaram as complicações associadas à remoção de enxerto ósseo da crista ilíaca para reconstrução de defeitos alveolares por período de dois anos. Dos 50 pacientes operados, nenhum teve complicação de longa duração. Foi relatado hematoma, abscesso, edema, dor, eritema, febre e drenagem de material serosanguinolento, com resolução dentro de quatro a seis semanas. Os autores concluíram que a crista ilíaca é adequada como sítio doador para reconstrução de defeitos do processo alveolar.

CHEN *et al.* (1994) estudaram a indicação e seleção de sítios doadores de enxerto ósseo para reconstrução de mandíbula, baseados em 55 casos de mandibulectomia. As indicações para usar enxerto livre vascularizado foram osteoradionecrose da mandíbula ou irradiação do leito

receptor, reconstrução de hemi-mandíbula, defeito segmentar extenso especialmente através da sínfise, recobrimento inadequado de pele ou mucosa, defeitos que necessitaram enxerto composto, incapacidade de imobilização correta da reconstrução, falha de reconstrução por outros métodos e reconstrução quase total da mandíbula. A seleção do sítio doador deve ser de acordo com o tamanho do defeito, tipo do defeito, tipo de retalho planejado, irradiação prévia do leito receptor, quais vasos a serem utilizados, qual retalho tem vaso de comprimento apropriado, cor e textura da pele do sítio doador, osteotomias requeridas para dar curvatura similar à da mandíbula, rapidez na união óssea e possibilidade de uso de implantes. Dentre os três tipos de enxertos revascularizados utilizados pelos autores, ilíaco, fibula e escápula, o mais frequentemente usado foi o do osso ilíaco, sendo sempre indicado como a primeira opção, por apresentar boa qualidade óssea e amplo retalho de pele e tecido mole.

FEIFEL *et al.* (1994) realizaram a medição da densidade óssea da mandíbula após enxerto de crista ilíaca em pacientes submetidos a mandibulectomia, através de tomografia computadorizada quantitativa. Os autores citaram que os tecidos moles ao redor do osso a ser analisado podem interferir na densidade óssea, quando se usa radiografias convencionais. O enxerto vascularizado não mostrou mudanças na densidade óssea e o não vascularizado revelou aumento da densidade óssea, em comparação com a crista ilíaca intacta. Este fato foi explicado como ocorrência de mineralização e processo reparativo metaplásico.

BEIRNE *et al.* (1996) avaliaram retrospectivamente as complicações associadas à remoção de enxerto ósseo da crista ilíaca para correção de fenda palatina e alveolar. Foram analisados 137 pacientes, submetidos a 154 procedimentos de remoção de enxerto, com mínimo de um ano de evolução. As complicações relatadas foram dor pós-operatória, dificuldade de deambulação, parestesia do nervo cutâneo lateral da coxa, infecção, deformidade no contorno da crista e sensibilidade do osso e pele. No entanto, estas complicações tenderam à resolução, em curto espaço de tempo. Os autores concluíram que a crista ilíaca pode fornecer quantidade adequada de osso para a correção do defeito, com baixa incidência de complicações no sítio doador.

KALK *et al.* (1996) avaliaram retrospectivamente as complicações associadas à remoção de enxerto ósseo da crista ilíaca para reconstrução de defeitos maxilo-faciais. Foram avaliados 65 pacientes por um período um a quatro anos. Foi verificada boa aceitação do procedimento pelos pacientes e baixo índice de complicações, concluindo os autores que o osso ilíaco é um local adequado para remoção de enxerto com finalidade de reconstrução óssea da região maxilo-facial.

MILLESSE *et al.* (1997) descreveram um caso de plasmocitoma solitário em um homem de 44 anos de idade, localizado entre o primeiro pré-molar até o ramo mandibular esquerdo. Foi utilizada radioterapia, quimioterapia e excisão cirúrgica no tratamento da lesão. Após a remoção radical do tumor, o enxerto ósseo removido da crista ilíaca foi utilizado

para reconstruir a mandíbula e após três anos de acompanhamento não foi notada recidiva. A reconstrução, desde as osteotomias até o uso das placas, foi planejada em modelo tridimensional do crânio com auxílio de computador. Os autores citaram que o osso ilíaco é útil na reconstrução da mandíbula e concluíram que o modelo tridimensional em computador ajuda no planejamento da cirurgia.

POGREL *et al.* (1997) compararam enxertos ósseos vascularizados ou não na reconstrução de defeitos segmentais da mandíbula. Foram realizados 68 enxertos, sendo 39 vascularizados e 29 não vascularizados. Dos enxertos vascularizados, 38 foram removidos da fíbula e um da crista ilíaca e dos não vascularizados, 26 da crista ilíaca e três da costela. Ocorreram dois casos de falha nos enxertos vascularizados e sete nos não vascularizados. Os autores relataram que o tamanho do defeito a ser restaurado está relacionado como fator de sucesso ou não dos enxertos não vascularizados, citando o tamanho de nove centímetros como limite seguro para seu uso. Os defeitos maiores seriam melhor tratados com enxertos vascularizados, sendo esta ainda a primeira opção em locais com irradiação prévia.

RUDMAN (1997) avaliou em estudo prospectivo as complicações associadas com a remoção de enxerto ósseo da crista do osso ilíaco para reconstrução de defeitos alveolares. Foram analisados 32 pacientes pelo período de duas semanas. O osso ilíaco forneceu volume ósseo suficiente. Houve boa recuperação dos pacientes, estando sem sintomas ao final do

tempo avaliado. O tempo médio para voltar a andar foi de três horas e dezoito minutos após o retorno para o quarto, permanecendo o paciente internado, em média, por um dia. O autor chegou à conclusão que a crista ilíaca é um sítio doador favorável para reconstrução maxilo-facial.

BROWN *et al.* (1998) estudaram a reparação de defeitos ósseos verticais na região periodontal de humanos, utilizando análise de densitometria por computador, após tratamento com cimento de fosfato de cálcio, curetagem ou debridamento e implantação de osso liofilizado desmineralizado. Após 12 meses da intervenção, nova radiografia foi obtida e comparada com a inicial, revelando queda na densidade óssea nos pacientes tratados com cimento de fosfato de cálcio, ao passo que os sítios tratados com osso liofilizado ou somente curetagem mostraram aumento significativo da densidade. Os autores concluíram que a avaliação através de densitometria foi consistente com os achados clínicos.

GULALDI *et al.* (1998) investigaram o efeito do enxerto xenógeno, de origem bovina, na reparação de alvéolos dentais de terceiros molares em 22 pacientes. O acompanhamento foi feito por meio de cintilografia semanalmente durante um mês. Após a extração o alvéolo foi preenchido com osso liofilizado granulado em 11 pacientes, servindo o restante dos pacientes como controle. Os resultados mostraram maior atividade osteoblástica no grupo do enxerto, contudo o fluxo sanguíneo para o local da extração permaneceu inalterado entre os dois grupos. Os autores

concluíram que o osso enxertado estimulou a atividade osteoblástica e acelerou o processo de reparação.

STELLINGSMA *et al.* (1998) estudaram a reconstrução da mandíbula extremamente reabsorvida em dez pacientes do gênero feminino. A reconstrução foi feita através da remoção da parte superior do osso mandibular e seu reposicionamento sobre enxerto ósseo removido da crista ilíaca, sendo posteriormente colocados implantes endósseos de titânio. Depois de um período médio de 31 meses as condições do enxerto e implantes foram analisadas, assim como a satisfação dos pacientes. Os autores relataram que o método foi adequado para reconstrução da mandíbula e confecção de próteses totais inferiores sobre implantes ósseos e que os pacientes estavam satisfeitos com o tratamento realizado.

2.2- REVISÃO DOS ESTUDOS EXPERIMENTAIS

HJØRTING-HANSEN (1970) pesquisou o enxerto em mandíbula de cães, por meio de defeito monocortical de oito milímetros de diâmetro, preenchido com osso inorgânico, sendo o grupo controle sem nenhum material enxertado. Os animais foram avaliados por um período de 16 semanas. Foram realizadas radiografias da mandíbula do animal após seu sacrifício. O autor concluiu que no grupo experimental houve regeneração

óssea satisfatória, ao passo que o grupo controle apresentou áreas com reparação incompleta e tecido fibroso no centro do defeito ósseo. Além disto, foi citado que as radiografias não contribuíram para a análise da reparação, segundo o autor isto ocorreu possivelmente por causa da localização da cavidade.

GONÇALVES & MERZEL (1976) estudaram o uso de osso alógeno e xenógeno, conservados em formaldeído, na reparação de defeito ósseo mandibular no rato, com cerca de dois milímetros de diâmetro. O osso xenógeno, removido do fêmur de cães, e o alógeno, removido da diáfise de ossos longos, foram reduzidos a pequenos fragmentos e fixados em solução de formalina a 10%. Os animais foram sacrificados com 30, 60, 90 e 150 dias após a cirurgia. O enxerto heterógeno reagiu como corpo estranho, sendo encapsulado por tecido fibroso, enquanto o alógeno promoveu osteoindução a partir das partículas implantadas, unindo-as ao leito receptor. Nos tempos avançados, o defeito não foi identificado, demonstrando remodelamento completo do local, no grupo do enxerto alógeno. Os autores concluíram que o osso alógeno, conservado em formaldeído, poderia, depois de novas pesquisas, ser empregado clinicamente.

KABAN & GLOWACKI (1981) citaram haver dificuldade na avaliação de enxertos ósseos na mandíbula, pois em alguns modelos experimentais o defeito reparava espontaneamente. Propuseram um modelo de defeito ósseo bicortical não reparável espontaneamente no ramo mandibular do

rato, com diâmetro de quatro milímetros, obtido com trefina. Neste defeito foi implantado osso liofilizado, osso pulverizado ou osso desmineralizado pulverizado. Os animais foram sacrificados com duas, quatro, oito e 16 semanas após a cirurgia. O grupo controle mostrou neoformação óssea a partir das margens do defeito, mas que não se ligaram em nenhum dos tempos de avaliação do estudo, evoluindo para cicatrização fibrosa ao final do experimento. Nos grupos experimentais, a reparação mais completa foi encontrada com uso de osso desmineralizado pulverizado, sendo este o único a mostrar formação de tecido cartilaginoso durante o processo de neoformação óssea. Os autores concluíram que o osso desmineralizado pulverizado mostrou maior grau de estímulo osteogênico em relação aos outros dois materiais.

FRAME *et al.* (1982) estudaram o enxerto interposto de osso autógeno, proveniente da crista ilíaca, no aumento do processo alveolar edêntulo de cães. O enxerto foi mantido em posição por cerclagem com fio de aço. Foi realizado exame radiográfico da mandíbula do animal durante o experimento. Os animais foram sacrificados quatro e oito semanas depois da cirurgia. Foi relatada, no tempo inicial, delimitação do enxerto por tecido de granulação e tecido fibroso, bem como necrose dos osteócitos do enxerto. Mesmo estando desvitalizado, o enxerto mostrou neoformação óssea sobre sua cortical e trabéculas, sendo posteriormente incorporado à mandíbula pela neoformação óssea a partir das corticais mandibulares. O fragmento ósseo alveolar deslocado estava vitalizado, com exceção de áreas

próximas ao túnel por onde passou a cerclagem. O espaço medular, inicialmente ocupado por tecido de granulação, mostrou preenchimento por medula óssea adiposa. As radiografias revelaram pouca variação da altura do processo alveolar depois do enxerto de osso ilíaco, até o final do experimento. Os autores concluíram que o osso autógeno interposto é bem aceito pelo sítio receptor.

KABAN & GLOWACKI (1984) avaliaram comparativamente o osso alógeno desmineralizado ou mineralizado, na promoção de aumento do segmento edêntulo da mandíbula de rato. O enxerto foi implantado entre o incisivo e os molares, sob a mucosa. Os animais que receberam enxerto mineralizado, na forma granular, foram acompanhados por 12 semanas, enquanto o grupo que recebeu osso desmineralizado por 16 semanas. O grupo do osso desmineralizado foi dividido em osso pulverizado, removido de ossos longos, ou em bloco, removido da crista ilíaca. O osso mineralizado foi reabsorvido, enquanto o desmineralizado promoveu neoformação óssea. As duas formas de enxerto desmineralizado mostraram resultados semelhantes. A descrição histológica mostrou tecido fibroso ao redor do enxerto no sétimo dia, sendo que no décimo dia tecido cartilaginoso estava presente, com condrócitos penetrando nas trabéculas mais externas. Após três meses houve união do enxerto com o leito receptor, sem interposição do periósteo. Os autores concluíram que o osso desmineralizado foi efetivo no aumento do processo alveolar da mandíbula

GONGLOFF *et al.* (1985) estudaram o uso de tubos de colágeno para facilitar a implantação de hidroxiapatita em defeito crítico no ramo da mandíbula de ratos. Como controle foi implantada hidroxiapatita diretamente no defeito ou somente o tubo. Os animais foram sacrificados após quatro, oito ou 16 semanas. Foram obtidas radiografias das mandíbulas dos animais para avaliação da dispersão das partículas implantadas. O grupo controle não apresentou persistência do material implantado ou preenchimento do defeito por tecido ósseo. Na presença de hidroxiapatita, com ou sem tubo de colágeno, houve presença de células gigantes multinucleadas ao redor das partículas de hidroxiapatita, pouca ou nenhuma atividade osteoblástica e tecido fibroso no interior do defeito. A avaliação radiográfica revelou maior dispersão das partículas no grupo sem proteção do tubo de colágeno, ao passo que com seu uso as partículas estavam agrupadas e dentro do defeito. Os autores concluíram que o tubo de colágeno facilita a inserção e diminui a dispersão das partículas de hidroxiapatita, que não promoveu a reparação óssea do defeito mandibular.

WANGERIN *et al.* (1986) estudaram o uso de osso autógeno autoclavado removido da costela de cães e implantado de forma ortotópica, ou seja, no mesmo lugar. Tanto no grupo controle, com enxerto autógeno não-autoclavado, quanto no experimental houve integração com o leito receptor, porém neste em tempo mais prolongado. O enxerto autoclavado foi circundado por neoformação óssea originada no perióstio,

concomitante com reabsorção. Após um ano houve completo remodelamento do osso. Os autores concluíram que o processo de autoclavagem não altera a resposta imunológica do organismo ao enxerto.

BURCHARDT (1987), em extensa revisão bibliográfica sobre a biologia dos transplantes ósseos, citou que o osso é o segundo tipo de tecido mais frequentemente transplantado, após o sangue. Porém, tem a desvantagem de gerar ferida cirúrgica adicional ao paciente, além de ser uma fonte limitada em quantidade, qualidade e formato, sobretudo em crianças. Contudo, ainda é considerado a melhor opção disponível para reconstrução de defeitos ósseos. O termo usado para descrever o processo de reparo do osso transplantado, independente do tipo, é incorporação. Este processo une o tecido transplantado ao leito receptor, bem como envolve e mescla osso necrótico do enxerto com neoformado, refletindo o grau de aceitação do transplante. A incorporação depende do contato próximo do leito receptor com o enxerto. Na fase inicial de reparação há formação de coágulo, sendo o enxerto foco de resposta inflamatória na primeira semana. Na semana seguinte o processo inflamatório diminui, estando presente tecido de granulação e atividade osteoclástica e osteoblástica. Os osteócitos sofrem processo de autólise, deixando as lacunas vazias, caracterizando assim a necrose do enxerto. A remodelação vinda a seguir completa a reparação. Diferenças são encontradas entre transplante de osso cortical e esponjoso. O osso esponjoso sofre processo de incorporação de forma mais rápida e completa. A revascularização

ocorre rapidamente e osteoblastos formam a matriz osteóide, ligando trabéculas vizinhas. Posteriormente o osso do enxerto é gradativamente substituído por osso viável. O enxerto cortical tem vascularização mais lenta, com início da ação osteoclástica antes da osteoblástica. A reabsorção tem início na porção mais próxima do leito receptor, indo posteriormente em direção central. Neste tipo de transplante há possibilidade da não reabsorção de partes do enxerto, ao contrário do osso trabecular.

LANE & SANDHU (1987), em revisão bibliográfica sobre modelos experimentais de enxerto ósseo, citaram que o objetivo do enxerto é restaurar a integridade funcional do osso. Além de ser compatível, o enxerto deve atender às requisições peculiares a cada situação clínica. Diversos modelos de estudo têm sido utilizados para caracterizar o reparo ósseo e respostas a alterações do meio. Entre elas a implantação de materiais em bolsa subcutânea ou intramuscular, em órgãos viscerais, uso de câmaras de difusão *in vivo*, cultura celular *in vitro*. Entretanto, para avaliar completamente a capacidade e característica reparativa de substitutos ósseos, o modelo experimental com defeito no esqueleto é essencial. Dentro deste tipo de experimento os mais destacados são os defeitos por trefina, defeitos segmentais em ossos longos e fusão de vértebras. Diversos animais podem ser utilizados, desde camundongos e ratos até cães e ovinos. Citaram ainda que a radiografia ajuda o

acompanhamento do processo de reparação e que a densitometria fornece a estimativa do conteúdo mineral no local da reparação.

BELL & BEIRNE (1988) avaliaram o efeito da hidroxiapatita, fosfato tricálcio e colágeno, sendo este último utilizado como aglutinante, em defeito crítico no ramo da mandíbula de rato. As partículas de hidroxiapatita foram circundadas por tecido conjuntivo fibroso, macrófagos e células gigantes multinucleadas. Os autores concluíram, após 12 semanas, que a hidroxiapatita e o fosfato tricálcio induziram processo inflamatório local e não estimularam a reparação óssea enquanto o colágeno não alterou a reparação.

GUTTU & LASKIN (1989) em relevante revisão sobre modelos de pesquisa experimental em cirurgia oral e maxilo-facial, citaram que as técnicas cirúrgicas têm se desenvolvido ou refinado graças ao uso de animais de laboratório, sendo os benefícios revertidos aos pacientes. Importantes informações para o avanço da odontologia têm sido e continuarão sendo obtidas por meio de pesquisas envolvendo animais. Os autores citaram que a incorporação de enxertos tem sido estudada por meio de avaliação histológica, radiográfica, microradiográfica, autoradiográfica e histomorfometria. Os estudos de enxerto ósseo podem ser realizados para avaliar os aspectos básicos de incorporação do enxerto ou seu uso em diferentes situações clínicas simuladas. Animais menores têm sido utilizados por causa dos menores custos de aquisição, manutenção e facilidade de manuseio. Os autores citaram ainda que o

modelo proposto por KABAN & GLOWACKI em 1981 é excelente para avaliação de materiais de enxerto ósseo por causa da não reparação espontânea do defeito. Ratos com idade avançada foram relacionados com quantidade e velocidade menores de neoformação óssea.

COBB *et al.* (1990) avaliaram a reparação de defeito ósseo segmental no corpo da mandíbula de macacos. O defeito foi preenchido com mistura de osso autógeno, obtido da crista ilíaca, e hidroxiapatita granular, retidos em posição por rede de titânio fixada por quatro parafusos. Os animais foram sacrificados com 6 e 18 meses após a cirurgia. Os resultados, medidos pela porcentagem de grânulos do material integrados ao osso ou encapsulados por tecido fibroso, indicaram que hidroxiapatita até à proporção de 50% pode ser utilizada para aumentar o volume do osso autógeno.

HOLLINGER & KLEINSCHMIDT (1990) realizaram importante revisão bibliográfica abordando o defeito ósseo de tamanho crítico. Este foi definindo como o menor defeito ósseo que não sofre processo de reparação por formação óssea durante a vida do animal, portanto dependendo da presença de material ou substância que promova neoformação óssea para se reparar. O defeito de tamanho crítico caminha naturalmente para cicatrização por tecido fibroso ou preenchimento por tecido muscular, como no modelo proposto por KABAN & GLOWACKI (1981). Citaram ainda que animais com esqueleto imaturo devem ser evitados nestas pesquisas, pois possuem resposta óssea maior que a encontrada em animais adultos,

exceção feita ao rato, pois este possui crescimento contínuo durante a vida. Afirmaram que materiais para reparação óssea devem ser testados inicialmente em ratos ou coelhos, para depois utilizar cães ou primatas não humanos e finalmente em humanos. Citaram ainda que a espessura reduzida entre as corticais mandibulares do rato dificulta a retenção do material implantado, limitando o espaço medular e conseqüentemente o número de células mesenquimais indiferenciadas que promovem a reparação do defeito.

PETTIS *et al.* (1990) estudaram a resposta tecidual após a implantação de hidroxiapatita granular cerâmica ou mistura de hidroxiapatita granular cerâmica e osso desmineralizado pulverizado, colocados supraparietalmente na mandíbula de ratos. Os espécimes foram avaliados histologicamente com 7, 10, 14 e 21 dias após a cirurgia. A hidroxiapatita suscitou formação de tecido fibroso ao redor de suas partículas, sem presença de neoformação óssea, tanto sozinha quanto no enxerto composto. O osso desmineralizado pulverizado ocasionou formação de tecido cartilaginoso e posterior substituição por tecido ósseo, estando aparentemente em continuidade com o osso mandibular. Os autores concluíram que implantes compostos combinam as propriedades osteoindutoras do osso desmineralizado pulverizado com a resistência da hidroxiapatita.

BERNARD (1991) em revisão da literatura abordando a reparação de defeitos ósseos citou que enxertos removidos da crista ilíaca têm se

apresentado com maior sucesso clínico que aqueles removidos na cavidade oral para correção de defeitos maxilo-faciais. O número de células mesenquimais indiferenciadas contidas na medula óssea seria a explicação do fato, pois o íliaco mostra maior quantidade de medula óssea. O autor afirmou que nenhum material ou método utilizados naquela época com finalidade de reparação óssea foi considerado como definitivo para o tratamento de defeitos ósseos, sugerindo-se a necessidade de mais estudos.

PINHOLT *et al.* (1991) estudaram o uso de osso inorgânico, na forma granular, de origem bovina para aumento do processo alveolar no segmento edêntulo da maxila de ratos. Os grânulos do osso foram implantados subperiostealmente na maxila e heterotopicamente nos músculos abdominais. Os animais foram sacrificados após quatro semanas. A avaliação histológica mostrou reação do tipo corpo estranho ao redor dos grânulos, reabsorção parcial e ausência de osteoindução e condução, em ambos os sítios receptores.

SULLIVAN & SZWAJKUN (1991) pesquisaram diferenças entre revascularização de enxertos ósseos de origem intramembranosa ou endocondral em ratos. O intramembranoso foi removido da calota craniana e o endocondral da crista ilíaca, sendo implantados na face lateral do osso nasal ou tíbia. Após uma e duas semanas os animais foram sacrificados e injetados com borracha de silicone na artéria aorta, para demarcar a invasão vascular, a qual foi determinada por sistema de grade sobre a

imagem obtida pelo processamento histológico. O enxerto endocondral mostrou maior revascularização que o intramembranoso. A invasão vascular no enxerto ilíaco ocorreu predominantemente através da camada esponjosa, estando a cortical ainda pouco vascularizada após duas semanas. O enxerto intramembranoso mostrou após uma semana pouca vascularização, porém após duas semanas houve revascularização da parte interna da díploe. Os resultados não mostraram variação para os dois diferentes leitos receptores. Os autores citaram que fatores angiogênicos podem estar envolvidos na causa da diferença entre os dois tipos de enxerto, concluindo que o enxerto de osso ilíaco revasculariza mais cedo e em maior índice que o do crânio e as diferenças entre a incorporação do enxerto devem estar mais relacionadas com a arquitetura do osso do que com sua origem.

ALBERIUS *et al.* (1992) estudaram o uso de membranas para osteopromoção em defeitos mandibulares de tamanho crítico, em ratos adultos. Enxerto autógeno proveniente da fíbula foi colocado no defeito mandibular como uma trave, não ocupando completamente o defeito. O enxerto, quando sem recobrimento por membrana, mostrou leve reabsorção, necrose e fina cápsula fibrosa, sendo o restante do defeito preenchido por tecido conjuntivo, muscular e adiposo, após 12 semanas. O enxerto, protegido por membrana de osteopromoção, mostrou necrose, porém sem integração com o leito receptor, do qual estava separado por uma fina camada de tecido fibroso, sendo que o restante do defeito estava

preenchido por tecido ósseo. O enxerto de origem membranosa, removido da mandíbula oposta, ocupou todo o leito receptor, sofreu necrose e obteve total reparação quando protegido pela membrana de reparação guiada. Entretanto, quando sem membrana, mostrou necrose, encapsulamento por tecido fibroso, sendo detectada limitada deposição e reabsorção óssea no enxerto, agindo de forma similar ao enxerto de origem endocondral. O enxerto membranoso sofreu menos reabsorção que o endocondral. Os autores sugeriram que a disparidade de incorporação seria devido a diferenças biológicas existentes entre osso endocondral e intramembranoso, concluindo que o osso de origem membranosa produz melhor resultado na correção de tais defeitos, tendo confirmado o efeito osteopromotor das membranas.

LORENTE *et al.* (1992) avaliaram a reparação de defeito ósseo crítico na mandíbula de rato preenchida por osso desmineralizado pulverizado após a irradiação da mandíbula. Os animais foram distribuídos em grupos submetidos à irradiação com nenhuma cirurgia, com exposição da mandíbula, obtenção do defeito sem preenchimento, obtenção do defeito e preenchimento com osso desmineralizado pulverizado irradiado ou não. O osso desmineralizado pulverizado foi obtido de ratos da mesma espécie, sofrendo o animal doador irradiação prévia ou não. Os ratos foram submetidos à irradiação com cobalto 60, num total de 45 Gy, aplicados em 15 sessões de três Gy, sendo os animais submetidos à cirurgia após duas ou quatro semanas depois do término da irradiação. Os animais foram

sacrificados após quatro semanas e a reparação foi avaliada através da medida do defeito residual na mandíbula. Os resultados demonstraram melhor preenchimento com osso proveniente de animal não irradiado. Quanto à irradiação do leito receptor, notou-se melhor resposta quando o enxerto foi realizado duas semanas depois da irradiação. Os autores aventaram a possibilidade da irradiação provocar denaturação dos fatores de crescimento presentes na matriz óssea.

PINHOLT *et al.* (1992) estudaram o aumento do processo alveolar com enxertos considerados osteoindutores em ovinos. Foi implantado osso ou dentina, na forma granular após sofrerem desmineralização e liofilização, abaixo do periósteo da região edêntula da mandíbula. Os animais foram sacrificados após 16 semanas. Exame radiográfico foi utilizado para detectar tecido mineralizado. A avaliação histológica da mandíbula mostrou pouca osteocondução e nenhuma osteoindução, estando os grânulos encapsulados por tecido conjuntivo fibroso e células gigantes multinucleadas, poucos grânulos estavam em contato direto com tecido ósseo do leito receptor. Foi concluído que nem osso ou dentina, desmineralizados e liofilizados, promovem a indução óssea.

SPAMPATA *et al.* (1992) avaliaram a capacidade osteoindutora de proteínas extraídas de osso desmineralizado em defeito crítico na mandíbula de rato. O defeito foi preenchido com o extrato protéico, osso desmineralizado pulverizado ou deixado vazio. Os animais foram sacrificados após 14 e 21 dias, sendo empregada histomorfometria para

avaliar o número de osteoclastos e quantidade de ocupação por cartilagem ou osso no local do enxerto. Foi encontrada sequência de ossificação endocondral nos dois grupos experimentais, porém no primeiro ocorreu com mais intensidade e de forma mais acelerada. Os osteoclastos mostraram-se mais numerosos no grupo do extrato protéico. Houve preenchimento do defeito por tecido ósseo nos grupos experimentais, o que não foi encontrado no controle. Foi relatada a formação de medula óssea nos grupos do osso desmineralizado e do extrato protéico. Os autores concluíram que as proteínas encontradas no osso desmineralizado são osteoindutivas, mesmo na ausência da fase não solúvel da matriz óssea, sendo portanto de grande interesse nos procedimentos reconstrutivos da região facial.

BODNER *et al.* (1993a) estudaram a reparação do alvéolo após extração dental em ratos através de densitometria. O primeiro molar inferior foi extraído e após os períodos de 0, 7, 14, 21, 28 e 60 dias o animal foi sacrificado, sendo a mandíbula removida e radiografada. A densidade óptica de diferentes áreas do alvéolo foi averiguada, concluindo os autores que a densidade óptica aumenta com o tempo decorrido da extração. Foi citado ainda que este método é confiável para acompanhar a reparação óssea com radiografias de rotina.

BODNER *et al.* (1993b) estudaram os efeitos da xerostomia sobre a reparação óssea após extração dental em ratos, através da densitometria. Os animais foram sacrificados após 0, 7, 14, 21, 28 e 60 dias da extração

dental. A sialoadenectomia foi realizada no mesmo tempo cirúrgico da extração dental. Os ratos com xerostomia mostraram densidade óptica menor em relação ao controle, concluindo assim os autores que a xerostomia causa atraso na reparação do alvéolo dental.

SANDBERG *et al.* (1993) testaram o uso de membranas bioabsorvíveis ou não na reparação de defeito crítico na mandíbula de ratos. Em ambos os grupos foram observadas células adiposas ocupando o espaço medular e presença de tecido cartilaginoso durante a fase de reparação. Após doze semanas os resultados foram semelhantes entre os dois tipos de membranas, com preenchimento do defeito com osso compacto. Alguns espécimes, entretanto, não mostraram união óssea completa, ficando o centro do defeito ocupado por tecidos moles. Os autores concluíram que ambos os tipos de membrana são de grande valor nos procedimentos de reconstrução maxilo-facial.

ELOVIC *et al.* (1994) avaliaram o efeito da depleção do estrógeno e extração dental sobre a resistência da mandíbula de ratas e sua densidade óssea. Os animais foram sacrificados após período de 35 dias. A resistência da mandíbula foi diminuída com a extração dental em ratas com ovário removido. A densidade mineral óssea, medida com auxílio de aparelho densitométrico de uso clínico, não variou significativamente com ou sem a remoção do ovário.

THALLER *et al.* (1994) investigaram o uso de osso bovino inorgânico granular na reconstrução de defeito crítico na calota craniana de coelhos.

Os animais foram sacrificados com 2, 4, 6, 8, 12 e 16 semanas após a cirurgia. As partículas do osso inorgânico foram inicialmente circundadas por reação inflamatória, com posterior neoformação óssea a partir das margens do defeito ósseo. Osteoclastos foram encontrados ao redor das partículas remanescentes. Houve total preenchimento do defeito ósseo por osso lamelar. Os autores concluíram que este foi um excelente modelo experimental para estudo da regeneração óssea na calota craniana e que a pequena quantidade de medula óssea facilita a avaliação do enxerto testado. Ainda relataram biocompatibilidade e capacidade osteocondutora do osso bovino liofilizado.

YAMAMOTO *et al.* (1994) avaliaram a resposta tecidual óssea em defeito crítico na mandíbula de rato após a implantação de hidroxiapatita granular. Os pesquisadores realizaram defeito de aproximadamente três milímetros de diâmetro no ramo mandibular. Os animais foram sacrificados com 1, 7 e 14 dias, 1, 3 e 6 meses após a cirurgia. No tempo final o grupo controle não mostrou reparação óssea, estando ocupado por tecido fibroso e tecido muscular, como visto na Figura 1. No grupo experimental foi notada persistência dos grânulos de hidroxiapatita, com presença de reação tipo corpo estranho ao seu redor. A atividade osteogênica foi limitada às margens do leito receptor, não promovendo a reparação do defeito.

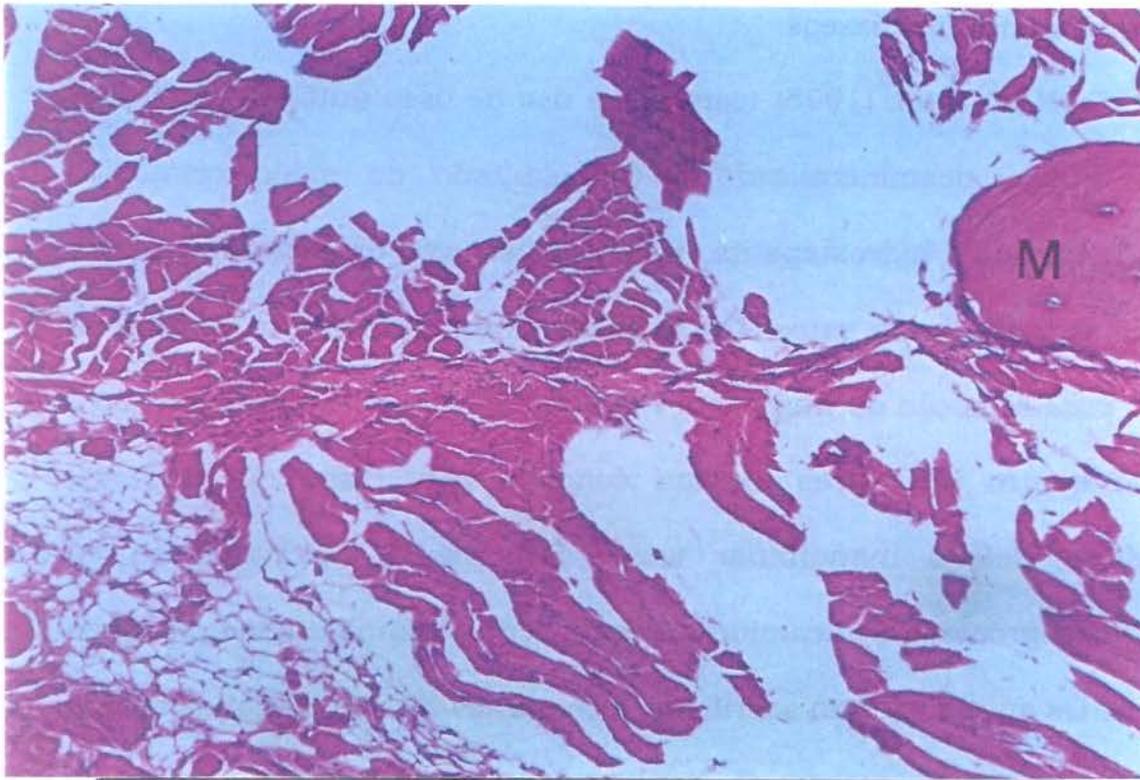


Figura 1. Defeito ósseo mandibular de tamanho crítico sem tratamento após seis meses. Margem mandibular (M). Tecido fibroso e tecido muscular ocupam o defeito. Foto gentilmente cedida pelo autor. Aumento de 75x.

AABOE *et al.* (1995), em revisão abordando a reparação de defeitos ósseos experimentais de tamanho crítico, citaram o osso autógeno fresco como o melhor tipo de enxerto, embora cause ferida cirúrgica adicional, tenha quantidade limitada e reabsorção incontrolada. A osteoindução gerada por este tipo de enxerto, estimulada pela proteína morfogênica do osso (BMP), é determinada pela diferenciação e proliferação de células mesenquimais locais em osteoblastos. Os autores sugeriram que mediadores químicos osteoindutores, tais como BMP e osteogenina,

poderão ser utilizados, juntamente com um sistema de liberação, no tratamento de defeitos ósseos.

REDONDO *et al.* (1995) testaram o uso de osso autógeno removido da mandíbula, desmineralizado e reimplantado de modo ortotópico associado ou não à hidroxiapatita, para reconstrução da borda inferior do ramo da mandíbula de ratos. Os animais foram primeiro submetidos à cirurgia para remoção do fragmento mandibular, com formato quadrado e medindo quatro milímetros. Sutura concluiu esta etapa da pesquisa, deixando o defeito mandibular vazio. Em seguida o fragmento foi submetido a processo de desmineralização, sendo reimplantado após duas semanas. Os animais foram sacrificados com duas ou seis semanas após a reimplantação do fragmento. O resultado, determinado pelo número de células mesenquimais no local do implante, mostrou diminuição da proliferação celular nos sítios contendo hidroxiapatita, concluindo os autores que a hidroxiapatita inibiu a osteoindução gerada pela matriz óssea.

SHIROTA *et al.* (1995) avaliaram a reconstrução de defeito ósseo mandibular em miniporcos, utilizando enxerto autógeno fresco vascularizado, removido da crista ilíaca. Os animais foram sacrificados com duas, quatro e oito semanas após o transplante. Foi observada necrose óssea na maior parte da medula óssea do enxerto, ao passo que a maioria dos osteócitos da cortical sobreviveram ao transplante. Houve neoformação óssea sobre as trabéculas do enxerto, cujo espaço medular foi

ocupado por tecido conjuntivo imaturo, células inflamatórias e células adiposas. Nos tempos mais prolongados houve diminuição do volume do enxerto e presença de grande quantidade de adipócitos no espaço medular, estando a delimitação do osso enxertado pouco definida, pois o enxerto assumiu estrutura similar à da mandíbula. Os autores concluíram que o enxerto, mesmo sendo vascularizado, não sobreviveu ao transplante.

SZACHOWICZ (1995) em revisão bibliográfica sobre a reparação de ossos faciais, descreveu os eventos iniciais da reparação do enxerto autógeno como sendo semelhante à sequência de reparação em fraturas. Com sete dias há formação de tecido de granulação, presença de osteoclastos e células gigantes e aos quatorze dias angiogênese e revascularização do enxerto, sendo a parte cortical revascularizada posteriormente à trabecular. Por este motivo, parte do osso esponjoso pode sobreviver, sendo capaz de permanecer em atividade osteogênica. O osso esponjoso é, por vezes, completamente substituído pela remodelação óssea, enquanto partes do osso cortical podem persistir em meio à neoformação.

ZELLIN *et al.* (1995) estudaram a reparação de defeitos críticos na mandíbula de ratos, com membranas para reparação guiada bioabsorvíveis ou não. Após um período de seis semanas foram encontrados variados graus de união óssea, maturidade da medula óssea e formação de osso compacto. Algumas membranas mostraram bom efeito osteopromotor, enquanto outras tiveram pouco ou nenhum efeito benéfico.

União óssea completa foi vista em 15 dos 50 defeitos, parcial em 26 e nove sem sinal de união óssea. A maturidade da medula óssea foi classificada como madura quando ocupada por tecido adiposo, sendo os estágios intermediários a presença concomitante de tecido adiposo e hematopoético, somente tecido hematopoético ou ainda sem medula óssea. Tecido cartilaginoso foi encontrado em somente um dos sítios operados. O defeito estava preenchido em sua maior parte por osso imaturo. Os autores concluíram que as diferentes membranas para osteopromoção possuem diferentes graus de eficácia.

SAWAI *et al.* (1996) estudaram a evolução de enxerto ósseo, removido de crista ilíaca e implantado em defeito ósseo na mandíbula de coelho, após terapia por oxigênio hiperbárico (OHB). Os animais foram sacrificados com uma, duas, quatro e oito semanas após a cirurgia. A avaliação histológica do grupo controle mostrou após uma semana presença de tecido de granulação e pouca matriz osteóide, cercada por osteoblastos. A maior parte dos osteócitos estava em suas lacunas no grupo experimental, indicando vitalidade do tecido. A medula óssea estava ocupada principalmente tecido hematopoético. Quatro semanas após o transplante foi observada formação de tecido ósseo, unindo o osso receptor com o enxertado, tornando as margens do leito receptor indistintas do enxerto. A delimitação do enxerto estava dificultada no tempo final de avaliação do grupo experimental, devido ao intenso remodelamento. No tempo final de avaliação a medula óssea estava ocupada por células

adiposas. Os autores citaram que a baixa tensão de oxigênio pode levar à diferenciação de tecido de granulação em cartilaginoso e que sem revascularização o enxerto pode permanecer no local como um sequestro. Os autores concluíram que a formação de matriz osteóide e angiogênese foi maior no grupo com OHB, tendo este grupo alcançado a integração do enxerto com o leito receptor anteriormente ao grupo sem OHB.

MERKX *et al.* (1997) estudaram o efeito do enxerto autógeno, removido da crista ilíaca ou mandíbula, ou xenógeno, de origem bovina, sobre a erupção dental em cães. Os molares decíduos foram extraídos, sendo o alvéolo preenchido por osso autógeno ou xenógeno. Os animais foram sacrificados com quatro, dez e 16 semanas após a cirurgia. Os autores utilizaram radiografias para acompanhar a erupção dental através do enxerto. Não houve atraso na erupção dos dentes em nenhum dos grupos. Ao exame histológico, as partículas do osso bovino não se mostraram reabsorvidas ou integradas ao leito receptor, sendo deslocadas pelo dente em erupção para a gengiva. Os fragmentos dos dois tipos de enxerto autógeno estavam desvitalizados após quatro semanas. O osso autógeno de origem intramembranosa foi substituído por neoformação óssea no processo de remodelação do osso alveolar, não sendo possível identificar remanescentes do enxerto nos tempos finais. O osso de origem endocondral mostrou remanescentes no tempo final, entre o tecido ósseo neoformado, assim como cartilagem. Os autores concluíram que o

transplante ósseo não tem efeito inibitório sobre a erupção e o desenvolvimento dental.

REDONDO *et al.* (1997) estudaram a reparação de defeitos ósseos na borda inferior do ramo mandibular de ratos, após implantação ortotópica de osso autógeno fresco, desmineralizado ou congelado. Os animais foram submetidos à cirurgia para remoção do fragmento mandibular, com formato quadrado e medindo quatro milímetros. Em seguida, o fragmento foi submetido a processo de desmineralização, sendo reimplantado após duas semanas. No grupo do enxerto congelado, o fragmento foi conservado a -193°C por duas semanas, sendo então reimplantado. No grupo do enxerto fresco, o fragmento foi reposicionado durante o mesmo ato cirúrgico, depois de dois minutos. Os animais foram sacrificados com duas ou seis semanas após a reimplantação do fragmento. Os resultados foram medidos através da proliferação de células mesenquimais no exame histológico. O grupo do enxerto congelado mostrou menor proliferação celular, com tendência à reabsorção. O grupo do osso fresco mostrou número intermediário de proliferação celular, no entanto sendo suficiente para reparar o defeito. No grupo do osso desmineralizado havia maior proliferação, concluindo os autores que este tipo de enxerto possui maior capacidade osteoindutora.

SCHON *et al.* (1997) estudaram a reação tecidual ao redor de miniplacas usadas para fixação de enxerto vascularizado de osso ilíaco em defeito ósseo no ângulo da mandíbula de miniporcos Gottinger. Os animais

foram sacrificados duas, quatro e oito semanas após o transplante. Foi relatada necrose dos osteócitos próximos da área de osteotomia na mandíbula e no enxerto, parte da cortical externa do enxerto e dos osteócitos vizinhos à placa e parafusos utilizados na fixação do bloco ósseo. Segundo os autores, a morte foi relacionada ao trauma cirúrgico e compressão da placa de fixação rígida. Houve remodelação extensa do enxerto, diminuição do espaço medular e do número de células hematopóéticas, sendo a medula ocupada por células adiposas. Foi demonstrada união do enxerto com o leito receptor, através de reparação primária. Os autores concluíram que a fixação com miniplaca foi estável e o contato entre o osso e parafusos aumentou nos tempos mais adiantados.

SI *et al.* (1997) estudaram a expressão de BMP e fator de crescimento transformante tipo beta (TGF- β) durante a reparação de fratura experimental de mandíbula em coelhos, para determinar a interação destes fatores de crescimento na regulação da proliferação celular. Os animais foram sacrificados após 1, 3, 5, 7, 11, 14, 21 e 28 dias após a fratura. Houve formação de hematoma, com posterior organização e substituição por tecido de granulação. No quinto dia houve agregação e proliferação de células mesenquimais indiferenciadas, com sinais de BMP-2. Após a formação do calo ósseo, com presença de cartilagem ligando os dois cotos, o sinal de BMP-2 diminuiu e o de TGF- β 1 foi evidente nos osteoblastos diferenciados e nas áreas de cartilagem. Após a união óssea ambos sinais estavam fracos, próximos da normalidade. Os autores

concluíram que a BMP-2 e o TGF- β 1 participam da regulação da reparação da fratura, estando o primeiro relacionado com a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos e condrócitos e o segundo com a ativação da proliferação celular e síntese de proteínas ligadas à reparação da fratura.

STENTZ *et al.* (1997) analisaram a reparação óssea em defeitos ao redor de implantes de titânio em cães, através da densidade óssea. Foi realizada comparação entre o defeito deixado sem tratamento, tratado com osso liofilizado desmineralizado associado a membrana para reparação guiada ou somente com membrana. Radiografias padronizadas foram obtidas após quatro meses e a imagem das áreas de interesse analisadas com auxílio de computador, pela técnica de subtração de imagens. Os autores citaram que a densidade óssea averiguada pela subtração de imagem é útil na determinação do sucesso ou falha do implante, porém sendo um dado subjetivo, pois não permite a quantificação da densidade óssea. Foi concluído que o uso de osso liofilizado e desmineralizado associado ao efeito promotor da membrana aumentou a densidade óssea ao redor do implante.

VILJANEN *et al.* (1997) estudaram a capacidade osteoindutora da proteína morfogênica do osso extraída de alce, em defeito de tamanho crítico na calota craniana de ovelhas adultas. A BMP foi implantada juntamente com colágeno. Medula óssea fresca, obtida da tíbia, e somente colágeno foram utilizados como controle. Após 16 semanas os animais

foram sacrificados, sendo obtidas lâminas para avaliação histológica e radiografia para quantificação do preenchimento do defeito, por análise computadorizada. A percentagem de reparação foi maior no grupo da BMP, 93,18%, seguida pela medula óssea, 33,17% e por fim o grupo controle, com 31,32%. Foi ainda feita a titulação de anticorpos anti-BMP após zero, três, seis e 12 semanas depois da cirurgia. Houve aumento da titulação de IgG no grupo da BMP após três semanas, com retorno aos níveis iniciais em seis semanas. Foi demonstrada a capacidade osteoindutora da BMP xenóloga assim como sua baixa imunogenicidade.

ZELLIN & LINDE (1997) estudaram a importância de sistemas de liberação do fator de crescimento BMP-2 em defeitos críticos em mandíbula de rato, protegidos por membrana para reparação guiada. Os sistemas de liberação foram esponjas de colágeno ou ácido poliglicólico e ácido poliláctico com sangue. Os animais foram sacrificados após 12 e 24 dias, sendo as mandíbulas radiografadas para acompanhar a reparação óssea. Os defeitos, quando protegidos por membrana e na presença do fator de crescimento, sofreram completa reparação, enquanto que somente a técnica de reparação guiada não preencheu completamente o defeito com tecido ósseo. O sistema carreador do fator de crescimento a mostrar a melhor média de ligação óssea foi a mistura de ácido poliglicólico e poliláctico com sangue. Os autores concluíram que a presença de membrana para reparação guiada melhora a neoformação óssea obtida pelo fator de crescimento.

SCHMELZEISEN & SCHON (1998) estudaram o comportamento do enxerto alógeno vascularizado, removido do osso ilíaco, para reconstrução da mandíbula após imunossupressão com ciclosporina A em miniporcós. Os animais foram sacrificados após duas, quatro e 16 semanas do transplante ósseo, recebendo injeção de sulfato de bário como contraste e exame radiográfico posterior, para identificar os vasos intra-ósseos do enxerto. O enxerto mostrou união primária com o leito receptor e sobrevivência dos osteócitos. Rejeição do enxerto não ocorreu, mesmo após 12 semanas do término da medicação imunossupressora. Os autores demonstraram reparação óssea primária do enxerto alógeno fresco, porém com índices maiores de infecção, em relação ao autógeno, que serviu como controle.

TEIXEIRA *et al.* (1998) analisaram a reparação da fratura do processo condilar em ratos adultos. Sob anestesia geral, foi realizada exposição e fratura do côndilo, sendo os animais sacrificados após um, sete, 14 dias, um e três meses. Com um dia foi verificado osso vitalizado na margem da fratura e processo inflamatório agudo ao longo da cápsula articular e fibras musculares. Proliferação óssea e cartilaginosa nos cotos, os quais mostraram áreas de necrose e atividade osteoclástica com uma semana e tecido de granulação foi visto no espaço articular na segunda semana. Após um mês foi notada extensa neoformação óssea ligando os cotos e diminuição da área de necrose. No tempo final o côndilo estava com características de normalidade, centralizado na fossa temporal e com

interposição do disco articular. Os autores concluíram que a fratura repara com formação de calo, sendo o processo condilar reposicionado na fossa temporal espontaneamente, indicando capacidade da articulação têmporo-mandibular de sofrer remodelação extensa.

3- PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho foi a avaliação descritiva histológica verificada durante o processo de reparação de ferimento ósseo de tamanho crítico na mandíbula de rato, seguido de enxerto ósseo do ilíaco, além da análise da densitometria óptica do local do enxerto através de radiografias das hemi-mandíbulas.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório Experimental do Departamento de Cirurgia, Prótese e Traumatologia Maxilo-Faciais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, utilizando 25 *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar adultos machos, com peso médio de 324 gramas, alimentados com ração comercial granulada para roedores (Labina, Purina) e água *ad libitum*. O manuseio dos animais seguiu as normas propostas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Os animais foram distribuídos em cinco grupos, com cinco ratos cada. Todos os indivíduos foram submetidos à mesma intervenção cirúrgica, sob anestesia geral. Primeiramente foi aplicada solução aquosa a 2% de cloridrato de xilidino dihidrotiazina (Rompun®, Bayer), na dose de 8mg/Kg de peso corporal, via intraperitoneal, na função de sedativo e relaxante muscular. A anestesia foi induzida por solução aquosa a 0,5% de cloridrato de cetamina (Ketalar®, Parke-Davis), aplicada na dose de 100mg/kg de peso corporal, na mesma via que o sedativo. A seguir foi feita tricotomia da região submandibular e dorsal, anti-sepsia com polivinilpirrolidona-Iodo (PVPI) e colocação de campos estéreis. O acesso ao osso ilíaco foi obtido por via dorsal no lado esquerdo, com incisão de cerca de dois centímetros, paralela e cerca de um centímetro de distância da coluna vertebral e acima da crista ilíaca. Por divulsão romba e

desinsersão do tecido muscular, a superfície óssea foi exposta, sendo o fragmento ósseo removido com auxílio de aparelho descartável de biópsia de tecido mole, com quatro milímetros de diâmetro (Biopsy Punch, Laboratórios Stiefel LTDA.), através de pressão manual (Figuras 2 e 3). O periósteo foi preservado inserido no bloco removido, sendo este mantido em gaze umedecida com soro fisiológico até o momento do enxerto. Esta etapa da cirurgia foi finalizada com sutura por planos com fio de náilon monofilamentar agulhado (Mononylon 5.0, Ethicon).

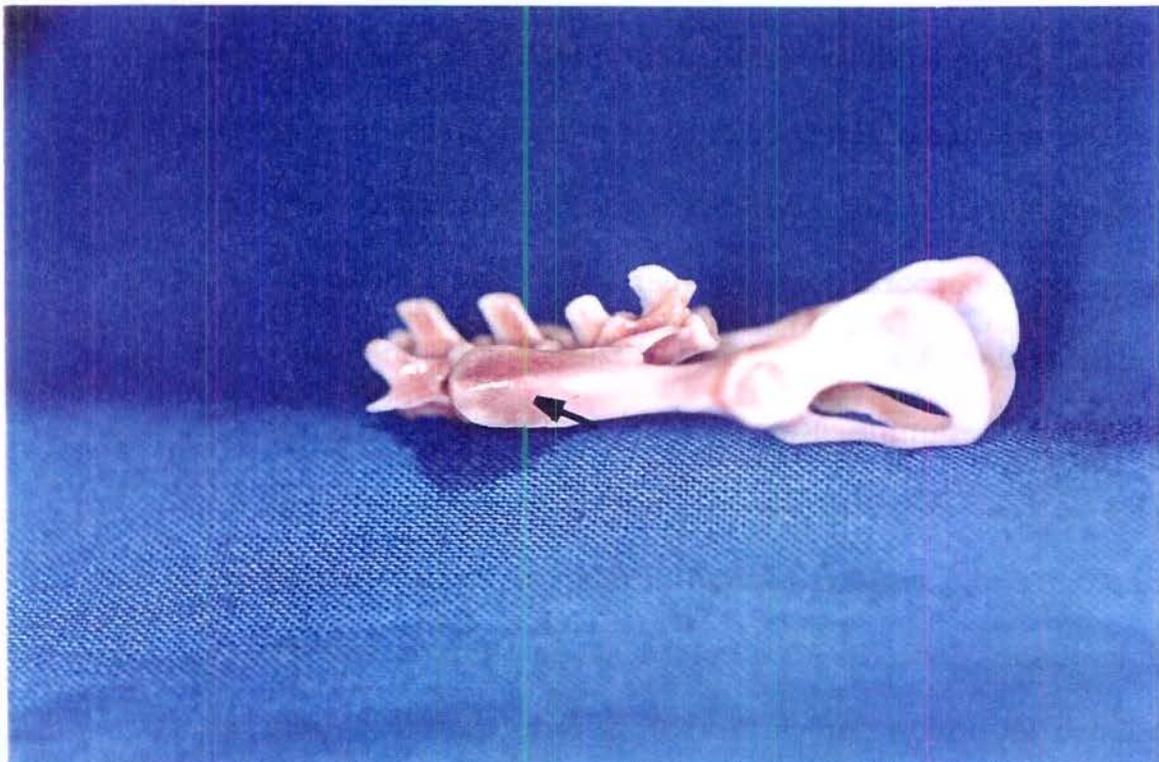


Figura 2. Detalhe anatômico das estruturas ósseas da região pélvica do rato. Seta indica o local da remoção do enxerto.

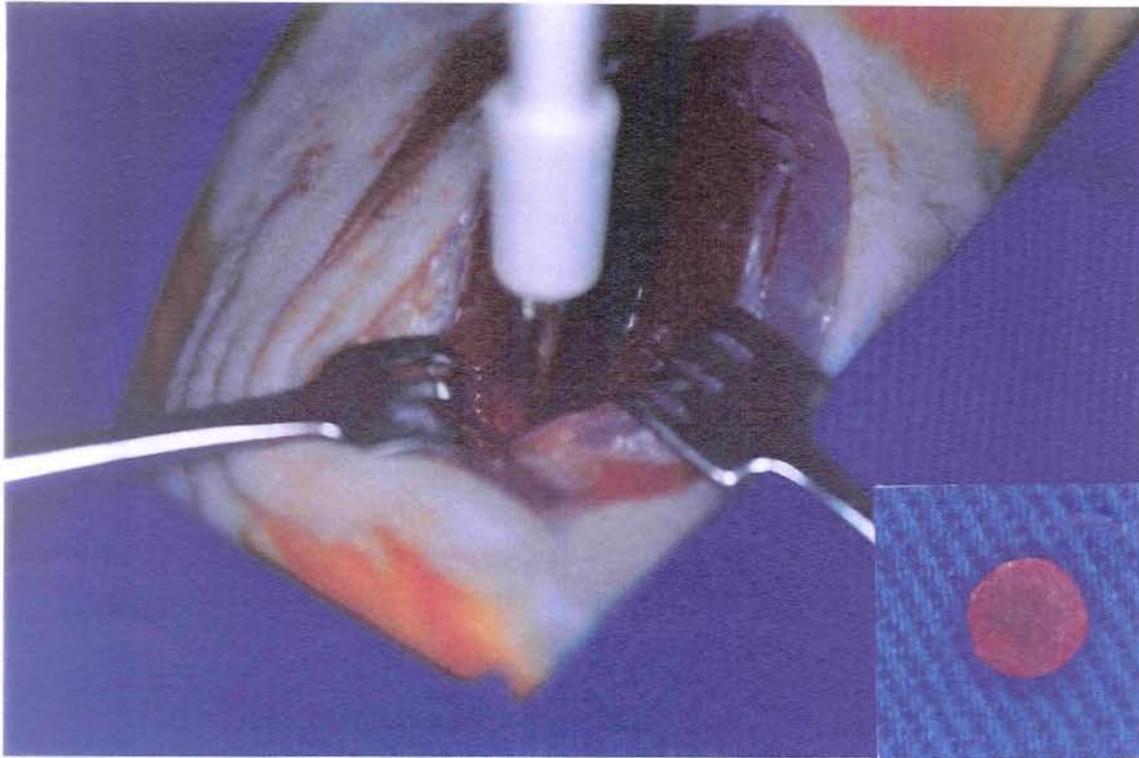


Figura 3. Obtenção do enxerto ósseo da crista ilíaca com aparelho de biópsia. O detalhe mostra o bloco ósseo já removido, com diâmetro de quatro milímetros.

Na segunda fase cirúrgica, o acesso ao ramo da mandíbula foi obtido por via submandibular, no lado direito, sendo a ferida óssea bicortical realizada com motor de baixa rotação e trefina com diâmetro de 3mm (Figuras 4 e 5) (Trefina tamanho médio, Incol, Instrumentos cirúrgicos e oftalmológicos Ltda.), sob irrigação constante com soro fisiológico (Figuras 6 e 7). Para a obtenção de uma adaptação precisa no ferimento ósseo mandibular, o enxerto foi recortado em uma de suas corticais com auxílio de lâmina de bisturi número 15, tomando assim o formato de uma seção de cone. O enxerto foi então inserido no defeito mandibular (Figura 8). Esta etapa foi concluída com sutura por planos com fio de náilon monofilamentar agulhado (Mononylon 5.0, Ethicon).

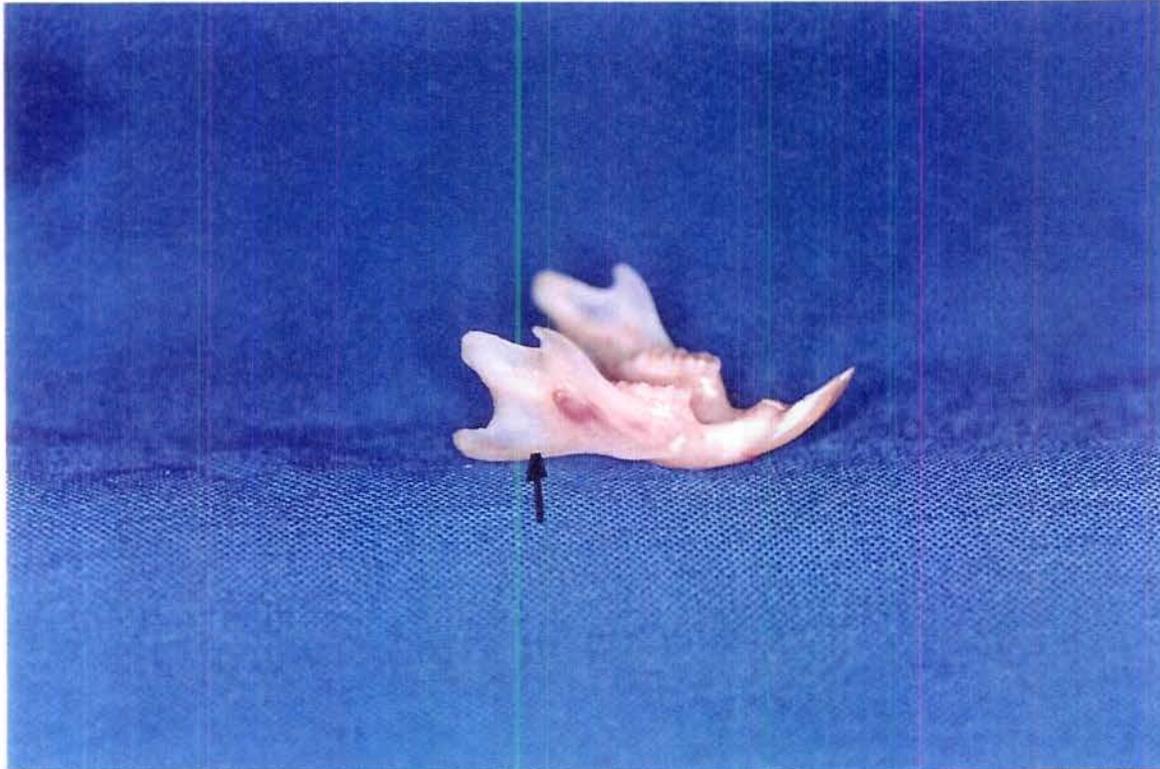


Figura 4. Detalhe anatômico das estruturas ósseas da mandíbula. Seta indica o local da realização do defeito bicortical.

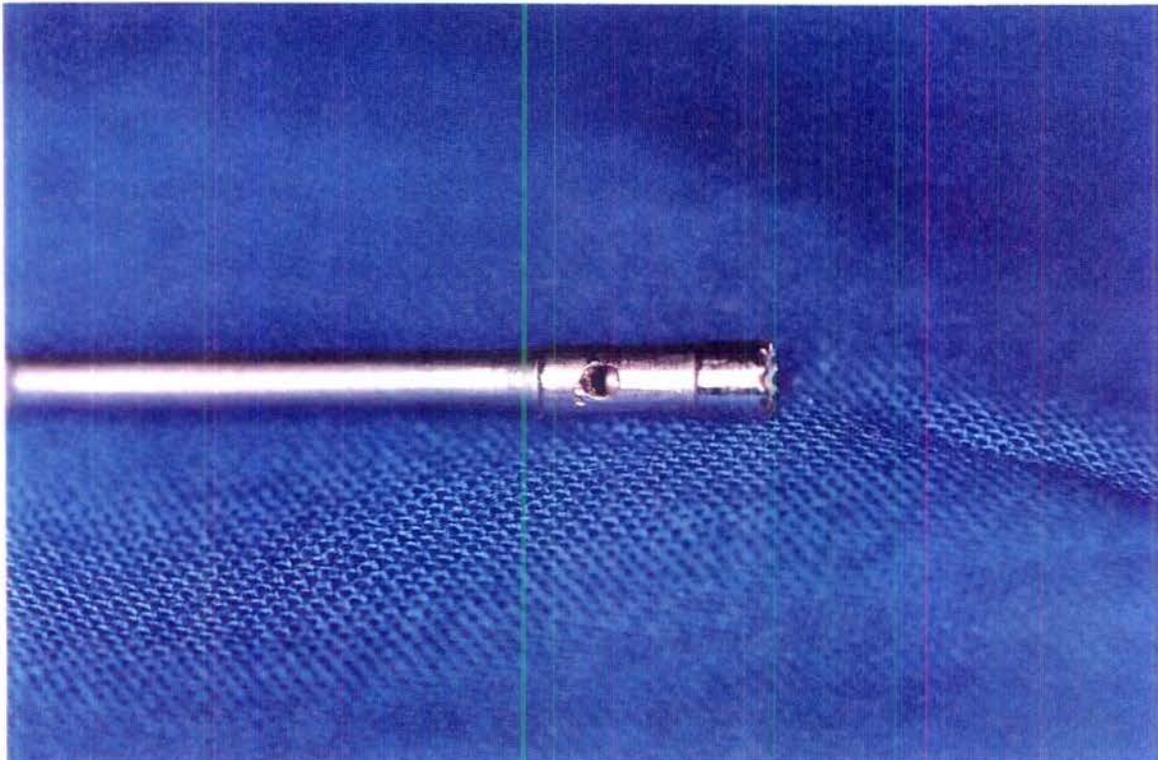


Figura 5. Trefina utilizada, com diâmetro de três milímetros.

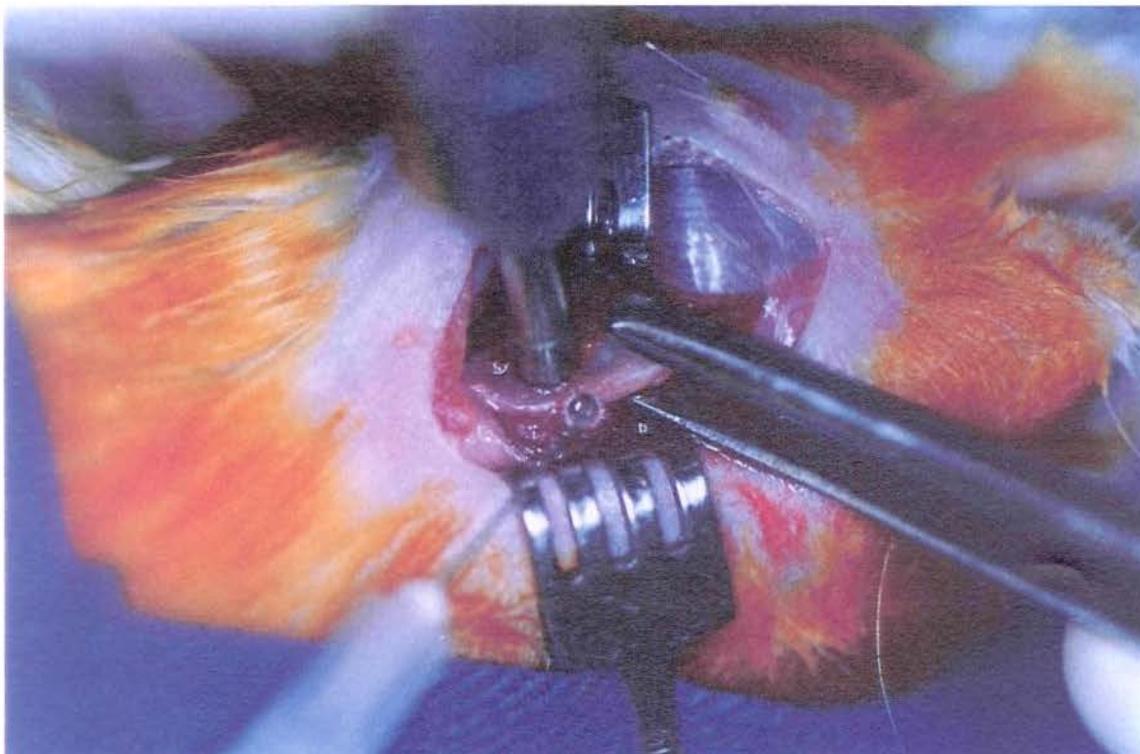


Figura 6. Realização do defeito no ramo da mandíbula, com uso de trefina em baixa rotação, sob irrigação com soro fisiológico.

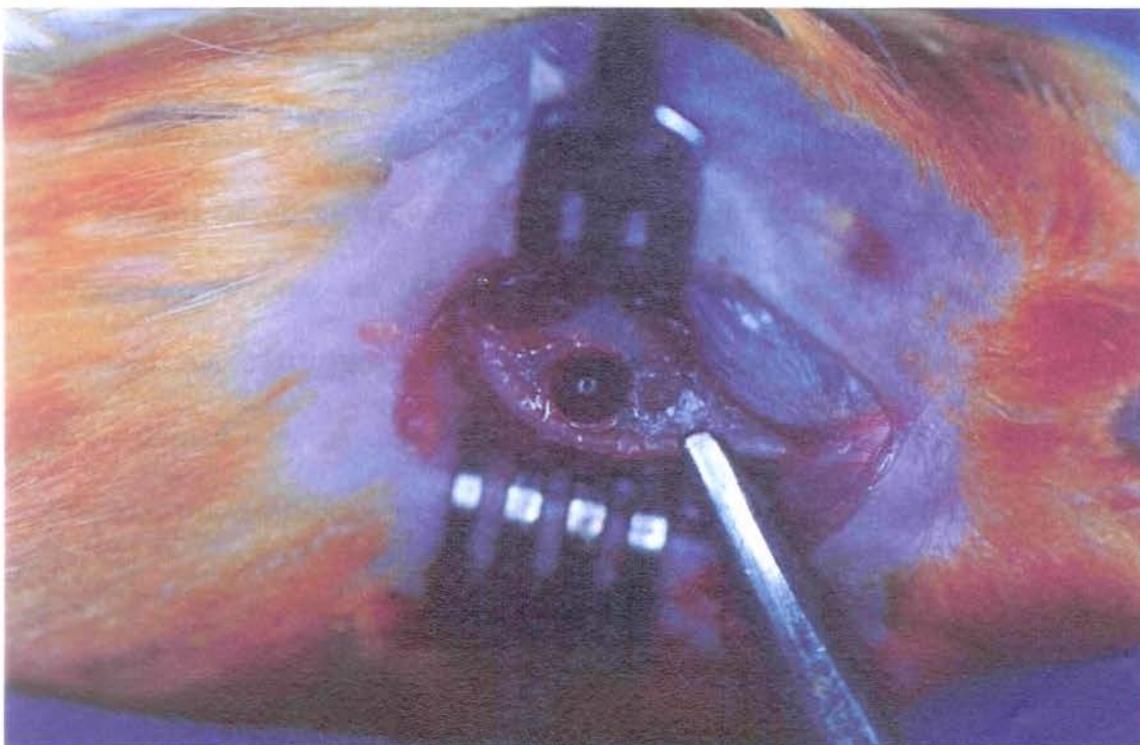


Figura 7. Defeito mandibular bicortical obtido.

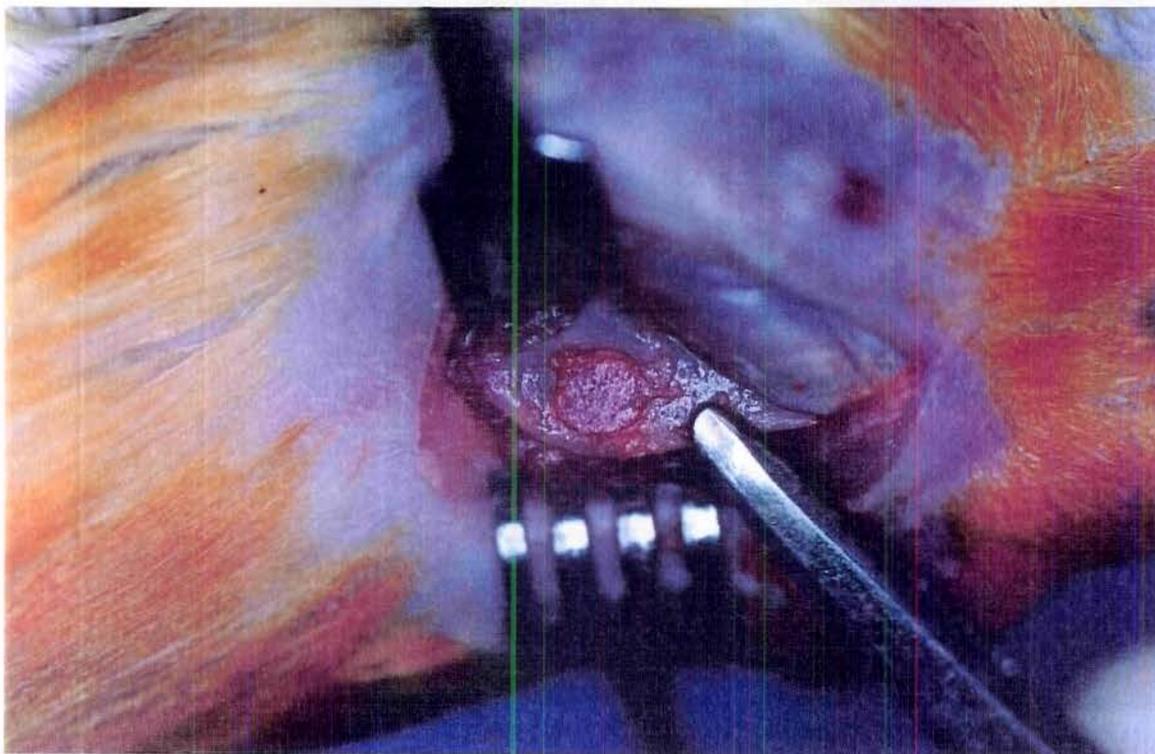


Figura 8. Enxerto ósseo preenchendo o defeito mandibular.

No final da cirurgia foi instituída antibioticoterapia profilática com benzilpenicilina benzatina (Solução injetável de Benzetacil® 1.200.000 UI, Fontoura-Wyeth S.A.), na dose fixa de 16.000 UI, via intraperitoneal. Nas duas primeiras semanas de pós-operatório, os ratos se alimentaram de ração para roedores fragmentada e, a seguir, na apresentação regular. O primeiro grupo foi sacrificado, por dose letal de anestésico geral, decorridas 24 horas da cirurgia, sendo os grupos seguintes sacrificados com sete dias, duas semanas, um mês e três meses. Após o sacrifício do animal a mandíbula foi removida, procedendo-se a análise macroscópica da peça e fixação em formol tamponado a 10%.

Posteriormente as hemi-mandíbulas foram submetidas à análise radiográfica com emprego de aparelho de raios-X odontológico (Modelo XR

6010, Gnatus), no regime de 56 kV, 10 mA e 0,5 segundos de exposição, com filme periapical tamanho dois (Ektaspeed Plus, Kodak Co.) e distância focal de 30 centímetros. A película radiográfica foi revelada em processadora automática (Level 360 X-ray automatic processor, Flat Co.).

Em seguida as peças foram descalcificadas em solução de ácido fórmico a 25% com citrato de sódio a 10%, com troca do líquido a cada três dias, por três semanas. Para diminuir a influência da solução descalcificadora na coloração do corte histológico, após o término da descalcificação a peça foi deixada em água corrente por 24 horas e em seguida em solução de sulfato de sódio a 5% por 32 horas e em seguida novamente em água corrente por mais 24 horas (SPOLIDÓRIO, 1996). O espécime foi então preparado e incluído em parafina para coloração por hematoxilina e eosina. Os cortes histológicos foram feitos com cinco micrômetros de espessura, de forma semi-seriada e seguindo os planos sagital e frontal. As lâminas obtidas foram utilizadas na descrição dos eventos histológicos através de microscopia óptica. Estes procedimentos, assim como os da densitometria óptica, foram realizados no Laboratório da Disciplina de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

Para cada radiografia da mandíbula, foi comparada a densidade óptica no local do enxerto com o mesmo local na hemi-mandíbula esquerda, obtendo-se um controle individual. Esta análise foi realizada através da aquisição por aparelho de digitalização (Modelo GS 700 Image

Densitometer, BIO-RAD) com 1.200 dpi, sendo a imagem transferida para o programa Molecular Analyst Software, Versão 1.5, desenvolvido pela BIO-RAD. Considerando que a área do enxerto seja aproximadamente sete milímetros quadrados ($S = \pi.R^2$, onde $R = 1,5\text{mm}$, $\therefore S = 7,07\text{mm}^2$), a seleção da área de interesse a ser analisada foi um círculo de aproximadamente seis milímetros quadrados, evitando a escolha de áreas de borda do enxerto. As duas áreas de interesse selecionadas, sendo uma a do enxerto e outra a mesma região no lado controle, foram avaliadas quanto à sua densidade óptica média. A imagem digitalizada é transformada em pixels pelo programa e, de acordo com a intensidade do tom de cinza de cada pixel, é-lhe dado um volume. A somatória destes volumes dividida pelo número de pixels é a densidade óptica média, expressa em DO. Os valores encontrados foram submetidos ao teste estatístico de análise de variância (ANOVA) para avaliar a significância das diferenças entre valores da densidade óptica média encontrados no grupo controle e no experimental, nos diversos tempos. O teste de ANOVA também foi empregado para avaliar a significância das diferenças dentro do grupo experimental ao longo dos diversos tempos de sacrifício. Anteriormente ao teste ANOVA, o teste de Bartlett foi aplicado para verificar a homogeneidade da variância. Os testes estatísticos foram realizados pelo programa EPI-INFO, Versão 6.04, desenvolvido pelo Centro de Controle de Doenças dos EUA (Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia).

5- RESULTADOS

A recuperação dos ratos após a cirurgia ocorreu sem intercorrências, com cicatrização e deambulação satisfatórias e, de uma forma geral todos ganharam peso, como demonstrado na Tabela 1. Apenas no grupo sacrificado um dia após a intervenção a média do peso final foi menor que a inicial. Por outro lado, em um elemento, proveniente do grupo de duas semanas, houve deiscência da sutura no sítio doador do enxerto, a qual foi tratada por meio de limpeza com polivinilpirrolidona-Iodo e antibioticoterapia, através de benzilpenicilina benzatina na mesma dosagem e via que no momento da cirurgia, estando o animal com a ferida fechada no momento do sacrifício.

TABELA 1 - Peso médio inicial e final dos animais utilizados nesta pesquisa. Valores expressos em gramas.

<i>Grupo</i>	<i>Média do peso inicial</i>	<i>Média do peso final</i>
Um dia	383,0	373,5
Uma semana	280,0	300,5
Duas semanas	303,0	327,0
Um mês	332,0	371,0
Três meses	326,0	401,0

O exame macroscópico das peças obtidas mostrou uma diminuição contínua do volume do enxerto com o passar do tempo. Nos dois primeiros tempos o enxerto manteve seu formato e volume, estando bem adaptado ao leito receptor. Após três meses o enxerto estava com menor volume, encontrando-se ao nível da cortical externa da mandíbula. No tempo final o enxerto não foi distinguível do leito receptor, sendo que a coloração do local do enxerto apresentou tons mais escuros de amarelo que no restante da mandíbula.

6.1 - ESTUDO HISTOLÓGICO

Após um dia o osso enxertado apresentou-se vitalizado (Figura 11), sendo constituído por duas corticais paralelas dispostas externamente, uma do lado medial e outra do lateral da mandíbula, unidas por osso trabeculado com amplo espaço medular, ocupando a maior área do enxerto (Figura 9). Perióstio recobria a face externa das suas corticais (Figura 10). O espaço medular estava ocupado por células hematopoéticas em diversas fases de maturação, rede de fibrina e poucas células adiposas uniloculares. O enxerto possuía espessura maior que a da mandíbula e estava bem adaptado ao leito receptor, mantendo contato íntimo com o mesmo (Figura 12). Na maioria dos espécimes a margem do defeito mandibular apresentou-se viável. Ao redor do enxerto foi encontrado

processo inflamatório agudo, com infiltração de leucócitos polimorfonucleares (PMN) e exsudado serofibrinoso. As fibras musculares vizinhas estavam separadas umas das outras, com infiltração de PMN, edema e não inseridas no tecido ósseo (Figura 9).

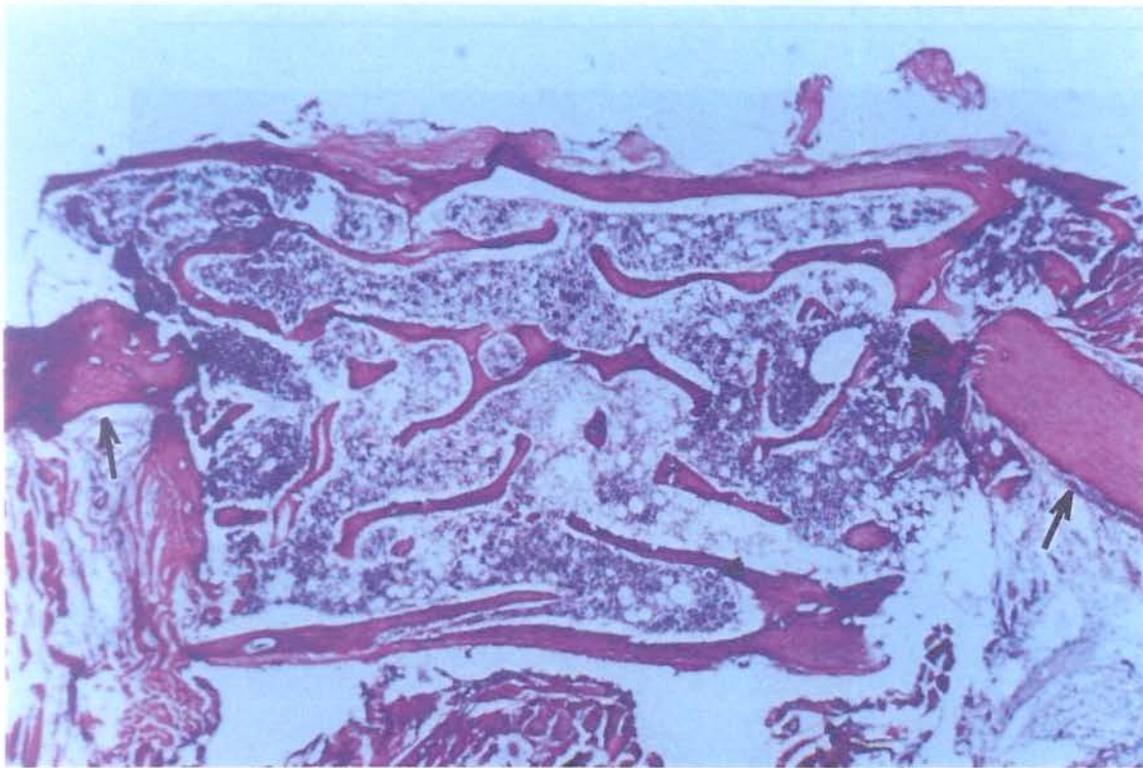


Figura 9. Enxerto posicionado no defeito mandibular após um dia. Amplo espaço medular preenchido por tecido hematopoético e células adiposas uniloculares. Tecido muscular inserido na face interna da mandíbula. As setas indicam as margens da mandíbula. Corte frontal. Aumento de 30x.

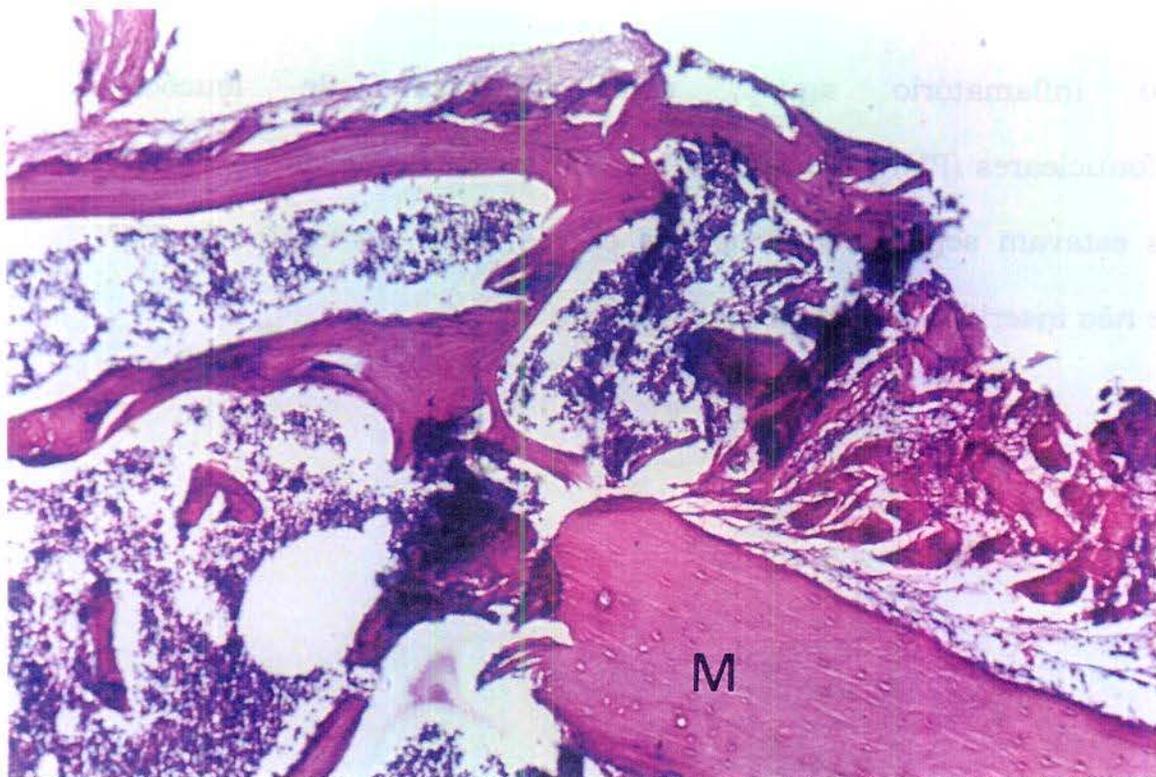


Figura 10. Margem mandibular (M) mostrando necrose da superfície após um dia. Enxerto vitalizado e recoberto por periósteo na face externa. Medula óssea ocupada por tecido hematopoético. Corte frontal. Aumento de 75x.

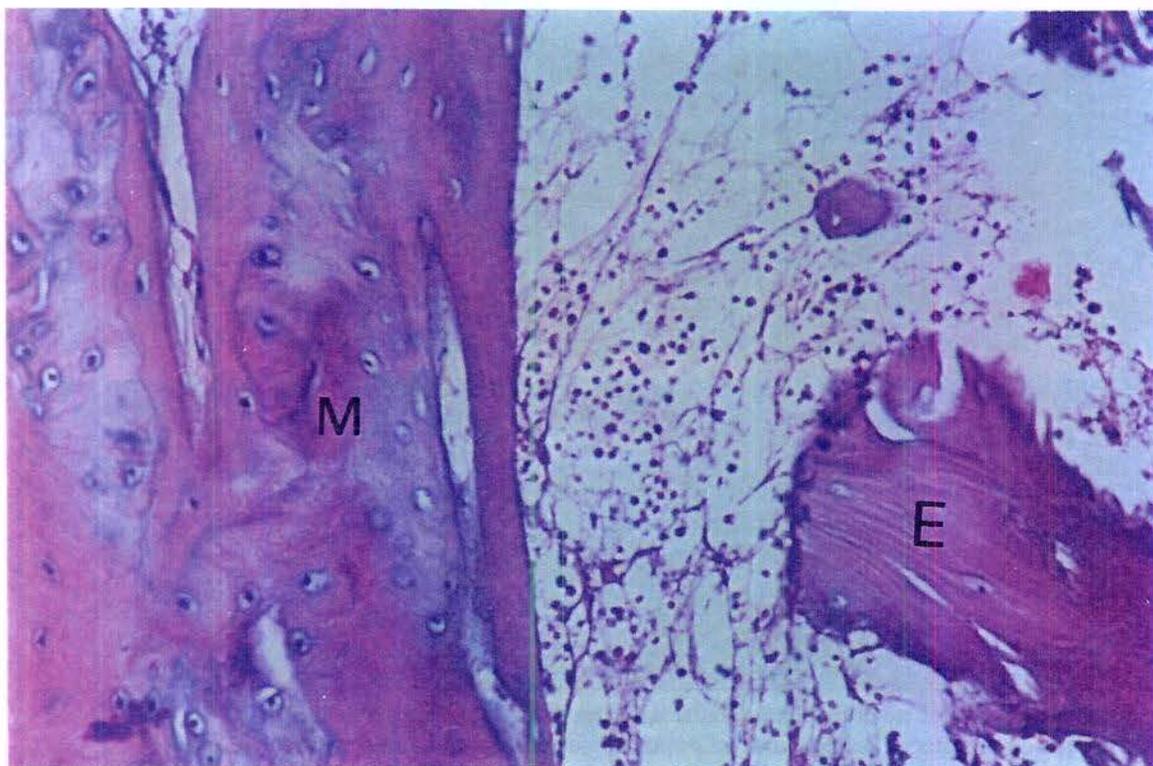


Figura 11. Margem do defeito mandibular (M) e trabécula do enxerto (E), ambos vitalizados. Grupo de um dia. Rede de fibrina permeada por leucócitos mononucleares e hemácias. Corte sagital. Aumento de 190x.

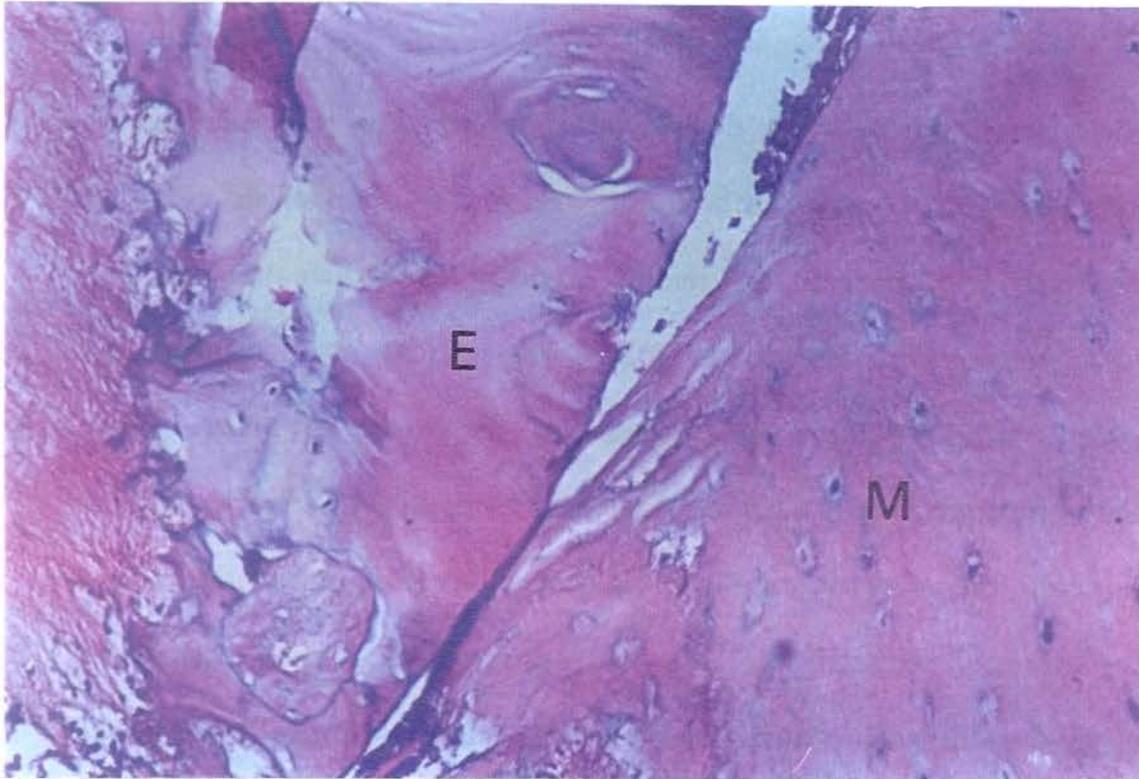


Figura 12. Grupo de um dia. Detalhe da adaptação das corticais do enxerto (E) do defeito mandibular (M). Corte sagital. Aumento de 190x.

Com uma semana o enxerto manteve seu formato e volume originais, estando a maior parte do tecido ósseo desvitalizado, assim como o periosteio. O espaço medular estava preenchido em sua maior parte por tecido de granulação ricamente celularizado e vascularizado e áreas de neoformação óssea, restando pouco tecido hematopoético, que estava necrótico e permeado por numerosos macrófagos. Rede de fibrina e adipócitos estavam presentes em pequenas quantidades. O osso neoformado no espaço medular estava presente principalmente sobre as trabéculas ósseas, às vezes unindo-as (Figura 15). Atividade osteoblástica e matriz osteóide estavam organizados em camadas sobre o tecido ósseo ou ainda formando ilhas, sendo o centro ocupado pela matriz óssea não calcificada. A parte cortical do enxerto, entretanto, mostrou áreas de

reabsorção, formando lacunas de Howship, sobretudo nos locais sem proteção do periosteio, o qual também estava sofrendo reabsorção evidente nas extremidades. A margem do defeito mandibular estava desvitalizada (Figura 14), tendo apresentado ao longo da cortical intensa atividade osteoblástica subperiosteal, com produção de osso imaturo. Esta proliferação circunscreveu as trabéculas mais externas do enxerto (Figura 13). O processo inflamatório estava presente, embora menos evidente que na fase anterior, constituído por infiltrado PMN, mononuclear e macrofágico. O infiltrado inflamatório e edema entre as fibras musculares estava quase ausente, porém as fibras não estavam inseridas no osso.

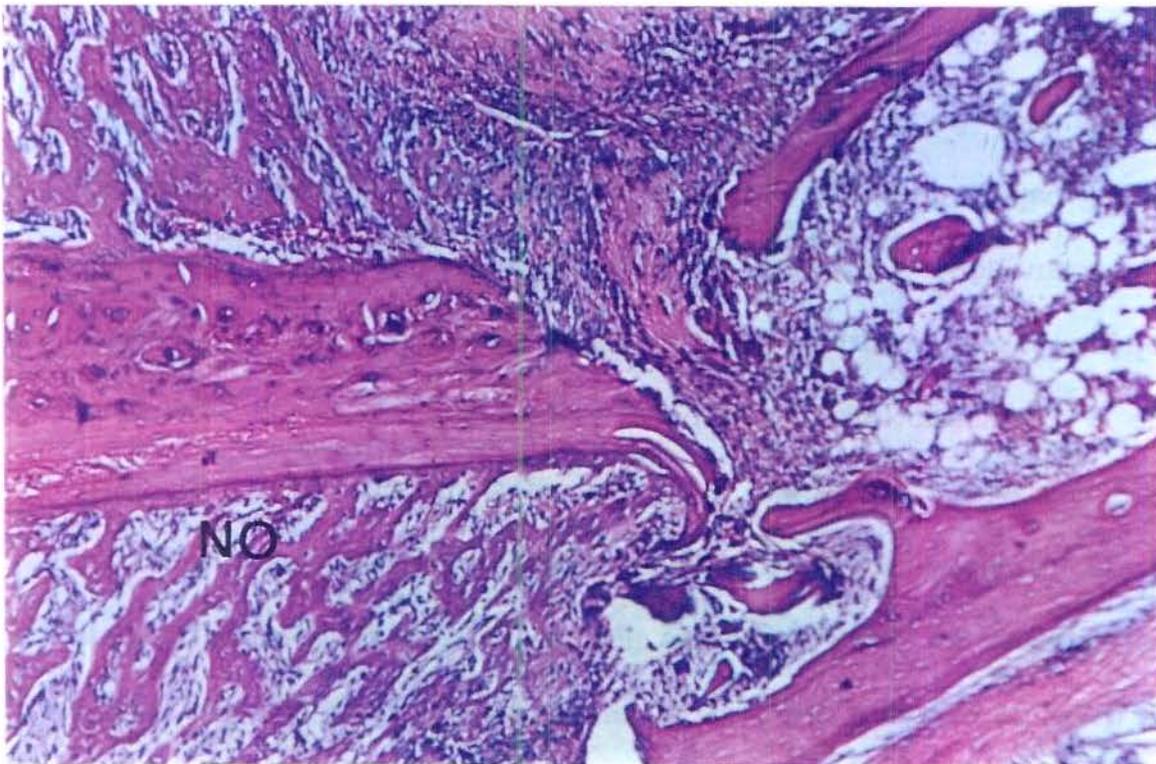


Figura 13. Margem mandibular com neoformação óssea (NO), após uma semana. Enxerto desvitalizado e recoberto por periosteio. Corte frontal. Aumento de 75x.

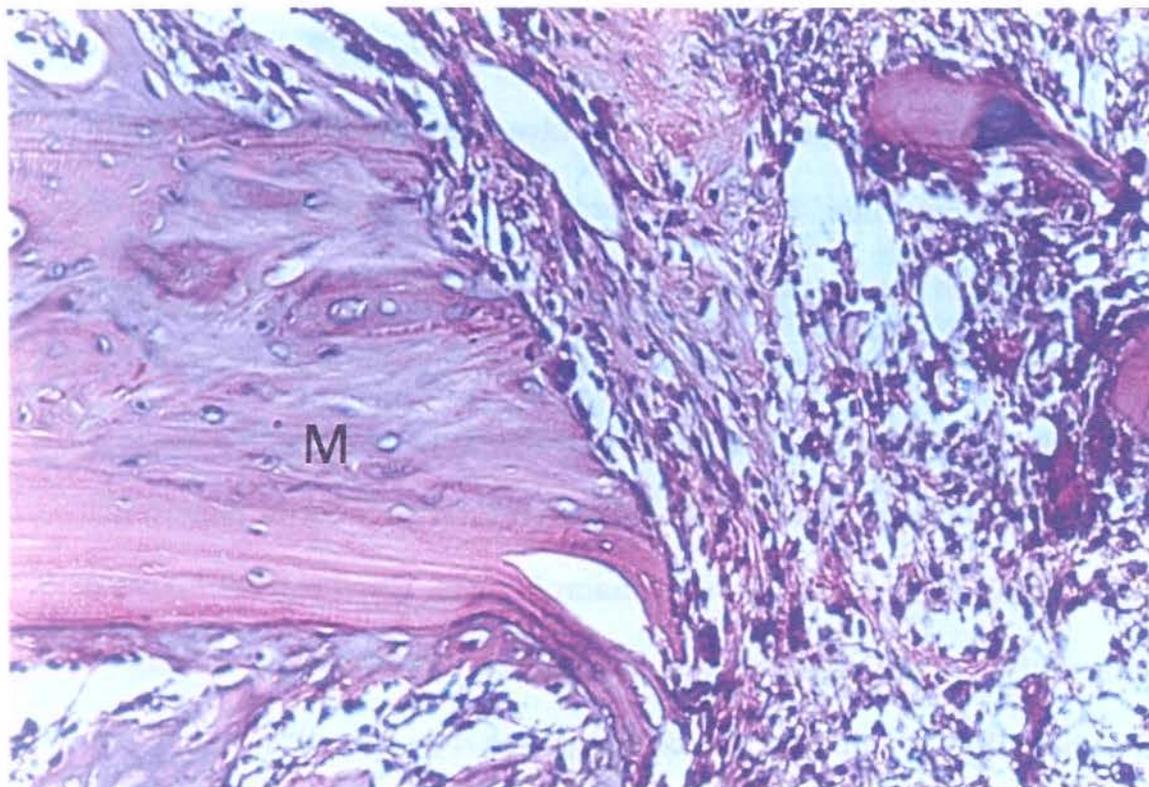


Figura 14. Margem mandibular (M) após uma semana, com superfície desvitalizada e corticais com proliferação óssea. Tecido de granulação na margem do enxerto. Corte frontal. Aumento de 190x.

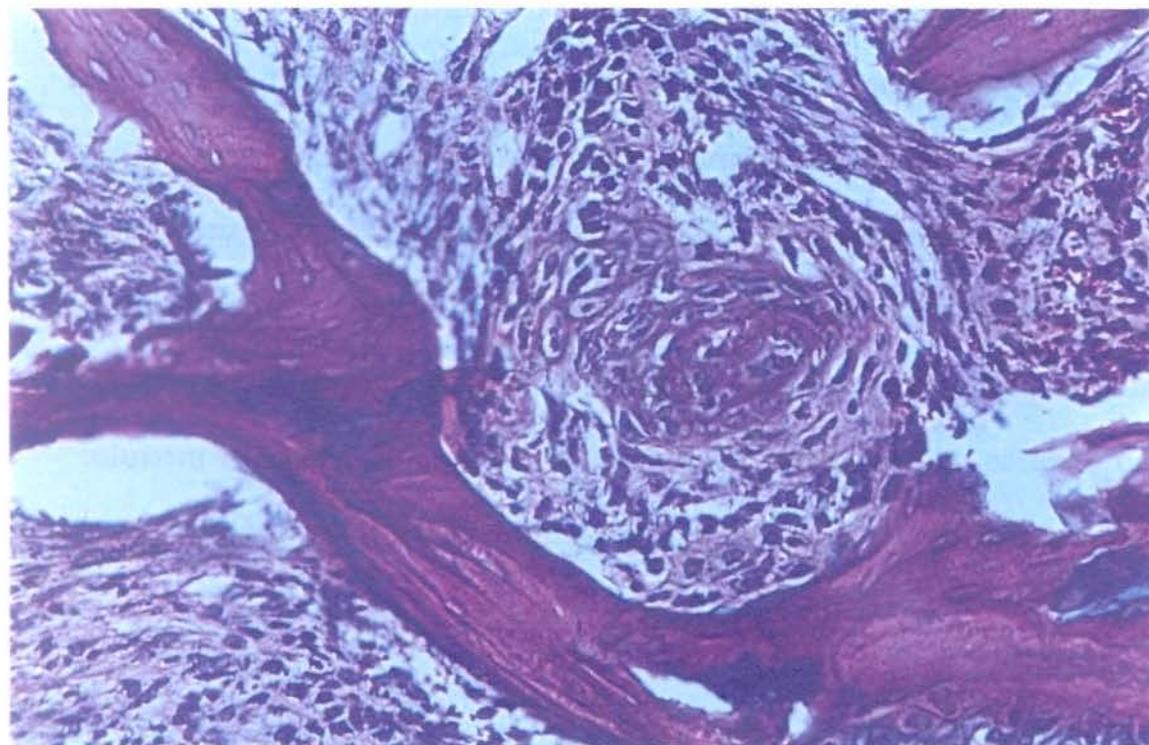


Figura 15. Detalhe da medula óssea após uma semana. Atividade osteoblástica e tecido de granulação. Ilha de matriz osteóide cercada por osteoblastos. Trabéculas do enxerto desvitalizadas. Corte frontal. Aumento de 190x.

Depois de duas semanas o enxerto estava sem vitalidade, mantendo formato e volume originais, embora o processo de reabsorção estivesse presente. O periósteo estava presente, em quantidade menor que no tempo anterior e mostrando ainda reabsorção. O espaço medular estava ocupado por osteoblastos, tecido de granulação intensamente vascularizado e celularizado e tecido conjuntivo frouxo (Figura 16), levemente infiltrado por células inflamatórias mononucleares e macrofágicas. Capilares similares a sinusóides ainda foram encontrados, mesmo com a ausência do tecido hematopoético. Tecido similar ao cartilaginoso foi encontrado em um espécime (Figura 18). Somente um dos espécimes mostrou medula óssea preenchida com tecido hematopoético e menor quantidade de neoformação óssea. As corticais do enxerto mostraram sinais de reabsorção, presente também nas trabéculas posicionadas mais externamente, ao passo que as trabéculas da parte mais interna estavam envolvidas na neoformação óssea. A margem do defeito mandibular mostrou superfície não viável, estando em algumas áreas cobertas por neoformação óssea (Figura 17). A proliferação de tecido ósseo sobre a cortical mandibular mostrou aspecto mais maduro, apresentando-se mais compacta e menos celularizada. Junto ao enxerto, ela envolveu as trabéculas e ocupou o espaço medular vizinho ao defeito. O edema nas fibras musculares estava ausente.

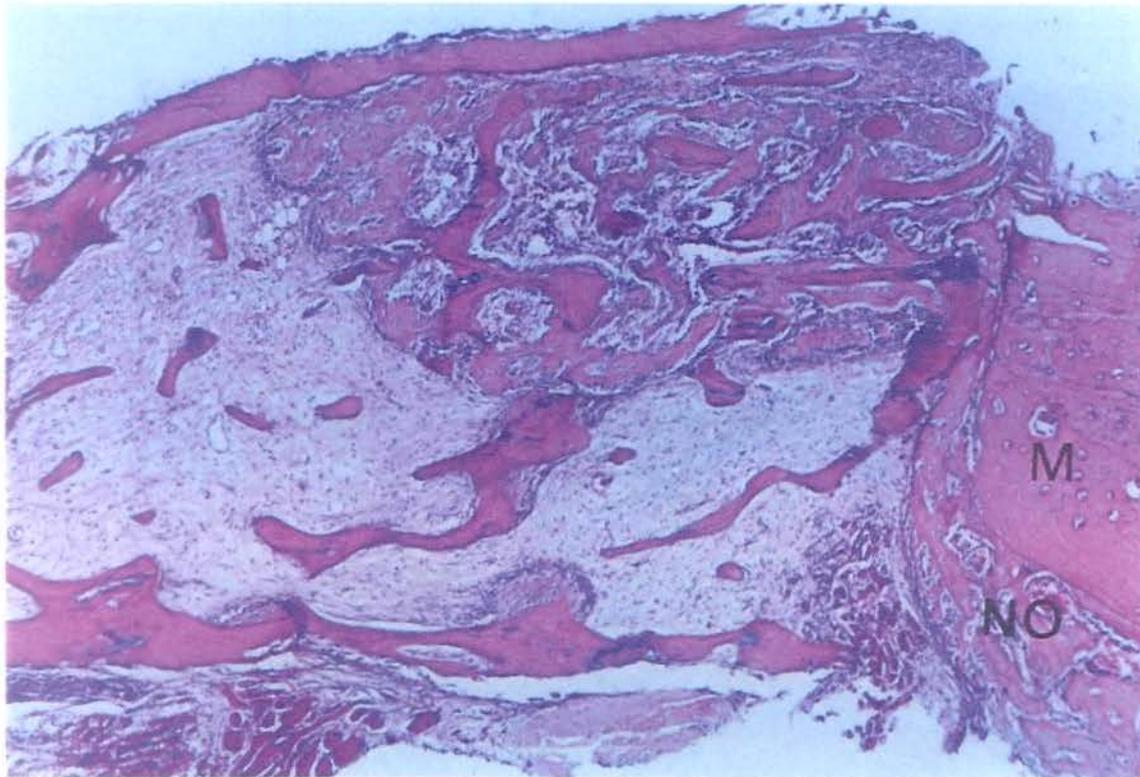


Figura 16. Margem mandibular (M), com neoformação óssea (NO) nas corticais. Enxerto com espaço medular ocupado por proliferação óssea e tecido de granulação. A neoformação óssea une trabéculas vizinhas. Grupo de duas semanas. Corte frontal. Aumento de 30x.

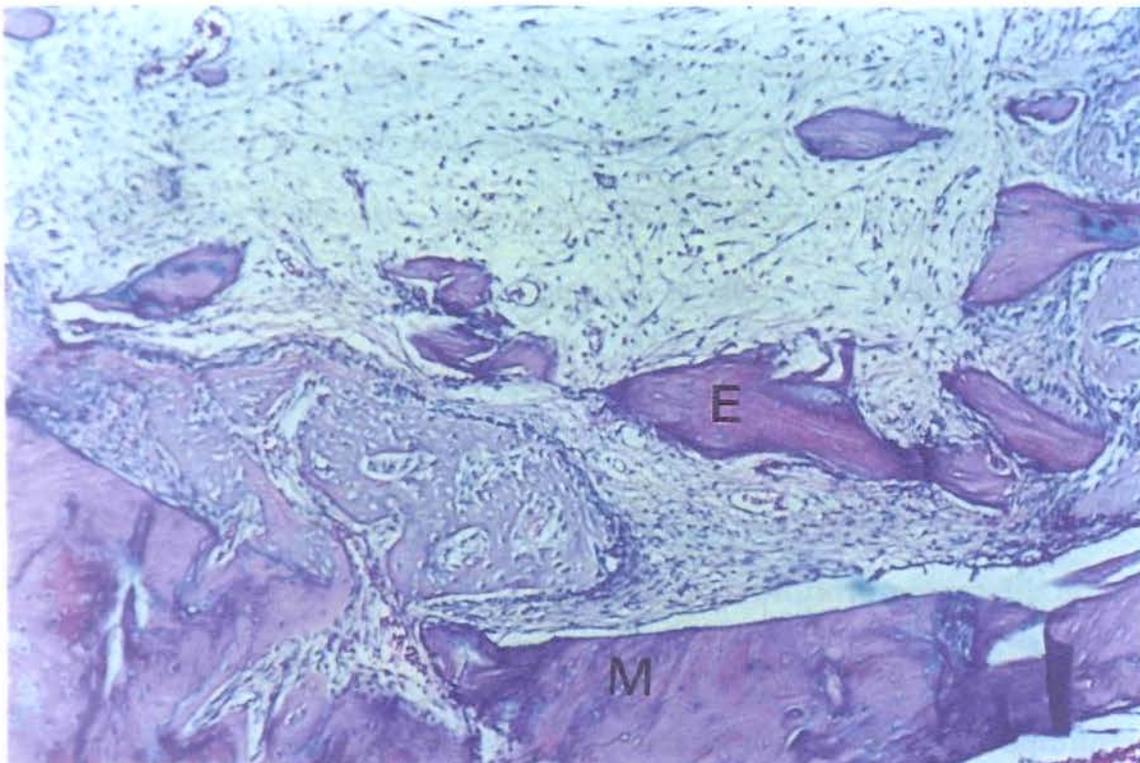


Figura 17. Detalhe da margem do defeito mandibular (M) após duas semanas. Neoformação óssea em direção ao espaço medular, que é ocupado por tecido de granulação. Trabéculas do enxerto (E) desvitalizadas. Corte sagital. Aumento de 75X.

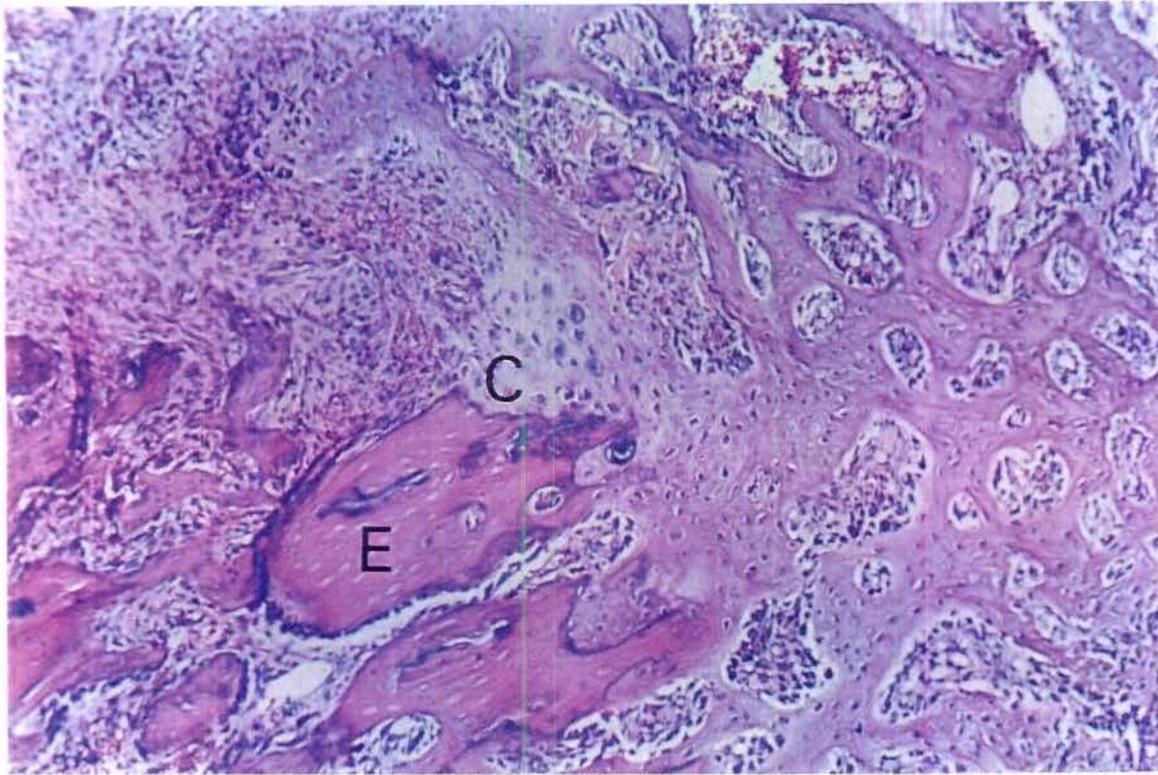


Figura 18. Trabécula óssea do enxerto (E) em meio a intensa neoformação óssea. Grupo de duas semanas. Tecido condróide (C). Corte frontal. Aumento de 75x.

Após um mês o enxerto estava desvitalizado, tendo sofrido remodelamento intenso, o que lhe deixou com menor volume em relação ao tempo anterior (Figura 19). Houve reabsorção nas corticais e trabéculas ósseas, estando o local do enxerto ocupado principalmente pelo osso neoformado, que também mostrou sinais de remodelamento. Em alguns cortes foi notada a interposição de tecido conjuntivo entre o leito receptor e o enxerto, porém não separando completamente os dois, fato confirmado por cortes de diferentes profundidades. O espaço medular estava reduzido em relação ao tempo inicial, voltando a ser ocupado principalmente por tecido hematopoético e poucos adipócitos (Figura 20). Em um espécime o espaço medular estava ocupado por tecido conjuntivo frouxo. A espessura

óssea no local do enxerto estava reduzida em relação ao tempo anterior, encontrando-se ao mesmo nível dos limites da mandíbula (Figura 17). O periósteo estava presente, recobrendo as corticais ósseas do enxerto e da mandíbula, sem mostrar sinais de alterações. A margem do defeito mandibular mostrou sinais de reabsorção e vitalidade na maioria dos espécimes, estando envolta por tecido ósseo neoformado, inclusive na face em contato com o enxerto. A neoformação óssea, antes produzida em grande quantidade, apareceu em menor intensidade (Figura 21).

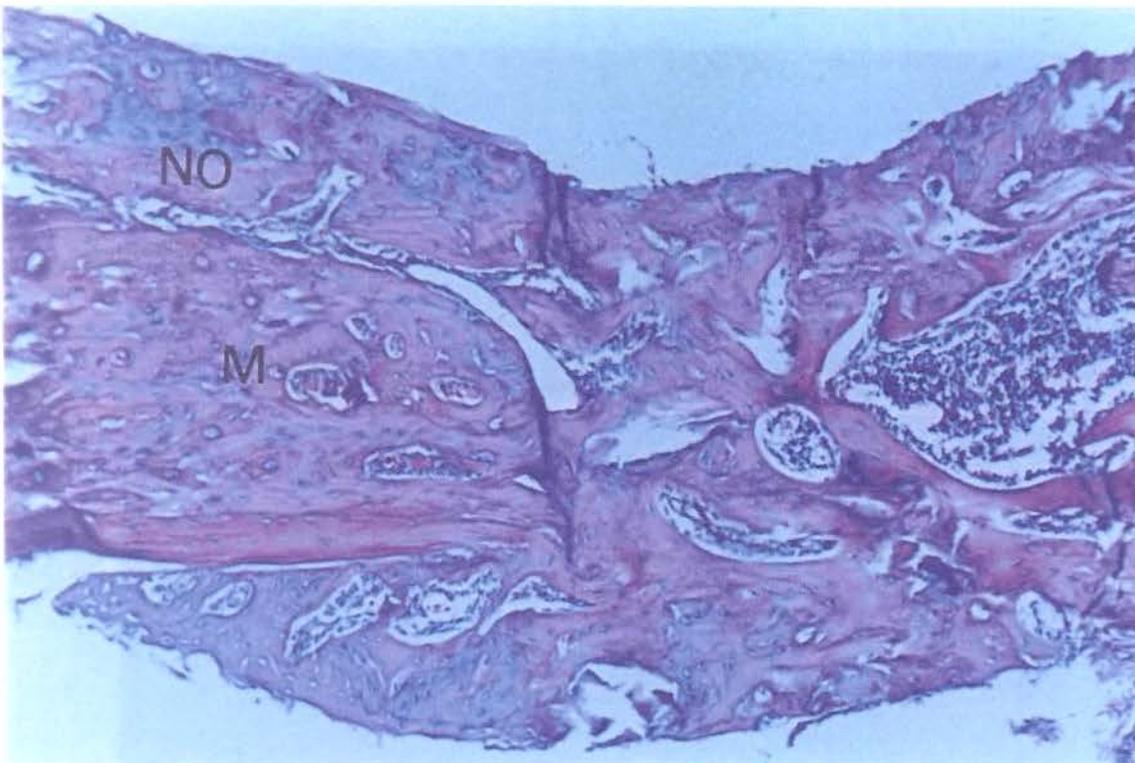


Figura 19. Margem do defeito mandibular (M) após um mês. Neoformação óssea (NO). Espaço medular com tecido hematopoético. Corte frontal. Aumento de 75x.

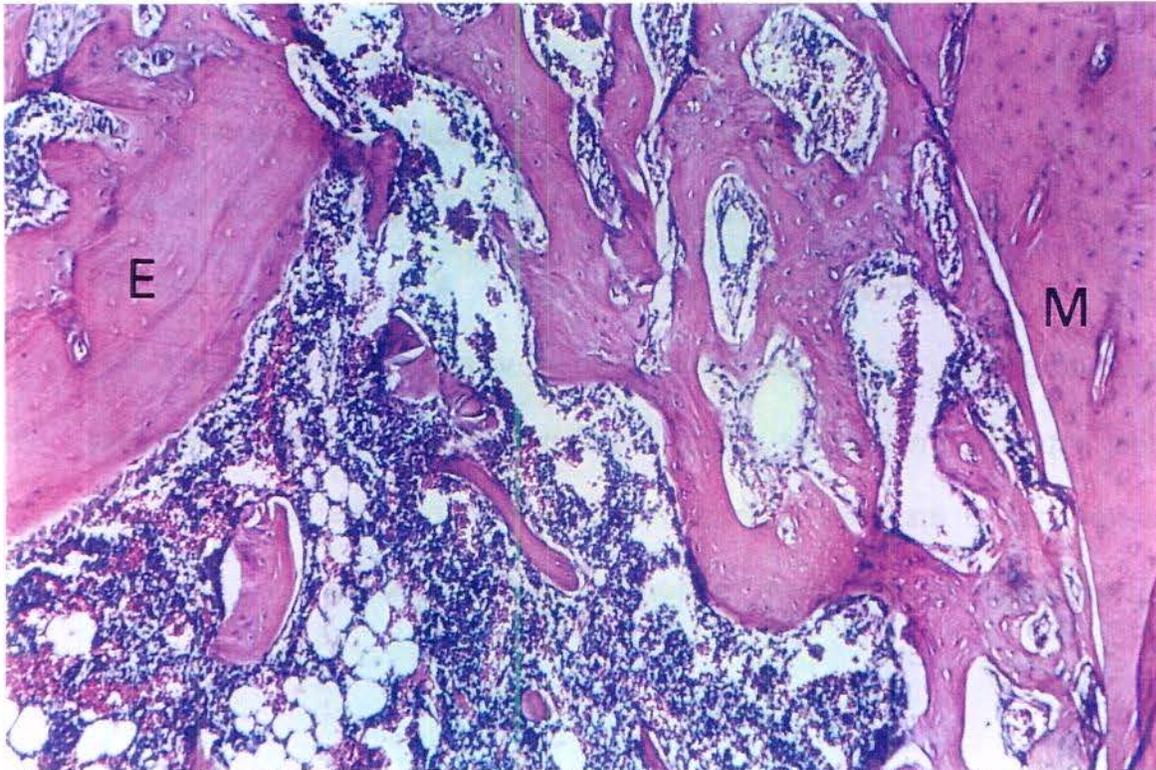


Figura 20. Osso mandibular (M) com neoformação óssea. Trabécula do enxerto desvitalizada (E) e tecido hematopoético com células adiposas. Grupo de um mês. Corte sagital. Aumento de 75x.

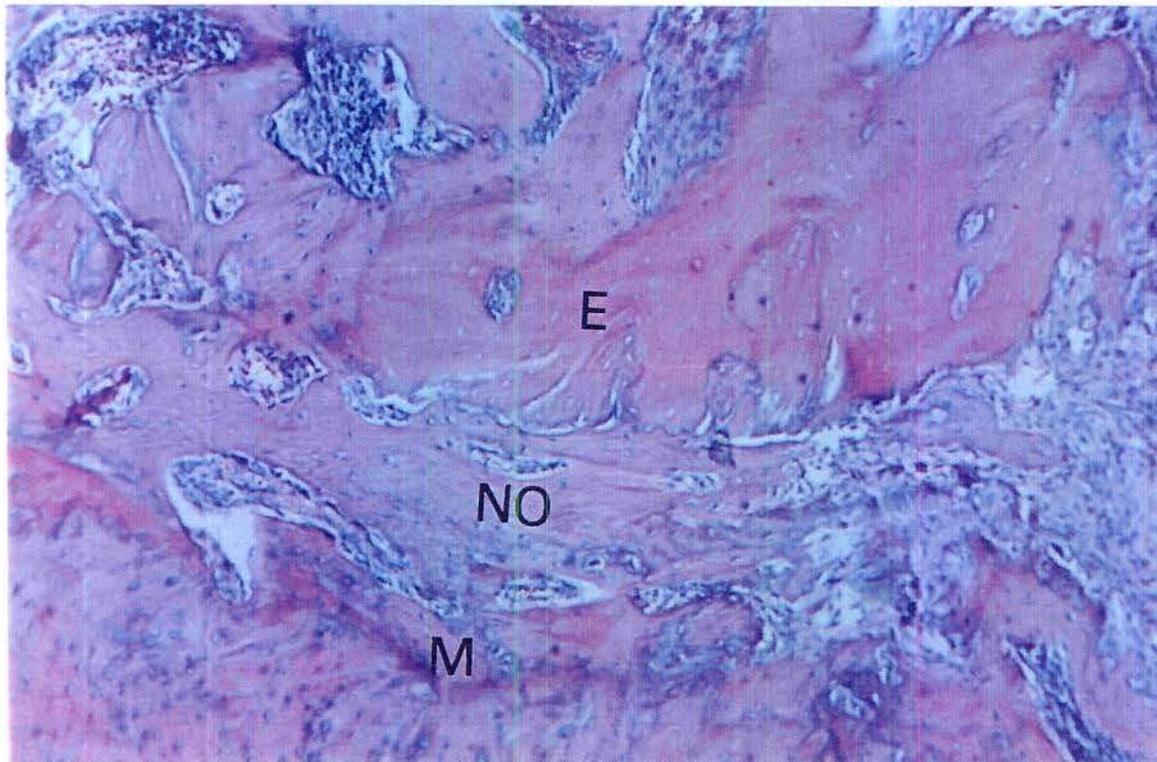


Figura 21. Osso mandibular (M) com neoformação óssea (NO), unindo-a ao enxerto (E), que mostra mescla de osso desvitalizado e neoformado. Grupo de um mês. Corte sagital. Aumento de 75x.

Passados três meses, o defeito ósseo estava reparado nos cinco indivíduos do grupo. Houve dificuldade na diferenciação precisa da margem da mandíbula, do osso neoformado (Figura 24) e do osso enxertado. Do osso enxertado, estavam presentes remanescentes da cortical, ainda desvitalizados e circundados por osso neoformado, na forma madura. O espaço medular no local do enxerto apresentou volume reduzido em relação ao tempo inicial, estando preenchido por tecido hematopoético (Figura 22). Entretanto, em alguns espécimes as corticais estavam unidas sem presença de medula. Em dois espécimes foram encontradas partes de osso cortical do enxerto isoladas do osso mandibular, no lado interno da mandíbula. Estes fragmentos isolados estavam desvitalizados e sofrendo intensa ação de osteoclastos. A camada óssea neoformada sobre as corticais da mandíbula pareceu ter menor espessura que nas fases anteriores, sendo que a região do enxerto acompanhou esta espessura. Nas faces lateral e medial da mandíbula foi possível identificar lamelas concêntricas do sistema circunferencial externo (Figura 23). Atividade osteoblástica estava presente, com pouca intensidade, assim como reabsorção. Todo o tecido ósseo, com exceção dos remanescentes do enxerto, estava vitalizado. Perióstio normal recobria a região. O tecido muscular estava inserido nas corticais da mandíbula (Figura 22).

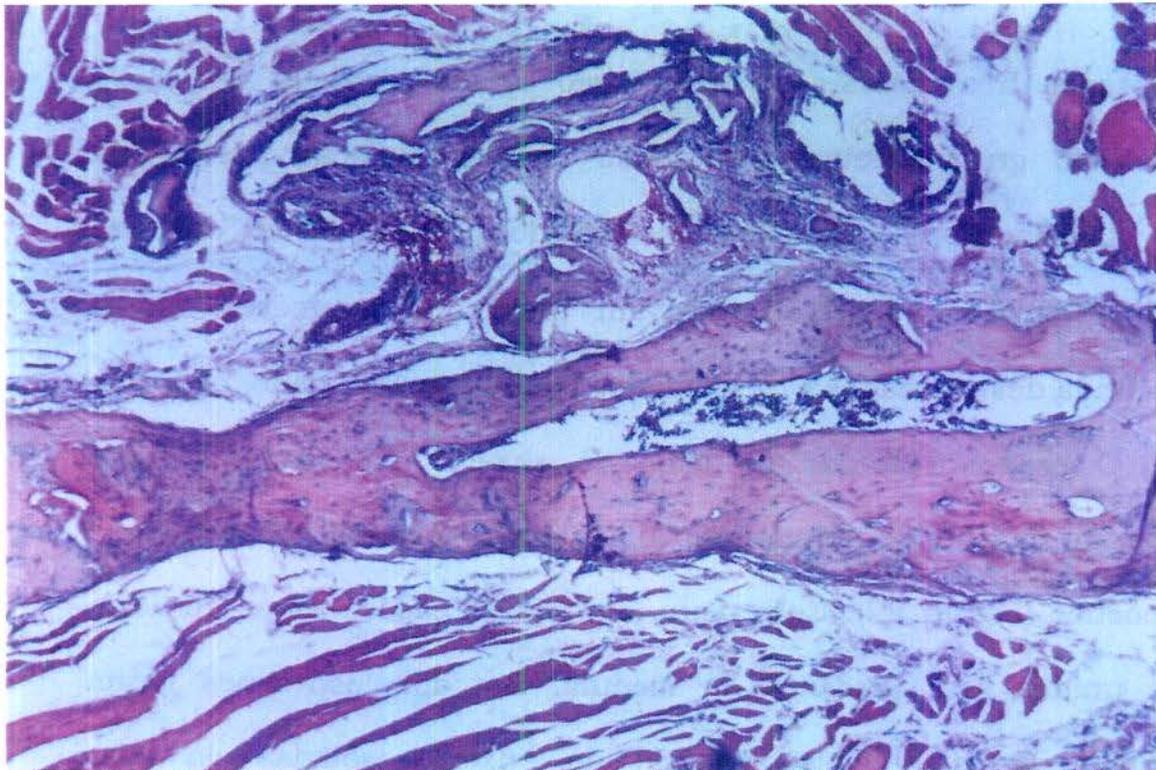


Figura 22. Local do enxerto após três meses, mostrando intenso remodelamento ósseo. Espaço medular reduzido e ocupado por tecido hematopoético. Fibras musculares inseridas no osso mandibular. Corte frontal. Aumento de 48x.

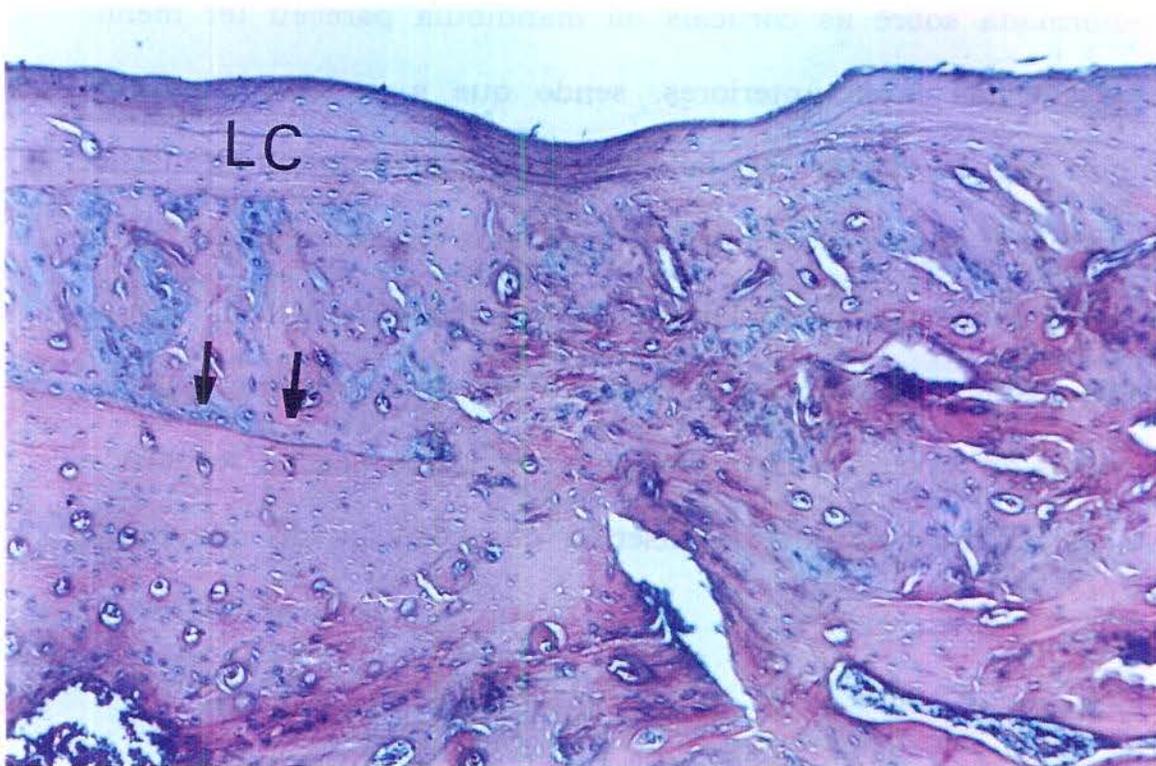


Figura 23. Margem do defeito mandibular, indicada por setas. Lamelas concêntricas do sistema circunferencial externo (LC). Grupo de três meses. Corte frontal. Aumento de 75x.

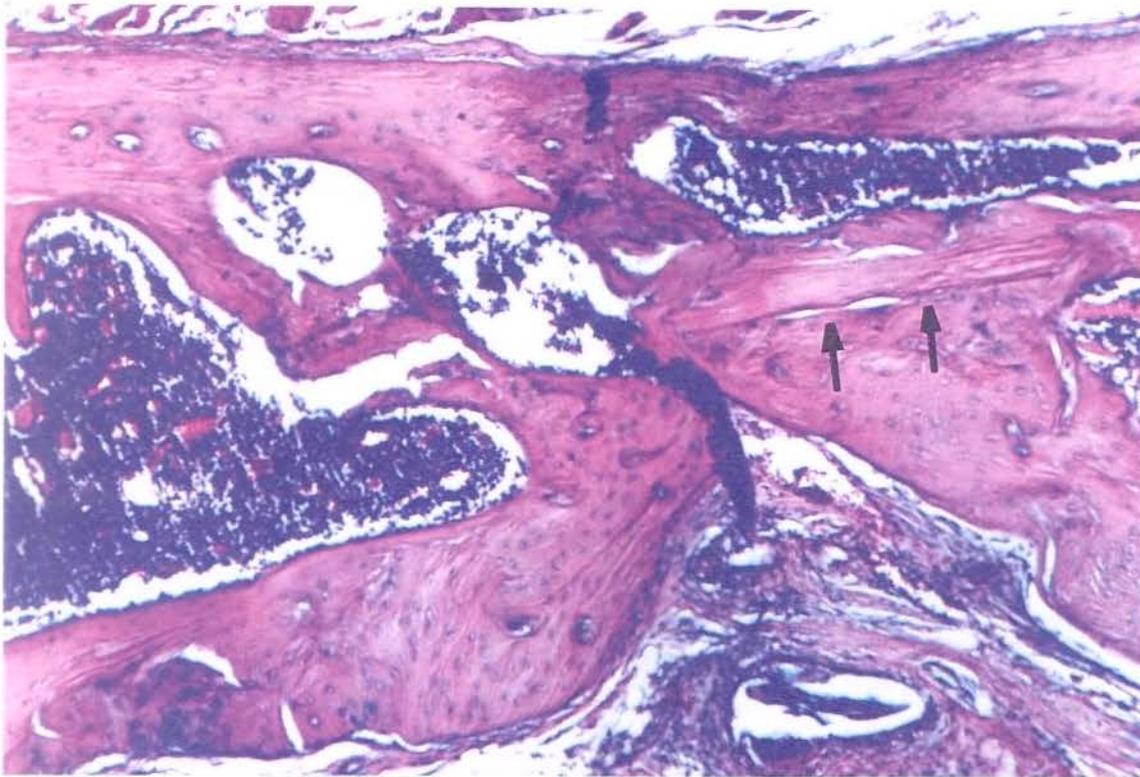


Figura 24. Enxerto após três meses, setas indicam parte da cortical do osso íliaco. Corte frontal. Aumento de 75x.

5.2 - ESTUDO RADIOGRÁFICO E DE DENSITOMETRIA ÓPTICA

As radiografias da mandíbula dos animais sacrificados mostraram, um dia após a cirurgia, área radiopaca com aproximadamente três milímetros de diâmetro com bordas bem definidas no ramo mandibular, próxima à região apical do dente incisivo inferior. Com uma semana a área do enxerto mostrou-se menos radiopaca que no tempo anterior. Foi notada presença de linha radiolúcida ao redor do enxerto e formação de halo

radiopaco ao redor do leito receptor, permanecendo as bordas do bloco ósseo enxertado bem definidas. Com duas semanas o enxerto continuou mais radiopaco que o ramo da mandíbula, porém começando a perder a delimitação das bordas. A área radiopaca ao redor do enxerto estava mais evidente que no tempo anterior. Após um mês a característica mais importante foi a redução da radiopacidade no local do enxerto, estando a delimitação do enxerto ainda menos evidente. Com três meses o enxerto não possuía bordas definidas, sendo no entanto possível identificar na área de implantação pontos e estrias radiopacas.

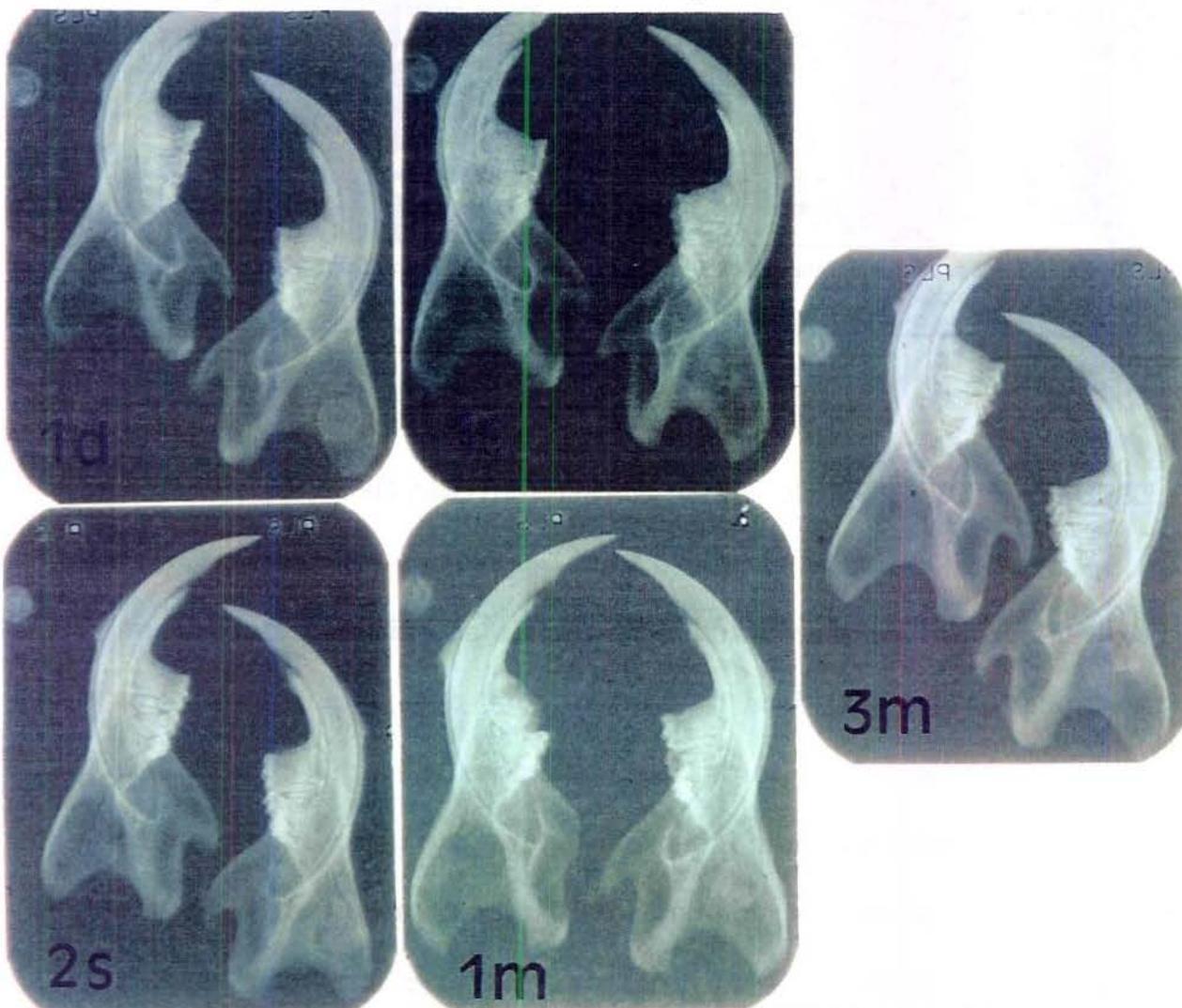


Figura 25. Radiografias obtidas. (1d) um dia, (1s) uma semana, (2s) duas semanas, (1m) um mês, (3m) três meses.

A avaliação da densidade óptica da imagem radiográfica foi realizada comparando-se o lado operado com o lado controle, sendo os valores expressos em unidades DO. A Tabela 2 e Gráfico 2 mostram os valores da média e desvio padrão encontrados em cada grupo. Os dados encontrados foram submetidos ao teste de ANOVA, comparando a média do grupo experimental e do grupo controle, sendo os resultados apresentados na Tabela 3. Houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 1%, com exceção do grupo de uma semana, que mostrou resultado significativo ao nível de 5%. O teste de ANOVA foi também aplicado para comparar os cinco tempos dentro do grupo experimental, sendo o valor de p igual a 0,0004, sendo significativo ao nível de 1% (Ver anexos, página 107)

TABELA 2 - Média de densidade óptica no lado controle e experimental, com desvio padrão. Valores expressos em DO.

<i>Grupo</i>	<i>Lado controle</i>		<i>Lado experimental</i>	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Um dia	1,023	0,028	0,912	0,041
Uma semana	0,991	0,052	0,923	0,033
Duas semanas	1,099	0,059	0,993	0,038
Um mês	1,106	0,026	1,019	0,035
Três meses	1,148	0,073	1,017	0,052

GRÁFICO 2 - Média de densidade óptica nos lados controle e experimental nos cinco tempos avaliados, com desvio padrão. Valores expressos em DO.

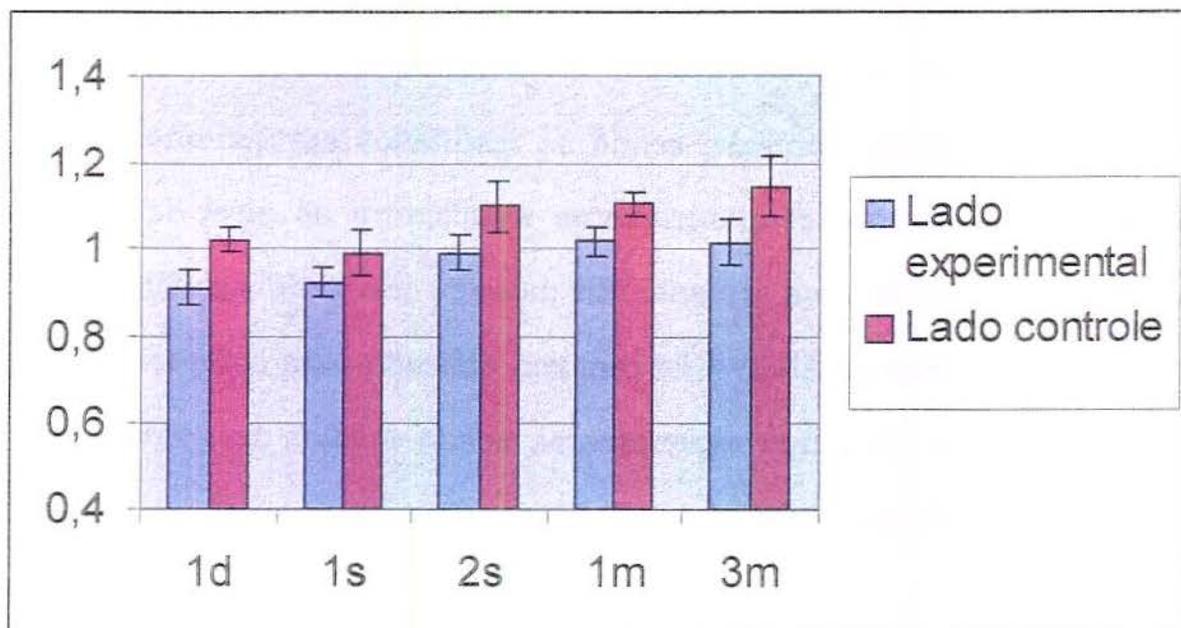


TABELA 3 - Significância da diferença entre as médias da densidade óptica do lado controle e experimental na análise de variância (ANOVA).

<i>Grupo</i>	<i>ANOVA</i>
	<i>Valor de p</i>
Um dia	0,0010
Uma semana	0,0385
Duas semanas	0,0097
Um mês	0,0021
Três meses	0,0112

6- DISCUSSÃO

A evolução do defeito ósseo de tamanho crítico na mandíbula de rato após enxerto autógeno de crista ilíaca foi avaliada neste estudo. O modelo adotado permitiu a avaliação do processo de reparo que ocorre neste tipo de enxerto. Inicialmente foi notado processo inflamatório agudo e necrose do enxerto, seguida de formação de tecido de granulação e neoformação óssea no interior do enxerto e na cortical mandibular. Finalmente, a remodelação óssea tomou lugar, levando à diminuição do volume do enxerto e conferindo arquitetura semelhante à da mandíbula.

A remoção do bloco ósseo da crista ilíaca resultou na interrupção de sua irrigação sanguínea. No primeiro dia de avaliação não foi notada necrose no enxerto, nem de tecido ósseo ou mole, porém após uma semana houve necrose da maior parte do tecido ósseo, tecido hematopoético e no periosteio. A permanência do enxerto fora do corpo do rato, cerca de três minutos até seu reposicionamento na mandíbula, bem como ser enxerto livre e portanto sem vascularização e o tempo gasto para ser restabelecida a perfusão para o enxerto são, possivelmente, as principais causas da necrose. A morte dos osteócitos é seguida por autólise, deixando a lacuna óssea vazia e caracterizando a necrose óssea (BURCHARDT, 1987). A necrose óssea também foi encontrada na margem do defeito mandibular, a partir da primeira semana, neste estudo. Este

fato é possivelmente devido ao trauma térmico e mecânico ocasionado pelo uso da trefina durante a confecção do defeito. Foi descrito, na literatura, morte dos osteócitos próximos da área de osteotomia na mandíbula e enxerto, assim como dos osteócitos vizinhos da placa e parafusos utilizados na fixação rígida do blocos ósseos (FRAME *et al.*, 1984; SCHON *et al.*, 1997). Também, diante de fratura ocorre necrose óssea junto aos seus cotos, o que tem sido demonstrado experimentalmente (TEIXEIRA *et al.*, 1998). A necrose óssea da margem do defeito não foi encontrada no tempo final, possivelmente por causa do intenso remodelamento ocorrido no local, o qual levou à reabsorção da parte necrótica e deposição de osso neoformado. Sabe-se que enxertos ósseos têm maior chance de sobreviver quando empregados revascularizados (SCHMELZEISEN & SCHON, 1998), sendo relatada vitalidade em enxertos de osso ilíaco vascularizados pela artéria ilíaca interna (SCHON *et al.*, 1997; SCHMELZEISEN & SCHON, 1998). Entretanto, necrose da medula óssea e de parte da cortical podem ocorrer, mesmo quando a revascularização é empregada (SHIROTA *et al.*, 1995). Enxertos autógenos frescos e livres estão mais associados à ocorrência de necrose (FRAME *et al.*, 1982, ALBERIUS *et al.*, 1992, MERKX *et al.*, 1997).

No enxerto ósseo livre o suprimento sanguíneo necessário às intensas atividades celulares que ocorrem durante o processo de reparação local é proveniente de vasos neoformados e tecido mole circunvizinho. O tecido de granulação, ricamente vascularizado, formado ao redor e

encontrado penetrando no espaço medular do enxerto também se torna responsável por sua irrigação, em especial neste enxerto de osso ilíaco, pois as trabéculas ósseas são afastadas umas das outras, sendo o espaço medular amplo. Essa característica facilita a penetração do tecido de granulação. É suposto que os canais de Havers, principais responsáveis pela irrigação do tecido ósseo compacto, não sofram revascularização rapidamente, levando necrose à maior parte, senão completa, do osso cortical. Acredita-se que apenas alguns osteócitos localizados mais superficialmente possam sobreviver, devido estarem próximos ao tecido mole ao redor do enxerto (CORMACK, 1987). O osso esponjoso teria maior chance de permanecer viável, pois seus osteócitos estariam mais próximos de uma fonte de irrigação. A arquitetura do tecido ósseo pode ser responsável por diferenças na revascularização dos enxertos, sobrepondo distintos comportamentos durante sua incorporação, influenciando sobremaneira na ocorrência de reabsorção (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991). De fato, foi demonstrado que o osso cortical, por possuir estrutura mais densa, sofrerá vascularização tardiamente e em menor grau que o osso esponjoso (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991). A parte esponjosa do enxerto ilíaco, presente em maior quantidade que o osso compacto, teria maior grau de revascularização, estando apta a sofrer mais intensamente a incorporação. A angiogênese, assim como a neoformação óssea, é estimulada por fatores de crescimento (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991), tais como FGF (Fibroblast Growth Factor), VPF (Vascular Permeability

Factor) e VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (COTRAN *et al.*, 1994). Por outro lado, a microcirurgia tornou possível o uso de enxertos revascularizados, desta forma é esperado que o enxerto, ou pelo menos a maior parte dele, esteja irrigado durante as fases iniciais do processo de incorporação (SHIROTA *et al.*, 1995; SCHON *et al.*, 1997; SCHMELZEISEN & SCHON, 1998).

A neoformação óssea ocorreu mais intensamente da primeira semana até o primeiro mês, sendo em sua maior parte restrita às margens do defeito mandibular. Entretanto, neoformação óssea foi encontrada nas trabéculas do enxerto e em um espécime subperiostealmente. A neoformação ligou a mandíbula ao enxerto, estabilizando-o, e desta forma teve função semelhante ao calo ósseo durante a reparação da fratura óssea (CORMACK, 1987; TEIXEIRA *et al.*, 1998). A neoformação motivou espessamento da mandíbula, na maioria dos casos até a altura do próprio enxerto, semelhante ao descrito em enxerto na mandíbula de cães (FRAME *et al.*, 1982). Com uma semana este osso era imaturo, porém com o passar do tempo tornou-se tecido ósseo maduro, sendo possível identificar lamelas circunferenciais externas aos três meses ao redor da mandíbula e enxerto, indicando intenso remodelamento no local e maturidade óssea. A espessura da mandíbula não voltou aos valores iniciais, contudo pareceu acompanhar a espessura do enxerto, que sofreu contínua diminuição pelo processo de reabsorção. Fato similar foi descrito na mandíbula de cão após enxerto interposto de osso ilíaco (FRAME *et al.*, 1982). A causa deste

aumento da espessura da mandíbula e sua permanência, mesmo em tempo prolongado de avaliação, não possui explicação conhecida. Talvez tempos maiores de acompanhamento combinados com estudos histomorfométricos ajudem a entender este fenômeno.

Por definição o enxerto mostrou osteocondução e indução. A osteoindução, atualmente alvo de muitos estudos, é caracterizada pela participação de mediadores locais, entre os mais conhecidos BMP-2 e TGF- β , envolvidos diretamente na diferenciação e ativação das células responsáveis pela reparação óssea. Estes fatores estariam armazenados na matriz óssea calcificada, permanecendo no enxerto fresco (SZACHOWICZ, 1995). Desta forma, enquanto houver reabsorção haverá estímulo à formação óssea (COTRAN *et al.*, 1994). Este fato condiz com os achados nesta pesquisa e na fratura de côndilo (TELXEIRA *et al.*, 1998), onde as fases mais ativas de reabsorção são também as mais ativas de formação óssea. A camada interna do periósteo foi a maior fonte dos osteoblastos participantes da neoformação óssea da mandíbula. Foi descrito que o tecido hematopoético abriga células mesenquimais que dariam origem às células osteogênicas, sendo de grande importância para o sucesso do enxerto não só o transplante de osso, mas também de medula vermelha, portanto o osso ilíaco seria um excelente sítio doador (BERNARD, 1991). Na pesquisa aqui desenvolvida foi notada necrose do tecido hematopoético, com posterior eliminação dos restos celulares, e mesmo assim o defeito foi reparado. Desta forma, é possível acreditar que as células mesenquimais

envolvidas na neoformação óssea não são provenientes do tecido hematopoético, ou pelo menos não só dele.

A presença de tecido cartilaginoso tem sido descrita na incorporação de enxertos ósseos (KABAN & GLOWACKI, 1981; KABAN & GLOWACKI, 1984; PETTIS *et al.*, 1990; SANDBERG *et al.*, 1993; ZELLIN *et al.*, 1995). Alguns pesquisadores relacionaram a formação de tecido cartilaginoso durante a reparação óssea em locais com baixa tensão de oxigênio (SAWAI *et al.*, 1996), por exemplo, em tecidos com suprimento sanguíneo inadequado. Na pesquisa aqui realizada foi encontrado um sítio com tecido cartilaginoso entre os 25 examinados. Fosse a baixa tensão de oxigênio responsável pela diferenciação condróide neste espécime, possivelmente este achado haveria de se repetir em outros animais, fato não demonstrado.

O osso ilíaco preserva-se, no rato adulto, com função hematopoética, enquanto a mandíbula mostra pouca ou quase nenhuma desta função, principalmente pelo espaço reduzido da medula óssea. Mudanças nos tipos celulares e volume foram observadas na medula óssea do enxerto durante os diferentes tempos de avaliação desta pesquisa. O aspecto inicial, com grande quantidade de espaço medular, células hematopoéticas, capilares sinusóides e com adipócitos pouco frequentes, foi mostrando contínua modificação, com a substituição da medula óssea por tecido de granulação e diminuição do seu volume, achados estes semelhantes aos descritos na literatura (FRAME *et al.*, 1982; SHIROTA *et*

al., 1995; ZELLIN *et al.*, 1995). Inicialmente, a diminuição do espaço medular é decorrente da presença de tecido de granulação e neoformação óssea, que ocupam o espaço entre as trabéculas mas, nos tempos finais, a diminuição estava associada ao remodelamento ósseo (FRAME *et al.*, 1982; SHIROTA *et al.*, 1995). Com três meses a medula estava reduzida, sendo ocupada por tecido hematopoético e poucos adipócitos, com características celulares e de volume semelhantes ao encontrado na mandíbula de um rato adulto normal. De acordo com classificação encontrada na literatura (ZELLIN *et al.*, 1995), a medula óssea neste experimento seria tida como intermediária, pois não foi no final ocupada por tecido adiposo. Porém, neste estudo com ratos adultos persistiu tecido hematopoético na medula da mandíbula, enquanto em outros animais adultos normais, por exemplo o coelho, a medula é ocupada principalmente por medula adiposa (SAWAI *et al.*, 1996).

Vários autores têm destacado as modificações ocorridas na medula óssea de enxerto autógeno livre (SAWAI *et al.*, 1996) e revascularizado (SHIROTA *et al.*, 1995; SCHON *et al.*, 1997), em geral descrevendo em suas pesquisas diminuição do volume e aumento do número de células adiposas entre as hematopoéticas nos tempos mais avançados. No tempo inicial, no experimento aqui desenvolvido, pode ser vista necrose do tecido hematopoético da crista ilíaca, com substituição por tecido de granulação e neoformação óssea, após um mês reocupação do espaço medular por células hematopoéticas e no tempo final grande diminuição de sua área,

com presença de células adiposas, embora estas em pouca quantidade. Em um espécime foram encontrados capilares sinusóides na medula óssea do enxerto, no tempo de um mês. Achado comparável foi descrito por outro autor (FRAME *et al.*, 1982).

Os enxertos ósseos autógenos têm sido associados a um grande percentual de reabsorção, às vezes referida como incontrolável (AABOE *et al.*, 1997), sendo este fator considerado desfavorável ao seu uso. O processo de reabsorção é realizado pelo osteoclasto, célula multinucleada formada pela união de monócitos. A reabsorção, parte fundamental no processo de incorporação, remove o osso inviável, dando espaço à formação de novo tecido ósseo, com arquitetura adequada às exigências locais (CORMACK, 1987). Inicialmente foi verificado que a reabsorção ocorreu na cortical do enxerto, envolvendo a parte mais lateral, sem cobertura do periósteo, seguida da parte trabecular, da margem do defeito mandibular e por fim o próprio osso neoformado, num processo semelhante ao descrito na literatura (BURCHARDT, 1987). Embora a cortical do enxerto seja submetida à reabsorção inicialmente, possivelmente por causa da revascularização (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991), no tempo final são encontrados remanescentes de osso cortical, enquanto que o osso esponjoso não foi encontrado (BURCHARDT, 1987; MERKX *et al.*, 1997). Ao contrário, outros autores (GONÇALVES & MERZEL, 1976; WANGERIN *et al.*, 1986) relataram remodelamento completo do enxerto, sendo dificultada até mesmo a localização do defeito

inicial, deve-se levar em consideração o longo tempo de acompanhamento nestes trabalhos, de seis meses e um ano, respectivamente. A utilização de enxertos vascularizados tem sido relacionada com a diminuição da reabsorção, ocorrendo preferencialmente a substituição da estrutura óssea original pela do osso receptor (SHIROTA *et al.*, 1995; SCHON *et al.*, 1997). O uso de enxerto de origem diferente daquela do leito receptor tem sido relacionado com maior grau de reabsorção (ALBERIUS *et al.*, 1992). Por outro lado, outros autores relacionaram que o grau de reabsorção seria menor em enxertos de osso cortical, independente da origem, enquanto o osso esponjoso seria mais susceptível à reabsorção (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991; SZACHOWICZ, 1995), pois estas diferenças estariam baseadas nas características de revascularização do enxerto, ditadas por sua estrutura. Desta forma é explicado por que o enxerto ilíaco, mais trabecular, seria submetido a uma reabsorção maior que um enxerto de calota craniana, o qual é formado em sua maior parte por osso cortical. Nesta pesquisa o defeito mandibular estava completamente preenchido no tempo final, havendo aumento da espessura da mandíbula. É suposto desta maneira que o enxerto, assim como todo tecido ósseo, foi remodelado de acordo com as necessidades locais, sendo reabsorvido até se adequar ao novo ambiente biomecânico. Vale lembrar que o resultado final da reparação óssea completa constitui o objetivo a ser alcançado quando da utilização de enxerto ósseo. Tendo em vista os resultados favoráveis

obtidos neste modelo, vários estudos podem ser desdobrados com utilização do mesmo.

A distribuição dos artigos na literatura indexada, ao se procurar por enxerto ósseo em rato, conforme mostra o Gráfico 1, revela que o interesse pelos diferentes tipos de enxerto tem se mantido aproximadamente constante nos dez últimos anos. Houve maior número de pesquisas utilizando o osso alógeno e autógeno, talvez por serem estes os enxertos mais realizados em humanos. O aumento no interesse por fatores de crescimento envolvidos na reparação óssea, principalmente BMP e TGF- β , foi evidenciado nos últimos dez anos, triplicando-se o número de artigos relacionados ao assunto no último lustro. A possibilidade de substituição do enxerto autógeno por fatores de crescimento foi possivelmente a principal causa do aumento do número de pesquisas com estes mediadores (SPAMPATA *et al.*, 1992; AABOE *et al.*, 1995; SZACHOWICZ, 1995; VILJANEN *et al.*, 1997; ZELLIN & LINDE, 1997).

A expressão destes dois fatores, BMP e TGF- β , tem sido descrita em tecido ósseo normal (SZACHOWICZ, 1995), durante a reparação de fraturas (SI *et al.*, 1997) e em enxertos (VILJANEN *et al.*, 1997). Os eventos celulares envolvidos na neoformação e remodelamento ósseo aparentemente são mediados da mesma forma nestas três situações, estando a BMP envolvida na diferenciação de células mesenquimais em condrócitos e osteoblastos, enquanto o TGF- β estaria associado com a ativação dos condrócitos e osteoblastos (AABOE *et al.*, 1995; SI *et al.*,

1997). Acredita-se que em defeitos de tamanho crítico tais fatores de crescimento não alcançariam ou não estariam presentes em quantidade suficiente no centro do defeito, deixando as células mesenquimais sem sofrerem diferenciação para células produtoras de tecido ósseo, o que determinaria o preenchimento do defeito por tecido fibroso (SZACHOWICZ, 1995; ZELLIN & LINDE, 1997). O tratamento recebido pelo enxerto, durante esterilização ou manipulação, pode determinar a desnaturação das proteínas osteoindutoras. O congelamento, aquecimento ou irradiação podem provocar este efeito (WANGERIN *et al.*, 1986; LORENTE *et al.*, 1992; REDONDO *et al.*, 1997). Neste estudo o enxerto foi instalado prontamente, permitindo a preservação destes fatores.

Embora a remoção de enxertos ósseos para procedimentos de reconstrução da região maxilo-facial possa ser feita na face medial da fíbula, escápula, na cortical craniana ou ainda na costela, o sítio doador mais frequentemente utilizado e indicado é o osso ilíaco (CHEN *et al.*, 1994). O volume de osso ali encontrado tem sido relatado ser suficiente para restaurar defeitos congênitos, causados por lesão traumática, remoção de tumores e extrema reabsorção da mandíbula edêntula (BERNARD, 1991; CHEN *et al.*, 1994; KALK *et al.*, 1996; MILLESI *et al.*, 1997; POGREL *et al.*, 1997; RUDMAN, 1997; STELLINGSMA *et al.*, 1998). A obtenção de enxerto ósseo no ilíaco tem sido associada à ocorrência de hematoma, dor, edema, eritema, abscesso, febre, drenagem de material serosanguinolento, dificuldade de deambulação, parestesia do nervo

cutâneo lateral da coxa, deformidade no contorno da crista ilíaca e sensibilidade da pele e osso (LAURIE *et al.*, 1984; CANADY *et al.*, 1993; BEIRNE *et al.*, 1996; KALK *et al.*, 1996; RUDMAN, 1997). No entanto, estes problemas tendem à resolução em curto espaço de tempo (LAURIE *et al.*, 1984; CANADY *et al.*, 1993; BEIRNE *et al.*, 1996), e quando comparados à remoção do osso da costela, mostraram menor grau de complicações (LAURIE *et al.*, 1984). Os pacientes têm mostrado boa aceitação dos procedimentos de remoção do enxerto (KALK *et al.*, 1996). A boa resolução do ferimento cirúrgico da região dorsal do rato nesta pesquisa concorda com os relatos descritos em humanos. De fato, a única intercorrência foi deiscência de sutura em um animal, com resolução em menos de duas semanas após a instituição de antibioticoterapia e limpeza com PVPI. O aumento do peso corporal é tido como uma das maneiras de avaliar o bem-estar dos ratos após alguma intervenção experimental. Assim, pode-se concluir que o experimento realizado na mandíbula não influenciou os processos normais de nutrição do rato (TEIXEIRA *et al.*, 1998). Nesta pesquisa todos os grupos mostraram ganho de peso, menos o de um dia, que teve diminuição média de 9,5 gramas. Este grupo, ao contrário dos outros, possivelmente não teve tempo para recuperação do procedimento cirúrgico.

A utilização de defeitos de tamanho crítico permite que o material ou técnica a ser testada revele seu real potencial para promoção da reparação óssea, pois este tipo de defeito evolui espontaneamente para cicatrização

fibrosa exclusiva. Este conceito tem sido aplicado em estudo de reparação em mandíbula (KABAN & GLOWACKI, 1981), crânio (THALLER *et al.*, 1994) e em ossos longos (WANGERIN *et al.*, 1986). Resultados de pesquisas obtidos com modelos experimentais sem este padrão têm sido questionados, pois poderiam manter, total ou parcialmente, a capacidade de reparação, o que dificultaria a avaliação do enxerto a ser testado (KABAN & GLOWACKI, 1981; GUTTU & LASKIN, 1989; HOLLINGER & KLEINSCHMIDT, 1990). Um modelo experimental com defeito de tamanho crítico no ramo mandibular foi proposto por KABAN & GLOWACKI em 1981, sendo que outros pesquisadores lançaram mão deste modelo para avaliar enxertos (GONGLOFF *et al.*, 1985; BELL & BEIRNE, 1988; ALBERIUS *et al.*, 1992; LORENTE *et al.*, 1992; YAMAMOTO *et al.*, 1994), aglutinantes (GONGLOFF *et al.*, 1985; BELL & BEIRNE, 1988), membranas para reparação guiada (ALBERIUS *et al.*, 1992; SANDBERG *et al.*, 1993; ZELLIN *et al.*, 1995; ZELLIN & LINDE, 1997), fatores de crescimento (SPAMPATA *et al.*, 1992; ZELLIN & LINDE, 1997) e efeitos da irradiação na reparação (LORENTE *et al.*, 1992). Embora este modelo já esteja testado e estabelecido (GUTTU & LASKIN, 1989; AABOE *et al.*, 1995), foi destacado na literatura (HOLLINGER & KLEINSCHMIDT, 1990) que a pouca espessura da mandíbula do rato dificultaria a retenção do material enxertado e limitaria o número de células mesenquimais envolvidas no processo da reparação. Na pesquisa aqui desenvolvida, não foi notada dificuldade de retenção do enxerto, porém é suposto que em

pesquisas envolvendo partículas ou grânulos, a dificuldade seja manifesta (GONGLOFF *et al.*, 1985; BELL & BEIRNE, 1988; YAMAMOTO *et al.*, 1994). Substâncias aglutinantes ou técnicas de retenção têm sido desenvolvidas para sanar este problema (GONGLOFF *et al.*, 1985; BELL & BEIRNE, 1988). Tem sido ainda ressaltado que o menor número células no sítio receptor do enxerto confere maior destaque às capacidades de formação óssea do material a ser testado (THALLER *et al.*, 1994; AABOE *et al.*, 1995).

O enxerto deve permanecer estabilizado no leito receptor, caso contrário sua incorporação pode ficar comprometida (BURCHARDT, 1987). A estabilidade tem sido obtida através de fixação com fio (FRAME *et al.*, 1982), fixação por rede de titânio (COBB *et al.*, 1990), pressão sobre o leito receptor (ALBERIUS *et al.*, 1992; SAWAI *et al.*, 1996) e fixação interna rígida (SHIROTA *et al.*, 1995; SCHON *et al.*, 1997; SCHMELZEISEN & SCHON, 1998). Outros autores têm posicionado o enxerto no defeito, sem fixação ou estabilidade, como no caso dos enxertos granulados (GONÇALVES & MERZEL, 1976; KABAN & GLOWACKI, 1981; BELL & BEIRNE, 1988; LORENTE *et al.*, 1992; SPAMPATA *et al.*, 1992; YAMAMOTO *et al.*, 1994; REDONDO *et al.*, 1995; STENTZ *et al.*, 1997). No experimento aqui desenvolvido, o enxerto foi posicionado com pressão sobre o leito receptor, fato conferido pelo formato do enxerto e pela plasticidade do osso ilíaco, composto por grande quantidade de osso esponjoso.

Outros modelos têm sido utilizados na pesquisa de reparação óssea na região maxilo-facial, além daqueles envolvendo defeitos ósseos, entre eles enxerto colocado abaixo da mucosa (KABAN & GLOWACKI, 1984), sobre o periósteo (PETTIS *et al.*, 1990), abaixo do periósteo (PINHOLT *et al.*, 1991; PINHOLT *et al.*, 1992) e dentro do alvéolo dental (MERKX *et al.*, 1997). Entretanto, acreditamos que o modelo utilizado neste estudo foi o ideal com vistas ao estudo da integração do enxerto ilíaco na mandíbula.

Diferentes tipos de enxertos têm sido utilizados no estudo da reparação óssea, entre eles o alógeno (GONÇALVES & MERZEL, 1976; KABAN & GLOWACKI, 1981; KABAN & GLOWACKI, 1984; PETTIS *et al.*, 1990; LORENTE *et al.*, 1992; PINHOLT *et al.*, 1992; SPAMPATA *et al.*, 1992; STENTZ *et al.*, 1997), xenógeno (GONÇALVES & MERZEL, 1976; PINHOLT *et al.*, 1991; THALLER *et al.*, 1994; MERKX *et al.*, 1997), aloplásticos (GONGLOFF *et al.*, 1985; BELL & BEIRNE, 1988; COBB *et al.*, 1988; PETTIS *et al.*, 1990; YAMAMOTO *et al.*, 1994) e autógeno (FRAME *et al.*, 1982; WANGERIN *et al.*, 1986; COBB *et al.*, 1990; SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991; ALBERIUS *et al.*, 1992; REDONDO *et al.*, 1995; SHIROTA *et al.*, 1995; SAWAI *et al.*, 1996; MERKX *et al.*, 1997; REDONDO *et al.*, 1997; SCHON *et al.*, 1997; SCHMELZEISEN & SCHON, 1998). Apesar da diversidade de enxertos empregados, os melhores resultados pareceram ser encontrados quando da utilização de osso autógeno.

As regiões doadoras de enxertos autógenos foram o osso ilíaco (FRAME *et al.*, 1982; COBB *et al.*, 1990; SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991;

SHIROTA *et al.*, 1995; SAWAI *et al.*, 1996; MERKX *et al.*, 1997; SCHON *et al.*, 1997; SCHMELZEISEN & SCHON, 1998), mandíbula (ALBERIUS *et al.*, 1992; REDONDO *et al.*, 1995; REDONDO *et al.*, 1997), calota craniana (SULLIVAN & SZWAJKUN, 1991), fibula (ALBERIUS *et al.*, 1992) e costela (WANGERIN *et al.*, 1986). No rato, a crista íliaca forneceu osso suficiente para preencher o defeito ósseo de tamanho crítico na mandíbula, sendo bem aceito pelo animal e não produzindo lesões visíveis duradouras, desta forma foi similar ao procedimento equivalente em seres humanos (LAURIE *et al.*, 1984; CANADY *et al.*, 1993; BEIRNE *et al.*, 1996; KALK *et al.*, 1996; RUDMAN, 1997). Outra semelhança encontrada em humanos foi o tipo anatômico de osso, constituído em sua maior parte por osso esponjoso, o que facilitou sua adaptação e maior estabilidade na defeito mandibular.

O acompanhamento da evolução do enxerto por meio radiográfico é um método conveniente e adequado (LANE & SANDHU, 1987; GUTTU & LASKIN, 1989), sendo utilizado para detectar tecido mineralizado (PINHOLT *et al.*, 1992), acompanhar a reparação óssea (HJØRTING-HANSEN, 1970; FRAME *et al.*, 1982; ZELLIN & LINDE, 1997), identificar vasos após injeção de contraste (SCHMELZEISEN & SCHON, 1998) e avaliar a dispersão de partículas do enxerto (GONGLOFF *et al.*, 1985). O exame radiográfico foi descrito como ineficiente na aquisição de dados sobre enxerto ósseo em mandíbula de cão (HJØRTING-HANSEN, 1970), entretanto, como destacado pelo próprio autor, a metodologia de obtenção e utilização da radiografia deve ser levada em consideração, permitindo

adaptação do exame ao modelo experimental, obtendo assim maior número de informações. Deve-se destacar que o exame radiográfico é secundário ao histológico em modelos experimentais, porém em humanos, onde os princípios de ética não permitem a obtenção sistemática de biópsias, a radiografia presta valioso auxílio na avaliação da reparação óssea. Técnicas não invasivas têm sido desenvolvidas para estudo da reparação óssea em humanos (FEIFEL *et al.*, 1994; GULALDI *et al.*, 1998).

A análise do conteúdo mineral através da densitometria tem sido utilizada para acompanhar a reparação de defeitos ósseos, tanto em animais quanto em humanos (LANE & SANDHU, 1987; BODNER *et al.*, 1993a; BODNER *et al.*, 1993b; ELOVIC *et al.*, 1994; FEIFEL *et al.*, 1994; BROWN *et al.*, 1998). A densitometria pode ser realizada diretamente sobre o indivíduo ou peça em estudo com aparelho densitométrico (ELOVIC *et al.*, 1994) ou ainda a partir de película radiográfica, com auxílio de computador. Foi destacado que a obtenção de radiografias odontológicas convencionais e sua utilização em densitometria é método de avaliação fácil de realizar, confiável e útil (BODNER *et al.*, 1993a; STENTZ *et al.*, 1997). Contudo, foi citado que os tecidos moles ao redor do osso, ou ainda a própria medula óssea, podem alterar o valor dos resultados, quando da utilização de radiografias convencionais (FEIFEL *et al.*, 1994). Imagens obtidas por tomografia computadorizada, que separam o tecido mole do osso, permitiriam análise mais acurada da densidade (FEIFEL *et al.*, 1994). A cintilografia pode ser utilizada em pesquisas envolvendo

reparação óssea (GULALDI *et al.*, 1998). Nesta pesquisa, levando em consideração este fato, os tecidos moles da mandíbula foram praticamente removidos em todo da superfície óssea para evitar sua interferência na imagem radiográfica. Já a presença de medula óssea foi desconsiderada, pois na análise da densidade óptica o controle foi a hemi-mandíbula do lado oposto do próprio animal. Com objetivo de diminuir as possíveis diferenças entre as radiografias, foi utilizado método padronizado de processamento das películas radiográficas. A subtração de imagens a partir de duas radiografias, tomadas em tempos diferentes, é outro método de análise da densidade que tem sido utilizado para evidenciar a formação ou reabsorção óssea, principalmente em pesquisas envolvendo implantes (STENTZ *et al.*, 1997). Entretanto, este método não fornece valores numéricos, o que dificultaria a análise precisa e portanto sua utilização em avaliação científica.

Na análise das radiografias, a imagem encontrada foi condizente com os achados histológicos. O halo radiopaco, presente a partir da primeira semana na margem do defeito, está relacionado com a intensa proliferação óssea que ocorreu na cortical externa da mandíbula. O processo de reabsorção e remodelamento também foi denunciado pela diminuição progressiva da opacidade do enxerto e dificuldade na delimitação do enxerto no tempo final. Os valores da densitometria obtidos nesta pesquisa foram quantificáveis, tornando-os mais facilmente indicados para utilização em avaliação científica. Os valores da DO no enxerto sofreram

aumento gradativo com o tempo, o que pode ser interpretado como diminuição da radiopacidade local. Estes dados são explicados pela reabsorção e remodelamento ocorridos na região. A densidade óptica do lado experimental apresentou valores menores que o lado controle, indicando maior radiopacidade. Este fato é interpretado como a presença do enxerto na mandíbula, o que reduziu a DO. O teste estatístico de ANOVA, empregado para comparação entre o lado controle e experimental nos cinco diferentes tempos da avaliação, revelou diferenças significativas ao nível de 5%, confirmando que o lado experimental esteve mais radiopaco que o controle. Este mesmo teste, quando empregado na comparação dos cinco valores de DO dentro do grupo experimental revelou haver diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%, inferindo haver redução gradual da radiopacidade. Os resultados da análise estatística sobre os valores da densitometria são condizentes e confirmam os achados histológicos e radiográficos, confirmando a diminuição do conteúdo mineral no local do enxerto com o passar do tempo.

7- CONCLUSÕES

Através deste estudo sobre enxerto de osso ilíaco em defeito crítico na mandíbula de rato, foi concluído que:

- 1- O modelo experimental aqui testado provou ser adequado e valioso no estudo do enxerto autógeno para reconstrução de defeito mandibular.
- 2- O ilíaco foi um bom sítio doador, fornecendo osso em quantidade suficiente, sem causar complicações graves ou permanentes ao animal.
- 3- O enxerto do osso ilíaco reparou o defeito ósseo crítico mandibular.
- 4- Inicialmente foi notada necrose e inflamação aguda no enxerto, seguida de intensa proliferação óssea subperiosteal na mandíbula e na medula do enxerto. Por fim houve remodelamento da região, que se apresentou semelhante à mandíbula normal.
- 5- Houve diminuição da radiopacidade no local do defeito ao longo do experimento. Este fato foi confirmado pela análise densitométrica. A avaliação estatística dos valores de densidade óptica mostrou diferenças significativas entre o lado controle e o experimental.
- 6- A análise densitométrica óptica foi condizente com os achados histológicos e radiográficos, mostrando-se valiosa no estudo da reparação óssea.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AABOE, M.; PINHOLT, E.M.; HJØRTING-HANSEN, E. Healing of experimentally created defects: a review. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 33, n. 5, p. 312-318, 1995.
- ALBERIUS, P.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Role of osteopromotion in experimental bone grafting to the skull: A study in adult rats using a membrane technique. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 50, n. 8, p. 829-834, 1992.
- BEIRNE, J.C.; BARRY, H.J.; BRADY, F.A.; MORRIS, V.B. Donor site morbidity of the anterior iliac crest following cancellous bone harvest. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 25, n. 4, p. 268-271, 1996.
- BELL, R.; BEIRNE, O.R. Effect of hydroxylapatite, tricalcium phosphate, and collagen on the healing of defects in the rat mandible. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 46, n. 7, p. 589-594, 1988.
- BERNARD, G.B. Healing and repair of osseous defects. **Dent. Clin. North Am.**, v. 35, n. 3, p. 469-477, 1991.
- BODNER, L.; KAFFE, I.; LITTNER, M.M. Extraction site healing in rats. A radiologic densitometric study. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 75, n. 3, p. 367-372, 1993a.

- BODNER, L.; KAFFE, I.; COHEN, Z.; DAYAN, D. Long-term effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. **Dentomaxillofac. Radiol.**, v. 22, n. 4, p. 195-198, 1993b.
- BROWN, G.D.; MEALEY, B.L.; NUMMIKOSKI, P.V.; BIFANO, S.L.; WALDROP, T.C. Hydroxyapatite cement implant for regeneration of periodontal osseous defects in humans. **J. Periodontol.**, v. 69, n. 2, p. 146-157, 1998.
- BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. **Orthop. Clin. North Am.**, v. 18, n. 2, p. 187-196, 1987.
- CANADY, J.W.; ZEITLER, D.P.; THOMPSON, S.A.; NICHOLAS, C.D. Suitability of the iliac crest as a site for harvest of autogenous bone graft. **Cleft Palate-Craniofac. J.**, v. 30, n. 6, p. 579-581, 1993.
- CHEN, Y.B.; CHEN, H.C.; HAHN, L.H. Major mandibular reconstruction with vascularized bone grafts: indications and selection of donor tissue. **Microsurgery**, v. 15, n. 4, p. 227-237, 1994.
- COBB, C.M.; EICK, J.D.; BARKER, B.F.; MOSBY, E.L.; HIATT, W.R. Restoration of mandibular continuity defects using combinations of hydroxylapatite and autogenous bone: Microscopic observations. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 48, n. 3, p. 268-275, 1990.
- CORMACK, D.H. **Ham's histology**. 9^o ed., Philadelphia, J.B. Lippincott Company. 1987. P. 273-323.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Pathologic basis of disease**. 5^o ed., Philadelphia, W.B. Saunders. 1994. P. 1213-1219.

- ELOVIC, R.P.; HIPPI, J.A.; HAYES, W.C. Maxillary molar extraction decrease stiffness of the mandible in ovariectomized rats. **J. Dent. Res.**, v. 73, n. 11, p. 1735-1741, 1994.
- FEIFEL, H.; RIEDIGER, D.; WEISKE, R. Measurement of mandibular bone density after iliac crest grafting. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 23, n. 2, p. 104-109, 1994.
- FRAME, J.W.; BROWNE, R.M.; BRADY, C.L. Biologic basis for interpositional autogenous bone grafts to the mandible. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 40, n. 7, p. 407-411, 1982.
- GONÇALVES, R.J.; MERZEL, J. Homogenous and heterogenous bone implants preserved by formaldehyde: a histologic study. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 93, n. 6, p. 1165-1169, 1976.
- GONGLOFF, R.K.; WHITLOW, W.; MONTGOMERY, C.K. Use of collagen tubes for implantation of hydroxylapatite: An experimental study. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 43, n. 8, p. 570-573, 1985.
- GULALDI, N.C.M.; SHAHLAFAR, J.; MAKHSOOSI, M.; CANER, B.; ARAZ, K.; ERBENGI, G. Scintigraphic evaluation of healing response after heterograft usage for alveolar extraction cavity. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 85, n. 5, p. 520-525, 1998.
- GUTTU, R.L.; LASKIN, D.M. Animal research models in oral and maxillofacial surgery. In: Gay, W.I. (ed) **Methods of animal experimentations**, vol. 7, parte C, San Diego, Academic Press, 1989. P. 1-33.

- HJØRTING-HANSEN, E. **Studies on implantation of anorganic bone in cystic jaw lesions**. Copenhagen, Munksgaard, 1970. P. 105-134.
- HOLLINGER, J.O.; KLEINSCHMIDT, J.C. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. **J. Craniofac. Surg.**, v. 1, n. 1, p. 60-68, 1990.
- KABAN, L.B.; GLOWACKI, J. Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats. **J. Dent. Res.**, v. 60, n. 7, p. 1356-1364, 1981.
- KABAN, L.B.; GLOWACKI, J. Augmentation of rat mandibular ridge with demineralized bone implants. **J. Dent. Res.**, v. 63, n. 7, p. 998-1002, 1984.
- KALK, W.W.I.; RAGHOEBAR, G.M.; JANSMA, J.; BOERING, G. Morbidity from iliac crest bone harvesting. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 54, n. 12, 1424-1429, 1996.
- LANE, J.M.; SANDHU, H.S. Current approaches to experimental bone grafting. **Orthop. Clin. North Am.**, v. 18, n. 2, p. 213-225, 1997.
- LAURIE, S.W.S.; KABAN, L.B.; MULLIKEN, J.B.; MURRAY, J.E. Donor site morbidity after harvesting rib and iliac bone. **Plast. Rec. Surg.**, v. 73, n. 6, p. 933-938, 1984.
- LORENTE, C.A.; SONG, B.Z.; DONOFF, R.B. Healing of bone defects in the irradiated and unirradiated rat mandible. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 50, n. 12, p. 1305-1309, 1992.

- MERKX, M.A.W.; MALTHA, J.C.; Van't HOFF, M.; KUIJPERS-JAGTAM, A.M.; FREIHOFER, H.P.M. Tooth eruption through autogenous and xenogenous bone transplants: a histological and radiographic evaluation in the beagle dogs. **J. Cranio-Maxillofac. Surg.**, v. 25, n. 4, p. 212-219, 1997.
- MILLES, W.; ENISLIDIS, G.; LINDNER, A.; SCHOBEL, G.; EWERS, R.; DRACH, J.; RATH, T. Solitary plasmocytoma of the mandible – a combined approach for treatment and reconstruction. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 26, n. 4, p. 295-298, 1997.
- PETTIS, G.Y.; KABAN, L.B.; GLOWACKI, J. Tissue response to composite ceramic hydroxyapatite/demineralized bone implants. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 48, n. 10, p. 1068-1074, 1990.
- PINHOLT, E.M.; BANG, G.; HAANAES, H.R. Alveolar ridge augmentation in rats Bio-Oss. **Scan. J. Dent. Res.**, v. 99, n. 2, p. 156-161, 1991.
- PINHOLT, E.M.; HAANAES, H.R.; ROERVIK, M.; DONATH, K; BANG, G. Alveolar ridge augmentation by osteoconductive materials in goats. **Scan. J. Dent. Res.**, v. 100, n. 6, p. 361-365, 1992.
- POGREL, M.A.; PODLESH, S.; ANTHONY, J.P.; ALEXANDER, J. A comparison of vascularized and nonvascularized bone grafts for reconstruction of mandibular continuity defects. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 55, n. 11, p. 1200-1206, 1997.
- REDONDO, L.M.; CANTERA, J.M.G.; HERNÁNDEZ, A.V.; PUERTA, C.V. Effect of particulate porous hydroxyapatite on osteoinduction of

- demineralized bone autografts in experimental reconstruction of the rat mandible. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 24, n. 6, p. 445-448, 1995.
- REDONDO, L.M.; HERNADEZ, A.V.; CANTERA, J.M.G.; NIETO, M.A.T.; PUERTA, C.V. Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralized, frozen and fresh bone. **Brit. J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 35, n. 3, p. 166-169, 1997.
- RUDMAN, R.A. Prospective evaluation of morbidity associated with iliac crest harvest for alveolar cleft grafting. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 55, n. 3, p. 219-223, 1997.
- SANDBERG, E.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 51, n. 10, p. 1106-1114, 1993.
- SAWAI, T.; NIIMI, A.; TAKAHASHI, H.; UEDA, M. Histologic study of the effect of hyperbaric oxygen therapy on autogenous free bone grafts. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 54, n. 8, p. 975-981, 1996.
- SCHMELZEISEN, R.; SCHON, R. Microvascular reanastomosed allogeneous iliac crest transplants for the reconstruction of bony defects of the mandible in miniature pigs. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 27, n. 5, p. 377-385, 1998.
- SCHON, R.; SCHMELZEISEN, R.; SHIROTA, T.; OHNO, K.; MICHI, K. Tissue reaction around miniplates used for the fixation of vascularized

- iliac crest bone grafts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 83, n. 4, p. 433-440, 1997.
- SHIROTA, T.; SCHMELZEISEN, R.; OHNO, K.; MICHI, K. Experimental reconstruction of mandibular defects with vascularized iliac bone grafts. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 53, n. 5, p. 566-571, 1995.
- SI, X.H.; JIN, Y.; YANG, L.J.; TIPOE, G.L.; WHITE, F.H. Expression of BMP-2 and TGF- β 1 mRNA during healing of the rabbit mandible. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 105, n. 4, p. 325-330, 1997.
- 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.**, v. 50, n. 2, p. 140-151, 1992.
- SPOLIDÓRIO, L.C. Aspectos morfológicos e estereométricos do aumento gengival induzido pela ciclosporina. Piracicaba, 1996 (Tese de Doutorado - FOP-UNICAMP).
- STELLINGSMA, C.; RAGHOEBAR, G.M.; MELJAR, H.J.A.; BATENBURG, R.H.K. Reconstruction of extremely resorbed mandible with interposed bone grafts and placement of endosseous implants. A preliminary report on outcome and patient's satisfaction. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 36, n. 4, p. 290-295, 1998.
- STENTZ, W.C.; MEALEY, B.L.; NUMMIKOSKI, P.V.; GUNSOLLEY, J.C.; WALDROP, T.C. Effects of guided bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental

- implants. I. Radiographic analysis. **J. Periodontol.** v. 68, n. 3, p. 199-208, 1997.
- SULLIVAN, W.G.; SZWAJKUN, P.R. Revascularization of cranial versus iliac bone grafts in the rat. **Plast. Rec. Surg.**, v. 87, n. 6, p. 1105-1109, 1991.
- SZACHOWICZ, E.H. Facial bone wound healing. An overview. **Otolaryngol. Clin. North Am.** , v. 28, n. 5, p. 865-880, 1995.
- TEIXEIRA, A.C.B.; LUZ, J.G.C.; ARAÚJO, V.C.; ARAÚJO, N.S. Healing of the displaced condylar process fracture: an experimental study. **J. Cranio-maxillofac. Surg.**, v. 26, n. 5, p. 326-330, 1998.
- THALLER, S.R.; HOUT, J.; DART, A.; BORJESON, K.; TESLUK, H. Repair of experimental calvarial defects with Bio-Oss particles and collagen sponges in a rabbit model. **J. Craniofac. Surg.**, v. 5, n. 4, p. 242-246, 1994.
- VILJANEN, V.V.; GAO, T.J.; LINDHOLM, T.C.; LINDHOLM, T.S.; KOMMONEN, B. Xenogeneic moose (*Alces alces*) bone morphogenetic protein (mBMP)-induced repair of critical-size skull defects in sheep. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 25, n. 3 , p. 217-222, 1996.
- WANGERIN, K.; EWERS, R.; WOTTGE, H.; RANDZIO, G. The autoclaved autogenous bone graft as a re-implant. Results of animal experiments. **J. Max-Fac. Surg.**, v. 14, n. 3, p. 132-137, 1986.
- YAMAMOTO, M.K.; LUZ, J.G.C.; ARAÚJO, V.C. Resposta tecidual óssea frente à hidroxiapatita granular implantada em defeitos criados na

mandíbula de ratos. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v. 8, n. 4, p. 281-286, 1994.

ZELLIN, G.; GRITLI-LINDE, A.; LINDE, A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. **Biomaterials**, v. 16, n. 8, p. 601-609, 1995.

ZELLIN, G.; LINDE, A. Importance of delivery systems for growth-stimulatory factors in combination with osteopromotive membranes. An experimental study using rhBMP-2 in rat mandibular defects. **J. Biomed. Mat. Res.**, v. 35, n. 2, p. 181-190, 1997.

ANEXOS

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As amostras mostraram estar distribuídas normalmente. Nos testes de análise de variância entre os grupos experimental e controle e entre os cinco tempos dentro do grupo experimental, foi aplicado o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade o programa de análise estatística da variância das amostras. Os resultados mostraram que todas elas eram homogêneas, com 95% de confiança, permitindo assim o uso seguro do teste estatístico ANOVA.

Tabela 3. Resultados da análise de variância entre grupo controle e experimental.

<i>Grupo</i>	<i>Graus de liberdade</i>	<i>Valor de F</i>	<i>Valor de P</i>
Um dia	9	25,203	0,0010
Uma semana	9	6,117	0,0385
Duas semanas	9	11,395	0,0097
Um mês	9	19,753	0,0021
Três meses	9	10,747	0,0112

Resultados da análise de variância entre os cinco tempos do grupo experimental.

<i>Grupo</i>	<i>Graus de liberdade</i>	<i>Valor de F</i>	<i>Valor de P</i>
Experimental	24	8,244	0,0004

BIBLIOGRAFIA UTILIZADA NA LISTA DE SIGLAS E TERMOS

DORLAND, I.; NEWMAN, W.A. **Dorland's illustrated medical dictionary.**

28° ed., Philadelphia, WB Saunders Company. 1994.

HOM, D.B. Growth factors in wound healing. **Otolaryngol. Clin. North**

Am., v. 28, n. 5, p. 933-955, 1995.