

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMPLANTODONTIA**

**GUILHERME PAES DE BARROS CARRILHO**

**ESTUDO COMPARATIVO DA REPARAÇÃO DE ENXERTOS  
AUTÓGENOS E ALÓGENOS FRESCOS EM CRISTA ILÍACA DE  
COELHOS**

**SÃO PAULO**

**2009**

**GUILHERME PAES DE BARROS CARRILHO**

**ESTUDO COMPARATIVO DA REPARAÇÃO DE ENXERTOS  
AUTÓGENOS E ALÓGENOS FRESCOS EM CRISTA ILÍACA DE  
COELHOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Implantodontia, sob orientação do Prof. Dr. Ilan Weinfeld.

**São Paulo  
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA

GUILHERME PAES DE BARROS CARRILHO

Título: Estudo comparativo da reparação de enxertos autógenos e alógenos frescos em crista ilíaca de coelhos.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Implantodontia, sob orientação do Prof. Dr. Ilan Weinfeld.

Aos meus pais **Flair** e **Lais** e à minha irmã **Maíra**, por tudo que sou. Pelo amor, companheirismo, proteção e ensinamentos.

À minha amada companheira **Isa Maria Leme**, por todo o carinho, respeito e, sobretudo pelo amor que existe entre nós.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação profissional e me apóiam ao longo de minha carreira.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador **Prof. Dr. Ilan Weinfeld**, pelo incentivo e confiança concedidos durante a orientação deste estudo.

A todos os **colegas do mestrado**, pelo companheirismo durante o curso e crescimento mútuo.

Ao **corpo docente do curso**, em especial ao **Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk**, pelos ensinamentos e dedicação.

Aos professores **Dr. Waldyr Romão** e **Dr. Paulo José Bordini** pela gentileza e valiosas sugestões durante o exame de qualificação.

Ao **Ms. Augusto Ubirajara Santos** e a todos do **Banco de Tecidos Musculoesquelético do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas** que contribuíram na coleta e processamento dos enxertos alógenos.

Aos funcionários do **Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo**, em especial à **Clarice Pires Abrantes Lemos**, pela ajuda durante o uso das dependências do **Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical**, onde os aloenxertos foram criopreservados.

Ao **Laboratório de Análises Clínicas BIESP do Hospital Oswaldo Cruz**, pela realização das análises microbiológicas.

Aos **Profs. Dr. Luís Ronaldo Picosse** e **Dr. Renato Paulo Chopard** do Laboratório de Tecidos Mineralizados do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

À **Conexão Sistema de Próteses** pelo fornecimento do material primário utilizado nesta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Sérgio Luís Scombatti de Souza**, pela amizade e contribuição durante a elaboração deste estudo.

Ao **Prof. Dr. Arthur Belém Novaes Júnior**, pelos momentos de crescimento intelectual durante minha formação profissional e concessão ao uso das dependências do Laboratório de Microscopia e Análise de Imagens do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

À amiga **Adriana Luisa Gonçalves Almeida** pela ajuda e orientação durante à captação de imagens histológicas e análises histométrica e de microscopia de fluorescência.

Aos amigos **Cristiane Polo, Isabela Bezerril, Luiz Fernando Simões de Oliveira Costa, Fernando Pimentel Sartori e Vivian Massaroto** pelo apoio indispensável durante os procedimentos experimentais.

A todos **os funcionários do biotério** da UNISA.

À **Profa. Dra. Andréa Barbosa** pela ajuda e orientação durante os procedimentos experimentais do estudo.

E a **todos** aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho e que, involuntariamente não foram citados, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O uso de enxertos alógenos tem aumentado gradualmente na implantodontia. Entretanto, ainda existe a necessidade de uma melhor compreensão da biologia envolvida no reparo deste e sua implicação na osseointegração. O presente estudo tem como objetivos comparar a dinâmica e a formação óssea de enxertos em bloco tipo *onlay* alógenos e autógenos. Foram selecionados 13 coelhos fêmeas da raça New Zealand, sendo três usados para captação e processamento do material alógeno. Cada um dos 10 coelhos recebeu em um dos ilíacos, dois enxertos, um autógeno de ilíaco e um alógeno com 5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, fixados na região receptora por parafusos de osteossíntese. Durante um período de 18 semanas a partir do procedimento de enxertia, fluorocromos foram administrados conforme o seguinte protocolo: 14º dia alizarina (AL), após seis semanas calceína azul (CA), após 10 semanas calceína verde (CV) e após 14 semanas oxitetraciclina HCl (OT). Após 18 semanas, os animais foram submetidos à eutanásia para remoção dos blocos e processamento histológico segundo a técnica de Donath e Breuner (1982). Os parâmetros avaliados na análise histomorfométrica foram: (a) densidade óssea (DO) na região do enxerto e (b) contato osso com o parafuso de enxertia (COI). A incorporação de cada fluorocromo foi quantificada, valendo-se de um microscópio de fluorescência. Os enxertos autógenos apresentaram os seguintes valores de fluorescência  $0,24 \pm 0,41\%$  (AL),  $3,76 \pm 0,93\%$  (CA),  $3,24 \pm 0,89\%$  (CV) e  $1,25 \pm 1,21\%$  (OT). Os valores para os enxertos alógenos foram:  $0,24 \pm 0,45\%$  (AL),  $3,80 \pm 1,12\%$  (CA),  $3,21 \pm 1,71\%$  (CV) e  $1,25 \pm 0,75\%$  (OT). A análise de densidade óssea para os enxertos autógenos foi de  $55,90 \pm 7,00\%$  e  $44,72 \pm 6,53\%$  para os alógenos. Os resultados do COI foram  $47,04 \pm 15,85\%$  para enxerto autógeno e  $44,55 \pm 13,71\%$  enxerto alógeno. Verificou-se que os enxertos alógenos e autógenos apresentam menor atividade osteogênica no período inicial de reparação e que apesar dos enxertos alógenos terem apresentado resultados de COI e de incorporação dos diferentes fluorocromos semelhantes ao enxerto autógeno, na análise de DO houve diferença estatística, mostrando-se inferior.

Palavras-chave: Transplante homólogo. Transplante autólogo. Sobrevivência de enxerto. Regeneração óssea.

## ABSTRACT

The use of allografts as bone substitutes has increased in implant dentistry. However, the understanding of its biology during repair and its effect on osseointegration still lacks scientific evidence. The aim of this study was to compare the bone healing dynamics of onlay allografts and autografts. Thirteen New Zealand female rabbits were used in this study, being three selected as bone donors for allograft harvesting and processing. Ten rabbits were submitted to two onlay grafts (5 mm diameter by 2 mm width) fixed by osteosynthesis screws at the iliac crest, one autograft and one allograft. Over the following 18 weeks, intravital staining with four different fluorochromes was performed as follows: alizarin red complexone (AL) at 2 weeks, calcein blue (CB) at 6 weeks, calcein (CA) at 10 weeks and oxytetracycline HCl (OT) at 14 weeks. After 18 weeks of follow-up the bone blocks were trephined and the animals sacrificed. Specimens were prepared for sectioning. Fluorescence microscopy allowed quantification of each fluorochrome. After fluorescence analysis, sections were stained for histometric evaluation. Bone density (BD) and bone to fixation screw contact (COI) were analyzed. Autografts presented the following results for fluorochrome labeling:  $0.24 \pm 0.41\%$  (AL),  $3.76 \pm 0.93\%$  (CB),  $3.24 \pm 0.89\%$  (CA) and  $1.25 \pm 1.21\%$  (OT). The results for allografts were:  $0.24 \pm 0.45\%$  (AL),  $3.80 \pm 1.12\%$  (CB),  $3.21 \pm 1.71\%$  (CA) and  $1.25 \pm 0.75\%$  (OT). Bone density was  $55.90 \pm 7.00\%$  and  $44.72 \pm 6.53\%$  for autografts and allografts, respectively. COI was  $47.04 \pm 15.85\%$  for autografts and  $44.55 \pm 13.71\%$  for allografts. Allografts and autografts showed slower osteogenic activity at the initial healing stages. Although allografts and autografts presented similar COI and fluorochrome incorporation values, allograft BD was statistically poorer.

Keywords: Homologous transplantation. Autologous transplantation. Graft survival. Bone regeneration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 - Dorso do coelho tricotomizado na região de acesso à crista íliaca.....	42
Ilustração 2 - Confeção dos blocos com trefina em baixa rotação ósseos para processamento de banco de osso.....	43
Ilustração 3 - Momento do processamento dos tecidos removidos para banco de osso.....	44
Ilustração 4 - Colocação de campos estéreis sobre dorso do coelho após antissepsia.....	45
Ilustração 5 - Incisão do plano cutâneo para acesso ao osso íliaco...47	
Ilustração 6 - Exposição do osso íliaco por incisão dos planos cutâneo e muscular.....	47
Ilustração 7 - Visualização da área doadora e dos enxertos autógeno e alógeno fixados por parafusos de osteossíntese.....	48
Ilustração 8 - Sutura do plano muscular com fio absorvível 5-0.....	48
Ilustração 9 - Sutura do plano cutâneo com fio de náilon 5-0.....	49
Ilustração 10 - Exposição dos enxertos para a remoção com trefina, após o período de 18 semanas.....	50
Ilustração 11 – Enxerto removido por trefina incluído em resina.....	51
Ilustração 12 – Sistema para seccionamento dos blocos em resina (Exakt 300 <sup>1</sup> ).....	52
Ilustração 13 – Seccionamento do enxerto em resina (Exakt 300 <sup>2</sup> )...52	
Ilustração 14 – Equipamento utilizado para análise microscópica no Laboratório de Microscopia e Análise de Imagens do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.....	53

---

<sup>1</sup> Exakt Apparatebau GmbH&Co., Norderstedt - Alemanha

<sup>2</sup> Exakt Apparatebau GmbH&Co., Norderstedt - Alemanha

Ilustração 15 – Área delimitada para a quantificação dos diferentes fluorocromos A – Alizarina, B – Calceína Azul, C – Calceína verde e D - Oxitetraciclina (magnificação de 2,5x).....	54
Ilustração 16 – Fotomicrografia da localização do campo (retângulo delimitado) a ser analisado para variável densidade óssea (magnificação de 2,5x, coloração de <i>Stevenel's Blue</i> e <i>Alizarin red S</i> ).....	56
Ilustração 17 – Fotomicrografia do campo a ser analisado para variável COI (magnificação de 10x, coloração de <i>Stevenel's Blue</i> e <i>Alizarin red S</i> ).....	57
Ilustração 18 – Prevalência de recobrimento do parafuso de fixação por osso nos grupos (%).....	59
Ilustração 19 – Impregnação do tecido ósseo neoformado em 14 dias por alizarina (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).....	61
Ilustração 20 – Impregnação do tecido ósseo neoformado em 42 dias por calceína azul (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).....	62
Ilustração 21 – Impregnação do tecido ósseo neoformado em 70 dias por calceína verde (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).....	62
Ilustração 22 - Impregnação do tecido ósseo neoformado em 98 dias por oxitetraciclina (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).....	63
Ilustração 23 – Microscopia de fluorescência com marcação múltipla. Setas pretas, vermelhas e azuis indicam impregnação por calceína verde, oxitetraciclina e calceína azul, respectivamente (magnificação de 2,5x).....	63
Ilustração 24 – Porcentagem de neoformação óssea por tipo de enxerto (%).....	64
Ilustração 25 - Valores médios das variáveis COI e densidade óssea em cada grupo (%).....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Motivo de perda dos coelhos durante o experimento.....	59
Tabela 2 - Porcentagem do tecido mineralizado que apresentou fluorescência para os diferentes fluorocromos (%).....	60
Tabela 3 - Valores de média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo dos fluorocromos nos grupos.....	64
Tabela 4 - Resultados do teste de <i>Shapiro-Wilk</i> quanto à normalidade dos grupos ( $p < 0,05$ ).....	65
Tabela 5 - Comparação da incorporação dos fluorocromos entre grupos (enxertos autógenos e alógenos).....	65
Tabela 6 - Comparação da incorporação dos diferentes fluorocromos (teste de <i>Friedman</i> ).....	66
Tabela 7 - Comparação múltipla dos fluorocromos para os enxertos autógenos ( $p < 0,05$ ).....	66
Tabela 8 – Comparação múltipla dos fluorocromos para os enxertos alógenos ( $p < 0,05$ ).....	66
Tabela 9 – Valores de média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo das variáveis COI e densidade óssea em cada grupo.....	67
Tabela 10 – Verificação da normalidade dos resultados do COI e densidade óssea pelo teste de <i>Shapiro-Wilk</i> ( $p < 0,05$ ).....	68
Tabela 11 - Comparação das variáveis COI e densidade óssea entre os enxertos autógenos e alógenos (teste de <i>T-student</i> com significância a 5%).....	69

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1 Histofisiologia do tecido ósseo.....	15
2.1.1 Desenvolvimento do tecido ósseo.....	15
2.1.2 Matriz óssea.....	16
2.1.3 Células ósseas.....	17
2.2 Biologia da enxertia óssea.....	18
2.3 Enxertos autógenos.....	23
2.4 Enxertos alógenos.....	30
2.5 Fluorocromos.....	39
<b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1 Captação, processamento e armazenamento do osso alógeno.....	41
4.2 Procedimento cirúrgico.....	44
4.3 Administração dos marcadores ósseos.....	49
4.4 Eutanásia.....	50
4.5 Preparo das lâminas.....	50
4.6 Microscopia.....	53
4.6.1 Análise de fluorescência.....	53
4.6.2 Análise histométrica.....	55
4.7 Análise estatística.....	57
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>59</b>
5.1 Resultados macroscópicos.....	59
5.2 Resultados da análise de fluorescência.....	60
5.3 Resultados da análise histométrica.....	67
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>94</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os princípios de osseointegração definidos por Bränemark na década de 1960 (ALBREKTSSON et al., 1981; BRANEMARK et al., 1969; BRANEMARK et al., 1980) abriram novas possibilidades de reabilitação de pacientes desdentados totais. Posteriormente, com a comprovação da estabilidade da união dos implantes osseointegráveis ao osso e com o reconhecimento do potencial da técnica e seus resultados em longo prazo, passou-se a ampliar as suas indicações e a exigir maiores cuidados com os aspectos estéticos e biomecânicos.

A perda do elemento dental, principalmente quando associada a problemas periodontais, lesões endodônticas, lesões traumáticas e extrações produz, muitas vezes, reabsorções e/ou remodelações no rebordo ósseo alveolar, gerando defeitos de contorno irreversíveis e que podem, por sua vez impossibilitar ou dificultar a instalação de implantes na posição ideal.

Frente a esta situação, várias técnicas de reconstrução óssea, entre elas, a Regeneração Óssea Guiada (ROG), o enxerto ósseo autógeno em bloco, enxerto interposicional e distração osteogênica, foram desenvolvidas com a finalidade de possibilitar a instalação de implantes em locais que anteriormente não seriam viáveis.

Dentre as várias possibilidades o uso de enxertos ósseos autógenos com implantes osseointegráveis é considerado hoje um procedimento bem aceito na reabilitação oral e maxilofacial. Esta técnica pode ser considerada “padrão ouro”, devido à ausência de reação antigênica (MOY, LUNDGREN, HOLMES, 1993) e pelas suas características osteogênicas, osteoindutoras e osteocondutoras (GARG et al., 1998; SCHALLHORN, HIATT, BOYCE, 1970). Apesar do comprovado sucesso desse tipo de enxerto, a técnica envolve maior morbidade, limitação de material de enxertia, período de convalescença mais longo e maior suscetibilidade a infecções face à existência de uma segunda área cirúrgica, logo, muitos pacientes não aceitam o tratamento, principalmente por se tratar de procedimento eletivo.

Com o intuito de se diminuir os vieses dos procedimentos de enxertia autógena, tal como aumentar a aceitação do tratamento pelos pacientes, vários materiais, denominados substitutos ósseos, vêm sendo desenvolvidos. Todavia,

atualmente, nenhum substituto ósseo possui as mesmas características osteocondutoras (capacidade de orientar a proliferação celular), osteoindutoras, (promoção da diferenciação de células em osteoblastos) e osteogênicas (presença de células formadoras de osso).

Os enxertos ósseos alógenos frescos e congelados, obtidos de indivíduo da mesma espécie com carga genética distinta, podem ser uma alternativa ao autógeno e vêm sendo utilizados com sucesso. Entretanto, as técnicas de preparo e armazenamento do osso alógeno podem modificar a velocidade e tipo de incorporação do mesmo ao leito receptor, viabilizando ou não o material como alternativa ao osso autógeno. O processo de liofilização, um dos meios empregados para desidratação na produção de substitutos ósseos, reduz o potencial osteoindutor do material em 50% (DZIEDZIC-GOCLAWSKA et al., 1991) e aparentemente modifica a absorção do material por osteoclastos (BECKER et al., 1996). Já o processo de desmineralização, que visa a exposição de proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), melhorando a incorporação do enxerto por osteoindução, é uma técnica muito sensível e dependente do tipo de preparo (BOYAN et al., 2006; SCHWARTZ et al., 1998).

A grande variedade de resultados clínicos devido a distintos protocolos de captação, preparo e armazenamento dos tecidos alógenos e a necessidade de um maior entendimento da incorporação dos mesmos com o leito receptor, nos motivou a estudar a dinâmica do processo reparador dos enxertos alógenos e compará-los ao autógeno.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Histofisiologia do tecido ósseo

É impossível dissociar o conhecimento dos substitutos ósseos do tecido em que serão utilizados. Assim, julgamos fundamental apresentar, de início, noções sobre a histofisiologia deste tecido.

#### 2.1.1 Desenvolvimento do tecido ósseo

O desenvolvimento embrionário do osso é um processo altamente regulado, que pode ocorrer de duas formas distintas: intramembranoso ou endocondral. Durante a ossificação intramembranosa, células mesenquimais progenitoras migram para áreas vascularizadas ricas em colágeno e se agrupam. Entre essas estruturas, que se assemelham aos elementos esqueléticos futuros, há células que se diferenciam em osteoblastos, que produzem uma matriz rica em colágeno, subseqüentemente mineralizada, formando osso imaturo. A identificação de células osteoblásticas pode ser realizada pela expressão de fatores de transcrição *Cbfa1* e *osterix* (GRUBER, 2004). O osso imaturo é primeiramente formado como uma rede trabecular, que fornece um arcabouço para o preenchimento com osso lamelar, maduro. A maior parte dos ossos do crânio se forma através deste processo (ZIPFEL, GUIOT, FESSLER, 2003). A ossificação intramembranosa é também encontrada durante os estágios iniciais do reparo de fraturas e da osseointegração de implantes odontológicos.

A maioria dos outros ossos se desenvolvem através da ossificação endocondral, quando um agrupamento de células mesenquimais se diferenciam em células de linhagem condrogênica. A identificação desse tipo de célula pode ser feita pela expressão do fator de transcrição *Sox-9* (GRUBER, 2004). Após a sua diferenciação, os então condrócitos hipertróficos expressam principalmente colágeno

tipo X e podem também produzir uma matriz mineralizada. Adjacente a esses condrócitos hipertróficos, células mesenquimais indiferenciadas do pericôndrio se diferenciam em osteoblastos, que produzem uma faixa mineralizada ao redor da matriz cartilaginosa. Essa faixa mineralizada reduz o fornecimento de nutrientes e, como resultado da baixa tensão de oxigênio, favorece a expressão de moléculas angiogênicas, tais como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) pelos condrócitos hipertróficos (ZIPFEL, GUIOT, FESSLER, 2003). Como resultado, capilares sangüíneos penetram a faixa mineralizada, fornecendo células pré-osteoblásticas e pré-osteoclásticas, que se diferenciam e substituem a matriz cartilaginosa por matriz mineralizada.

Após a formação do osso através desses dois tipos de ossificação, segue o processo de remodelação óssea, que consiste na substituição desse osso primário formado por osso lamelar, ou maduro (ZIPFEL, GUIOT, FESSLER, 2003). Em vários sítios do osso primário ocorre a reabsorção óssea por osteoclastos, formando cavidades. Com a progressão desse processo de reabsorção, desenvolvem-se cavidades longas cilíndricas com vasos sangüíneos e medula óssea embrionária. Eventualmente, a reabsorção cessa e a atividade osteoblástica se inicia. Os osteoblastos produzem lamelas ósseas concêntricas nas paredes da cavidade, gerando um típico osteon. Esse processo de remodelação continua durante a vida, permitindo que o organismo realize suas funções esqueléticas e metabólicas normais, tal como a adaptação óssea a diferentes condições mecânicas (GRUBER, 2004; SHEEHAN et al., 1996).

### 2.1.2 Matriz óssea

A matriz óssea pode ser dividida em dois componentes: orgânico e inorgânico. A composição e conformação estrutural dos seus constituintes são necessários para conferir as propriedades mecânicas peculiares do tecido ósseo. O componente inorgânico consiste principalmente de hidroxiapatita, cujos cristais são orientados ao redor das fibrilas de colágeno no osteóide se mineralizando. Colágeno é a principal proteína estrutural do esqueleto e compõe aproximadamente 90% a 95% da matriz orgânica, sendo o tipo I o mais importante. O colágeno tipo I é

composto por três hélices, sendo duas cadeias  $\alpha_1$  e uma  $\alpha_2$ , que se entrelaçam e são estabilizadas por ligações entre seus aminoácidos lisina (GRUBER, 2004).

A maior parte das proteínas não-colágenas da matriz é constituída por proteoglicanas e glicoproteínas. Algumas proteoglicanas podem se ligar ao colágeno tipo I e fatores de crescimento tais como fator de transformação de crescimento  $\beta$  (TGF $\beta$ ), e supostamente estão relacionadas com a regulação da formação das fibras colágenas. Algumas glicoproteínas parecem ser reguladoras negativas da mineralização dos tecidos. Contudo, o exato papel das proteínas não-colágenas da matriz óssea ainda não é bem entendido (GRUBER, 2004).

### 2.1.3 Células ósseas

Quatro tipos de células são consideradas específicas do tecido ósseo: osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e *lining cells*. Osteoblastos, osteócitos e *lining cells* possuem origem mesenquimal, enquanto que os osteoclastos têm origem hematopoiética (KALFAS, 2001; SODEK, MCKEE, 2000).

A principal função do osteoblasto é de síntese e deposição da matriz óssea. Essa célula é equipada com um complexo de Golgi proeminente e um retículo endoplasmático bem desenvolvido, organelas tipicamente de células produtoras de matriz (GRUBER, 2004). Osteoblastos são exclusivamente localizados na superfície do tecido ósseo onde produzem uma matriz rica em colágeno, denominada osteóide. O mecanismo de mineralização dessa matriz ainda não é completamente compreendido.

Uma pequena porcentagem dos osteoblastos fica envolta pela matriz que produzem, mudando suas características citoplasmáticas e se transformando em osteócitos. Essas células estão interligadas por uma densa rede de prolongamentos citoplasmáticos, permitindo a difusão de nutrientes e moléculas sinalizadoras. Esses osteócitos possuem comunicações com osteoblastos, *lining cells* e células endoteliais dos vasos sangüíneos, e podem reconhecer mudanças na taxa de fluxo de líquido intersticial nos canalículos, que ocorrem durante esforços mecânicos no osso. É possível que, uma vez que a rede de canalículos é interrompida após

microfraturas e intervenções cirúrgicas, os osteócitos morram e sinalizem a necessidade de remodelação óssea (GRUBER, 2004).

*Lining cells* são, provavelmente, derivadas de osteoblastos maduros que pararam de produzir matriz. Possuem conformação alongada e formam uma estrutura semelhante ao epitélio, que está interconectada com a rede de osteócitos, permitindo a comunicação dos mesmos com a superfície do osso. Existe a hipótese que os osteócitos sinalizem a demanda por regeneração óssea para essas células de superfície, que expressam moléculas sinalizadoras, ativando a remodelação óssea (GRUBER, 2004).

Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção óssea, que é controlada por mecanismos hormonais e celulares (KALFAS, 2001). São células multinucleadas, que formam na superfície do osso uma região isolada, que sofrerá reabsorção pela mobilização da hidroxiapatita (pH entre 4 e 5) e ação proteolítica, como, por exemplo, de metaloproteinases secretadas pelas mesmas (TEITELBAUM, 2000).

## 2.2 Biologia da enxertia óssea

Enxertos e substitutos ósseos podem ser classificados basicamente em: osso autógeno, proveniente do receptor; osso alógeno, proveniente de indivíduos da mesma espécie, porém geneticamente distintos; enxerto xenógeno, proveniente de espécie distinta do receptor; e material aloplástico, de origem mineral ou sintética (HOEXTER, 2002).

A habilidade de um enxerto ou substituto ósseo promover a osteogênese é primordial na cirurgia maxilofacial. Entretanto, apenas alguns materiais de enxertia realmente são osteogênicos (ALAM et al., 2007). A osteogênese pode ser alcançada através do provimento de células osteoblásticas ou células que possam se diferenciar em osteoblastos, e por indução do tecido receptor no aumento da concentração de osteoblastos (BURCHARDT, 1987; LANE, SANDHU, 1987). A escolha do material de enxertia é de fundamental importância no prognóstico do sucesso do enxerto, já que diversos materiais apresentam características peculiares e distintas respostas reparacionais (CORNELL, 1999; HOEXTER, 2002).

Marx e Garg (1998) em uma revisão sobre a estrutura, o metabolismo e a fisiologia óssea e seus impactos na implantodontia ressaltam a importância dos três processos associados aos enxertos ósseos: osteogênese, osteocondução e osteoindução. A osteogênese foi definida como a formação e desenvolvimento de osso, ou seja, um material osteogênico deve possuir células capazes de formar osso. A osteoindução é a capacidade do enxerto de induzir a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos, formando novo osso. A propriedade de osteocondução de um material pode ser definida como a presença de uma matriz física ou de uma estrutura adequada para a deposição de novo osso. Um material é considerado substituto ou enxerto ósseo, quando possui pelo menos uma dessas características.

Em relação aos enxertos autógenos, os sítios de captação podem ser de origem intra ou extra-orais. Os extra-orais podem ser obtidos da crista ilíaca, da tíbia e da calvária. A anatomia da área doadora ditará o tipo de enxerto que será coletado. Enxertos provenientes da crista ilíaca e da tíbia possuem características de bloco cortico-medular e medular, respectivamente (MAZOCK, SCHOW, TRIPLETT, 2003; MAZOCK, SCHOW, TRIPLETT, 2004). O enxerto de calvária apresenta característica de bloco monocortical, uma vez que corresponde à porção externa da diploe do osso parietal.

O osso autógeno de procedência intra-oral apresenta características biológicas excepcionais para enxertia (SENDYK, SENDYK, JAHN, 2004). Os enxertos intra-orais são provenientes basicamente de quatro regiões: sínfise mandibular, palato, corpo e ramo ascendente de mandíbula e tuberosidade maxilar (KHOURY, 1999; MISCH et al., 1992). Wood e Moore (1988) foram os primeiros a discutirem a remoção de osso autógeno de sítios intraorais, justificando-se pela maior proximidade dos sítios receptor e doador e tempo reduzido de cirurgia e anestesia. Esses enxertos podem ser obtidos sob a forma de blocos e particulados, dependendo da sua origem e do instrumental utilizado, como cinzéis, curetas e coletores de ossos (BLAY, TUNCHEL, SENDYK, 2003; PETRUNGARO, AMAR, 2005; TOLSTUNOV, 2009).

Defeitos ósseos extensos normalmente exigem grandes reconstruções ósseas para atingir resultados estéticos e funcionais; tal necessidade levou profissionais a procurarem áreas doadoras extra-orais. No entanto, áreas doadoras extra-orais de formação endocondral possuem altas taxas de reabsorção, maiores

custo e morbidade, quando comparadas a áreas doadoras intra-orais com origem intramembranosa (SMITH, ABRAMSON, 1974). Para alguns autores, essa maior reabsorção óssea pode ser explicada por uma vascularização mais rápida de enxertos de origem intramembranosa, quando comparada a de osso com origem endocondral (HAMMACK, ENNEKING, 1960). Uma revascularização precoce pode influenciar o resultado através de uma melhor manutenção do volume do enxerto. Outra hipótese seria que osso de origem ectomesenquimal, como a mandíbula, possui melhor potencial de incorporação na região maxilofacial devido às similaridades bioquímicas do protolágeno com a área receptora (KOOLE, BOSKER, VAN DER DUSSEN, 1989). Por apresentar menores reabsorção, custo e morbidade, o enxerto ósseo de origem intramembranosa intra-oral tem sido considerado tratamento padrão ouro na reconstrução do rebordo ósseo (ZINS, WHITAKER, 1983).

Pesquisas clínicas e laboratoriais indicam a estabilidade primária do implante como um fator importante no prognóstico do tratamento (BRUNSKI, 1988; IVANOFF, SENNERBY, LEKHOLM, 1996; MARTINEZ et al., 2001). Muitos fatores, como geometria do implante, técnica cirúrgica, qualidade e quantidade do leito receptor influenciam a estabilidade primária do implante (SENNERBY, ROOS, 1998). Miyamoto et al. (2005) avaliaram a influência da espessura da cortical do leito receptor de implantes com sua estabilidade no ato cirúrgico e concluíram que a proporção de osso cortical/osso esponjoso é extremamente importante na estabilidade inicial do implante, fator crítico para o sucesso, que deve ser considerado na escolha da área doadora.

Segundo Burchardt (1983), para que um enxerto seja aceito adequadamente pelo leito receptor, alguns fatores devem ser observados: suporte vascular do leito receptor, a proliferação de células indiferenciadas e sua diferenciação, a osteogênese, osteoindução, osteocondução do enxerto e suas propriedades mecânicas. A incorporação do enxerto depende da invaginação de vasos sanguíneos e da invasão de células provenientes do leito receptor. Esse processo foi denominado *creeping substitution* e se inicia na periferia do enxerto. Outro parâmetro avaliado pelo autor foi a incorporação de enxertos medulares e corticais. A característica medular do enxerto conferiu uma vascularização mais rápida que o cortical, sendo os vasos completamente recompostos em duas semanas. Na fase inicial dos enxertos corticais (duas semanas), os osteoclastos criam cavidades,

reabsorvendo o osso e permitindo a invasão de vasos sangüíneos e, posteriormente, células no interior do enxerto. Após o aporte de células ao enxerto, inicia-se a fase de atividade dos osteoblastos. O osso cortical enxertado não se remodela completamente, permanecendo uma alternância de osso necrótico e osso vital durante anos.

Stringa (1957) estudou a revascularização de diferentes enxertos e sua influência na incorporação dos mesmos. Diferentes velocidades de penetração vascular foram encontradas nos diferentes materiais avaliados e a vascularização de osso cortical foi mais lenta que no osso esponjoso. O estudo conclui que existe uma forte correlação entre a taxa de penetração vascular dos enxertos com sua incorporação ao leito receptor.

Segundo Cornell e Lane (1998), no osso cortical existe uma fase de reabsorção com abertura de porosidades para permitir a invasão de vasos sangüíneos e células, sendo mais lenta que a velocidade de formação óssea medular.

Uma investigação histológica da reorganização de enxertos com o uso de marcador de fluorescência (tetraciclina) em coelho, mostrou a importância de manter o enxerto fora do corpo do paciente o mínimo tempo possível (PURANEN, 1966).

O reparo ósseo segundo Bränemark et al. (1969) é retardado após trauma excessivo proveniente de fresas com irrigação deficiente. Alguns estudos indicam uma faixa de osso necrótico de 0,4 mm a 1,5 mm, mesmo controlando-se o trauma cirúrgico (ALBREKTSSON et al., 1978; RHINELANDER, 1974). Ferguson et al. (1959), num estudo sobre revascularização de enxertos em bloco autógenos em coelhos, encontraram melhores respostas cicatriciais quando o enxerto era removido com o uso de osteótomos em comparação ao uso de serras em alta velocidade. Albrektsson (1980c) pôde verificar em um estudo microscópico e histoquímico de material de coelhos, que o controle do trauma é importante tanto no preparo do leito receptor, quanto no momento de remoção do enxerto, pois aumenta a sobrevivência dos mesmos e resulta em uma revascularização e remodelação do enxerto ao leito mais rápida.

Nathanson (1978), estudando o início da vascularização de enxertos autógenos de úmero e de íliaco em mandíbulas de coelhos, conclui que a natureza do enxerto modifica a sua velocidade de vascularização, havendo uma correlação entre essa velocidade de penetração de vasos e a osteogênese.

Segundo Gordh e Alberius (1999), alguns fatores básicos são essenciais para a persistência do enxerto: a origem embriológica do tecido enxertado, revascularização, a estrutura e forma do enxerto e sua fixação ao leito receptor. Os autores citam vários trabalhos (CHEN et al., 1994; DONOVAN et al., 1993; SMITH, ABRAMSON, 1974; ZINS, WHITAKER, 1983) demonstrando a superioridade dos enxertos de origem intramembranosa sobre os de origem endocondral. Outros trabalhos questionam se a diferença arquitetural dos enxertos, ou seja, sua forma e estrutura influenciam mais o resultado que a própria origem embriológica (CHEN et al., 1994; HARDESTY, MARSH, 1990; OZAKI, BUCHMAN, 1998; SULLIVAN, SZWAJKUN, 1991).

A forma de fixação rígida do enxerto ao leito minimiza a possibilidade de movimentos entre os mesmos, favorecendo a revascularização do enxerto (LATRENTA et al., 1989; PHILLIPS, RAHN, 1988); uma compressão do enxerto ao leito permite maior contato de superfície entre as partes, promovendo uma rápida consolidação (LATRENTA et al., 1989) e elimina ou minimiza o espaço entre o leito e o enxerto, reduzindo a necessidade de angiogênese na interface (CHEN et al., 1994).

Gordh et al. (1997) estudaram o efeito de perfurações no leito receptor em enxertia autógena em coelhos e notaram uma aparente migração da medula óssea para a região medular do enxerto através das perfurações. Após 20 semanas as mudanças estruturais da medula ainda persistiam e a reabsorção óssea aparentava ser menor no grupo controle sem perfurações no leito. Outros autores em um estudo em cães avaliando os efeitos do preparo do leito receptor na incorporação de enxertos autógenos, concluíram que ocorreu maior interposição de tecido conjuntivo na interface enxerto/leito no grupo sem perfurações, enquanto que nos grupos perfurados e decorticalizados houve integração total do enxerto e maior manutenção do seu volume (DE CARVALHO, VASCONCELLOS, PI, 2000).

Albrektsson (1980a) avaliou as fases iniciais da incorporação de enxertos autógenos com ênfase nos conceitos de revascularização e recirculação. O autor definiu revascularização como a invasão de novos vasos do leito receptor no enxerto. Recirculação foi definida por anastomoses entre o leito e vasos preexistentes no enxerto. Segundo o autor, o restabelecimento do fluxo sanguíneo nos enxertos ocorre principalmente pelo processo de revascularização. Porém, quando há recirculação a remodelação óssea ocorre mais rapidamente.

Alberius et al. (1996) avaliaram por imunistoquímica a influência do tipo de tecido que recobre o enxerto em bloco autógeno na sua incorporação ao leito. O estudo avaliou o enxerto nos posicionamentos subperiosteal, submuscular e intramuscular. Os resultados indicam uma maior atividade remodeladora e absorptiva em enxertos submusculares, quando comparados aos posicionados sob o perióstio.

Gould et al. (2000) foram os primeiros a demonstrar que os enxertos autógenos contribuem com células, que formam osso durante todas as fases do reparo ósseo.

### 2.3 Enxertos autógenos

A idéia da enxertia óssea surgiu após a descrição da estrutura do osso em 1674 pelo cientista holandês Antoni van Leeuwenhoek. O cientista descreveu pequenos canais no osso, depois denominados de canais haversianos (DE BOER, 1988).

A literatura sobre enxerto ósseo inicia em 1668 com van Meekeren, um cirurgião holandês, descrevendo o primeiro procedimento de enxertia óssea. Esse enxerto derivava do crânio de um cão e foi transplantado com sucesso para um defeito também cranial em humano (CHASE, HERNDON, 1955; DE BOER, 1988).

O primeiro caso clínico de enxerto autógeno foi realizado na Alemanha por Philips von Walter em 1820. O cirurgião repôs partes do crânio, que haviam sido removidas após trepanação cirúrgica (DE BOER, 1988).

Em 1867, Ollier escreveu um artigo clássico no qual relata os resultados de experimentos em coelhos e cães jovens comprovando a viabilidade dos enxertos autógenos e reconhecendo que fragmentos ósseos vivos poderiam sobreviver e crescer sem o perióstio desde que em um ambiente adequado (apud DE BOER, 1988).

Barth (1893 apud Chase, Herndon, 1955) foi o primeiro a observar que o enxerto ósseo se apresentava completamente morto vários dias após a sua transferência e que através de um processo gradual de invasão celular do leito receptor, havia posterior repovoamento com células vivas.

Curtis (1893 apud De Boer, 1988) observou que os canais haversianos permitem o crescimento de tecido de granulação e que em alguns casos o enxerto se tornava rosáceo, provavelmente pela absorção do osso pelo sangue.

Experimentos de Axhausen (1907-1937) demonstraram que as células ósseas transplantadas morriam, porém células sobreviventes do periósteo quando cobriam enxertos promoviam osteogênese (DE BOER, 1988; KUABARA, 2001).

Macewen (1912 apud Chase, Herndon, 1955) levantou um argumento contraditório quando, decorrente de seu estudo em animais, afirmou que o periósteo não formava osso, mas atuava como uma membrana, servindo como uma fonte de nutrientes ao osso.

Phemister (1914 apud Kuabara, 2001) demonstrou que algumas células capazes de formar osso da superfície do enxerto sobrevivem por difusão de nutrientes advindos do leito receptor. O autor relata que a grande maioria das células nas partes mais centrais do enxerto estavam mortas, mas notou a importância das células sobreviventes na superfície, na reabsorção e repovoamento do enxerto.

Gallie e Robertson (1918) apontam a sobrevivência de células na superfície do osso enxertado como fator importante. O uso de enxertos de osso esponjoso oferece resultado superior quanto a este fator e quanto à osteogênese em comparação ao osso cortical.

A teoria da osteoindução só foi introduzida por Urist et al. em 1952. O grupo de pesquisadores sugeriu que um mediador químico do enxerto ósseo poderia induzir a formação óssea por recrutamento de células com potencial osteogênico.

Stringa (1957), estudando a revascularização de diferentes enxertos e sua influência na incorporação dos mesmos, conclui que existe uma forte correlação entre a taxa de penetração vascular dos enxertos com sua incorporação ao leito receptor.

Zucman; Maurer e Berbesson (1968) estudaram o efeito de enxertos autógenos de osso e de periósteo em fraturas diafisárias. Confirmaram que o desenvolvimento de novos vasos é necessário para os estágios preliminares à osteogênese, porém não suficiente e que a osteogênese e a osteólise são eventos normalmente simultâneos.

Kratochvil e Boyne (1972) relataram em um estudo preliminar uma técnica combinada de enxertia óssea para restaurar a anatomia óssea mandibular com

implante subperiosteal. Na técnica o implante servia como protetor e mantenedor do enxerto ósseo durante o período cicatricial inicial, após o qual, o implante suportaria a maior parte dos esforços mastigatórios, transmitindo-os ao osso diretamente.

Fazili et al. (1978) apresentam o resultado de enxertos de íliaco em 14 pacientes, seguidos por um segundo estágio cirúrgico de vestibuloplastia e relatam que, após três anos na ausência de estímulos mecânicos, cerca de 92% do osso enxertado é reabsorvido.

O advento da implantodontia moderna e a necessidade de adequação dos sítios a serem implantados, fez com que alguns autores (BREINE, BRANEMARK, 1980) estudassem a viabilidade da utilização de enxertos ósseos autógenos com implantes endósseos de titânio. O primeiro estudo publicado sobre enxertia na implantologia moderna foi o relato sobre o desenvolvimento de uma técnica combinada de enxertia autógena e implantes. Primeiramente, os autores combinaram enxertia particulada de osso medular com implantes osseointegráveis em humanos, porém os resultados não foram satisfatórios, principalmente em maxilas atroficas. Resolveram então estudar em cães uma técnica de enxertia em bloco pré-formado, na qual os mesmos eram fixados nas mandíbulas pelos implantes, com resultados encorajadores. A última fase do estudo foi um piloto da técnica desenvolvida em humanos, que demonstrou uma superioridade dos enxertos ósseos pré-formados com implantes osseointegráveis aos enxertos particulados, podendo restaurar a anatomia e função dos alvéolos edêntulos.

Segundo Urist; Delange e Finerman (1983), as células ósseas que sobrevivem na superfície do enxerto desempenham um papel importante na proliferação de novas células formadoras de osso.

O estudo de Jensen e Sindet-Pedersen (1991) avaliou um procedimento de reconstrução de maxila atrofica com enxerto ósseo de sínfise mentoniana fixado no leito receptor por implantes. Apenas 6,5% dos implantes (n=107) foram perdidos e reabsorção de menos de 15% do volume do enxerto foi observada. Os autores sugerem que a reabsorção acentuada em enxertos de íliaco e o número de implantes perdidos em outros estudos podem ser significativamente reduzidos caso a técnica descrita seja utilizada.

Isaksson e Alberius (1992), em um estudo retrospectivo, avaliaram os resultados de oito pacientes, que foram tratados com enxerto de crista íliaca para ganho ósseo em altura e instalação imediata de implantes. O período de

acompanhamento foi de 32 a 64 meses, com sobrevivência de 83% dos implantes; exames radiográficos demonstraram preservação da maior parte da dimensão vertical do enxerto ósseo.

Nyström; Kahnberg e Gunne (1993) publicaram o resultado de dois anos de acompanhamento de pacientes, que foram submetidos à enxertia de íliaco estabilizada por implantes osseointegráveis. Os autores reportam uma sobrevivência de 77,4% dos implantes e concluem que, considerando-se a situação crítica em que muitos dos pacientes se encontravam, os resultados devem ser vistos como aceitáveis.

Um dos pacientes do estudo de Nyström; Kahnberg e Gunne (1993) faleceu após quatro meses do ato cirúrgico. Foram removidos os implantes, o enxerto e parte do leito receptor e avaliados histologicamente. Observou-se mínimo contato direto de osso com o titânio e um padrão de ancoragem em tecido mole. Não foram evidenciados sinais de seqüestro do tecido enxertado, sendo que sua parte superior apresentou sinais de osteogênese; contudo os espécimes enxertados apresentaram resposta óssea retardada em relação aos sem enxerto. Todos os implantes estavam clinicamente estáveis (NYSTROM, KAHNBERG, ALBREKTSSON, 1993).

Misch e Dietsch (1994) realizaram um estudo clínico longitudinal retrospectivo sobre implantes instalados em maxilas atróficas enxertadas com crista íliaca. Foram instalados 148 implantes em 20 pacientes. Vinte e um implantes foram instalados imediatos à cirurgia de enxerto com índice de sobrevivência de 90%. Cento e vinte e sete implantes foram instalados após o período inicial de cicatrização do enxerto com 99% de índice de sobrevivência. Após um ano da instalação dos implantes, a reabsorção óssea ao redor dos mesmos em enxerto de íliaco se mostrou similar a dos implantes em área não enxertada.

Raghoobar et al. (1996) avaliaram a aplicabilidade de enxertos corticais intra-orais na maxila anterior. Foram avaliados 12 enxertos de sínfise mentoniana, sete de área retromolar e quatro de tuberosidade. Após um período de três meses de cicatrização, 31 implantes foram instalados e a reabsorção dos enxertos avaliada. Apesar dos enxertos de tuberosidade apresentarem maior reabsorção, todas as regiões enxertadas apresentavam osso suficiente para instalação de implantes.

Misch (1997) comparou o resultado de 50 pacientes que foram submetidos à enxertia com osso de sínfise mentoniana e de ramo mandibular. Os enxertos apresentaram reabsorção mínima e mantiveram suas qualidades. Enxertos de

sínfise possuem maior volume, com características corticoesponjosas. Apesar do acesso cirúrgico da região de ramo ser mais complicado que o da região de mandíbula anterior, possui menor incidência de complicações, sendo bem indicado para defeitos de rebordo em espessura.

Schliephake; Neukam e Wichmann (1997) avaliaram a longevidade de implantes instalados em área enxertada com osso autógeno. Um total de 871 implantes em 137 pacientes foram instalados. Setenta e quatro implantes falharam em 23 pacientes, a maior parte devido à falta de osseointegração no momento de instalação do pilar ou durante os períodos iniciais de cicatrização. A taxa de sobrevivência cumulativa foi de 83,4% em um ano e 67,8% em cinco anos. Pacientes totalmente edêntulos apresentaram 48,8% de taxa sobrevivência de implantes na maxila (em cinco anos) e 89,3% na mandíbula.

Autores escandinavos publicaram em 1999 um estudo multicentro retrospectivo de implantes em combinação com enxertos ósseos autógenos. Cento e cinquenta pacientes com cinco tipos de enxertia (blocos *onlay* em defeitos localizados ou não, blocos *inlay*, uma combinação de *onlay* e *inlay* e osteotomia LeFort I) foram avaliados. A maior parte dos pacientes (n=125) tiveram os implantes instalados imediatamente à enxertia. Todas as técnicas apresentaram taxas de sucesso semelhantes, porém, implantes instalados simultaneamente ao enxerto tiveram maior perda (23%) que em dois estágios (10%). A taxa de sobrevivência de todos os implantes foi de 88% (n=110) (LEKHOLM et al., 1999).

Bahat e Fontanessi (2001) estudaram a eficácia da instalação de implantes em áreas enxertadas na maxila posterior. Sessenta e dois pacientes foram avaliados com uma média de ganho de 5,1 mm em espessura e 3,9 mm em altura. A taxa de insucesso de implantes foi de 7% (23/329). O autores concluem que implantes podem ser instalados após enxertia óssea com taxas de sucesso similares às obtidas sem enxertia.

Nyström et al. (2004) publicaram o resultado de dez anos de acompanhamento dos pacientes submetidos à enxertia óssea com instalação simultânea de implantes do estudo já citado anteriormente (NYSTROM, KAHNBERG, GUNNE, 1993). Não houve diferença significativa durante o período de três a dez anos de acompanhamento com relação à perda óssea ao redor dos implantes e perda de implantes. A maior parte das falhas ocorreram nos dois primeiros anos do estudo (14 de 20 falhas). Os autores concluem que a estabilidade

do nível ósseo ao redor dos implantes pode ser confiável após três anos de acompanhamento.

Um grupo de pesquisadores brasileiros publicou em dois artigos um estudo comparando a vascularização e o padrão inicial de reparação de enxertos em bloco autógenos com e sem o uso de membranas de politetrafluoroetileno expandido (e-PTFE) em ratos. A reparação foi similar nos dois grupos durante o período inicial de 14 dias, quando o enxerto sem a membrana começou a exibir intensa reabsorção óssea; revascularização ocorreu em ambos os grupos, sendo mais intensa e proveniente do leito ósseo e do tecido conjuntivo no grupo sem membrana e menos intensa e proveniente apenas do leito ósseo no grupo coberto por membrana. O estudo conclui que o uso de membrana sobre o enxerto em bloco preveniu reabsorção do bloco e apresentou revascularização menos intensa e mais lenta que no grupo sem a membrana (DE MARCO, JARDINI, LIMA, 2005; JARDINI, DE MARCO, LIMA, 2005).

Em 2006, Sjöström; Lundgren e Sennerby apresentaram uma avaliação histomorfométrica da interface do titânio de micro-implantes com o osso enxertado. Dois grupos foram avaliados: implantes instalados simultâneos à enxertia óssea e implantes instalados após seis meses do ato de enxertia. Os resultados do estudo indicam um maior contato osso/implante para o grupo de implantes instalados após um período de seis meses de integração do bloco ao leito.

Chiapasco; Zaniboni e Boisco publicaram em 2006 uma revisão sistemática sobre procedimentos de enxertia para a reabilitação de rebordos ósseos deficientes para instalação de implantes. Basearam-se em 117 artigos, contudo incluíram apenas 29 sobre enxertia autógena em bloco e concluíram que: enxertos de ramo de mandíbula apresentaram menos complicações com relação a distúrbios sensitivos, que enxertos da sínfise mentoniana, sendo a qualidade óssea de ambos similares; em 3,3% dos casos, houve perda parcial dos enxertos e em 1,4%, perda total; a sobrevivência de implantes variou de 60% a 100%, sendo maior que 90% na maior parte dos estudos avaliados; o maior índice de falhas de implantes ocorreu em áreas de enxertia de osso ilíaco (17,5%); na maxila a sobrevivência média de implantes foi de 93,4% (de 80% a 100%); na mandíbula, foi de 94,5% (de 88,2% a 100%). Segundo os autores, a qualidade metodológica pobre dos artigos publicados foi a grande limitação da revisão, sendo, portanto, necessários mais estudos com maior tempo de acompanhamento e metodologias mais confiáveis.

Um estudo retrospectivo de 2007 avaliou 129 implantes em 50 pacientes e teve como parâmetros, durante um acompanhamento de seis a 67 meses, os seguintes itens: sobrevivência dos implantes, perda óssea marginal e complicações. A perda óssea marginal média foi de 0,22 mm (0 mm a 3,3 mm), com apenas 5% dos implantes apresentando valores superiores a 1,5 mm. A taxa de sobrevivência foi de 96,9%. Os autores concluíram que a enxertia óssea em bloco é um procedimento previsível e que implantes em área enxertada apresentam alta taxa de sobrevivência com mínima perda óssea marginal (LEVIN, NITZAN, SCHWARTZ-ARAD, 2007).

Uma revisão sistemática foi publicada por Aghaloo e Moy em 2007, avaliando quais técnicas de enxertia óssea oferecem melhores resultados para o suporte de implantes. Selecionaram apenas 90 estudos de um total de 335 que preencheram os critérios iniciais de seleção. Segundo os autores, a literatura sobre o aumento de rebordo não fornece documentação detalhada ou estudos com acompanhamentos longos suficientes, com exceção da técnica de regeneração óssea guiada. Entretanto, os estudos que preencheram os critérios de inclusão pareceram ser comparáveis e renderam resultados favoráveis com relação ao suporte de implantes em áreas enxertadas. Os procedimentos de enxertia parecem depender muito da técnica e da experiência do operador, e a sobrevivência de implantes pode ser mais dependente do osso residual que suporta o implante do que do próprio osso enxertado.

Verdugo; Simonian e Nowzari (2009) avaliaram a influência do biótipo periodontal dos dentes adjacentes ao rebordo edêntulo na manutenção do volume de enxertos autógenos tipo *onlay*. Parâmetros clínicos, incluindo sangramento à sondagem, mobilidade dental, supuração, retração gengival e transparência do tecido gengival vestibular foram avaliados anualmente. Exames tomográficos foram realizados após aproximadamente 42 meses dos procedimentos de enxertia. Segundo os autores, o fenótipo do sítio enxertado não parece ser influenciado pelo biótipo periodontal dos dentes adjacentes e enxertos autógenos podem reconstruir com previsibilidade a função e estética por um período médio de três anos e meio.

## 2.4 Enxertos alógenos

A obtenção de tecido ósseo para transplantes vem sendo pesquisada e estudada por mais de um século. As primeiras referências aparecem em 1867 quando Ollier, através de estudos experimentais e observações clínicas, comprova a viabilidade dos enxertos alógenos e autógenos, bem como a possibilidade de sobrevivência de fragmentos ósseos quando transplantados (DE BOER, 1988).

Em 1878 William MacEwen realiza com sucesso o primeiro enxerto alógeno, reconstruindo o úmero de uma criança acometida de osteomielite, utilizando a tíbia de um cadáver (DE BOER, 1988). MacEwen continua nesta mesma linha de pesquisa, investiga os fatores osteogênicos inerentes ao uso dos enxertos ósseos alógenos e mostra a consolidação dos enxertos ao leito receptor em mais dois trabalhos nos anos de 1887 e 1909, motivando assim os pesquisadores da época. Nesse período, não há consenso de quais ossos, especificamente, podem ser utilizados para transplante. Os tecidos são captados aleatoriamente de doadores vítimas de fraturas, ressecções e amputações. Para o armazenamento e processamento destes tecidos, eram utilizados protocolos e equipamentos que não são os mais adequados para esta finalidade (TOMFORD, 2000; TOMFORD, MANKIN, 1999). Grande parte destes trabalhos possui, atualmente, apenas valor histórico em respeito ao pioneirismo desses pesquisadores.

O uso clínico de osso alógeno no início do século XX aconteceu em baixa demanda, e em caráter experimental, por alguns centros espalhados pelo mundo. Com a disponibilidade da antibioticoterapia, ocorrem alterações na indicação destes tecidos, e pacientes portadores de osteomielites começam a ser submetidos a tratamentos farmacológicos, em detrimento aos atos cirúrgicos (TOMFORD, 2000). Assim, as ressecções cirúrgicas de segmentos infectados deixam de ser prioritárias e os aloenxertos são então utilizados nas reconstruções de falhas ósseas decorrentes de ressecções de tumores. Essa mudança faz com que os estudos da época também evoluam e relatem com mais detalhes os processos celulares envolvidos na integração dos enxertos.

Ainda no início do século XX, alguns autores estudaram métodos de captação e armazenamento dos ossos (ALBEE, 1912 apud GIOVANI, 2005; CARREL, 1912 apud GIOVANI, 2005; GROVES, 1917 apud GIOVANI, 2005). Descreve-se a

necessidade da retirada precoce dos enxertos ósseos provenientes de doadores cadáveres ou membros amputados, bem como o emprego do frio (2 °C a 5 °C) como método de conservação de tecidos humanos, evitando-se assim a proliferação de microrganismos e a deterioração dos mesmos. Os autores também citam a realização de culturas com o objetivo de certificar os aloenxertos. Groves (1917 apud Giovani, 2005) conservava os enxertos ósseos em tubos secos e estéreis, enquanto que Albee (1912 apud Giovani, 2005) e Carrel (1912 apud Giovani, 2005) utilizavam, além do armazenamento em baixas temperaturas, petrolato e solução isotônica de Ringer como meios de preservação.

Entre 1918 e 1937, aparecem relatos na literatura divulgando a utilização de substâncias químicas como o álcool, o éter e o xilol, além da ebulição como meios de conservação de tecidos ósseos. Contudo, os resultados não foram muito animadores pois, em alguns casos, os enxertos se comportavam como corpos estranhos (GIOVANI, 2005).

No final da década de 1940, alguns pesquisadores iniciam o desenvolvimento de um protocolo próprio para instalação de um banco de ossos (BUSH, 1947; BUSH, GARBER, 1948; WILSON, 1947). Sugere-se um rigoroso banco de dados com informações referentes aos aloenxertos, o doador, características e dados do enxerto, história da infecção aguda recente e testes laboratoriais e culturas realizados, facilitando, assim, o rastreamento de complicações. Também descrevem o método de armazenamento do enxerto sob temperaturas entre -20 °C e -30 °C e recipientes estéreis. Demonstram a utilização dos enxertos alógenos congelados com resultados satisfatórios e enfatizam que o comportamento, quanto à consolidação destes enxertos, é semelhante ao dos autógenos frescos. Os resultados favoráveis levam à conclusão de que os bancos de ossos, utilizando o congelamento como método de conservação, são ideais para estocagem e fornecimento de material para posterior uso em cirurgias de enxertia.

Herbert (1951) faz referência ao congelamento dos enxertos ósseos, comprovando sua ação bacteriostática sobre os microrganismos. Segundo o autor, vários microrganismos sobrevivem a temperaturas menores que -30 °C; apesar da baixa temperatura inibir o crescimento de microrganismos, não torna os enxertos livres dos mesmos. Cuidados de assepsia rígidos durante a captação e

armazenamento dos enxertos alógenos, bem como um rigoroso controle bacteriológico são fundamentais.

Alguns autores na segunda metade da década de 1950 publicaram trabalhos sobre a resposta imunológica do organismo ao aloenxerto submetido ao processo de congelamento. O congelamento não apenas poderia conservar o tecido ósseo, como também reduziria drasticamente a imunogenicidade dos mesmos (BONFIGLIO, JETER, SMITH, 1955; CURTISS, POWELL, HERNDON, 1959).

A partir destes conhecimentos, muitos bancos de ossos são estruturados em vários países, adotando o processo de congelamento dos enxertos ósseos como método de conservação e armazenamento, sendo o Banco de Tecidos da Marinha Norte-Americana o primeiro a processar e a disponibilizar o enxerto ósseo em larga escala (CARR, HYATT, 1955).

Uma média de 90% de sucesso é alcançada por autores que utilizam enxertos alógenos congelados e estes reforçam a importância da existência dos bancos de ossos (CARVALHO, BATALHA, ANDREUCCI, 1952; HULT, 1950; WILSON, 1951a; WILSON, 1951b).

Kreuz et al. (1951) e Dubau et al. (1952) foram os precursores da liofilização de ossos, processo que consiste na desidratação a baixas temperaturas por sublimação da água. O emprego desta técnica fragiliza o osso, tornando-o friável e com aspecto de osso fresco após a sua reidratação. A técnica oferece a grande vantagem de permitir a conservação dos ossos à temperatura ambiente, facilitando o transporte e armazenamento.

Carr e Hyatt (1955), avaliando clinicamente os aloenxertos, evidenciam as vantagens no uso dos mesmos criopreservados, como a disponibilidade da quantidade de tecido necessário e diminuição da morbidade pós-operatória.

Axhausen (1956) descreveu detalhadamente o processo de incorporação dos aloenxertos após avaliação clínica e histológica em zonas de reparo do tecido musculoesquelético, evidenciando as principais etapas do processo de reparação. No osso cortical, a reparação é mais lenta e iniciada pela ação de osteoclastos e no osso esponjoso, mais rápida e iniciada por osteoblastos.

A partir da década de 1960, apareceram novos estudos utilizando substâncias químicas como meios conservantes, tais como o álcool, o mertiolate, o éter e o fenol, mantidos à temperatura ambiente (REYNOLDS, OLIVER, RAMSEY, 1951; SABANAS et al., 1955b; SABANAS et al., 1955a). Entretanto, alguns trabalhos

demonstram que estas substâncias destroem a arquitetura celular do enxerto (LAVINE, BURGER, SOBEL, 1957).

Nas décadas de 1960 e 1970 dúvidas a respeito da viabilidade deste enxerto levaram ao desenvolvimento de pesquisas na área (BURWELL, 1963; BURWELL, 1964; BURWELL, 1966; HAMMACK, ENNEKING, 1960; PARRISH, 1973; SHARRARD, COLLINS, 1961; URIST, 1965).

Em 1961, Sharrard e Collins descreveram a utilização de enxertos alógenos captados e descalcificados na reparação de falhas ósseas localizadas em segmentos da coluna vertebral em crianças portadoras de escoliose. Os resultados demonstram neoformação óssea local em seis semanas após o ato operatório.

Urist (1965) descreve que as células osteoprogenitoras responsáveis pelo processo de reparação óssea são derivadas de monócitos, presentes em número elevado na zona de reparação procedente da medula óssea. Ainda nesse estudo, mostra que a osteointegração de enxertos é alcançada, uma vez que células primitivas ainda não diferenciadas podem se diferenciar em osteoblastos viáveis a partir de substâncias osteoindutoras.

A partir da década de 1980, o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida levanta discussão sobre a segurança no uso clínico dos tecidos alógenos. O risco biológico de transmissão de doenças entre doadores e receptores de tecidos foi o tema de maior relevância no período (CONRAD et al., 1995; DEIJKERS et al., 1997; HERNIGOU, 2000; HERNIGOU et al., 2000; MELLONIG, PREWETT, MOYER, 1992; SALAI et al., 1997; TOMFORD, 1995). Os bancos de tecidos existentes na época revisaram seus protocolos de seleção dos doadores com o objetivo de evitar a transmissão da doença. Este fato propiciou a elaboração de protocolos desenvolvidos pelas principais associações de bancos de tecidos (Associação Americana de Bancos de Tecidos – AATB e Associação Européia de Bancos de Tecidos – EATB), o que contribuiu para o ganho de qualidade dos tecidos disponibilizados (BUCK, MALININ, BROWN, 1989; GALEA, KEARNEY, 2005; TOMFORD, STARKWEATHER, GOLDMAN, 1981).

A importância da correspondência do doador com o receptor na histocompatibilidade foi comprovada em transplantes de outros órgãos (OPELZ, TERASAKI, 1977; RAPAPORT et al., 1971). Um grupo de pesquisadores na primeira metade da década de 1980 realizou uma série de estudos sobre a influência da histocompatibilidade no transplante ósseo e o efeito do uso de drogas

imunossupressoras na cicatrização desses enxertos (GOLDBERG et al., 1984; GOLDBERG et al., 1985). Como resultado dos estudos, quando o receptor e o doador eram cães consangüíneos, ou seja, apresentavam fraca barreira imunológica para transplantes, os aloenxertos apresentavam cicatrização similar ao enxerto autógeno. Cães não consangüíneos, apresentaram resultados inferiores com menor número de pontes ósseas entre o leito e o enxerto e reorganização do osso medular mais retardada. Segundo os autores, enxertos alógenos de doadores e receptores não compatíveis podem induzir uma resposta imunológica, resultando em uma incorporação do enxerto deficitária pelo receptor. Contudo, a terapia imunossupressora pode melhorar a incorporação de enxertos ósseos entre doadores e receptores não histocompatíveis. Outros estudos sobre histocompatibilidade do doador com o receptor confirmam sua importância na incorporação dos enxertos ao leito receptor (DEJKERS et al., 1999; STEVENSON, 1987; STEVENSON, LI, MARTIN, 1991; VIROLAINEN, VUORIO, ARO, 1997).

Kirkeby; Pinholt e Larsen (1992) compararam em ratos a vascularização inicial e mineralização de enxertos alógenos e singênicos, ou seja, com mesma carga genética entre o doador e o receptor. Três tipos de enxertos foram avaliados: enxerto fresco, congelado e descalcificado. Segundo os autores, as diferenças na incorporação de enxertos alógenos e singênicos são reduzidas pelos processos de congelamento profundo e desmineralização.

Com a disponibilidade de enxertos mais confiáveis pelos bancos de tecidos, seu uso, comportamento biológico e sua indicação pelos cirurgiões apareceram na literatura, inicialmente na área de ortopedia (MUSCOLO et al., 1992; RUDELLI, HONDA, ANGELI, 1992).

Maletta et al. (1983) compararam a cicatrização e revascularização de enxertos em blocos autógenos e alógenos liofilizados na maxila edêntula de macacos. Durante um período de oito meses foi observado que a cicatrização e revascularização foram similares, porém, a reabsorção dos enxertos alógenos ocorreu três meses após a dos autógenos. Segundo os autores, ambos os enxertos aparentaram possuir mínimo potencial osteogênico.

Perrott; Smith e Kaban (1992) reportaram sua experiência com o uso de osso fresco congelado para a reconstrução de maxilas e mandíbulas atroficas e posterior instalação de implantes em dez pacientes. No ato da instalação dos implantes todos os enxertos apresentavam estabilidade, estavam firmes em consistência, bem

incorporados e vascularizados. Em um período de três a oito meses após a enxertia, 29 implantes foram instalados e estes acompanhados por  $26,3 \pm 5,4$  meses. Apenas um dos implantes falhou por falta de osseointegração e foi substituído. Ocorreu uma taxa de sobrevivência de 96,5% dos implantes em área enxertada com osso alógeno fresco, sendo assim um tratamento adequado para reconstrução de defeitos de rebordo.

Balshi e Magid (1995) publicaram um relato de caso no qual utilizaram um bloco de osso alógeno fresco para a reconstrução da mandíbula atrófica de uma paciente edêntula. A incisão foi realizada de forma extra-oral, expondo toda a base da mandíbula, onde o enxerto foi fixado. Após sete meses, seis implantes foram instalados na região interforaminal e depois de sua integração foi confeccionada uma prótese fixa total sobre os mesmos. Os autores alertam que existe a necessidade de um acompanhamento mais longo para este tipo de tratamento, mas que os resultados preliminares da técnica indicam para uma nova solução de tratamento da mandíbula atrófica.

Alguns autores preocupados com a compatibilidade imunológica relataram quatro casos nos quais maxilas atróficas foram reconstruídas com enxertos alógenos de cabeça de fêmur e implantes osseointegrados (KONDELL, MATTSSON, ASTRAND, 1996). Doadores e pacientes foram compatibilizados quanto ao tipo sanguíneo e a potencial resposta imunológica foi monitorada pela detecção de anticorpos no sangue periférico e reação inflamatória local. Biópsias dos enxertos foram removidas seis meses após a reconstrução óssea, evidenciando a vitalidade do osso. Dos 23 implantes instalados, 22 estavam osseointegrados após um acompanhamento médio de 19,5 meses. Nenhum dos anticorpos investigados foram detectados na corrente sanguínea periférica e nenhum leito receptor apresentou resposta inflamatória local. Enxertos alógenos em combinação com implantes osseointegráveis podem ser utilizados para a reconstrução de maxilas atróficas sem reações imunológicas diretas ao enxerto.

Devido a grande variabilidade nos resultados de estudos sobre a capacidade osteoindutora do osso alógeno desmineralizado liofilizado, um grupo de autores decidiu comparar essa habilidade do osso de seis bancos diferentes; comprovaram uma grande variedade de tamanhos e formas de partículas. Nenhum dos ossos implantados subcutaneamente induziu formação óssea. Três amostras induziram formação óssea, quando implantadas intramuscularmente após um e dois meses. O

tamanho das partículas não está relacionado com a capacidade de osteoindução do material. Segundo os autores, existe uma grande variedade de preparos de osso alógeno desmineralizado liofilizado, com tamanhos e formas diferentes, e capacidades de formação óssea distintas. Logo, sugere-se a padronização e o desenvolvimento de métodos de avaliação da capacidade do osso alógeno desmineralizado liofilizado ser osteoindutor (SCHWARTZ et al., 1996).

Smukler; Barboza e Burliss (1995) avaliaram uma nova técnica para a reconstrução de alvéolos. Defeitos de rebordo classe III foram produzidos na região de pré-molares em cães. Após dois meses, uma nova técnica foi aplicada usando colunas de osso alógeno cortical com membranas de teflon para criar e manter espaço para a regeneração do rebordo. Um ganho médio de 3,31 mm em espessura foi obtido com a técnica. O uso de colunas de osso alógeno foi eficaz na manutenção de espaço para a regeneração óssea guiada, apesar do osso alógeno não ter sido reabsorvido durante todo o experimento.

Accetturi et al. (2000) publicaram estudo sobre a reconstrução de defeitos ósseos na maxila e mandíbula com osso humano congelado proveniente de cabeça de fêmur e observaram novo osso organizado após quatro a seis meses. Em defeitos circunscritos não ocorreu reabsorção do enxerto, entretanto em defeitos de uma a duas paredes houve perda de 10% a 15% do volume total enxertado nos primeiros seis meses e em alguns casos 20% no primeiro ano. Os autores concluem que o osso humano congelado de cabeça de fêmur é um bom material para a reconstrução de defeitos extensos na maxila e mandíbula, quando não se dispõe de fonte doadora suficiente na cavidade oral, sendo ideal para a colocação de implantes, pois suporta alta resistência ao torque.

Em 2003, Lyford et al. publicaram a primeira avaliação clínica de blocos medulares alógenos para aumento de rebordo em humanos. Cinco sítios foram enxertados em três pacientes usando blocos medulares alógenos liofilizados e membranas absorvíveis. Um ganho de 2 a 4 mm em espessura pôde ser observado após seis meses de cicatrização. Tal ganho de espessura é comparável a outros tipos de regeneração, sendo a técnica então uma alternativa aceitável ao enxerto ósseo autógeno para tratamento de rebordos alveolares deficientes.

Um modelo de estudo em cães foi utilizado com a finalidade de comparar o aumento de rebordo com enxertos alógenos liofilizados e desmineralizados e autógenos. Defeitos foram criados pela extração dos pré-molares e medidos por

marcadores radiopacos, também utilizados para medições subseqüentes. Os autores relatam resultados pobres e decepcionantes. Apenas quatro dos 18 enxertos foram julgados bem sucedidos na avaliação clínica, devido à grande porcentagem de enxertos totalmente ou quase plenamente reabsorvidos. O osso alógeno liofilizado e desmineralizado mostrou-se muito similar ao autógeno e com poucas exceções, ambos os grupos apresentaram resultados desencorajadores (CRANIN, DEMIRDJAN, DIGREGORIO, 2003).

Leonetti e Koup (2003) relataram quatro casos de reconstrução de rebordo com eficácia de enxerto de blocos alógenos na formação de novo osso para posterior instalação de implantes.

Petrungaro e Amar (2005) relataram três casos de aumento de rebordo alveolar com blocos alógenos para instalação de implantes com evidências histológicas da regeneração óssea ativa no defeito, sendo assim um material seguro e eficiente. A instalação de implantes nas áreas enxertadas demonstra a funcionalidade do osso regenerado e a avaliação histológica evidencia formação óssea. Entretanto, são recomendadas pesquisas e estudos clínicos subseqüentes do osso alógeno para solidificar os resultados observados.

Keith et al. (2006) num estudo multicentro, avaliaram durante três anos um enxerto alógeno mineralizado em bloco para restaurar a morfologia de rebordos com defeito. Setenta e três pacientes com 82 defeitos de rebordo foram incluídos no estudo. Após quatro a seis meses de cicatrização, implantes foram instalados nos sítios enxertados e realizou-se controle por no mínimo 25 meses após a instalação da prótese sobre implante. A taxa de sobrevivência dos blocos foi de 93% em 12 meses e a reabsorção dos enxertos variou de 0 mm em 69% dos casos até 2 mm nos 31% restantes. Sete blocos falharam e foram removidos devido ao contorno incorreto do enxerto, infecção ou trauma da prótese provisória. A taxa de sobrevivência dos implantes foi de 99%. Segundo os autores, a técnica de enxertia com enxertos alógenos é mais sensível à habilidade do operador que o enxerto autógeno, necessitando de técnica cirúrgica e acompanhamento meticolosos. Ainda alertam pela necessidade de pesquisas com acompanhamento mais longo, apesar do estudo em questão apresentar resultados de alta previsibilidade para a enxertia alógena na cavidade oral.

Jacotti (2006) descreveu uma técnica de enxertia com bloco alógeno, utilizando a prototipagem para minimizar o tempo cirúrgico e a morbidade do

procedimento ao paciente. Consiste na fabricação prévia de um protótipo através de uma tomografia computadorizada da região a ser enxertada. O enxerto alógeno é preparado e adaptado sobre a prototipagem antes do procedimento cirúrgico, eliminando o tempo de preparo em boca, o que reduz o tempo total da cirurgia.

Macedo (2006) utilizou blocos cortico-medulares para regeneração óssea de rebordos alveolares em altura. Foram realizados 16 procedimentos, sendo dez na maxila e seis para reconstruções mandibulares. Após um período cicatricial inicial de sete meses, avaliou através de tomografias computadorizadas o ganho ósseo. A taxa de sobrevivência dos enxertos foi de 81,25%, com exposição de três blocos ao meio bucal. Ocorreu uma taxa média de 20% de reabsorção, evidenciando-se que enxerto alógeno fresco congelado é um possível substituto ao enxerto autógeno para reconstruções alveolares previamente à instalação de implantes.

Pelegrine (2006) comparou, histomorfometricamente, a utilização de osso autógeno e de osso alógeno fresco congelado, associados ou não à medula óssea autóloga em coelhos durante um período de oito a 12 semanas. Não houve diferenças significativas entre os grupos quanto à quantidade de osso neoformado. Entretanto, ocorreu uma quantidade maior de partículas ósseas residuais no grupo com osso alógeno fresco congelado.

Querido (2007) avaliou a formação óssea de enxertos autógenos e alógenos tipo *onlay* em mandíbulas de coelhos. Os resultados microscópicos indicam um maior número de osteoblastos nos enxertos autógenos e resultados macroscópicos evidenciam uma menor reabsorção dos enxertos alógenos quando comparada a dos enxertos autógenos. Assim, a atividade celular nos enxertos autógenos é mais intensa que os alógenos, desde o início do processo reparacional, permitindo a formação óssea mais precocemente.

Contar et al. (2009) investigaram clinicamente e histologicamente o uso de osso alógeno fresco e congelado na reconstrução de rebordos alveolares para instalação de implantes osseointegráveis. Quinze pacientes com maxila atrófica foram submetidos a reconstrução maxilar com enxertos alógenos em bloco e particulado de tíbia. Após nove meses todos enxertos se apresentaram firmes em consistência e, histologicamente, bem incorporados e vascularizados. Cinquenta e um implantes foram instalados nas áreas enxertadas com torque mínimo de 50 Ncm. Não houve perda de nenhum dos implantes durante o período observacional de 24 a 35 meses. A análise histológica revelou um osso vital com características de tecido

ósseo maduro e compacto circundado por espaços medulares. Os autores concluem que, com técnica cirúrgica adequada, a enxertia alógena pode ser usada com sucesso em regiões atróficas como alternativa ao enxerto autógeno.

## 2.5 Fluorocromos

Fluorocromos são substâncias quelantes do cálcio, que são incorporadas durante a mineralização da matriz óssea e que podem ser visualizadas, histologicamente, por sua fluorescência sob excitação à luz ultravioleta ou azul. Vários fluorocromos são utilizados para o estudo da biologia óssea, como por exemplo as calceínas (RAHN, PERREN, 1970 apud MARCACCINI et al., 2003; DIEHL, ELLINGBOE, 1956 apud MARCACCINI et al., 2003), o xilenol laranja (RAHN, PERREN, 1970 apud MARCACCINI et al., 2003), as tetraciclinas (HARRIS, 1960) e alizarinas (ADKINS, 1965 apud MARCACCINI et al., 2003). A utilização desses corantes como marcadores intravitais do esqueleto permite a medida quantitativa da formação e da dinâmica da remodelação óssea (ERBEN, 2003).

Após a administração dos fluorocromos via oral ou parenteral, estes entram na corrente sanguínea e se ligam, preferencialmente, a sítios onde há formação de novo tecido mineralizado (URIST, IBSEN, 1963 apud ERBEN, 2003).

A marcação dos tecidos mineralizados por fluorocromos nos cortes histológicos se faz por forma de bandas, cuja espessura está na dependência da velocidade do processo de mineralização e do tempo que o corante circula no fluido extracelular. Essas bandas permanecem por longos períodos e os corantes não são liberados até que o osso seja reabsorvido por osteoclastos. Uma vez reabsorvidos, esses fluorocromos não são re-incorporados pelo osso devido à sua baixa concentração plasmática (KLEIN, JACKMAN, 1976 apud ERBEN, 2003).

Na implantodontia, o uso de fluorocromos é bem documentado em estudos sobre a interface osso e superfície de titânio (NISHIKAWA et al., 2006; PIATTELLI et al., 1994), na avaliação de diferentes tratamentos de superfície de implante (PALMA et al., 2006; PAPALEXIOU et al., 2004) e diferentes técnicas cirúrgicas (NKENKE et al., 2002) e na comparação entre substitutos ósseos e técnicas regenerativas

(ARISAN et al., 2008; BELOTI et al., 2006; GUTTA et al., 2009; LEE et al., 2008; MURAI et al., 2005; SHAND et al., 2002).

### **3. PROPOSIÇÃO**

O presente estudo tem como finalidade comparar *in vivo* a formação óssea em enxertos em bloco tipo *onlay* alógeno e autógeno em osso ilíaco de coelhos, por meio de análise histomorfométrica utilizando microscopia óptica e de fluorescência.

#### 4. MATERIAL E MÉTODO

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santo Amaro (parecer nº 080/2008, Anexo A) de acordo com os “Princípios Éticos de Experimentação Animal”, elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), segundo normas internacionais para a utilização de animais em pesquisas embasadas na tríade “sensibilidade, bom senso e boa ciência”.

Os animais selecionados para a pesquisa foram coelhos, provenientes do biotério do Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas (UNITOX) da Universidade de Santo Amaro (UNISA), assistidos e medicados por médicos veterinários. As cirurgias foram realizadas nas dependências da Faculdade de Medicina Veterinária da UNISA.

Foram utilizados 13 coelhos da raça New Zealand, fêmeas, com peso variável entre 3,5 a 4 kg e idade entre 11 e 15 meses. Os animais foram inicialmente mantidos em observação por um período de 15 dias após a chegada, para que fossem descartadas quaisquer anomalias no estado geral de saúde. Três coelhos foram selecionados como doadores do material alógeno, sendo os dez restantes utilizados nos procedimentos cirúrgicos experimentais.

Os animais foram tatuados na orelha com números para identificação e acondicionados em local apropriado com ventilação e temperaturas controladas ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e alimentados igualmente com ração Nutríara<sup>®3</sup> e água administrados *ad libitum*.

##### 4.1 Captação, processamento e armazenamento do osso alógeno

Os coelhos destinados a remoção de material para captação dos enxertos alógenos foram submetidos a sedação com cloridrato de quetamina (40 mg/kg

---

<sup>3</sup> Paulínia, SP - Brasil

coelho, via intramuscular), xilazina (5 mg/kg coelho, via intramuscular) e fentanila (7,4 mcg/kg coelho, via endovenosa).

Após a sedação, a tricotomia foi realizada no dorso do coelho sob o osso ilíaco com auxílio de um aparelho elétrico de barbear (Ilustração 1). Procedeu-se a antissepsia do campo com auxílio de uma escova embebida em solução de clorexidina a 2% (Riohex 2%)<sup>4</sup> nas áreas a serem operadas. Durante a cirurgia foram colocados campos estéreis sobre o coelho, expondo apenas a região do osso ilíaco; para a oxigenação valeu-se de uma máscara inalatória disposta na cabeça do animal.



**ILUSTRAÇÃO 1.** Dorso do coelho tricotomizado, na região de acesso à crista íliaca.

A área a ser incisada foi infiltrada com lidocaína a 2%, para que se conseguisse uma hemostasia local mais efetiva durante o procedimento cirúrgico. Foi realizada uma incisão com lâmina de bisturi nº15 de aproximadamente 8 cm, ultrapassando os planos cutâneo, muscular e periósteo, expondo toda a região do osso ilíaco. Oito cilindros ósseos do ilíaco com 5 mm de diâmetro e espessura aproximada de 1,5 mm foram removidos de cada coelho, com o auxílio de uma trefina em baixa rotação e irrigação profusa (Ilustração 2). As dimensões dos

---

<sup>4</sup> Rioquímica Indústria Farmacêutica, São José do Rio Preto, SP - Brasil

enxertos foram aferidas com uma sonda periodontal universal Carolina do Norte (Hu-Friedy)<sup>5</sup>.



**ILUSTRAÇÃO 2.** Confeccção dos blocos com trefina em baixa rotação 3ssea para processamento de banco de osso.

Ap3s a remoção dos enxertos, eutanásia foi realizado por sobredosagem de cloreto de potássio<sup>6</sup> (100 mg/kg coelho; via intra-cardíaca). O transporte dos enxertos al3genos foi realizado em recipiente com gelo seco em todas as fases do experimento para que o material permanecesse sob baixas temperaturas.

Amostras de enxertos foram obtidas de cada animal doador, acondicionadas em frascos, no primeiro contendo o meio *Brain Heart Infusion*- BHI para pesquisa de bact3rias aer3bias e anaer3bias e no segundo contendo o meio *Agar Sabouraud* para pesquisa de fungos. As análises microbiol3gicas foram realizadas pelo Laborat3rio de Análises Clínicas BIESP em São Paulo com a finalidade de descartarmos material de enxertia contaminado.

Os protocolos de processamento e criopreservação dos enxertos al3genos foram os do Banco de Tecidos Musculo-Esqueletais do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT-FMUSP). Estes seguem as diretrizes estabelecidas pela legislação brasileira

---

<sup>5</sup> Hu-Friedy, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

<sup>6</sup> Samtec Biotecnologia, São Paulo, SP - Brasil

(Portaria n.1686 de 20 de setembro de 2002) e pelo *standards* da *European Association of Tissue Banks* (EATB, 2004) e *American Association of Tissue Banks* (AATB, 1992). Cada bloco foi acondicionado e identificado em triplos invólucros estéreis resistentes a baixas temperaturas (Ilustração 3) e encaminhados em recipientes com gelo seco ao Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical do Instituto de Medicina Tropical e Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde permaneceram em quarentena por um período mínimo de 40 dias e máximo de 130 dias. Durante esta etapa os tecidos foram mantidos a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , em *ultrafreezer* equipado com *backup* de  $\text{CO}_2$ , sistema de controle de temperatura e alarme. Mediante o resultado negativo da análise microbiológica, os tecidos foram utilizados para o experimento.



**ILUSTRAÇÃO 3.** Momento do processamento dos tecidos removidos para banco de osso.

#### 4.2 Procedimento cirúrgico

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados nas dependências do Laboratório de Técnica Cirúrgica Experimental da Universidade de Santo Amaro

(UNISA, São Paulo). Os animais dos grupos experimentais foram pesados no pré-operatório, para que fosse utilizada a quantidade de droga anestésica ideal bem como das drogas pós-operatórias para cada animal. A sedação foi realizada por via intramuscular na parte posterior da coxa, seguindo-se o protocolo da Disciplina de Medicina Veterinária da UNISA: cloridrato de quetamina (40 mg/kg coelho, via intramuscular); xilazina (5 mg/kg coelho, via intramuscular); fentanila (7,4 mcg/kg coelho, via endovenosa). Para verificação da sedação foram avaliados o relaxamento muscular, a diminuição da frequência respiratória e os reflexos auricular e podal.

Após a sedação, a tricotomia foi realizada no dorso do coelho sobre o osso ilíaco com auxílio de um aparelho elétrico de barbear, seguida por antissepsia do campo com auxílio de uma escova embebida em solução degermante de clorexidina a 2% (Riohex 2%)<sup>7</sup>, nas áreas operadas. Campos estéreis foram colocados sobre cada coelho, expondo apenas a região do osso ilíaco (Ilustração 4). A oxigenação foi realizada através de uma máscara inalatória disposta na cabeça do animal. A frequência respiratória e cardíaca foi monitorada por um oxímetro e acompanhada pelo veterinário responsável.



**ILUSTRAÇÃO 4.** Colocação de campos estéreis sobre dorso do coelho após antissepsia.

---

<sup>7</sup> Rioquímica Indústria Farmacêutica, São José do Rio Preto, SP - Brasil

Todos os animais receberam anestesia local na região do osso íliaco por infiltração de um tubete com 1,8 mL de cloridrato de lidocaína a 2% com epinefrina 1:100.000<sup>8</sup>, aplicadas com auxílio de seringa carpule e agulha gengival curta.

Foi realizada uma incisão com lâmina de bisturi nº15 de aproximadamente 3 cm (Ilustração 5), ultrapassando os planos cutâneo, muscular e periósteo, expondo toda a região do osso íliaco (Ilustração 6). Os coelhos dos grupos experimentais receberam em um dos ossos íliacos um enxerto alógeno e outro autógeno na forma de blocos cilíndricos fixados com parafusos de osteossíntese com 1,6 mm de diâmetro por 4 mm de comprimento. O enxerto autógeno foi retirado do osso íliaco, próximo ao leito receptor para diminuir a morbidade do procedimento cirúrgico. Os enxertos foram retirados com o auxílio de uma trefina de 5 mm de diâmetro e com espessura de 1,5 mm aferidos com um sonda periodontal universal Carolina do Norte (Hu-Friedy)<sup>9</sup>, mesmas dimensões do enxerto alógeno. Após a fixação dos mesmos (Ilustração 7), realizou-se sutura do plano muscular (Ilustração 8) com fio absorvível 5-0 (Vicryl<sup>®</sup> J 121 H)<sup>10</sup> e do plano cutâneo (Ilustração 9) com fio de náilon 5-0 (Mononylon<sup>®</sup> 13501 T)<sup>11</sup>. Foram utilizados curativos sobre a sutura de náilon para proteção da área operada. Após um período de 14 dias a sutura não absorvível foi removida. Tanto o posicionamento dos enxertos quanto o lado da crista íliaca operada foram escolhidos por meio de sorteio, de tal forma que metade dos coelhos fossem submetidos à enxertia do lado direito e metade do lado oposto. A escolha do local de fixação dos enxertos foi feita de forma que metade dos enxertos autógenos fossem fixados em uma posição mais proximal da crista íliaca e metade em uma posição mais distal, quando comparados ao enxerto alógeno. As informações de posicionamento dos enxertos foram documentados em fichas clínicas, bem como peso do animal, datas dos procedimentos cirúrgicos e administração dos fluorocromos e possíveis intercorrências (Anexo B).

---

<sup>8</sup> Alphacaine 100, DFL, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

<sup>9</sup> Hu-Friedy, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

<sup>10</sup> Ethicon, São José dos Campos, SP - Brasil

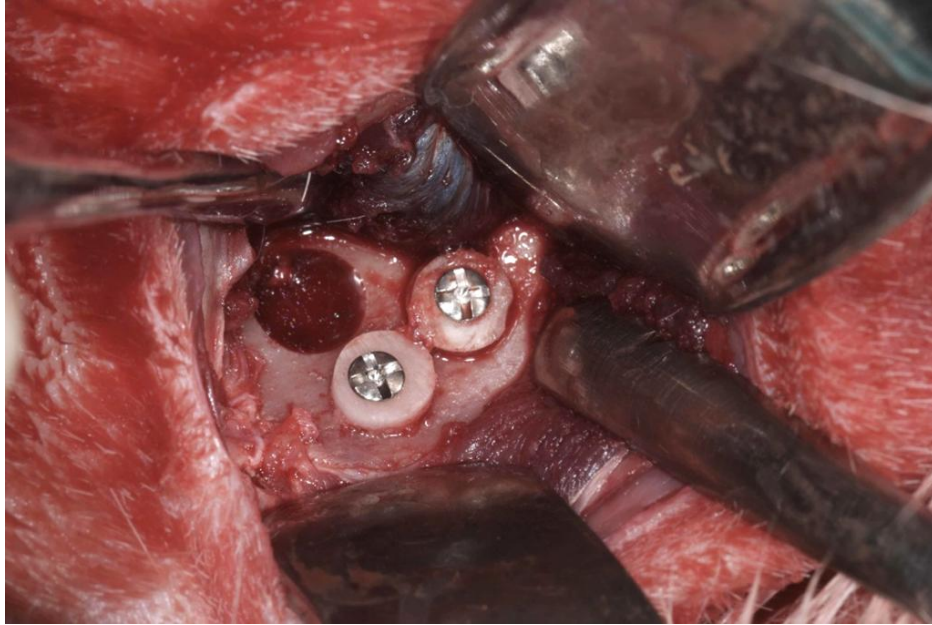
<sup>11</sup> Ethicon, São José dos Campos, SP - Brasil



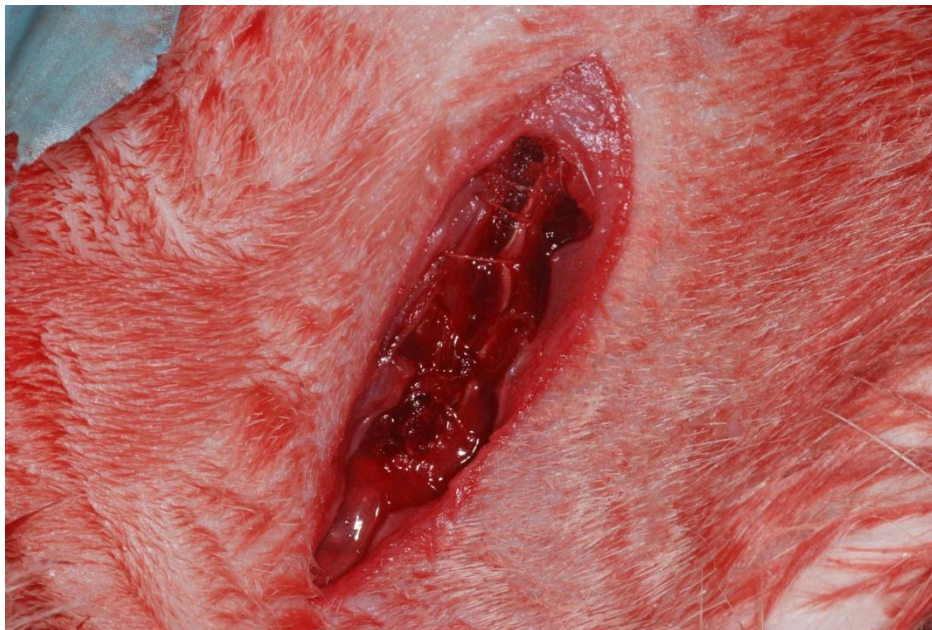
**ILUSTRAÇÃO 5.** Incisão do plano cutâneo para acesso ao osso ilíaco.



**ILUSTRAÇÃO 6.** Exposição do osso ilíaco por incisão dos planos cutâneo e muscular.



**ILUSTRAÇÃO 7.** Visualização da área doadora e dos enxertos autógeno e alógeno fixados por parafusos de osteossíntese.



**ILUSTRAÇÃO 8.** Sutura do plano muscular com fio absorvível 5-0 (Vicryl<sup>®</sup> J 121 H)<sup>12</sup>.

---

<sup>12</sup> Ethicon, São José dos Campos, SP - Brasil



**ILUSTRAÇÃO 9.** Sutura do plano cutâneo com fio de náilon 5-0 (Mononylon® 13501 T)<sup>13</sup>.

#### 4.3 Administração dos marcadores ósseos

Durante o período pós-operatório de 18 semanas, os coelhos receberam diferentes marcadores ósseos fluorescentes (fluorocromos)<sup>14</sup>, via intravenosa, com o intuito de acompanhar a dinâmica do remodelamento ósseo e conforme o seguinte protocolo: décimo quarto dia (D14) alizarina (20 mg/kg; via intravenosa), após seis semanas (D42) calceína azul (20 mg/kg; via intravenosa), após dez semanas (D70) calceína verde (20 mg/kg; via intravenosa) e após 14 semanas (D98) oxitetraciclina HCl (20 mg/kg; via intravenosa). Os três primeiros fluorocromos (alizarina, calceína azul e calceína verde) foram preparados imediatamente antes do uso com solução de bicarbonato de sódio 2% na concentração de 20 mg/ml. Após o preparo, o pH foi ajustado para 7,4 e a solução filtrada com um filtro de 0,45 µm. O último fluorocromo (oxitetraciclina HCl) foi preparado em solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9% na mesma concentração de 20 mg/ml. Cada animal recebeu uma dose de 1 ml/kg da solução.

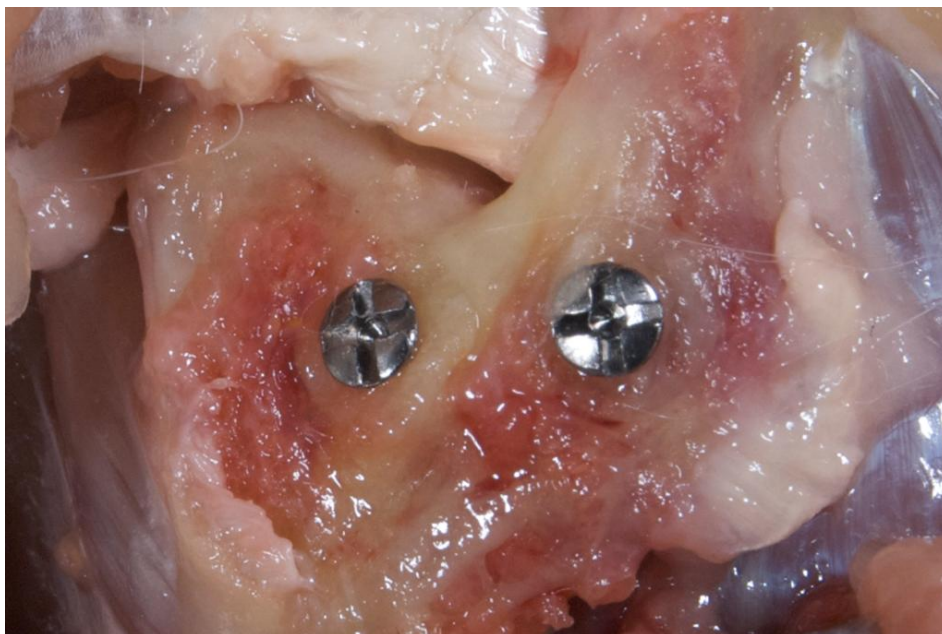
---

<sup>13</sup> Ethicon, São José dos Campos, SP - Brasil

<sup>14</sup> Sigma, Chemical, St. Louis – Estados Unidos da América

#### 4.4 Eutanásia

O segundo procedimento cirúrgico ocorreu 18 semanas após o primeiro, quando realizou-se a eutanásia dos animais por sobredosagem de cloreto de potássio<sup>15</sup> (100 mg/kg coelho; via intra-cardíaca) e a remoção dos enxertos (Ilustração 10). Após sedação dos animais seguindo o protocolo já mencionado, os enxertos foram removidos com uma trefina de 5 mm de diâmetro conectada à peça reta de tal forma que o centro da trefina coincidissem com o centro do enxerto (parafuso de fixação).



**ILUSTRAÇÃO 10.** Exposição dos enxertos para a remoção com trefina, após o período de 18 semanas.

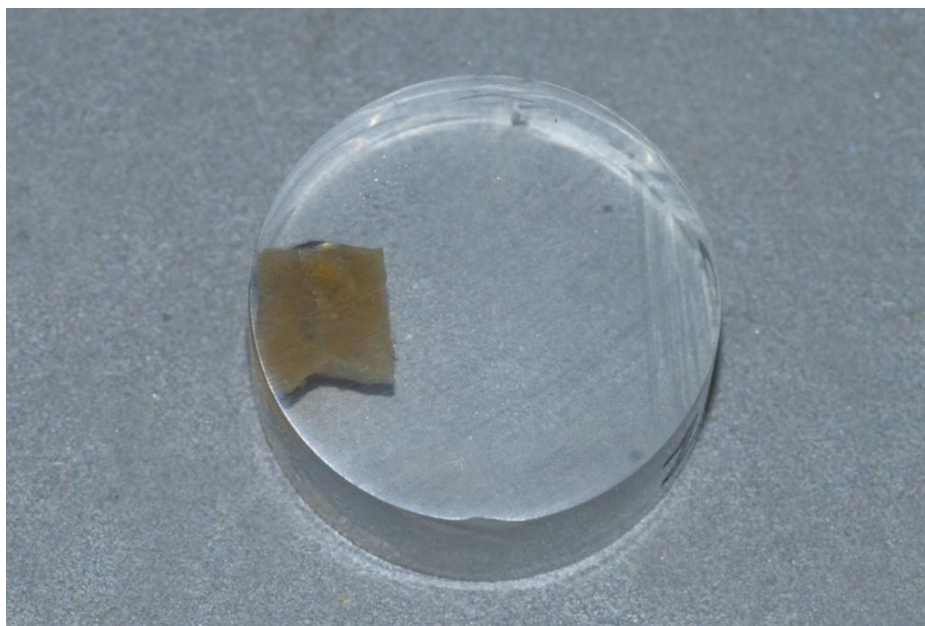
#### 4.5 Preparo das lâminas

As peças foram fixadas em uma solução a 4% de formalina pH 7, por 24 horas. Posteriormente, foram lavadas em água corrente por duas horas e transferidas para uma solução de etanol a 70% até o processamento. Realizou-se a

---

<sup>15</sup> Samtec Biotecnologia, São Paulo, SP - Brasil

desidratação em concentrações ascendentes de álcool até 99,6%, infiltração e embebição em resina (metilmetacrilato)<sup>16</sup> (Ilustração 11), seccionamento pela técnica descrita por Donath e Breuner (1982) para tecido duro e preparação para análise da fluorescência dos corantes aplicados (Ilustrações 12 e 13). A inclusão dos espécimes e preparo das lâminas foram realizados no Laboratório de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.



**ILUSTRAÇÃO 11.** Enxerto removido por trefina incluído em resina.

---

<sup>16</sup> Methyl methacrylate, Aldrich, São Paulo, SP - Brasil



**ILUSTRAÇÃO 12.** Sistema para seccionamento dos blocos em resina (Exakt 300<sup>17</sup>).



**ILUSTRAÇÃO 13.** Seccionamento do enxerto em resina (Exakt 300<sup>18</sup>).

---

<sup>17</sup> Exakt Apparatebau GmbH&Co., Norderstedt - Alemanha

<sup>18</sup> Exakt Apparatebau GmbH&Co., Norderstedt - Alemanha

## 4.6 Microscopia

A avaliação microscópica<sup>19</sup> das lâminas foi realizada no Laboratório de Microscopia e Análise de Imagens do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Bucu-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Ilustração 14).



**ILUSTRAÇÃO 14.** Equipamento utilizado para análise microscópica no Laboratório de Microscopia e Análise de Imagens do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Bucu-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

### 4.6.1 Análise de fluorescência

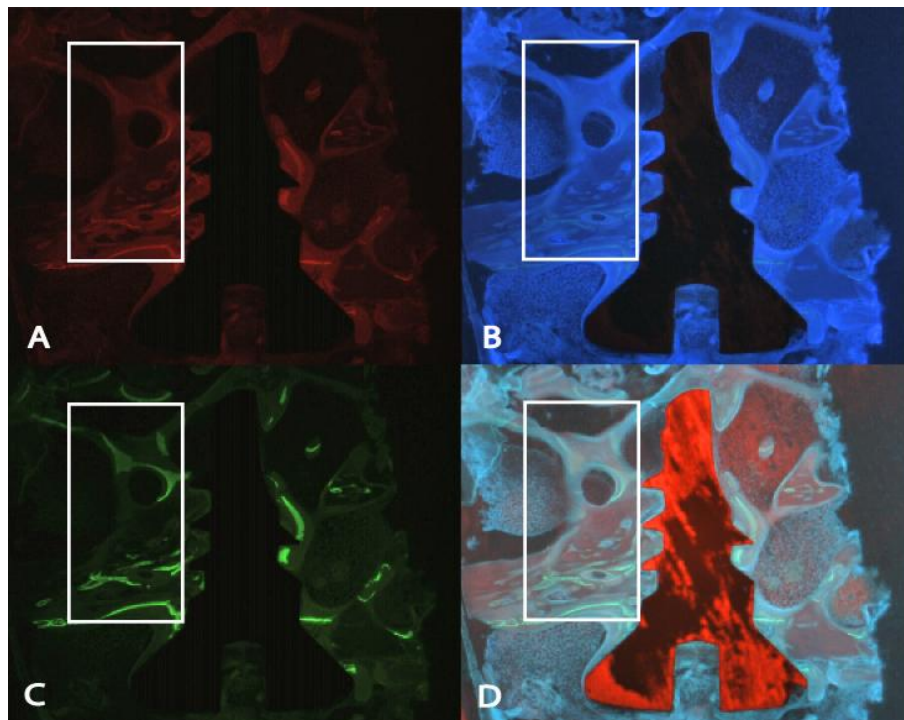
Duas secções histológicas longitudinais de 20-30  $\mu\text{m}$  de espessura com magnitude de 2,5 vezes, de cada enxerto, foram captadas através de uma câmera

---

<sup>19</sup> Leica DM LB2, Leica Microsystems GmbH, Nussloch - Alemanha

digital<sup>20</sup> acoplada a um microscópio de fluorescência<sup>21</sup> e filtros específicos para cada fluorocromo.

Uma área de 3 mm de comprimento por 1,5 mm de largura adjacente à cabeça do parafuso de fixação em cada secção foi avaliada quanto à fluorescência de cada fluorocromo (Ilustração 15). A quantificação dos diferentes fluorocromos foi realizada com o auxílio de programa de computador apropriado<sup>22</sup>.



**ILUSTRAÇÃO 15.** Área delimitada para a quantificação dos diferentes fluorocromos A – Alizarina, B – Calceína Azul, C – Calceína verde e D - Oxitetraciclina (magnificação de 2,5x).

<sup>20</sup> Leica DC 300F, Leica Microsystems GmbH, Nussloch - Alemanha

<sup>21</sup> Leica DM LB2, Leica Microsystems GmbH, Nussloch - Alemanha

<sup>22</sup> Leica QWin Image Processing and Analysis System, Leica Microsystems GmbH, Nussloch - Alemanha

#### 4.6.2 Análise histométrica

Após a análise de fluorescência, as lâminas foram coradas com *Stevenel's Blue* e *Alizarin red S* para análise histométrica. Um microscópio óptico<sup>23</sup> acoplado a uma câmera digital colorida com resolução de 1,4 Mpixel<sup>24</sup> foi utilizado para captação de duas secções histológicas longitudinais de 20-30  $\mu\text{m}$  de espessura com magnitudes de 2,5 vezes e duas secções com magnitude de dez vezes. Um programa de computador<sup>25</sup> foi utilizado para a quantificação dos parâmetros avaliados: densidade óssea e contato osso/parafuso de fixação (COI).

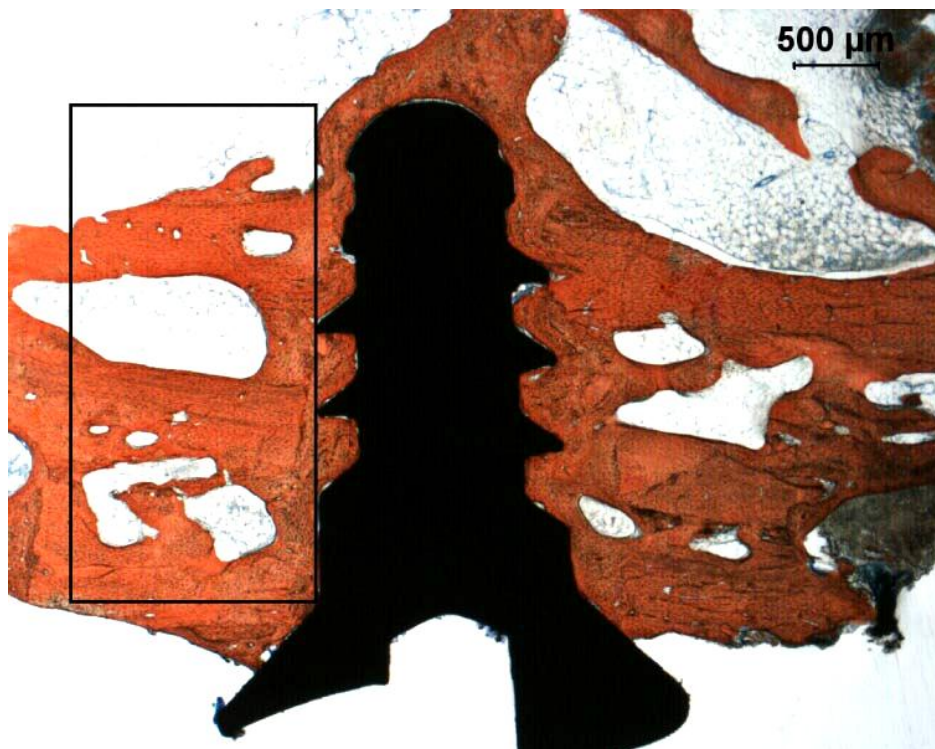
Em magnitude de 2,5 vezes, uma área de 3 mm comprimento por 1,5 mm de largura adjacente à cabeça do parafuso de fixação foi avaliada quanto à densidade óssea, determinada pela proporção de tecido mineralizado por área total avaliada (Ilustração 16). O valor médio entre as duas secções foi considerado o resultado da amostra.

---

<sup>23</sup> Leica DM LB2, Leica Microsystems Gmbh, Nussloch - Alemanha

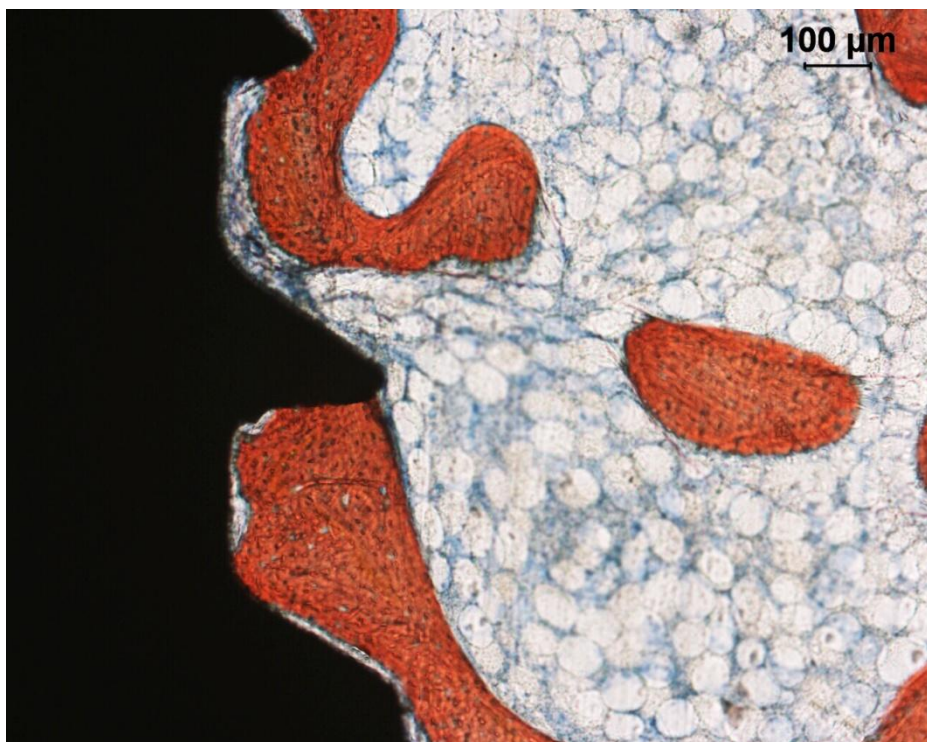
<sup>24</sup> Leica DC 300F, Leica Microsystems Gmbh, Nussloch - Alemanha

<sup>25</sup> Leica QWin Image Processing and Analysis System, Leica Microsystems Gmbh, Nussloch - Alemanha



**ILUSTRAÇÃO 16.** Fotomicrografia da localização do campo (retângulo delimitado) a ser analisado para variável densidade óssea (magnificação de 2,5x, coloração de *Stevenel's Blue* e *Alizarin red S*).

A porcentagem de tecido mineralizado em contato direto com a superfície do parafuso de fixação em ambos os lados do parafuso foi determinada em magnitude de 10 vezes, através de medidas lineares, nos primeiros 1,34 mm do comprimento do parafuso de fixação, correspondendo a região do enxerto (Ilustração 17). O valor médio entre as medidas dos dois lados foi considerado o resultado da amostra.



**ILUSTRAÇÃO 17.** Fotomicrografia do campo a ser analisado para variável COI (magnificação de 10x, coloração de *Stevenel's Blue* e *Alizarin red S*).

Um único examinador que não tinha conhecimento da origem dos enxertos, ou seja, se eram autógenos ou alógenos, interpretou os resultados.

#### 4.7 Análise estatística

Os dados foram agrupados utilizando-se os enxertos como unidade de análise. Médias, medianas, desvios-padrão e valores mínimos e máximos foram calculados para cada grupo de enxertos e fluorocromos aplicados. Todos os testes estatísticos foram aplicados para nível de significância de 5% com o programa gratuito de estatística R (versão 2.9.2)<sup>26</sup>.

O teste de *Shapiro-Wilk* foi aplicado para comparação entre grupos, com a finalidade de testar a normalidade dos dados e, subseqüentemente, escolhermos se

---

<sup>26</sup> Departamento de Estatística e Matemática da Wirtschafts Universität Wien, Viena – Áustria (<http://www.r-project.org>)

aplicamos teste paramétrico de *T-student* ou não paramétrico da Soma de postos de *Wilcoxon*.

Os diferentes fluorocromos foram comparados em cada grupo, aplicando-se o teste de *Friedman* e comparação múltipla, para saber quais médias diferenciam a 5%.

## 5. RESULTADOS

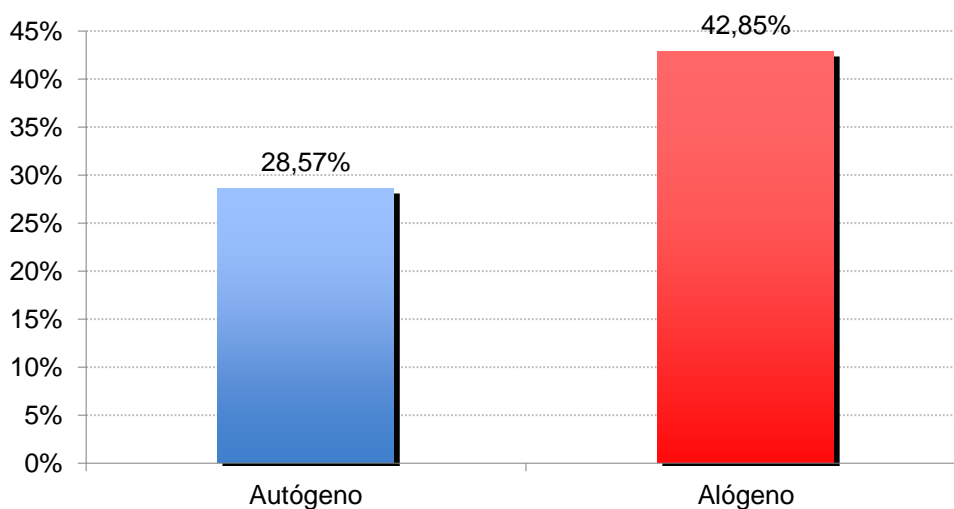
### 5.1 Resultados macroscópicos

No período pós-operatório um coelho foi sacrificado, pois houve fratura da cabeça do fêmur devido ao trauma cirúrgico. Durante a administração endovenosa dos fluorocromos, dois coelhos faleceram possivelmente por hipocalcemia durante a administração dos corantes calceína verde e alizarina (Tabela 1). Portanto, sete coelhos foram avaliados no estudo.

Os parafusos de fixação apresentaram recobrimento ósseo em 42,85% dos enxertos homólogos e 28,57% dos enxertos autógenos (Ilustração 18).

**TABELA 1.** Motivo de perda dos coelhos durante o experimento.

COELHO (IDENTIFICAÇÃO)	MOTIVO DE PERDA DO COELHO
2	FRATURA DO FÊMUR DIREITO
8	HIPOCALCEMIA (CALCEÍNA VERDE)
9	HIPOCALCEMIA (ALIZARINA)



**ILUSTRAÇÃO 18.** Prevalência de recobrimento do parafuso de fixação por osso nos grupos (%).

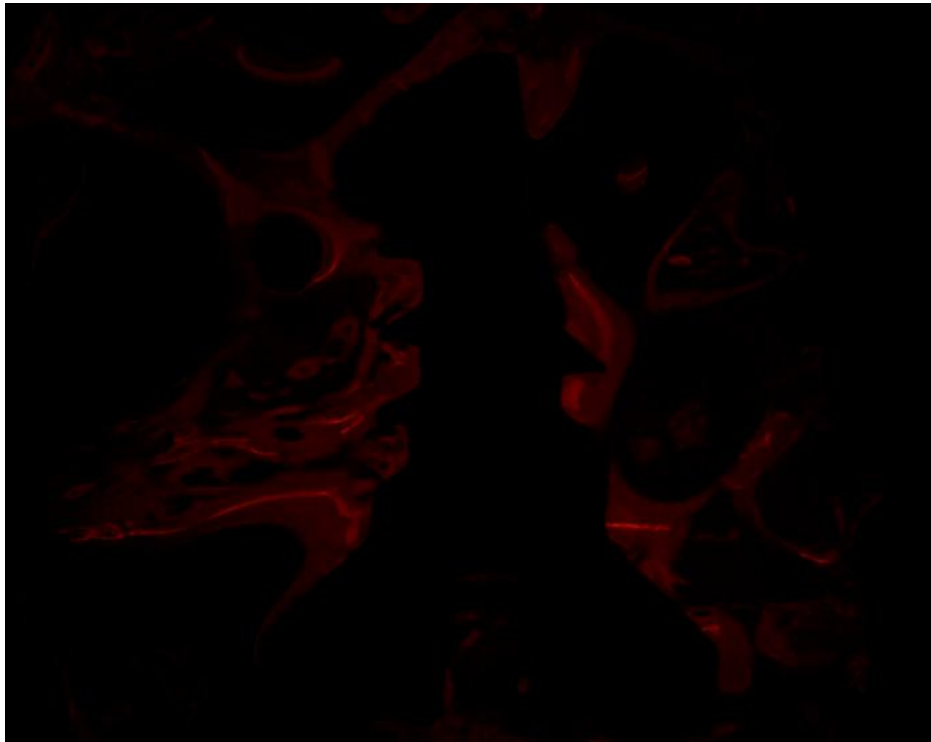
## 5.2 Resultados da análise de fluorescência

A análise da microscopia de fluorescência revelou a porcentagem do tecido ósseo impregnado pelos diferentes fluorocromos durante o seu processo de calcificação. Os valores obtidos pela análise dos fluorocromos apresentam-se na Tabela 2.

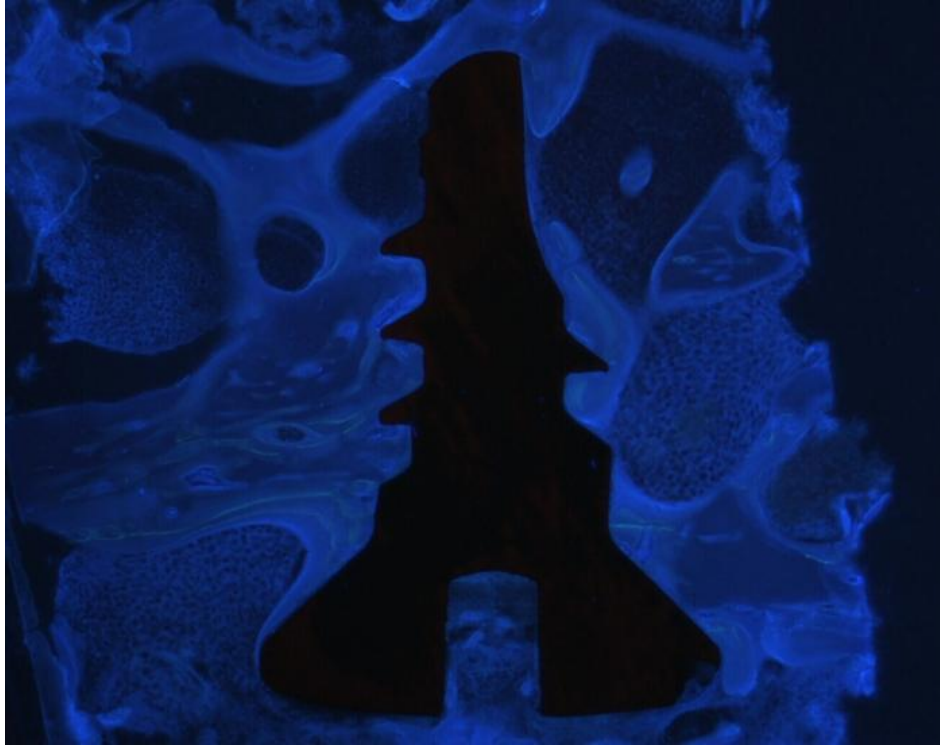
**TABELA 2.** Porcentagem do tecido mineralizado que apresentou fluorescência para os diferentes fluorocromos (%).

COELHO	TIPO DE ENXERTO	ALIZARINA (%)	CALCEÍNA AZUL (%)	CALCEÍNA VERDE (%)	OXITETRACICLINA (%)
1	AUTÓGENO	0,34	4,29	2,47	2,19
	ALÓGENO	1,26	4,48	2,10	2,27
3	AUTÓGENO	1,14	3,44	2,57	1,71
	ALÓGENO	0,03	2,29	2,37	1,74
4	AUTÓGENO	0,05	3,05	3,85	0,87
	ALÓGENO	0,02	4,99	5,87	1,48
5	AUTÓGENO	0,07	4,11	2,87	3,33
	ALÓGENO	0,07	4,70	1,44	1,74
6	AUTÓGENO	0,02	2,40	4,73	0,08
	ALÓGENO	0,09	3,26	1,88	0,77
7	AUTÓGENO	0,07	3,76	2,42	0,20
	ALÓGENO	0,16	2,43	3,79	0,30
10	AUTÓGENO	0,00	5,29	3,78	0,38
	ALÓGENO	0,05	4,47	5,05	0,43

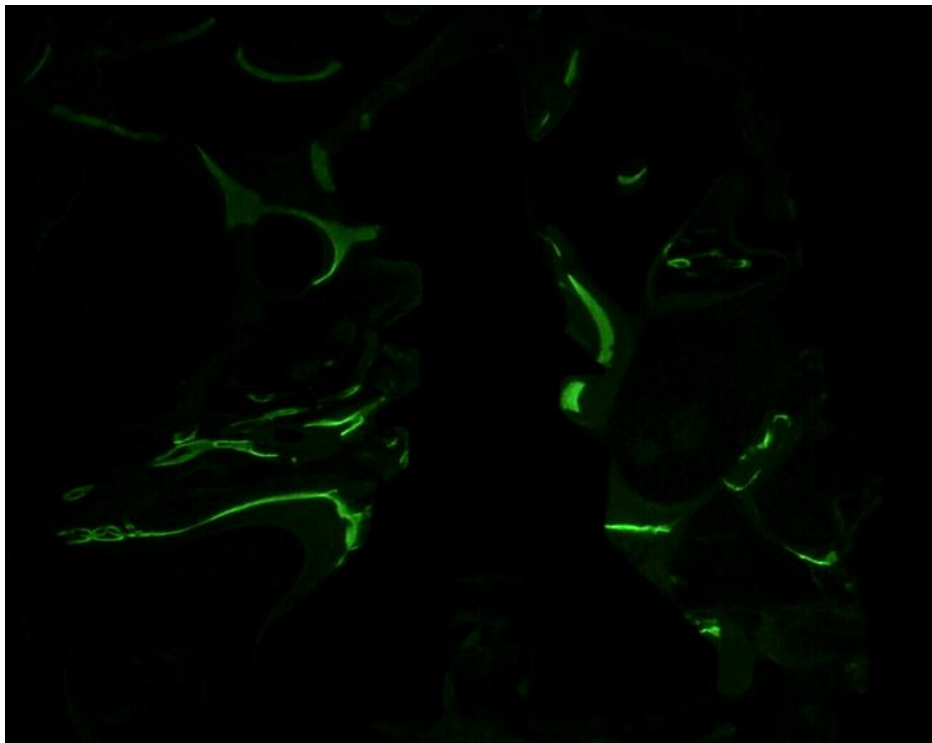
Os enxertos autógenos apresentaram os seguintes valores médios de fluorescência  $0,24 \pm 0,41\%$ ,  $3,76 \pm 0,93\%$ ,  $3,24 \pm 0,89\%$  e  $1,25 \pm 1,21\%$  para os fluorocromos alizarina, calceína azul, calceína verde e oxitetraciclina, respectivamente. Os valores médios para os enxertos alógenos foram:  $0,24 \pm 0,45\%$ ,  $3,80 \pm 1,12\%$ ,  $3,21 \pm 1,71\%$  e  $1,25 \pm 0,75\%$  para os fluorocromos alizarina, calceína azul, calceína verde e oxitetraciclina, respectivamente (Ilustrações 19, 20, 21, 22 e 23). Os valores de média, mediana, desvios-padrão, mínimo e máximo de cada fluorocromo nos diferentes tipos de enxerto apresentam-se na Tabela 3 e Ilustração 24.



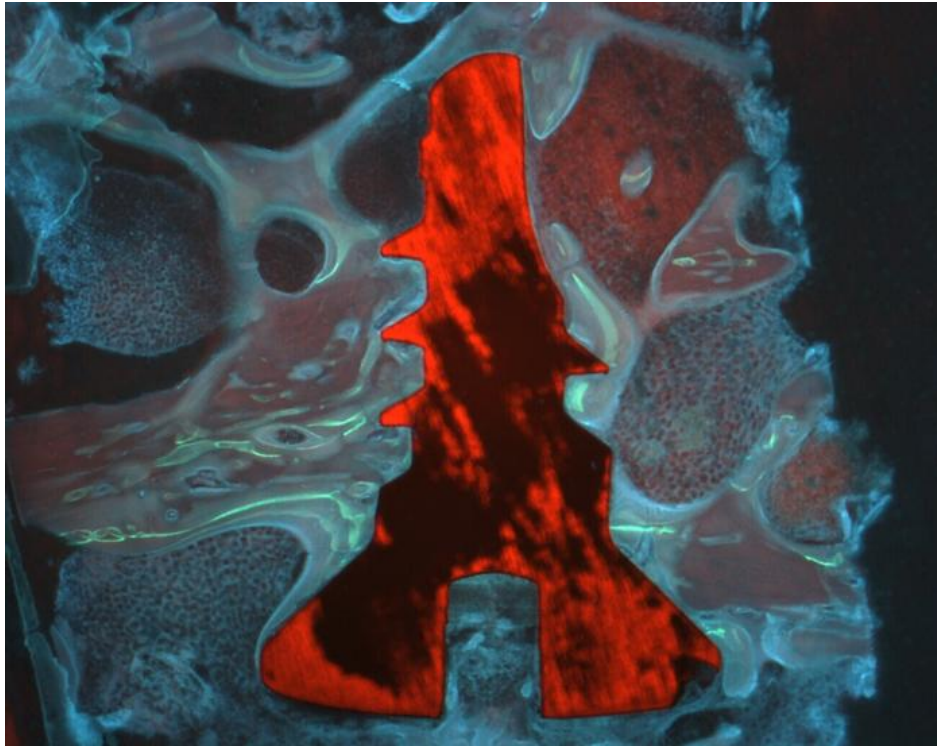
**ILUSTRAÇÃO 19.** Impregnação do tecido ósseo neoformado em 14 dias por alizarina (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).



**ILUSTRAÇÃO 20.** Impregnação do tecido ósseo neoformado em 42 dias por calceína azul (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).



**ILUSTRAÇÃO 21.** Impregnação do tecido ósseo neoformado em 70 dias por calceína verde (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).



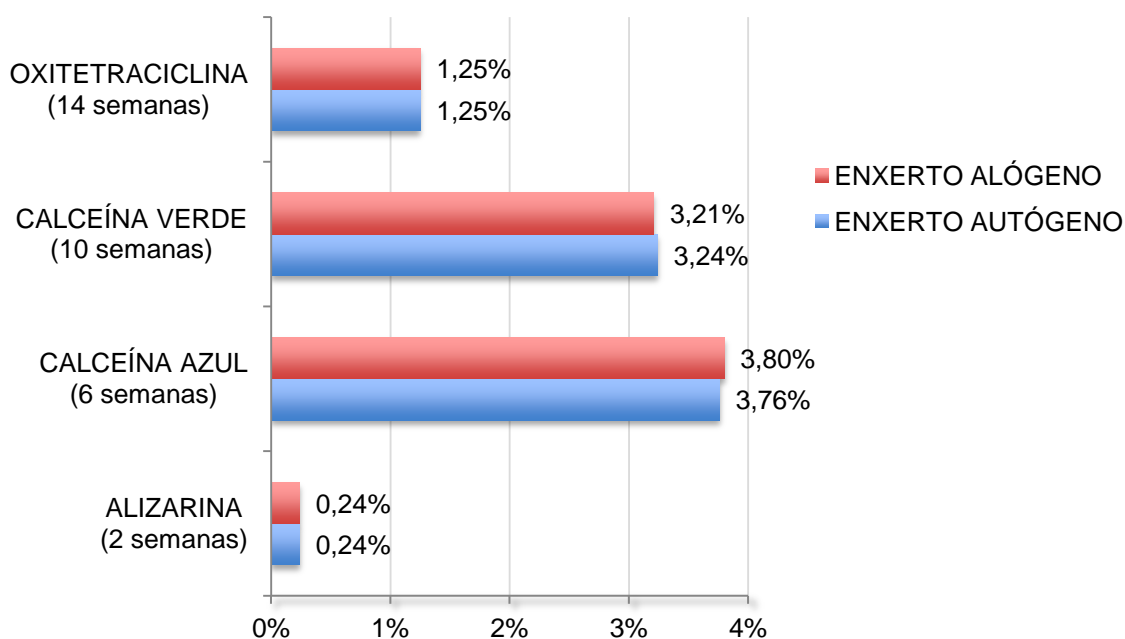
**ILUSTRAÇÃO 22.** Impregnação do tecido ósseo neoformado em 98 dias por oxitetraciclina (microscopia de fluorescência com magnificação de 2,5x).



**ILUSTRAÇÃO 23.** Microscopia de fluorescência com marcação múltipla. Setas pretas, vermelhas e azuis indicam impregnação por calceína verde, oxitetraciclina e calceína azul, respectivamente (magnificação de 2,5x).

**TABELA 3.** Valores de média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo dos fluorocromos nos grupos.

FLUOROCROMO	TIPO DE ENXERTO	MÉDIA (%)	MEDIANA (%)	DESVIO PADRÃO (%)	VALOR MÍNIMO (%)	VALOR MÁXIMO (%)
ALIZARINA	AUTÓGENO	0,24	0,07	0,41	0,00	1,14
	ALÓGENO	0,24	0,07	0,45	0,02	1,26
CALCEÍNA AZUL	AUTÓGENO	3,76	3,76	0,93	2,40	5,29
	ALÓGENO	3,80	4,47	1,12	2,29	4,99
CALCEÍNA VERDE	AUTÓGENO	3,24	2,87	0,89	2,42	4,73
	ALÓGENO	3,21	2,37	1,71	1,44	5,87
OXITETRACICLINA	AUTÓGENO	1,25	0,87	1,21	0,08	3,33
	ALÓGENO	1,25	1,48	0,75	0,30	2,27



**ILUSTRAÇÃO 24.** Porcentagem de neoformação óssea por tipo de enxerto (%)

Segundo o teste de *Shapiro-Wilk*, apenas os valores do fluorocromo alizarina não apresentaram normalidade ( $p < 0,05$ ) tanto para os enxertos autógenos quanto para os alógenos (Tabela 4).

**TABELA 4.** Resultados do teste de *Shapiro-Wilk* quanto à normalidade dos grupos ( $p < 0,05$ )

FLUOROCROMO	ENXERTO AUTÓGENO (p)	ENXERTO ALÓGENO (p)
ALIZARINA	0,0009	0,0001
CALCEÍNA AZUL	0,9961	0,1284
CALCEÍNA VERDE	0,1815	0,2689
OXITETRACICLINA	0,3407	0,4557

Devido a não normalidade dos valores apresentados pelo corante alizarina, aplicou-se o teste não paramétrico de Soma de posto de *Wilcoxon* para este fluorocromo e de *T-student* para os outros (calceína azul, calceína verde e oxitetraciclina), ambos testes com significância de 5% ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5).

**TABELA 5.** Comparação da incorporação dos fluorocromos entre grupos (enxertos autógenos e alógenos).

FLUOROCROMO	VALOR DE p
ALIZARINA	0,5625
CALCEÍNA AZUL	0,9326
CALCEÍNA VERDE	0,9682
OXITETRACICLINA	0,9885

Segundo o teste de *Wilcoxon* para a alizarina e *T-student* para os demais fluorocromos, não houve diferenças estatísticas significantes a 5% com relação à incorporação dos mesmos entre os enxertos autógenos e alógenos.

O teste de *Friedman* foi aplicado para comparar a incorporação dos diferentes fluorocromos nos grupos estudados e verificou-se diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em ambos os grupos (Tabela 6). Aplicou-se uma comparação múltipla com a finalidade

de saber quais médias dos fluorocromos diferenciam a 5% para cada grupo isoladamente (Tabelas 7 e 8).

**TABELA 6.** Comparação da incorporação dos diferentes fluorocromos (teste de *Friedman*).

	ALIZARINA	CALCEÍNA AZUL	CALCEÍNA VERDE	OXITETRACICLINA	VALOR DE p
<b>AUTÓGENO</b>	0,24	3,76	3,24	1,25	0,0005
<b>ALÓGENO</b>	0,24	3,80	3,21	1,25	0,0012

**TABELA 7.** Comparação múltipla dos fluorocromos para os enxertos autógenos ( $p < 0,05$ ).

FLUOROCROMO	ALIZARINA	CALCEÍNA AZUL	CALCEÍNA VERDE	OXITETRACICLINA
<b>ALIZARINA</b>		SIM	SIM	NÃO
<b>CALCEÍNA AZUL</b>			NÃO	NÃO
<b>CALCEÍNA VERDE</b>				NÃO
<b>OXITETRACICLINA</b>				

**TABELA 8.** Comparação múltipla dos fluorocromos para os enxertos alógenos ( $p < 0,05$ ).

FLUOROCROMO	ALIZARINA	CALCEÍNA AZUL	CALCEÍNA VERDE	OXITETRACICLINA
<b>ALIZARINA</b>		SIM	SIM	NÃO
<b>CALCEÍNA AZUL</b>			NÃO	NÃO
<b>CALCEÍNA VERDE</b>				NÃO
<b>OXITETRACICLINA</b>				

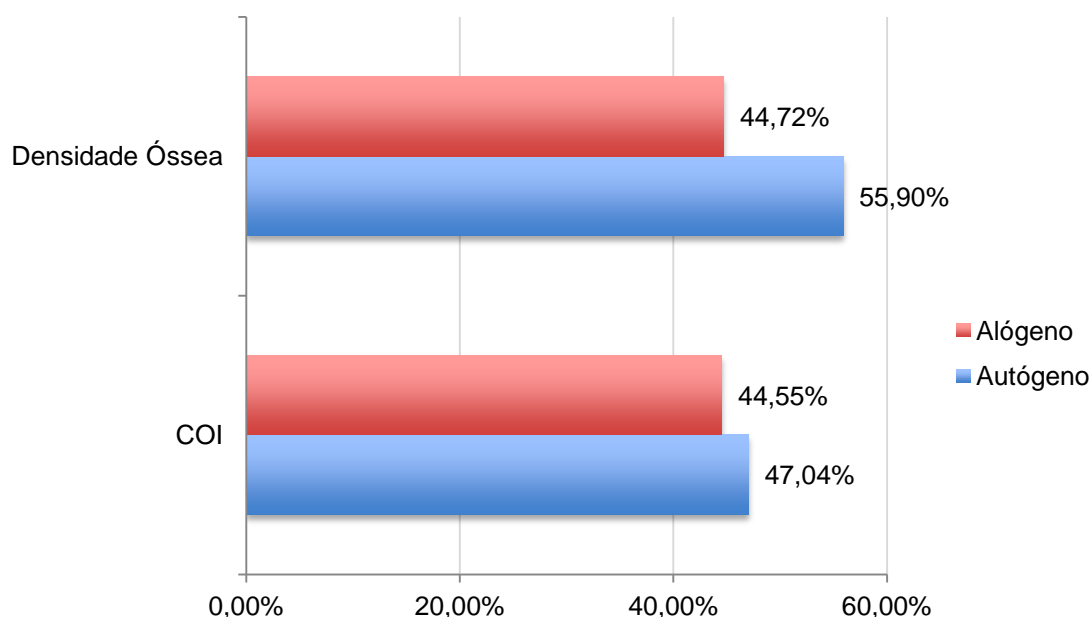
Segundo o teste de *Friedman* e de comparação múltipla, ambos os grupos apresentaram diferenças estatísticas significantes quando comparado à incorporação da alizarina com a calceína azul e calceína verde, sendo as médias desses últimos superiores, denotando períodos com maior formação óssea.

### 5.3 Resultados da análise histométrica

A avaliação da densidade óssea, definida por porcentagem de tecido mineralizado pela área total, apresentou os valores  $55,90 \pm 7,00\%$  e  $44,72 \pm 6,53\%$  para os enxertos autógenos e alógenos, respectivamente. Os resultados do COI, ou seja, porcentagem de tecido mineralizado em contato direto com parafuso de fixação em microscopia óptica foram  $47,04 \pm 15,85\%$  e  $44,55 \pm 13,71\%$  para os enxertos autógenos e alógenos, respectivamente. Valores de média, mediana, desvios-padrão, mínimo e máximo dessas variáveis nos diferentes tipos de enxerto apresentam-se na Tabela 9 e Ilustração 25.

**TABELA 9.** Valores de média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo das variáveis COI e densidade óssea em cada grupo.

	TIPO DE ENXERTO	MÉDIA (%)	MEDIANA (%)	DESVIO PADRÃO (%)	VALOR MÍNIMO (%)	VALOR MÁXIMO (%)
<b>COI</b>	AUTÓGENO	47,04	49,52	15,85	21,92	65,41
	ALÓGENO	44,55	38,46	13,71	31,13	63,74
<b>DENSIDADE ÓSSEA</b>	AUTÓGENO	55,90	57,18	7,00	42,77	62,21
	ALÓGENO	44,72	43,79	6,53	37,58	55,59



**ILUSTRAÇÃO 25.** Valores médios das variáveis COI e densidade óssea em cada grupo (%).

Foram verificadas as normalidades do COI e da densidade óssea de ambos os grupos aplicando-se o teste de *Shapiro-Wilk* (Tabela 10).

**TABELA 10.** Verificação da normalidade dos resultados do COI e densidade óssea pelo teste de *Shapiro-Wilk* ( $p < 0,05$ ).

VARIÁVEIS	AUTÓGENO (valor de p)	ALÓGENO (valor de p)
COI	0,7823	0,1225
DENSIDADE ÓSSEA	0,1882	0,6156

As variáveis COI e densidades ósseas foram então submetidas ao teste *T-student* para comparação entre os grupos (Tabela 11). Observamos que apenas a densidade óssea foi significativa a 5%, isto é, a média entre os dois grupos diferem, sendo que a média do grupo autógeno ( $55,90 \pm 7,00\%$ ) foi superior a do grupo alógeno ( $44,72 \pm 6,53\%$ ).

**TABELA 11.** Comparação das variáveis COI e densidade óssea entre os enxertos autógenos e alógenos (teste de *T-student* com significância a 5%).

VARIÁVEL	VALOR DE p
COI	0,5280
DENSIDADE ÓSSEA	0,0044

## 6. DISCUSSÃO

O uso de implantes osseointegráveis abriu novas possibilidades de reabilitação de pacientes edêntulos. Entretanto, as altas taxas de sucesso obtidas com implantes dentais dependem diretamente do volume e quantidade óssea disponível. A atrofia do rebordo alveolar sempre representou uma dificuldade no planejamento e na execução do tratamento com implantes osseointegrados. Várias técnicas de reconstrução óssea, possibilitaram a instalação de implantes em locais que anteriormente não seriam viáveis, sendo as que utilizam osso autógeno as mais empregadas, devido ao fato de possuir um grande potencial osteogênico, quando comparado a outros tipos de materiais. Entretanto, uma variedade de complicações relacionadas à sua remoção, principalmente quando uma segunda área (doadora) é necessária, tem sido reportada (JENSEN, SINDET-PEDERSEN, 1991).

Aloenxertos frescos e congelados, obtidos de indivíduo da mesma espécie com carga genética distinta, podem ser uma alternativa ao autógeno e vêm sendo utilizados com sucesso na implantodontia (ACCETTURI et al., 2000; KEITH et al., 2006; LEONETTI, KOUP, 2003; LYFORD et al., 2003; MACEDO, 2006; PETRUNGARO, AMAR, 2005). Nos últimos anos, observou-se um aumento gradual do uso desse tipo de enxerto, apesar da relutância por parte de alguns profissionais, principalmente da área odontológica (Fonte: ABTO<sup>27</sup>). Acreditamos que isso se deva à necessidade de um maior entendimento das características biológicas do enxerto alógeno, uma vez que as técnicas de preparo e armazenamento podem modificar a velocidade e tipo de incorporação do mesmo ao leito receptor, fato que nos motivou a estudar a dinâmica do processo reparador e compará-lo ao autógeno.

O modelo de estudo de reparação óssea em coelhos está bem documentado. Estudos como de Kingma e Hampe (1964) sobre o comportamento dos vasos sanguíneos após transplante ósseo, e o de Nathanson (1978) sobre a vascularização de enxertos autógenos em mandíbulas, entre outros, são exemplos da viabilidade de se estudar reparação óssea nesses animais (ALBREKTSSON, 1980b; ALBREKTSSON, 1980c; SHAND et al., 2002). A administração de marcadores ósseos (fluorocromos) em coelhos para estudar a dinâmica de reparação óssea também é uma técnica bem documentada, com protocolos bem

---

<sup>27</sup> Registro Brasileiro de Transplantes; Órgão oficial da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos – ABTO: 2000-2007

estabelecidos (ERBEN, 2003; OZAKI, BUCHMAN, 1998; PIATTELLI et al., 1994; SHAND et al., 2002). O uso de múltiplos fluorocromos é a melhor técnica para se avaliar o mecanismo e a dinâmica do reparo, maturação e adaptação do osso (ROBERTS, 1988).

A técnica de avaliação dos fluorocromos demanda que o seccionamento das peças seja realizado sem a descalcificação dos espécimes. Os fluorocromos são substâncias quelantes dos íons cálcio, que se ligam na superfície dos novos cristais de hidroxiapatita do osso e os mesmos seriam perdidos com o processo de descalcificação (ERBEN, 2003). O uso de uma técnica de seccionamento sem descalcificação permite também o cálculo do COI, já que o parafuso de osteossíntese não foi removido para processamento histológico e foi possível a quantificação do osso diretamente em contato com o parafuso de fixação.

Existem várias vias de administração dos fluorocromos, todavia em humanos a principal é a oral (tetraciclina); em animais podem ser via endovenosa, intraperitonal, intramuscular e subcutânea (ERBEN, 2003). A administração via intraperitonal corre o risco da injeção no intestino ou outros órgãos, perdendo-se a marcação do corante e provocando danos ao animal. A via subcutânea, apesar de apresentar menos riscos, pode ser afetada pela injeção de medicamentos com solução oleosa. Tendo em vista essas limitações, adotamos em nosso estudo a via endovenosa. Ainda assim, dois coelhos sofreram hipocalcemia letal durante a injeção rápida de dois dos fluorocromos (calceína verde e alizarina), fato passível de ocorrência que Erben (2003) já havia alertado, pois esses componentes formam complexos com os íons cálcio do sangue. A prevenção de tal acidente seria a administração de tais substâncias de forma bem lenta.

Devido ao fato de o trabalho de Querido (2007) ter demonstrado que em 12 semanas ainda havia presença de tecido enxertado não vital e que Ozaki e Buchman (1998) observaram intensa formação óssea em enxertos autógenos após de 16 semanas, escolheu-se um período de observação de 18 semanas. Tal período foi suficiente para as avaliações propostas. Uma menor incorporação do fluorocromo oxitetraciclina aplicado na 14<sup>a</sup> semana denota em ambos os grupos uma redução acentuada na atividade osteogênica nos enxertos, justificando-se, assim também, o período observacional.

Atualmente, sabe-se que a origem do enxerto não é fator determinante na habilidade do mesmo resistir à reabsorção (CHEN et al., 1994; OZAKI, BUCHMAN,

1998). A maior reabsorção de enxertos de crista ilíaca está relacionada às suas características microscópicas. Como o osso de crista ilíaca possui uma maior porção medular que o de origem cranial, apresenta maior vascularização e, conseqüentemente, reabsorve mais. Para que os enxertos avaliados do presente estudo tivessem as mesmas características microscópicas, evitando-se, assim, a incorporação de mais uma variável no estudo, ambos foram removidos da crista ilíaca. A escolha de tal osso também minimizou a morbidade e o tempo do procedimento cirúrgico. Esse modelo experimental mostrou-se eficaz quanto a possibilidade de remoção de um enxerto de dimensões de 5 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura e espaço para fixação de dois enxertos de mesmas dimensões. O uso do osso ilíaco como leito receptor e área doadora não fragiliza a área doadora no período pós-operatório, evitando-se fraturas. Um coelho teve que ser sacrificado devido a uma fratura no fêmur direito durante o procedimento cirúrgico. Verificamos que se modificássemos o posicionamento do coelho de decúbito lateral para decúbito ventral diminuiríamos o risco de fratura dos ossos da perna e continuaríamos com a mesma visualização do campo operatório. Após essa modificação na metodologia, não houve mais intercorrências.

Desde a disponibilização do enxerto ósseo em larga escala pelo Banco de Tecidos da Marinha Norte-Americana, vários países europeus estabeleceram seus bancos de tecidos, adotando o processo de congelamento dos enxertos ósseos como método de conservação e armazenamento (CARR, HYATT, 1955). Outras alternativas ao congelamento foram propostas (REYNOLDS, OLIVER, RAMSEY, 1951; SABANAS et al., 1955b; SABANAS et al., 1955a), sem a mesma consagração. A liofilização por exemplo, técnica desenvolvida no início da década de 1950 por Kreuz et al. (1951) e Dubau et al. (1952), fragiliza o osso, tornando-o friável. Mesmo em doses nas quais a qualidade do material de enxertia começa a ser comprometida (1,5-2,5 Mrads), a irradiação falha na eliminação do tipo 1 do vírus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SMITH et al., 2001). Entretanto, os métodos atuais de seleção de doadores e processamentos, que não prejudicam as características do enxerto, asseguram a qualidade dos mesmos, fato comprovado pela baixa incidência de contaminação endógena (DEIJKERS et al., 1997) e resultados clínicos favoráveis (MUSCOLO et al., 1992).

A relevância da histocompatibilidade entre doador e receptor foi comprovada em transplantes de outros órgãos (OPELZ, TERASAKI, 1977; RAPAPORT et al.,

1971), sendo importante na incorporação dos enxertos ósseos ao leito receptor (DEJKERS et al., 1999; STEVENSON, 1987; STEVENSON, LI, MARTIN, 1991; VIROLAINEN, VUORIO, ARO, 1997). Enxertos alógenos de doadores e receptores não compatíveis podem induzir uma resposta imunológica, resultando em uma incorporação deficitária do enxerto pelo receptor (GOLDBERG et al., 1984; GOLDBERG et al., 1985). Outros estudos sobre histocompatibilidade do doador com o receptor confirmam sua importância na incorporação dos enxertos ao leito receptor. Todavia, conforme destacam Kirkeby; Pinholt e Larsen (1992), a influência da histocompatibilidade na incorporação de enxertos é reduzida pelo processo de congelamento. A importância da compatibilização do tipo sanguíneo e antígenos do doador e receptor em enxertos ósseos é questionável e, portanto, não realizada rotineiramente. Os coelhos selecionados para o estudo em questão possuíam carga genética semelhante por serem consangüíneos, ou seja, da mesma ninhada e isso pode ter influenciado o fato de termos observado resultados semelhantes entre os enxertos autógenos e alógeno, principalmente na quantificação de COI e dos fluorocromos.

Vários estudos comparando a cicatrização e revascularização de enxertos em blocos autógenos e alógenos apresentam melhores resultados de potencial osteogênico para enxertos autógenos (MALETTA et al., 1983; PELEGRINE, 2006; QUERIDO, 2007). No presente estudo, entretanto, não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos quanto à incorporação dos fluorocromos, indicando potenciais osteogênicos semelhantes. Esses resultados levantam uma questão com relação a importância de células vivas do enxerto na velocidade de incorporação dos mesmos, já que os enxertos alógenos perdem suas células durante os processos de captação, preparo e armazenamento. Aparentemente, a presença de células viáveis do osso enxertado não favorece a uma incorporação mais rápida do mesmo.

Os resultados macroscópicos de nosso estudo apresentam 100% de sobrevivência dos enxertos tanto para o grupo autógeno quanto para o grupo alógeno, semelhante ao estudo de Contar et al. (2009). Outros estudos, contudo, apresentam índices inferiores a 93% de sobrevivência dos enxertos alógenos (KEITH et al., 2006; MACEDO, 2006). Aparentemente, tais resultados estão relacionados a traumas e exposição dos enxertos, e não à natureza alógena dos mesmos. Provavelmente, o fato dos enxertos do presente estudo terem sido fixados em área livre de trauma e com risco de exposição reduzido tenha contribuído para o

alto índice de sobrevivência encontrado.

A quantificação da incorporação dos fluorocromos apresentou em ambos os grupos diferenças estatísticas significantes entre a alizarina, aplicada no 14º dia de pós-operatório e os corantes calceína azul e calceína verde, aplicados no 42º dia e no 70º dia, respectivamente. Esses resultados, que indicam uma menor intensidade de formação óssea durante os períodos iniciais da reparação óssea, corroboram com os resultados de Querido (2007) e Albrektsson (1980b). Querido (2007) relata no primeiro mês de reparação dos enxertos a presença de osteoclastos e formação de ósteons, com pouca atividade osteogênica, principalmente nos enxertos alógenos, evidenciados no nosso estudo por pouca incorporação do fluorocromo alizarina. Albrektsson (1980b) por sua vez observou uma fase osteogênica muito mais intensa após 60 dias, resultados compatíveis com a maior incorporação de calceína azul e verde presente no nosso estudo.

A densidade óssea, ou seja, a proporção de tecido mineralizado pela área total, foi o único parâmetro avaliado no qual os enxertos alógenos ( $44,72 \pm 6,53\%$ ) apresentaram resultados inferiores aos enxertos autógenos ( $55,90 \pm 7,00\%$ ), um indício de superioridade de reparação do enxerto autógeno sobre o alógeno. A presença de células vivas no enxerto autógeno, como já ressaltado por Gould et al. (2000), pode ter favorecido uma maior densidade óssea.

Implantes com superfícies modificadas (tratadas) vêm sendo utilizados com a finalidade de superar algumas limitações qualitativas e quantitativas do leito receptor. Estes, quando osseointegrados, apresentam contato osso/implante superiores ao de superfície usinada, sendo, então, mais indicados para áreas de baixa densidade óssea e áreas de quantidade óssea remanescente limitada. O presente estudo apresentou resultados de densidade óssea inferiores em áreas regeneradas com aloenxertos. Portanto, em tais casos, talvez a utilização de implantes que propiciam um melhor contato osso/implante tais como os de superfície modificada seja melhor indicada. Outra possibilidade seria a utilização de implantes auto-rosqueáveis ou que propiciem uma maior compactação do osso trabecular da área onde estes são instalados. Essa características de melhoria do leito do implante são conseguidas através de modificações macroscópicas na forma do implante e de suas roscas. Essa compactação óssea durante a instalação do implante melhora a estabilidade primária do mesmo favorecendo, assim, as fases

iniciais do processo de osseointegração.

Há trabalhos que ilustram bons resultados clínicos de implantes de superfície não tratada instalados na tuberosidade maxilar, região de baixa densidade óssea (RIDELL, GRONDAHL, SENNERBY, 2009) e que também confirmam a possibilidade de osseointegração em osso de baixa densidade (MORI et al., 1997). Logo, a menor densidade óssea apresentada pelos enxertos alógenos não parece ser contraindicação do seu uso na implantodontia.

O contato osso/implante ou parafuso de fixação é uma das formas mais utilizadas para avaliar histologicamente osseointegração. Os resultados de COI aqui apresentados indicam similaridades de potencial de osseointegração de ambos os tipos de enxerto, apesar dos alógenos terem apresentado menor densidade óssea. Resta aferir se a osseointegração conseguida com o uso de enxertos alógenos permanece a longo prazo com os implantes em função. Aparentemente essa união osso/implante é mantida sob esforços mastigatórios, pois vários estudos apresentam altas taxas de sucesso de implantes em área enxertada com osso alógeno (CONTAR et al., 2009; KEITH et al., 2006; PERROTT, SMITH, KABAN, 1992; PETRUNGARO, AMAR, 2005).

Diante dos resultados aqui apresentados, não foram encontradas diferenças na dinâmica de incorporação dos enxertos alógenos e autógenos ao organismo. A velocidade de incorporação dos mesmos é semelhante, porém com qualidade óssea distinta, evidenciada pela maior densidade óssea apresentada pelo osso autógeno. O impacto dessa diferença de qualidade nos resultados da osseointegração ainda necessita de esclarecimentos. A técnica de enxertia com aloenxertos frescos criopreservados na implantodontia é relativamente nova, existindo, então, a necessidade de um maior número de estudos histológicos para a avaliação do mecanismo de regeneração óssea e de incorporação desse tipo de enxerto ao leito receptor. Posteriormente, estudos clínicos longitudinais comprovando a manutenção da osseointegração de implantes em enxertos alógenos a longo prazo seriam de grande importância para a consagração da técnica.

## 7. CONCLUSÕES

Diante dos resultados aqui apresentados podemos concluir que:

- Os enxertos autógenos e alógenos apresentam os mesmos índices de sobrevivência.
- A incorporação dos diferentes fluorocromos é similar tanto para o enxerto em bloco autógeno como para o alógeno.
- Enxertos alógenos e autógenos apresentam menor atividade osteogênica no período inicial de reparação.
- Enxertos autógenos e alógenos apresentam contato osso/parafuso de fixação similares.
- A densidade óssea nos enxertos autógenos se mostra superior a dos enxertos alógenos.

## REFERÊNCIAS\*

AATB. **General standards of tissue banking, technical manual for muscle-skeletal tissue banking.** 1992

ACCETTURI, E. et al. Reconstrução de defeitos ósseos na maxila e mandíbula com osso humano congelado. **Rev Ciências Odontol** v.3, n.3, p. 27-30, 2000.

AGHALOO, T. L.; MOY, P. K. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.22 Suppl, p. 49-70, 2007.

ALAM, S. et al. Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as an onlay bone graft in rabbit mandibles. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.103, n.1, p. 16-26, 2007.

ALBERIUS, P. et al. Influence of surrounding soft tissues on onlay bone graft incorporation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.82, n.1, p. 22-33, 1996.

ALBREKTSSON, T. In vivo studies of bone grafts. The possibility of vascular anastomoses in healing bone. **Acta Orthop Scand**, v.51, n.1, p. 9-17, 1980a.

ALBREKTSSON, T. Repair of bone grafts. A vital microscopic and histological investigation in the rabbit. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v.14, n.1, p. 1-12, 1980b.

ALBREKTSSON, T. The healing of autologous bone grafts after varying degrees of surgical trauma. A microscopic and histochemical study in the rabbit. **J Bone Joint Surg Br**, v.62, n.3, p. 403-10, 1980c.

ALBREKTSSON, T. et al. The preformed autologous bone graft. An experimental study in the rabbit. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v.12, n.3, p. 215-23, 1978.

ALBREKTSSON, T. et al. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. **Acta Orthop Scand**, v.52, n.2, p. 155-70, 1981.

---

\* Referências segundo norma ABNT 6023/02

ARISAN, V. et al. Injectable calcium phosphate cement as a bone-graft material around peri-implant dehiscence defects: a dog study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.23, n.6, p. 1053-62, 2008.

AXHAUSEN, W. The osteogenetic phases of regeneration of bone; a historial and experimental study. **J Bone Joint Surg Am**, v.38-A, n.3, p. 593-600, 1956.

BAHAT, O.; FONTANESSI, R. V. Efficacy of implant placement after bone grafting for three-dimensional reconstruction of the posterior jaw. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.21, n.3, p. 220-31, 2001.

BALSHI, T. J.; MAGID, M. J. Mandibular rehabilitation: a case study using inferior cadaver graft. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.10, n.5, p. 589-94, 1995.

BECKER, W. et al. Clinical and histologic observations of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts. 15 human case reports. **J Periodontol**, v.67, n.10, p. 1025-33, 1996.

BELOTI, M. M. et al. In vitro biocompatibility of a novel membrane of the composite poly(vinylidene-trifluoroethylene)/barium titanate. **J Biomed Mater Res A**, v.79, n.2, p. 282-8, 2006.

BLAY, A.; TUNCHEL, S.; SENDYK, W. R. Viability of autogenous bone grafts obtained by using bone collectors: histological and microbiological study. **Pesqui Odontol Bras**, v.17, n.3, p. 234-40, 2003.

BONFIGLIO, M.; JETER, W. S.; SMITH, C. L. The immune concept: its relation to bone transplantation. **Ann N Y Acad Sci**, v.59, n.3, p. 417-33, 1955.

BOYAN, B. D. et al. Osteoinductive ability of human allograft formulations. **J Periodontol**, v.77, n.9, p. 1555-63, 2006.

BRANEMARK, P. I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v.3, n.2, p. 81-100, 1969.

BRANEMARK, P. I. et al. Intraosseous implants. **Odontostomatol Implantoprotesi**, n.1, p. 24-5, 1980.

BREINE, U.; BRANEMARK, P. I. Reconstruction of alveolar jaw bone. An experimental and clinical study of immediate and preformed autologous bone grafts in combination with osseointegrated implants. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v.14, n.1, p. 23-48, 1980.

BRUNSKI, J. B. Biomaterials and biomechanics in dental implant design. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.3, n.2, p. 85-97, 1988.

BUCK, B. E.; MALININ, T. I.; BROWN, M. D. Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Clin Orthop Relat Res**, n.240, p. 129-36, 1989.

BURCHARDT, H. The biology of bone graft repair. **Clin Orthop Relat Res**, n.174, p. 28-42, 1983.

BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. **Orthop Clin North Am**, v.18, n.2, p. 187-96, 1987.

BURWELL, R. G. Studies in the transplantation of bone. V. The capacity of fresh and treated homografts of bone to evoke transplantation immunity. **J Bone Joint Surg Br**, v.45-B, p. 386-401, 1963.

BURWELL, R. G. Studies in the Transplantation of Bone. Vii. The Fresh Composite Homograft-Autograft of Cancellous Bone; an Analysis of Factors Leading to Osteogenesis in Marrow Transplants and in Marrow-Containing Bone Grafts. **J Bone Joint Surg Br**, v.46, p. 110-40, 1964.

BURWELL, R. G. Studies in the transplantation of bone. 8. Treated composite homograft-autografts of cancellous bone: an analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. **J Bone Joint Surg Br**, v.48, n.3, p. 532-66, 1966.

BUSH, L. F. The use of homogenous bone grafts: a preliminary report on the bone bank. **J Bone Joint Surg**, v.29, n.3, p. 620-8, 1947.

BUSH, L. F.; GARBER, C. Z. The bone bank. **J Am Med Assoc**, v.137, n.7, p. 588-94, 1948.

CARR, C. R.; HYATT, G. W. Clinical evaluation of freeze-dried bone grafts. **J Bone Joint Surg Am**, v.37-A, n.3, p. 549-66, 1955.

CARVALHO, E. T.; BATALHA, E. S. C.; ANDREUCCI, M. Emprego de osso conservado em cirurgia ortopédica: banco de osso. **Rev Hosp Clin USP**, v.7, n.2, p. 121-34, 1952.

CHASE, S. W.; HERNDON, C. H. The fate of autogenous and homogenous bone grafts. **J Bone Joint Surg Am**, v.37-A, n.4, p. 809-41, 1955.

CHEN, N. T. et al. The roles of revascularization and resorption on endurance of craniofacial onlay bone grafts in the rabbit. **Plast Reconstr Surg**, v.93, n.4, p. 714-22; discussion 23-4, 1994.

CHIAPASCO, M.; ZANIBONI, M.; BOISCO, M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. **Clin Oral Implants Res**, v.17 Suppl 2, p. 136-59, 2006.

CONRAD, E. U. et al. Transmission of the hepatitis-C virus by tissue transplantation. **J Bone Joint Surg Am**, v.77, n.2, p. 214-24, 1995.

CONTAR, C. M. et al. Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.6, p. 1280-5, 2009.

CORNELL, C. N. Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. **Orthop Clin North Am**, v.30, n.4, p. 591-8, 1999.

CORNELL, C. N.; LANE, J. M. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. **Clin Orthop Relat Res**, n.355 Suppl, p. S267-73, 1998.

CRANIN, A. N.; DEMIRDJAN, E.; DIGREGORIO, R. A comparison of allogeneic and autogenous iliac monocortical grafts to augment the deficient alveolar ridge in a canine model. I. Clinical study. **J Oral Implantol**, v.29, n.3, p. 124-31, 2003.

CURTISS, P. H., JR.; POWELL, A. E.; HERNDON, C. H. Immunological factors in homogenous-bone transplantation. II. The inability of homogenous rabbit bone to induce circulating antibodies in rabbits. **J Bone Joint Surg Am**, v.41-A, p. 1482-8, 1959.

DE BOER, H. H. The history of bone grafts. **Clin Orthop Relat Res**, n.226, p. 292-8, 1988.

DE CARVALHO, P. S.; VASCONCELLOS, L. W.; PI, J. Influence of bed preparation on the incorporation of autogenous bone grafts: a study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.15, n.4, p. 565-70, 2000.

DE MARCO, A. C.; JARDINI, M. A.; LIMA, L. P. Revascularization of autogenous block grafts with or without an e-PTFE membrane. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.20, n.6, p. 867-74, 2005.

DEIJKERS, R. L. et al. Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors. **J Bone Joint Surg Br**, v.79, n.1, p. 161-6, 1997.

DEIJKERS, R. L. et al. Human bone allografts can induce T cells with high affinity for donor antigens. **J Bone Joint Surg Br**, v.81, n.3, p. 538-44, 1999.

DONATH, K.; BREUNER, G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. **J Oral Pathol**, v.11, n.4, p. 318-26, 1982.

DONOVAN, M. G. et al. Autologous calvarial and iliac onlay bone grafts in miniature swine. **J Oral Maxillofac Surg**, v.51, n.8, p. 898-903, 1993.

DUBAU, R. et al. A new method of preservation of bone grafts by vacuum desiccation from the frozen state (lyophilization). **Presse Med**, v.60, n.66, p. 1402, 1952.

DZIEDZIC-GOCLAWSKA, A. et al. Effect of radiation sterilization on the osteoinductive properties and the rate of remodeling of bone implants preserved by lyophilization and deep-freezing. **Clin Orthop Relat Res**, n.272, p. 30-7, 1991.

EATB. **Common standards for tissues and cells banking**. 2004

ERBEN, R. E. Bone-labeling techniques. In: AN, Y. H. MARTIN, K. L. **Handbook of histology methods for bone and cartilage**. . Totowa, Nova Jersey: Humana Press, 2003.

FAZILI, M. et al. Follow-up investigation of reconstruction of the alveolar process in the atrophic mandible. **Int J Oral Surg**, v.7, n.4, p. 400-4, 1978.

FERGUSON, A. B., JR. et al. Study of revascularization of autogenous cortical bone grafts in rabbits using radiophosphorus. **AMA Arch Surg**, v.78, n.4, p. 551-5, 1959.

GALEA, G.; KEARNEY, J. N. Clinical effectiveness of processed and unprocessed bone. **Transfus Med**, v.15, n.3, p. 165-74, 2005.

GALLIE, W. E.; ROBERTSON, D. E. Transplantation of bone. **J Am Med Assoc**, v.70, p. 1134, 1918.

GARG, A. K. et al. Autogenous mandibular bone grafts in the treatment of the resorbed maxillary anterior alveolar ridge: rationale and approach. **Implant Dent**, v.7, n.3, p. 169-76, 1998.

GIOVANI, A. M. M. **Estudo comparativo entre o tecido ósseo criopreservado e o conservado em glicerol a 98% [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005.** 2005. Mestrado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

GOLDBERG, V. M. et al. Improved acceptance of frozen bone allografts in genetically mismatched dogs by immunosuppression. **J Bone Joint Surg Am**, v.66, n.6, p. 937-50, 1984.

GOLDBERG, V. M. et al. Bone grafting: role of histocompatibility in transplantation. **J Orthop Res**, v.3, n.4, p. 389-404, 1985.

GORDH, M.; ALBERIUS, P. Some basic factors essential to autogenic nonvascularized onlay bone grafting to the craniofacial skeleton. **Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg**, v.33, n.2, p. 129-46, 1999.

GORDH, M. et al. Bone graft incorporation after cortical perforations of the host bed. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v.117, n.6, p. 664-70, 1997.

GOULD, S. E. et al. Cellular contribution of bone graft to fusion. **J Orthop Res**, v.18, n.6, p. 920-7, 2000.

GRUBER, R. Mechanisms of bone development, remodeling, and loss. In: WATZEK, G. **Implants in Qualitatively Compromised Bone**. Chicago: Quintessence, 2004. 9-28.

GUTTA, R. et al. Barrier membranes used for ridge augmentation: is there an optimal pore size? **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.6, p. 1218-25, 2009.

HAMMACK, B. L.; ENNEKING, W. F. Comparative vascularization of autogenous and homogenous-bone transplants. **J Bone Joint Surg Am**, v.42-A, p. 811-7, 1960.

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

HARRIS, W. H. A microscopic method of determining rates of bone growth. **Nature**, v.188, p. 1038-9, 1960.

HERBERT, J. J. Homografts and the bone bank. **J Bone Joint Surg Br**, v.33-B, n.3, p. 316-22, 1951.

HERNIGOU, P. Allograft sterility as exemplified by human immunodeficiency virus and sterilization by irradiation. **J Arthroplasty**, v.15, n.8, p. 1051-8, 2000.

HERNIGOU, P. et al. Influence of Irradiation on the Risk of Transmission of HIV in Bone Grafts Obtained from Appropriately Screened Donors and Followed by Radiation Sterilization. **Cell Tissue Bank**, v.1, n.4, p. 279-89, 2000.

HOEXTER, D. L. Bone regeneration graft materials. **J Oral Implantol**, v.28, n.6, p. 290-4, 2002.

HULT, L. Some experiences with a bone bank. **Acta Orthop Scand**, v.19, n.4, p. 476-80, 1950.

ISAKSSON, S.; ALBERIUS, P. Maxillary alveolar ridge augmentation with onlay bone-grafts and immediate endosseous implants. **J Craniomaxillofac Surg**, v.20, n.1, p. 2-7, 1992.

IVANOFF, C. J.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U. Influence of mono- and bicortical anchorage on the integration of titanium implants. A study in the rabbit tibia. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.25, n.3, p. 229-35, 1996.

JACOTTI, M. Simplified onlay grafting with a 3-dimensional block technique: a technical note. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.21, n.4, p. 635-9, 2006.

JARDINI, M. A.; DE MARCO, A. C.; LIMA, L. A. Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes: a histomorphometric study in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.100, n.6, p. 666-73, 2005.

JENSEN, J.; SINDET-PEDERSEN, S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants for reconstruction of the severely atrophied maxilla: a preliminary report. **J Oral Maxillofac Surg**, v.49, n.12, p. 1277-87, 1991.

KALFAS, I. H. Principles of bone healing. **Neurosurg Focus**, v.10, n.4, p. E1, 2001.

KEITH, J. D., JR. et al. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the developmental period (2001-2004). **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.26, n.4, p. 321-7, 2006.

KHOURY, F. Augmentation of the sinus floor with mandibular bone block and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.14, n.4, p. 557-64, 1999.

KINGMA, M. J.; HAMPE, J. F. The Behaviour of Blood Vessels after Experimental Transplantation of Bone. **J Bone Joint Surg Br**, v.46, p. 141-50, 1964.

KIRKEBY, O. J.; PINHOLT, E.; LARSEN, T. B. Fresh, frozen, or decalcified bone grafts: a study of early vascularisation and mineralisation of allogeneic and syngeneic bone grafts in rats. **Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg**, v.26, n.2, p. 141-5, 1992.

KONDELL, P. A.; MATTSSON, T.; ASTRAND, P. Immunological responses to maxillary on-lay allogeneic bone grafts. **Clin Oral Implants Res**, v.7, n.4, p. 373-7, 1996.

KOOLE, R.; BOSKER, H.; VAN DER DUSSEN, F. N. Late secondary autogenous bone grafting in cleft patients comparing mandibular (ectomesenchymal) and iliac crest (mesenchymal) grafts. **J Craniomaxillofac Surg**, v.17 Suppl 1, p. 28-30, 1989.

KRATOCHVIL, F. J.; BOYNE, P. J. Combined use of subperiosteal implant and bone-marrow graft in deficient edentulous mandibles: a preliminary report. **J Prosthet Dent**, v.27, n.6, p. 645-53, 1972.

KREUZ, F. P. et al. The preservation and clinical use of freeze-dried bone. **J Bone Joint Surg Am**, v.33-A, n.4, p. 863-72; passim, 1951.

KUABARA, M. R. **Avaliação clínica de enxertos ósseos autógenos de crista ilíaca em maxilas atróficas para instalação de implantes osseointegrados**. 2001. Mestrado - Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2001.

LANE, J. M.; SANDHU, H. S. Current approaches to experimental bone grafting. **Orthop Clin North Am**, v.18, n.2, p. 213-25, 1987.

LATRENTA, G. S. et al. The role of rigid skeletal fixation in bone-graft augmentation of the craniofacial skeleton. **Plast Reconstr Surg**, v.84, n.4, p. 578-88, 1989.

LAVINE, L. S.; BURGER, M.; SOBEL, A. E. The effect of bone bank preservation on the calcifying mechanism. **J Bone Joint Surg Br**, v.39-B, n.4, p. 758-62, 1957.

LEE, S. H. et al. Guided bone regeneration with the combined use of resorbable membranes and autogenous drilling dust or xenografts for the treatment of dehiscence-type defects around implants: an experimental study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.23, n.6, p. 1089-94, 2008.

LEKHOLM, U. et al. Oral implants in combination with bone grafts. A 3-year retrospective multicenter study using the Branemark implant system. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.28, n.3, p. 181-7, 1999.

LEONETTI, J. A.; KOUP, R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: case reports. **Implant Dent**, v.12, n.3, p. 217-26, 2003.

LEVIN, L.; NITZAN, D.; SCHWARTZ-ARAD, D. Success of dental implants placed in intraoral block bone grafts. **J Periodontol**, v.78, n.1, p. 18-21, 2007.

LYFORD, R. H. et al. Clinical evaluation of freeze-dried block allografts for alveolar ridge augmentation: a case series. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.23, n.5, p. 417-25, 2003.

MACEDO, L. G. S. **Avaliação do grau de formação e reabsorção do osso alógeno fresco congelado em procedimentos de aumento vertical de rebordo**. 2006. 104f. Mestrado - Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006.

MALETTA, J. A. et al. Comparison of the healing and revascularization of onlayed autologous and lyophilized allogeneic rib grafts to the edentulous maxilla. **J Oral Maxillofac Surg**, v.41, n.8, p. 487-99, 1983.

MARCACCINI, A. M. et al. Immediate placement of implants into periodontally infected sites in dogs. Part 2: A fluorescence microscopy study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.18, n.6, p. 812-9, 2003.

MARTINEZ, H. et al. Optimal implant stabilization in low density bone. **Clin Oral Implants Res**, v.12, n.5, p. 423-32, 2001.

MARX, R. E.; GARG, A. K. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. **Implant Dent**, v.7, n.4, p. 267-76, 1998.

MAZOCK, J. B.; SCHOW, S. R.; TRIPLETT, R. G. Posterior iliac crest bone harvest: review of technique, complications, and use of an epidural catheter for postoperative pain control. **J Oral Maxillofac Surg**, v.61, n.12, p. 1497-503, 2003.

MAZOCK, J. B.; SCHOW, S. R.; TRIPLETT, R. G. Proximal tibia bone harvest: review of technique, complications, and use in maxillofacial surgery. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.19, n.4, p. 586-93, 2004.

MELLONIG, J. T.; PREWETT, A. B.; MOYER, M. P. HIV inactivation in a bone allograft. **J Periodontol**, v.63, n.12, p. 979-83, 1992.

MISCH, C. E.; DIETSH, F. Endosteal implants and iliac crest grafts to restore severely resorbed totally edentulous maxillae--a retrospective study. **J Oral Implantol**, v.20, n.2, p. 100-10, 1994.

MISCH, C. M. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.12, n.6, p. 767-76, 1997.

MISCH, C. M. et al. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphysis grafts for dental implants: a preliminary procedural report. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.7, n.3, p. 360-6, 1992.

MIYAMOTO, I. et al. Influence of cortical bone thickness and implant length on implant stability at the time of surgery--clinical, prospective, biomechanical, and imaging study. **Bone**, v.37, n.6, p. 776-80, 2005.

MORI, H. et al. Osseointegration of dental implants in rabbit bone with low mineral density. **J Oral Maxillofac Surg**, v.55, n.4, p. 351-61; discussion 62, 1997.

MOY, P. K.; LUNDGREN, S.; HOLMES, R. E. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. **J Oral Maxillofac Surg**, v.51, n.8, p. 857-62, 1993.

MURAI, M. et al. Effects of the enamel matrix derivative and beta-tricalcium phosphate on bone augmentation within a titanium cap in rabbit calvarium. **J Oral Sci**, v.47, n.4, p. 209-17, 2005.

MUSCOLO, D. L. et al. Massive femoral allografts followed for 22 to 36 years. Report of six cases. **J Bone Joint Surg Br**, v.74, n.6, p. 887-92, 1992.

NATHANSON, A. The early vascularization of an autogenous bone inlay into an artificial defect in the rabbit mandibula. **Acta Otolaryngol**, v.85, n.1-2, p. 135-48, 1978.

NISHIKAWA, T. et al. Calcification at the interface between titanium implants and bone: observation with confocal laser scanning microscopy. **J Oral Implantol**, v.32, n.5, p. 211-7, 2006.

NKENKE, E. et al. Histomorphometric and fluorescence microscopic analysis of bone remodelling after installation of implants using an osteotome technique. **Clin Oral Implants Res**, v.13, n.6, p. 595-602, 2002.

NYSTROM, E. et al. 10-year follow-up of onlay bone grafts and implants in severely resorbed maxillae. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.33, n.3, p. 258-62, 2004.

NYSTROM, E.; KAHNBERG, K. E.; ALBREKTSSON, T. Treatment of the severely resorbed maxillae with bone graft and titanium implants: histologic review of autopsy specimens. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.8, n.2, p. 167-72, 1993.

NYSTROM, E.; KAHNBERG, K. E.; GUNNE, J. Bone grafts and Branemark implants in the treatment of the severely resorbed maxilla: a 2-year longitudinal study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.8, n.1, p. 45-53, 1993.

OPELZ, G.; TERASAKI, P. I. Effect of blood-group on relation between HLA match and outcome of cadaver kidney transplants. **Lancet**, v.1, n.8005, p. 220-2, 1977.

OZAKI, W.; BUCHMAN, S. R. Volume maintenance of onlay bone grafts in the craniofacial skeleton: micro-architecture versus embryologic origin. **Plast Reconstr Surg**, v.102, n.2, p. 291-9, 1998.

PALMA, V. C. et al. Bone reformation and implant integration following maxillary sinus membrane elevation: an experimental study in primates. **Clin Implant Dent Relat Res**, v.8, n.1, p. 11-24, 2006.

PAPALEXIOU, V. et al. Influence of implant microstructure on the dynamics of bone healing around immediate implants placed into periodontally infected sites. A confocal laser scanning microscopic study. **Clin Oral Implants Res**, v.15, n.1, p. 44-53, 2004.

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

PELEGRINE, A. A. **Análise comparativa entre enxerto ósseo autógeno fresco e homogêneo fresco congelado, associados ou não à medula óssea autóloga: estudo clínico e histomorfométrico em coelhos.** 2006. 117f. Mestrado - Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006.

PERROTT, D. H.; SMITH, R. A.; KABAN, L. B. The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.21, n.5, p. 260-5, 1992.

PETRUNGARO, P. S.; AMAR, S. Localized ridge augmentation with allogenic block grafts prior to implant placement: case reports and histologic evaluations. **Implant Dent**, v.14, n.2, p. 139-48, 2005.

PHILLIPS, J. H.; RAHN, B. A. Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone-graft resorption. **Plast Reconstr Surg**, v.82, n.5, p. 872-7, 1988.

PIATTELLI, A. et al. Histochemical and confocal laser scanning microscopy study of the bone-titanium interface: an experimental study in rabbits. **Biomaterials**, v.15, n.3, p. 194-200, 1994.

PURANEN, J. Reorganization of fresh and preserved bone transplants. An experimental study in rabbits using tetracycline labelling. **Acta Orthop Scand**, p. Suppl 92:1-75, 1966.

QUERIDO, M. R. M. **Avaliação clínica e histológica da formação óssea na área enxertada com bloco de osso autógeno de crista ilíaca e osso alógeno fresco congelado em coelhos**. 2007. 79f. Mestrado - Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2007.

RAGHOEBAR, G. M. et al. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge with autogenous bone before insertion of implants. **J Oral Maxillofac Surg**, v.54, n.10, p. 1180-5; discussion 5-6, 1996.

RAPAPORT, R. T. et al. Histocompatibility studies in a closely bred colony of dogs. II. Influence of the DL-A system of canine histocompatibility upon the survival of cardiac allografts. **J Exp Med**, v.133, n.2, p. 260-74, 1971.

REYNOLDS, F. C.; OLIVER, D. R.; RAMSEY, R. Clinical evaluation of the merthiolate bone bank and homogenous bone grafts. **J Bone Joint Surg Am**, v.33-A, n.4, p. 873-83, 1951.

RHINELANDER, F. W. Tibial blood supply in relation to fracture healing. **Clin Orthop Relat Res**, n.105, p. 34-81, 1974.

RIDELL, A.; GRONDAHL, K.; SENNERBY, L. Placement of Branemark implants in the maxillary tuber region: anatomical considerations, surgical technique and long-term results. **Clin Oral Implants Res**, v.20, n.1, p. 94-8, 2009.

ROBERTS, W. E. Bone tissue interface. **J Dent Educ**, v.52, n.12, p. 804-9, 1988.

RUDELLI, S.; HONDA, E.; ANGELI, A.J. Uso de enxerto ósseo nas revisões com prótese total do quadril não cimentada e híbrida. **Rev Bras Ortop**, v.27, n.5, p. 281-8, 1992.

SABANAS, A. O. et al. Comparison of homologous bone grafts preserved by acetone and by freezing: experimental and bacteriologic studies. **Proc Staff Meet Mayo Clin**, v.30, n.19, p. 422-32, 1955a.

SABANAS, A. O. et al. Comparison of homologous bone grafts preserved by acetone and formaldehyde and by acetone alone: experimental studies. **Proc Staff Meet Mayo Clin**, v.30, n.19, p. 432-6, 1955b.

SALAI, M. et al. Human immunodeficiency virus (HIV) inactivation of banked bone by gamma irradiation. **Ann Transplant**, v.2, n.1, p. 55-6, 1997.

SCHALLHORN, R. G.; HIATT, W. H.; BOYCE, W. Iliac transplants in periodontal therapy. **J Periodontol**, v.41, n.10, p. 566-80, 1970.

SCHLIEPHAKE, H.; NEUKAM, F. W.; WICHMANN, M. Survival analysis of endosseous implants in bone grafts used for the treatment of severe alveolar ridge atrophy. **J Oral Maxillofac Surg**, v.55, n.11, p. 1227-33; discussion 33-4, 1997.

SCHWARTZ, Z. et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. **J Periodontol**, v.67, n.9, p. 918-26, 1996.

SCHWARTZ, Z. et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation is dependent on donor age but not gender. **J Periodontol**, v.69, n.4, p. 470-8, 1998.

SENDYK, W. R.; SENDYK, C. L.; JAHN, R. S. Enxertos ósseos para reconstrução da maxila posterior atrófica. In: QUERIDO, M. R. M. GOMES, Y. L. F. **Implantes osseointegrados: inovando soluções**. São Paulo: Artes Médicas, 2004. 115-37.

SENNERBY, L.; ROOS, J. Surgical determinants of clinical success of osseointegrated oral implants: a review of the literature. **Int J Prosthodont**, v.11, n.5, p. 408-20, 1998.

SHAND, J. M. et al. Allogeneic bone grafting of calvarial defects: an experimental study in the rabbit. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.31, n.5, p. 525-31, 2002.

SHARRARD, W. J.; COLLINS, D. H. The fate of human decalcified bone grafts. **Proc R Soc Med**, v.54, p. 1101-2, 1961.

SHEEHAN, J. P. et al. Molecular methods of enhancing lumbar spine fusion. **Neurosurgery**, v.39, n.3, p. 548-54, 1996.

SJOSTROM, M.; LUNDGREN, S.; SENNERBY, L. A histomorphometric comparison of the bone graft-titanium interface between interpositional and onlay/inlay bone grafting techniques. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.21, n.1, p. 52-62, 2006.

SMITH, J. D.; ABRAMSON, M. Membranous vs endochondrial bone autografts. **Arch Otolaryngol**, v.99, n.3, p. 203-5, 1974.

SMITH, R. A. et al. Gamma irradiation of HIV-1. **J Orthop Res**, v.19, n.5, p. 815-9, 2001.

SMUKLER, H.; BARBOZA, E. P.; BURLISS, C. A new approach to regeneration of surgically reduced alveolar ridges in dogs: a clinical and histologic study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.10, n.5, p. 537-51, 1995.

SODEK, J.; MCKEE, M. D. Molecular and cellular biology of alveolar bone. **Periodontol 2000**, v.24, p. 99-126, 2000.

STEVENSON, S. The immune response to osteochondral allografts in dogs. **J Bone Joint Surg Am**, v.69, n.4, p. 573-82, 1987.

STEVENSON, S.; LI, X. Q.; MARTIN, B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. **J Bone Joint Surg Am**, v.73, n.8, p. 1143-56, 1991.

STRINGA, G. Studies of the vascularisation of bone grafts. **J Bone Joint Surg Br**, v.39-B, n.2, p. 395-420, 1957.

SULLIVAN, W. G.; SZWAJKUN, P. R. Revascularization of cranial versus iliac crest bone grafts in the rat. **Plast Reconstr Surg**, v.87, n.6, p. 1105-9, 1991.

TEITELBAUM, S. L. Bone resorption by osteoclasts. **Science**, v.289, n.5484, p. 1504-8, 2000.

TOLSTUNOV, L. Maxillary tuberosity block bone graft: innovative technique and case report. **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.8, p. 1723-9, 2009.

TOMFORD, W. W. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. **J Bone Joint Surg Am**, v.77, n.11, p. 1742-54, 1995.

TOMFORD, W. W. Bone allografts: past, present and future. **Cell Tissue Bank**, v.1, n.2, p. 105-9, 2000.

TOMFORD, W. W.; MANKIN, H. J. Bone banking. Update on methods and materials. **Orthop Clin North Am**, v.30, n.4, p. 565-70, 1999.

TOMFORD, W. W.; STARKWEATHER, R. J.; GOLDMAN, M. H. A study of the clinical incidence of infection in the use of banked allograft bone. **J Bone Joint Surg Am**, v.63, n.2, p. 244-8, 1981.

URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, v.150, n.698, p. 893-9, 1965.

URIST, M. R.; DELANGE, R. J.; FINERMAN, G. A. Bone cell differentiation and growth factors. **Science**, v.220, n.4598, p. 680-6, 1983.

URIST, M. R.; MC, L. F. Osteogenetic potency and new-bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. **J Bone Joint Surg Am**, v.34-A, n.2, p. 443-76, 1952.

VERDUGO, F.; SIMONIAN, K.; NOWZARI, H. Periodontal biotype influence on the volume maintenance of onlay grafts. **J Periodontol**, v.80, n.5, p. 816-23, 2009.

VIROLAINEN, P.; VUORIO, E.; ARO, H. T. Different healing rates of bone autografts, syngeneic grafts, and allografts in an experimental rat model. **Arch Orthop Trauma Surg**, v.116, n.8, p. 486-91, 1997.

WILSON, P. D. Experiences with a bone bank. **Ann Surg**, v.126, n.6, p. 932-46, 1947.

WILSON, P. D. Experiences with the use of refrigerated homogenous bone. **J Bone Joint Surg Br**, v.33-B, n.3, p. 301-15, 1951a.

WILSON, P. D. Follow-up study of the use of refrigerated homogenous bone transplants in orthopedic operations. **J Bone Joint Surg Am**, v.33-A, n.2, p. 307-23, 1951b.

WOOD, R. M.; MOORE, D. L. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.3, n.3, p. 209-14, 1988.

ZINS, J. E.; WHITAKER, L. A. Membranous versus endochondral bone: implications for craniofacial reconstruction. **Plast Reconstr Surg**, v.72, n.6, p. 778-85, 1983.

ZIPFEL, G. J.; GUIOT, B. H.; FESSLER, R. G. Bone grafting. **Neurosurg Focus**, v.14, n.2, p. e8, 2003.

ZUCMAN, J.; MAURER, P.; BERBESSON, C. The effect of autografts of bone and periosteum in recent diaphysial fractures. An experimental study in the rabbit. **J Bone Joint Surg Br**, v.50, n.2, p. 409-22, 1968.