



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARARAQUARA



Felipe Leite Coletti

***AVALIAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS
CORTICAIS EM HUMANOS: ANÁLISE TOMOGRÁFICA,
HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA.***

ARARAQUARA
2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Felipe Leite Coletti

***AVALIAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS
CORTICAIS EM HUMANOS: ANÁLISE TOMOGRÁFICA,
HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA.***

Tese apresentada ao Programa De Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração Implantodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para a obtenção do título de Doutor em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior
Co-Orientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio

ARARAQUARA
2012

**AVALIAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS CORTICAIS EM
HUMANOS: ANÁLISE TOMOGRÁFICA, HISTOLÓGICA E
HISTOMORFOMÉTRICA.**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

PRESIDENTE E ORIENTADOR: PROF. DR. ELCIO MARCANTONIO JUNIOR

2º EXAMINADOR: PROFª. DRª. DANIELA LEAL ZANDIM-BARCELOS

3º EXAMINADOR: PROF. DR. EDUARDO HOCHULI VIEIRA

4º EXAMINADOR: PROFª DRª. ANA PAULA DE SOUZA FALONI

5º EXAMINADOR: PROFª DRª. IVY KIEMLE TRINDADE SUEDAM

ARARAQUARA, 04 DE OUTUBRO DE 2012.

DADOS CURRICULARES

FELIPE LEITE COLETTI

NASCIMENTO 18/06/1983 – ARARAQUARA/SP

FILIAÇÃO RONALDO COLETTI
MAGDA REGINA GOMES LEITE

2003/2007 GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA UNIVERSIDADE DE FRANCA, FRANCA-SP

2008/2009 ESPECIALIZAÇÃO EM PERIODONTIA, APCD- SÃO CARLOS- SP

2008/2010 CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS. UNIFEB- BARRETOS- SP.

2010/2012 PÓS-GRADUAÇÃO EM IMPLANTODONTIA – NÍVEL DE DOUTORADO FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a *Deus*, minha noiva *Luiza* companheira em todos os momentos, e à minha família: meu pai *Ronaldo*, minha mãe *Magda* e minha irmã *Natalia*, pelo amor, confiança e apoio incondicional que recebo de vocês, obrigado por tudo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior por vivenciar sua capacidade de liderança profissionalismo e respeito ao ser humano, pela confiança depositada e paciência em ter despendido seu tempo conduzindo-me nesses anos de trabalho.

À Profa. Dra. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio, por compartilhar palavras sábias e atitudes seguras em momentos decisivos que a pesquisa nos impõe e pelo exemplo transmitido de amor e dedicação a ciência e família.

Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio, pela generosidade, perseverança e humildade no exercício de ser professor, caráter e honra irretocáveis, poder acompanhar um homem com tamanha sabedoria é de gratidão imensurável.

Ao Prof. Dr. Rubens Spin Neto pelo privilégio em poder ter trabalhado com um amigo de imensa competência e inteligência, obrigado pelo empenho, dedicação e ensinamentos nessa empreitada.

Ao Prof. Dr. Luís Antônio Violin Dias Pereira pelas contribuições e sugestões científicas que vieram a acrescentar.

Ao *Prof. Dr. Raphael Silveira Faeda* pelo apoio desprendido e tempo gasto contribuindo com o processamento das amostras e conseqüentemente contribuindo no desenvolver deste trabalho.

Aos amigos, *João Antonio, Lucas Fontanari, Guilherme Oliveira, Mario Verzola, Luiz Guilherme, Ricardo Andrés, Cláudio Marcantonio, Fausto Frizzera*, pelos momentos de alegria e descontração fazendo com que as dificuldades não fossem percebidas.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara, *Ana Claudia Gregolin Costa Miranda, Leandro Alves dos Santos, Mara Cândida Munhoz do Amaral, Maria do Rosário Bento Clemente, Maria José da Silva Miquelon, Regina Lúcia da Silva*, pela eficiência, colaboração, amizade e carinho.

Aos *pacientes* que confiaram no nosso grupo de pesquisa e se comprometeram em participar do estudo, os meus mais sinceros obrigado.

Aos *funcionários* da *CAECO, FAEPO e APCD*, pela retaguarda e prontidão oferecidas, proporcionando tranquilidade para o desenvolvimento do estudo.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista (UNESP), na pessoa de sua Diretora *Profa. Dra. Andréia Montandon Barreto*, e Vice-Diretora *Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato*, por ter permitido o desenvolvimento desta pesquisa em suas instalações.

Ao Programa de Pós-Graduação em Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, na pessoa de seu Coordenador *Prof. Dr. Mario Tanomaru*, e Vice-Coordenador *Prof. Dr. Carlos Rossa Junior*, pela minha aceitação no quadro de alunos, e pelo apoio realizado nesta pesquisa.

À *FAPESP* e *CNPq* pelo apoio financeiro concedido, indispensável para a realização deste trabalho, juntamente com a empresa de implantes dentários NEODENT pelo fornecimento de materiais.

À *FOAR-UNESP*, juntamente com os professores e funcionários de todos os departamentos, que de maneira direta ou indireta que contribuíram para realização do estudo.

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
2.2 BIOMATERIAIS	18
2.2.1 <i>CONCEITOS</i>	18
2.2.2 <i>CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS</i>	19
2.3 HISTÓRICO DOS ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS	22
2.4 ASPECTOS LEGAIS DA UTILIZAÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS	23
2.5 ASPCETOS BIOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS CONGELADOS EM BLOCO	28
2.5.1 <i>ASPECTOS HISTOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS CONGELADOS E EM BLOCO</i>	30
2.5.2 <i>ASPECTOS RADIOGRÁFICOS DA UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS CONGELADOS E EM BLOCO</i>	34
2.5.3 <i>ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS CONGELADOS</i>	35
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODO	41
4.1 AMOSTRA	41
4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	42
4.3 INSTALAÇÃO DE IMPLANTES E OBTENÇÃO DAS BIÓPSIAS	45
4.4 PROCESSAMENTO DAS BIÓPSIAS, AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA	46
4.5 AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA	48
4.6 OBTENÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
5 RESULTADO	51
5.1 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS	51
5.2 ANÁLISES TOMOGRÁFICAS	51

5.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA	56
5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	59
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXO A-	85

Coletti F L Avaliação de Enxertos Homólogos Corticais em Humanos: Análise Tomográfica Histológica e Histomorfométrica [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2012.

Resumo

O uso de enxertos ósseos provenientes de bancos de tecidos, também conhecidos como enxertos homólogos, tem aumentado nos últimos anos. Seu uso é indicado na ausência de osso autólogo para captação, ou em casos aonde o paciente apresenta resistência frente à necessidade de manipulação de um segundo leito cirúrgico para captação do biomaterial autólogo. Existem poucos estudos a respeito do comportamento biológico destes enxertos, em especial comparando blocos corticais e cortico medulares, e qual a sua eficiência quando comparado aos enxertos autólogos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar, em humanos, a incorporação dos enxertos ósseos homólogos cortical (AL C) e cortico medular (AL CM) comparativamente ao autólogo (AT), com análises tomográfica, histológica e histomorfométrica. Para tal foram avaliados 45 pacientes, sendo que 15 foram submetidos a enxertos ósseos AT, 15 a enxertos ósseos AL CM e 15 com enxerto AL C. Tomografias foram obtidas em três períodos distintos para todos os grupos(AT, AL CM e AL C), antes da cirurgia de enxerto, imediatamente após e oito meses (período final) depois da realização dos enxertos. Após o período final para cada grupo foram removidas biópsia dos enxertos. Análise histomorfométrica dos cortes descalcificados foram realizadas para avaliar a quantidade de osso vital e não vital. Os resultados da análise tomográfica demonstraram maior perda de volume ósseo no grupo AL CM. A análise histomorfométrica mostrou que o grupo AT apresentou maior quantidade de osso vital (27,6%), seguido pelo AL CM (20,3%) e pelo AL C (12,4%). As diferenças foram estatisticamente significantes. Desta forma, pode-se concluir que o osso homólogo cortical apresentou um grande atraso na remodelação óssea.

Palavras-chave: Materiais biocompatíveis; Banco de ossos; Regeneração óssea; Implantes dentários.

Coletti F L Homologous bone grafts assessment in human cortical: tomographic analysis, histological and histomorphometric. [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2012.

Abstract

The use of bone grafts obtained from tissue banks, also known as allografts has increased in recent years. Its use is indicated in the absence of autologous bone for capture, or in cases where the patient is resistant towards the need for manipulation of a second surgical site to capture autologous biomaterial. There are few studies on the biological behavior of these grafts, especially comparing cortical and cortico spinal blocks, and what is its efficiency when compared to autologous grafts. The aim of this study was to evaluate, in humans, the incorporation of homologous cortical bone grafts (AL C) and cortical medullary (AL CM) compared to autologous (AT) with tomographic analysis, histology and histomorphometry. To this end, we evaluated 45 patients, 15 underwent bone grafts AT, 15 bone grafts and 15 AL CM graft AL C. CT scans were obtained in three separate periods for all groups (AT, CM and AL AL C) before graft surgery, immediately after eight months (late) after the completion of the grafts. After the final period for each group were removed biopsy of the grafts. Histomorphometric analysis of decalcified sections were performed to assess the amount of vital and non-vital bone. The results of tomographic analysis showed a greater loss of bone volume in the LA group CM. Histomorphometric analysis showed that the AT group had a higher amount of vital bone (27.6%) followed by CM AL (20.3%) and AL C (12.4%). The differences were statistically significant. Thus, one can conclude that homologous cortical bone showed a large delay in bone turnover.

Keywords- Biocompatible materials; Bone banks; Bone regeneration; Dental implants.

1 INTRODUÇÃO

Para propormos aos pacientes reabilitação com implantes osseointegráveis nos casos de perdas múltiplas ou unitária dos elementos dentários, alguns fatores são determinantes e devem ser levados em consideração antes da indicação dessa modalidade de tratamento. Um destes fatores é uma arquitetura óssea adequada em espessura e altura, oferecendo condições de instalação de implantes com diâmetros e comprimentos adequados e em posições consideradas ideais, possibilitando uma boa distribuição de forças provenientes das funções mastigatória, e também resultados estéticos previsíveis^{4, 123-124, 134}.

A perda óssea alveolar que ocorre nos indivíduos que sofreram perdas dentárias múltiplas ou unitárias é considerada uma sequela da injúria e da ausência de estímulo mastigatório. Esta remodelação varia o de grau entre indivíduos e é agravada nas ausências a longo prazo, o que muitas vezes, impossibilita a instalação de implantes nas regiões consideradas ideais.

Diversas técnicas têm sido utilizadas na tentativa de corrigir defeitos ósseos no complexo maxilo-facial¹³⁹. Dentre elas, o enxerto ósseo autólogo pode ser considerado como o método mais previsível e melhor documentado, o que faz com que seja descrito como o padrão ouro” na correção destes defeitos²³. O grande problema, porém, é que além de ser associado com morbidade, dor e perda de função temporária, também tem quantidade limitada, de acordo com a anatomia da região doadora, exigindo ainda a criação de uma área cirúrgica adicional^{87, 122}.

Isto tem levado a procura de outras formas de tratamento e/ou materiais substitutos. Nos últimos anos tem aumentado o uso de tecido ósseo proveniente de bancos de tecidos, também conhecido como enxerto homólogo ou fresco congelado. A sua indicação ocorre quando há ausência de osso autólogo para captação, ou em casos que o paciente apresenta resistência frente à necessidade de manipulação de um segundo leito cirúrgico para captação do enxerto, atividade essa algumas vezes associada a problemas na fase pós-operatória, tais como deiscência de sutura, dor e infecção⁸⁷.

Porém o enxerto homólogo apresenta capacidade de revascularização e remodelação mais lentas em relação ao osso autólogo, e a união entre o leito receptor e o enxerto é obtida de forma consistente, porém não uniforme¹⁸. Seu uso é regulamentado pela Portaria GM/MS nº 1686, de 20/09/2002, Nas instituições autorizadas para funcionamento, a seleção dos doadores, bem como o processo de captação, armazenamento e estocagem do enxerto homólogo são realizadas seguindo normas da Associação Americana de Banco de Tecidos (AATB), a fim de diminuir a antigenicidade, transmissão de doenças, infecções e outras complicações que possam advir desse procedimento⁴⁰.

O uso de enxertos homólogos, obtidos de bancos de tecidos, tornou-se particularmente comum em cirurgias ortopédicas, onde havia a demanda de blocos ósseos extensos, utilizados no tratamento de lesões tibiais, femorais, colunares, entre outras^{34-35, 73, 108-110}. Mais recentemente, o uso desse tipo de biomaterial em odontologia também tem se tornado corriqueiro, principalmente nas cirurgias prévias à colocação de implantes, buscando aumento de espessura e altura ósseas^{38, 41, 69-70, 77, 80, 86, 135}.

Existem diversas configurações de osso homólogo disponíveis atualmente, incluindo osso particulado, pastilhas de cortical óssea, cubos de osso esponjoso e cubos mistos (com osso esponjoso e cortical), sendo que muitos dessas configurações não

poderiam nem ao menos ser consideradas se fôssemos trabalhar com osso obtido de origem autóloga, principalmente devido ao comprometimento estrutural que a retirada de tamanhas quantidades de tecido ósseo causaria ao sítio doador. Além disso, o osso homólogo pode ser trabalhado de maneira muito específica, criando blocos esculpido de forma personalizada, suprimindo a necessidade exata de cada paciente.

Pela observação da literatura produzida sobre o tema até o momento, observa-se que as taxas de sucesso, entendido pela correta incorporação dos enxertos homólogos, varia entre 60 e 90%, avaliados de maneira clínica e radiográfica, porém na área ortopédica⁸¹⁻⁸⁵. Já na área odontológica, aonde o termo sucesso vai muito além da mera incorporação do enxerto, envolvendo a capacidade do enxerto osseointegrar implantes e, mais ainda, suportar cargas mastigatórias ao longo dos anos, estudos citando taxas de sucesso são ainda insuficientes. Os estudos acima são quase todos na área ortopédica, aonde via de regra utiliza-se enxertos bem maiores. Também há carência de estudos comparando as formas corticais e cortico medulares destes enxertos, que devem apresentar características biológicas diferentes.

Frente a isso, fica nítida a necessidade de esclarecimentos sobre o comportamento biológico do enxerto ósseo homólogo nas suas duas formas mais comuns: cortical e cortico medular.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Enxerto Ósseo Homólogo Congelado e em Bloco em Implantodontia: Racionalização Biológica

2.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A palavra “sucesso”, em Implantodontia, esteve associada a diferentes conceitos ao longo das últimas três décadas. Com a consolidação plena do advento da osseointegração e a total aceitação do sucesso clínico dos implantes osseointegrados, no início da década de 1980, o termo sucesso foi relacionado a implantes biomecanicamente retidos ao tecido ósseo, capazes de suportar próteses ao longo do tempo. Já na década de 1990, a evolução das superfícies e dos componentes protéticos fez com que passássemos a considerar o tempo necessário para a obtenção da osseointegração e a qualidade do tecido ósseo envolvido no processo, além da estabilidade protética ao longo do tempo. Nos anos 2000, a chamada “estética vermelha” alterou os rumos das fábricas de implantes e da clínica em Implantodontia, assim, novos desenhos de implante, associados a novas conexões protéticas, guiaram os novos protocolos e opções terapêuticas disponíveis. O futuro parece guiar para a convergência desses parâmetros, dentro de um conceito embasado

biologicamente, sempre buscando a otimização de todos os fatores que embasaram o sucesso da Implantodontia até o momento.

Para a consolidação dos itens previamente citados, um bom posicionamento tridimensional dos implantes é historicamente citado como ponto de partida para a obtenção do sucesso e manutenção do tratamento ao longo do tempo^{4, 123-124, 134}. Um dos possíveis obstáculos ao sucesso do tratamento é que a disponibilidade óssea, capaz de prover uma arquitetura adequada para o bom posicionamento dos implantes, nem sempre está presente, visto que as mesmas entidades que potencializam a perda dos dentes, como a doença periodontal e o trauma, normalmente também causam a perda das estruturas de suporte, fazendo com que a disposição tridimensional do tecido ósseo não seja a mais adequada à instalação dos implantes^{7, 137}.

Diversas metodologias têm sido utilizadas na tentativa de corrigir defeitos ósseos no complexo maxilo-facial¹³⁹, melhorando a arquitetura óssea disponível para a instalação dos implantes. Dentre essas técnicas, o enxerto ósseo autólogo se mantém como o método mais previsível e melhor documentado, sendo ainda considerado o método padrão para a correção desse tipo de defeito²³. Uma grande limitação, porém, é que tal tipo de enxertia, além de associada com morbidade, dor e perda de função temporária, também apresenta quantidade limitada de tecido doador disponível, de acordo com a anatomia da região doadora, além da necessidade da criação de uma área cirúrgica adicional^{87, 122}.

Apesar de haver uma grande variedade de biomateriais que possam ser utilizados como substitutos ósseos já disponíveis no mercado, ainda não existe um biomaterial que traga todas as qualidades, porém sem as limitações, do enxerto ósseo autólogo, sendo esse o principal fator que estimula a busca por novos biomateriais.

A utilização de tecido ósseo proveniente de bancos de tecidos, também conhecido como enxerto homólogo, alógeno ou osso fresco congelado, tem aumentado nos últimos anos. A indicação desse tipo de biomaterial ocorre quando há restrição de osso autólogo para captação, ou em casos em que o paciente apresenta resistência frente à necessidade de manipulação de um segundo leito cirúrgico para captação do enxerto ósseo, fato esse frequentemente justificado a possíveis fenômenos na fase pós-operatória, tais como dor e infecção do leito doador⁸⁷.

Vantagens como facilidade de obtenção em quantidade desejada, redução do tempo cirúrgico e a não necessidade da manipulação de uma segunda área cirúrgica tornam o enxerto ósseo homólogo, captado junto a bancos de tecidos, uma alternativa viável nas cirurgias de reconstrução ósseas prévias a reabilitação com implantes osseointegráveis⁸¹. Acredita-se que este biomaterial atue como um arcabouço para a neoformação óssea, agindo preferencialmente como osteocondutor, e, sugestivamente, mas não devidamente comprovado, como osteoindutor⁸⁸.

Quando comparado ao enxerto ósseo autólogo em bloco, o enxerto homólogo em bloco apresenta capacidade de revascularização e remodelação mais lentas, e a união entre o leito receptor e o enxerto é obtida de forma consistente, porém não uniforme¹⁸. A maior demanda de tempo necessário para remodelação parcial do enxerto, a necessidade de respeito absoluto aos protocolos de captação e processamento, a possibilidade de cicatriz imunológica, a ausência de resultados consistentes sobre a previsibilidade destes enxertos a longo prazo e o fator psicológico de se utilizar um material obtido de cadáveres são as principais desvantagens desse tipo de biomaterial enfocadas na literatura¹¹.

No Brasil, a Portaria GM/MS (Gabinete do Ministro / Ministério da Saúde) nº 1686, de 20/09/2002, aprovou as normas para autorização de funcionamento e cadastramento de

bancos de tecidos musculoesqueléticos, porém, ainda é pequeno o número de bancos de tecido musculoesqueléticos em funcionamento (no Brasil, até o momento, são apenas seis com funcionamento autorizado). Nas instituições autorizadas para tal fim, a seleção dos doadores, bem como o processo de captação, armazenamento e estocagem do enxerto homólogo são realizadas de forma criteriosa, seguindo normas da Associação Americana de Banco de Tecidos (AATB), a fim de diminuir a antigenicidade, transmissão de doenças, infecções e outras complicações que possam advir desse procedimento⁴⁰.

Embora o conceito de osseointegração¹² esteja vastamente difundido no meio científico, trabalhos criteriosos correlacionando o prognóstico a médio e longo prazos de implantes instalados em áreas previamente enxertadas por biomateriais homólogos, são poucos e inconclusivos^{56,77}. Portanto, fica nítida a necessidade de esclarecimentos sobre o comportamento biológico do enxerto ósseo homólogo e da racionalização de sua utilização clínica em implantodontia ao longo dos anos.

2.2 BIOMATERIAIS

2.2.1 Conceitos

Os biomateriais são definidos como aqueles materiais não vivos utilizados na área médica ou biomédica, objetivando a interação com o sistema biológico¹³⁸. Muitos deles são uma alternativa efetiva para a substituição de tecidos perdidos, incluindo o tecido ósseo, pois habitualmente não apresentam riscos de transmissão de doenças ou rejeição imunológica, além de se apresentarem em quantidade teoricamente ilimitada⁵⁵. Em suma, pode-se dizer que biomateriais são arcabouços artificiais ou não, desenvolvidos para uso em áreas da saúde com a finalidade de substituir a matéria viva (órgãos ou tecidos) cuja função foi perdida, englobando qualquer substância sintética ou natural que pode ser

utilizada para este fim. Nesse ínterim, a literatura estabelece que devem ser excluídos dessa classificação os fármacos ou combinações de substâncias¹³⁸.

Para que o biomaterial execute sua função biológica com sucesso, o mesmo deve ser utilizado em íntimo contato com os tecidos do indivíduo e, para tanto, deve possuir características como: biocompatibilidade, previsibilidade, aplicabilidade clínica, ausência de riscos transoperatórios e sequelas pós-operatórias mínimas, além de aceitação pelo paciente¹¹². Espera-se ainda que o biomaterial não seja carcinogênico ou pirogênico, apresente estabilidade química e biológica, resistência mecânica e elástica adequadas, e seja de baixo custo¹⁰.

Apesar de haver uma grande variedade de biomateriais substitutos ósseos, associada a um avanço crescente no seu desenvolvimento e aperfeiçoamento, ainda não existe um biomaterial que preencha todos esses requisitos. Artigos científicos sobre defeitos ósseos criados experimentalmente e preenchidos com biomateriais são bastante comuns na literatura. Ponto pacífico nesses artigos é o fato de que um biomaterial ideal para implante ósseo, de origem não autógena, deve ser esterilizável, não tóxico, não induzir resposta imunológica e que possa estar disponível em quantidades suficientes. Este deve ainda ser capaz de induzir a quimiotaxia, migração e diferenciação de células do leito receptor em osteoblastos, sendo ao mesmo tempo, o biomaterial, gradualmente absorvível, fornecendo um suporte condutivo para formação de um novo tecido ósseo. Adicionalmente, o material deve funcionar como uma barreira contra o crescimento de tecido fibroso e muscular para dentro do defeito¹.

2.2.2 Classificação dos Biomateriais:

Quanto à origem:

Os biomateriais para implante e enxertia podem ser classificados de acordo com sua origem em quatro grandes grupos⁵⁵:

- a) Autólogo ou autógeno: obtido de áreas doadoras do próprio indivíduo;
- b) Homólogo ou alógeno: obtido de indivíduos diferentes, mas da mesma espécie do indivíduo receptor do enxerto;
- c) Isólogo ou isógeno: obtido de indivíduos diferentes, mas da mesma espécie e geneticamente idêntico ao indivíduo receptor do enxerto (gêmeos idênticos ou clonagem terapêutica);
- d) Aloplástico: pode ser de natureza metálica, cerâmica ou polimérica;
- e) Xenógeno: obtido de indivíduos de espécies diferentes do receptor (por exemplo, bovino)⁵⁵.

Quanto ao mecanismo de ação:

Os biomateriais podem também ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação em:

- a) Osteogênicos: refere-se a capacidade do biomaterial levar consigo células ósseas viáveis para o leito receptor;
- b) Osteoindutores: refere-se a capacidade do biomaterial em induzir células mesenquimais indiferenciadas do leito receptor a se diferenciar em osteoblastos;
- c) Osteocondutores: refere-se a capacidade do biomaterial atuar como arcabouço para a neoformação óssea no leito receptor, permitindo a migração celular e a proliferação de vasos sanguíneos para o interior do biomaterial^{29, 128}.

O enxerto autólogo é considerado o padrão ouro atualmente, e é largamente empregado quando da necessidade de aumento do volume ósseo, visto que é o único

biomaterial que age pelo três mecanismos de ação, ou seja: osteogênese, osteocondução e osteoindução, simultaneamente. O foco atual da bioengenharia é introduzir mudanças tecnológicas na produção e/ou na obtenção dos substitutos ósseos para tentar conferir a estes materiais características de osteoindução, osteocondução e osteogênese, de forma combinada.

Quanto a possibilidade de absorção:

a) Bioestáveis ou permanentes: são aqueles utilizados na substituição, por tempo indeterminado, de um tecido lesado, devendo possuir características mecânicas e físico-químicas compatíveis com tal função;

b) Bioabsorvíveis ou temporários: são aqueles que substituem tecidos que necessitam de um suporte que preencha a região lesada apenas temporariamente, até que a recomposição tecidual se concretize, ou ainda que direcione o processo regenerativo¹²⁶.

Quanto às características físico-químicas resultantes do processamento:

a) Orgânicos: o osso, geralmente bovino, pode ser desmineralizado em condições controladas de pH e temperatura removendo os componentes inorgânicos e celulares, restando predominantemente colágeno tipo I e, em algumas vezes, embora sempre questionado, resíduos de fatores de crescimento.

b) Inorgânicos: o material inorgânico é obtido através da desproteíntização do osso através de processos termoquímicos que removem sua porção orgânica, restando fundamentalmente hidroxiapatita (HA).

c) Mistos: quando o processamento mantém os dois componentes anteriores de maneira ainda estruturada²⁹.

Dentre os biomateriais que têm sido propostos na literatura atual, podemos citar os polímeros naturais, já há muito tempo estudados, mas ainda com resultados bastante variados. Estudos que utilizam biopolímeros como substitutos ósseos vão desde o uso de géis de quitosana, extraída da casca de crustáceos⁹⁶ até polímeros produzidos com colágeno para uso como arcabouços de três dimensões, utilizados em engenharia tecidual⁵⁹, passando por diversas outras substâncias, como o metil-metacrilato¹³⁶, Bis-GMA, polímero de mamona⁹⁷, entre outros⁵⁴. Para facilitar a utilização esses polímeros são muitas vezes agregados a outras substâncias, normalmente minerais, capazes de aumentar sua resistência mecânica, compatibilizar seu tempo de reabsorção à velocidade de formação óssea e favorecer o aumento de sua viscosidade. Atualmente, os materiais mais citados para essa finalidade são os biovidros e o fosfato tri-cálcio²⁰.

2.3 HISTÓRICO DOS ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS

Há relatos na literatura do uso de enxerto ósseo homólogo desde o início do século XIX. Entretanto, foi o estabelecimento de bancos de tecido musculoesqueléticos, a partir da década de 1950, que formalizou o uso deste biomaterial²⁷. Anteriormente ao desenvolvimento dos bancos de tecidos, o osso homólogo era utilizado fresco, seja obtido de cadáver ou de um doador vivo, embora nesses casos, o risco de contaminação ou rejeição devido à reações imunológicas fossem aumentados, diminuindo assim as taxas de sucesso do tratamento. Atualmente, os componentes orgânicos dos enxertos ósseos homólogos são removidos ou inativados durante o processamento, na tentativa de prevenir a ocorrência de rejeição¹⁰⁵.

O uso de enxertos ósseos homólogos, obtidos de bancos de tecidos, tornou-se particularmente comum em cirurgias ortopédicas, onde há demanda por blocos ósseos extensos, os quais são utilizados no tratamento de lesões tibiais, femorais, da coluna vertebral, entre outras^{34-35, 73, 108-110}. Mais recentemente, o uso desse tipo de biomaterial em odontologia tem se tornado mais comum, principalmente nas cirurgias prévias à colocação de implantes, buscando aumento de espessura e altura ósseas^{38, 41, 69-70, 77, 80, 86, 98, 116, 118, 135}.

Normalmente, em implantodontia, são utilizados blocos ósseos congelados obtidos da região femoral ou patelar, sendo que a obtenção deste material deve ser feita em bancos de tecido que seguem os protocolos de obtenção e processamento preconizados e certificados pela Associação Americana de Bancos de Tecidos (AATB), ou ainda pela Associação Europeia de Transplantes Musculoesqueléticos (EAMST)^{53, 65-66, 68, 99, 125, 127, 132}.

Pela análise da literatura na área ortopédica, observa-se que as taxas de sucesso, entendido pela correta incorporação dos enxertos homólogos, varia entre 60 e 90%, quando avaliados de maneira clínica e radiográfica⁸¹⁻⁸⁵. Já na área odontológica, onde o termo sucesso vai muito além da mera incorporação do enxerto, envolvendo a capacidade do enxerto osseointegrar implantes e, adicionalmente, suportar cargas mastigatórias ao longo dos anos, estudos citando taxas de sucesso são ainda insuficientes, assim como dados relacionando, quantitativa ou qualitativamente, a capacidade de implantes de titânio osseointegrarem em regiões enxertadas com osso homólogo. Um dos poucos estudos longitudinais sobre o tema é o de Carinci e colaboradores, de 2010, onde foi relatado um sucesso acumulado de 41% para implantes instalados em área previamente enxertadas com biomaterial homólogo, quatro anos após a instalação desses implantes²⁴.

2.4 ASPECTOS LEGAIS DA UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS

Além dos aspectos biológicos que envolvem a utilização do enxerto ósseo homólogo em Odontologia (que serão abordados na sequência do capítulo), é importante também o conhecimento da legislação envolvida na obtenção e aplicação destes enxertos. Uma síntese do que foi apresentado na forma de Leis, Decretos, Portarias e Resoluções publicados pelo Ministério da Saúde e pela ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária e que regulamentam o funcionamento dos bancos de tecido musculoesqueléticos brasileiros, é apresentada na sequência, de tal modo que o cirurgião-dentista que opte por utilizar este tipo de biomaterial tenha maior respaldo legal em relação à sua prática.

O trâmite teve início com a Lei federal número 9434, de 04 de fevereiro de 1997, que dispõe sobre a “remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano (de cadáveres ou doadores vivos) para fins de transplante e tratamento, além de dar outras providências legais sobre o tema”¹⁴. A referida Lei foi alterada pela Lei número 10211, de 23 de março de 2001, no que diz respeito à expressão de vontade pela doação de órgãos e tecidos, estabelecendo que a doação somente poderá ser feita na “dependência da autorização do cônjuge ou parente, maior de idade, obedecida a linha sucessória, reta ou colateral, até o segundo grau inclusive, firmado em documento subscrito por duas testemunhas presentes à verificação da morte”¹⁵.

Tais Leis¹⁴⁻¹⁶ estabeleceram também que transplantes ou enxertos só serão feitos com o consentimento expresso do paciente receptor, após devido aconselhamento sobre as características e os riscos envolvidos no procedimento. Nos casos em que o receptor for juridicamente incapaz ou que não esteja apto a manifestar sua vontade, o consentimento poderá ser feito por um de seus pais ou responsáveis legais. É estabelecido também que fica proibida a veiculação, através de qualquer meio de comunicação, de publicidade dos estabelecimentos autorizados a realizar transplantes e enxertos.

De acordo com a Legislação, é também obrigatório, para todos os estabelecimentos de saúde, comunicar às centrais de notificação, captação e distribuição de órgãos da unidade federada onde ocorrer, o diagnóstico de morte encefálica feito em pacientes por eles atendidos¹⁴⁻¹⁵. Além disso, “remover tecidos, órgãos ou partes do corpo de pessoa ou cadáver, em desacordo com as disposições destas Leis configura crime, com pena de reclusão, de dois a seis anos, e multa, de 100 a 360 dias-multa, se o crime é cometido mediante pagamento ou promessa de recompensa ou por outro motivo torpe; ou ainda com pena de reclusão por até 10 anos, se o crime é praticado em pessoa viva, e resulta para o ofendido incapacidade para as ocupações habituais por mais de trinta dias, perigo de vida, debilidade permanente de membro, sentido ou função, aceleração de parto, incapacidade para o trabalho, enfermidade incurável, perda ou inutilização de membro, sentido ou função, deformidade permanente ou aborto, e finalmente com pena de reclusão de até 14 anos se o crime é praticado em pessoa viva e resulta morte”¹⁴⁻¹⁵.

Para o cirurgião-dentista é fator relevante e que pode ser considerado como crime, com pena de reclusão que pode chegar à 20 anos, o “ato de comprar ou vender tecidos, órgãos ou partes do corpo humano ou promover, intermediar, facilitar ou auferir qualquer vantagem com a transação e ainda realizar transplante ou enxerto utilizando tecidos, órgãos ou partes do corpo humano de que se tem ciência terem sido obtidos em desacordo com os dispositivos legais”, ou ainda “recolher, transportar, guardar ou distribuir partes do corpo humano de que se tem ciência terem sido obtidas em desacordo com os dispositivos legais”¹⁴⁻¹⁵. Com isso em vista, tem-se o porque é essencial ao cirurgião dentista conhecimentos sobre a legalidade dos bancos de tecidos dos quais o mesmo solicita biomaterial.

No intuito de se preservar a dignidade do doador e para não causar constrangimentos à sua família, também é considerado crime passível de detenção, “deixar de recompor o cadáver, devolvendo-lhe aspecto condigno, para sepultamento ou deixar de entregar ou retardar sua entrega aos familiares ou interessados”¹⁴⁻¹⁵. Nesses casos, cabe à equipe médica que faz a captação dos órgãos e tecidos realizar tal reconstrução.

Em relação especificamente à doação de tecidos musculoesqueléticos, a Portaria GM/MS número 1686, de 20 de setembro de 2002, acrescida pela RDC/ANVISA (Resolução da diretoria colegiada / Agência Nacional de Vigilância Sanitária) nº 220, de 27/12/2006, aprova as normas para autorização de funcionamento e cadastramento de bancos de tecidos musculoesqueléticos (BTME)^{16, 104}. Nesta Portaria, frente à necessidade de regulamentar a “captação, proteção ao doador e ao receptor, coleta, processamento, estocagem, distribuição e transplante de tecidos musculoesqueléticos e na tentativa de coibir que tais práticas sejam realizadas, em todo o território nacional, seja por pessoas físicas ou jurídicas, em caráter eventual ou permanente, por serviços que estejam em desacordo com o ordenamento estabelecido” foram estabelecidas as normas para autorização de funcionamento e cadastramento de BTME¹⁶.

Pela Portaria, entende-se por BTME “o serviço que, com instalações físicas, equipamentos, recursos humanos e técnicas adequadas, seja destinado à captação, triagem clínica, laboratorial e sorológica, coleta, identificação, processamento, estocagem e distribuição de tecido musculoesquelético de procedência humana para fins terapêuticos ou de pesquisa”¹⁶. Tais bancos podem funcionar, independentemente do fato de serem privados ou vinculados ao SUS, com licença de funcionamento emitida pela ANVISA, além da autorização dada pelo Sistema Nacional de Transplantes, em conformidade com as normas internacionais que regem a utilização desse tipo de tecido. Para que seja autorizado

a funcionar, além do cumprimento das normas aprovadas nas leis, o BTME deve comprovar que estará aberto e em funcionamento para atendimento das demandas nas 24 horas do dia, todos os dias, e assegurar o controle e garantia de qualidade dos procedimentos, equipamentos, reagentes e correlatos¹⁶.

A garantia da qualidade dos tecidos musculoesqueléticos distribuídos é de responsabilidade do BTME, e a responsabilidade médica e técnica final de sua utilização é do cirurgião transplantador. O Banco de Tecidos pode fornecer tecidos por ele processados para realização de transplantes, “tanto em caráter privado como pelo SUS, somente a serviços que estejam devidamente autorizados pelo Sistema Nacional de Transplantes a realizar seu implante”¹⁶. No caso dos cirurgiões dentistas, estarão autorizados a utilizar esse biomaterial os especialistas em periodontia, cirurgia buco-maxilo-facial ou Implantodontia que solicitarem seu cadastro junto a Central Nacional de Captação e Doação de Órgãos (CNCDO). O cadastro pode ser feito pelo envio on-line da documentação, que envolve a cópia da inscrição no conselho da categoria (CRO) e cópia do título de especialista devidamente registrado, sem qualquer custo adicional¹⁶.

Na legislação ficou estabelecido que é responsabilidade do BTME avaliar clínica, laboratorialmente e radiograficamente todos os tecidos musculoesqueléticos, “...a fim de identificar possíveis contraindicações a seu emprego e garantir, por meio de protocolos, a padronização relativa aos processos e ao controle da qualidade dos tecidos musculoesqueléticos humanos que estejam sob sua responsabilidade, mantendo registros dos processos de controle e garantia de qualidade dos procedimentos, equipamentos, reagentes e correlatos, além de disponibilizar para a equipe responsável pelo transplante, todas as informações necessárias a respeito do tecido a ser utilizado, bem como sobre seu doador, mantendo em sigilo a sua identidade”¹⁶.

De acordo com a legislação, o BTME deverá ainda manter arquivo próprio com todos os dados de identificação e técnicos sobre os receptores e tecidos - captados, processados, armazenados e distribuídos - por no mínimo 25 anos, e enviar relatórios mensais a CNCDO sobre as atividades de captação e distribuição de tecidos do BTME, garantindo assim sua rastreabilidade. O BTME deve assegurar "...a formação e aperfeiçoamento de recursos humanos responsáveis por todas as etapas envolvidas no processo - captação, triagem clínica, laboratorial e sorológica, coleta, identificação, processamento, armazenamento e distribuição dos tecidos musculoesqueléticos, estabelecendo programas de ensino, pesquisa e desenvolvimento tecnológico nas áreas de interesse de banco de tecidos e transplante de tecidos musculoesqueléticos"¹⁶.

Dessa forma, até novembro de 2009, alguns bancos de tecido brasileiros forneciam cursos de capacitação para profissionais interessados na utilização desse material, mas que não poderiam ser cadastrados como autorizados a utilizá-lo, devido à falta do título de especialista. Feito esse curso, o cirurgião dentista ficava autorizado a solicitar tecidos apenas no banco que lhe ministrou o curso. Tão logo o cirurgião obtivesse o título de especialista, o mesmo poderia alterar seu cadastro junto à CNCDO, e passaria a utilizar qualquer um dos bancos disponíveis. Essa situação foi modificada em 04/11/2009, quando a Coordenação Geral do Sistema Nacional de Transplantes optou por suspender a possibilidade de se obter autorização para utilização do material sem o título de especialista. Atualmente, o cirurgião dentista além de ser portador do título de especialista, deve fazer o cadastramento junto à CNCDO de seu estado, para ser habilitado a utilizar biomaterial homólogo, sem que isso interfira na realização de cursos que informem os profissionais que desejam usar esse recurso em sua prática clínica.

Atualmente no Brasil existem seis BTME com autorização de funcionamento, que podem ser procurados pelos cirurgiões dentistas como fontes de material homólogo para enxertia. Quatro deles estão localizados na região sudeste do país, três no estado de São Paulo (União Marília, Hospital das Clínicas das USP – São Paulo e Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo) e um no estado do Rio de Janeiro (Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia – INTO). Os outros dois bancos autorizados estão localizados na região Sul do país, um na cidade de Passo Fundo (RS), vinculado ao hospital São Vicente de Paulo e o outro na cidade de Curitiba (PR), vinculado ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Paraná.

2.5 ASPECTOS BIOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS CONGELADOS E EM BLOCO

Seguindo a implantação de um enxerto ósseo homólogo congelado e em bloco, diversos processos ocorrem causando integração e remodelação parcial do mesmo. Inicialmente ocorre uma reação inflamatória, a partir da qual as regiões não vitais do tecido implantado começam a ser reabsorvidas, criando espaços que permitam sua invasão por vasos sanguíneos, e a chegada das células responsáveis pelo metabolismo ósseo (osteoclastos e osteoblastos), responsáveis pela remodelação parcial da região, que vai ocorrer gradativamente. Os osteoclastos irão degradar a matriz óssea homóloga enxertada, enquanto que os osteoblastos irão secretar osso novo, sempre de uma maneira progressiva; para descrever este fenômeno foi criado o termo “creeping substitution”. Até hoje a literatura é confusa em estabelecer o período de tempo necessário e a quantidade exata do enxerto ósseo homólogo que pode sofrer remodelação. Isto ocorre devido a existência de variáveis, tais como: o tipo do enxerto utilizado (cortical ou medular), a vascularização do

leito receptor e a quantidade de material não vital a ser remodelado; alguns autores relatam que essa remodelação completa pode até mesmo não ocorrer durante o período de vida do receptor, tão lento parece ser o processo de remodelação deste material^{6, 21}.

Existem diversas configurações de osso homólogo disponíveis atualmente, incluindo osso particulado, pastilhas de cortical óssea, cubos de osso esponjoso e cubos mistos (com osso compacto e esponjoso), sendo que muitas dessas configurações não poderiam nem ao menos ser consideradas se trabalhássemos com osso obtido de origem autóloga, principalmente devido ao comprometimento estrutural que a retirada de tamanhas quantidades de tecido ósseo causaria ao sítio doador. Além disso, o osso homólogo pode ser trabalhado de maneira muito específica, criando blocos esculpidos de forma personalizada, suprimindo a necessidade exata de cada paciente.

Já que, em teoria, não existem células ósseas viáveis no osso homólogo processado, o mesmo não possui características osteogênicas. O processamento deste tecido, conforme proposto pela AATB, inclui o debridamento físico para remoção do tecido mole e redução da carga celular, lavagem ultrassônica para remover o restante das células e sangue, lavagem e centrifugação a baixas temperaturas (-80 °C) para desnaturar as proteínas celulares e causar a inativação de qualquer vírus que possa existir, lavagem com antibióticos (no caso específico do tecido processado para aplicação odontológica, a legislação preconiza o sulfato de gentamicina) com efeito bactericida, corte do tecido ósseo na geometria específica, e esterilização, feita por irradiação gama ou exposição ao óxido de etileno (etapa optativa), previamente ao congelamento e liberação do lote de tecido para distribuição¹²¹. Esse processamento faz com que a capacidade osseointegradora deste tipo de enxerto seja, de acordo com o que está estabelecido na literatura, inexistente³⁶.

Para que possamos fazer uma racionalização com o que foi estudado do enxerto ósseo homólogo até o momento, didaticamente separaremos os aspectos biológicos de sua utilização em três sub-tópicos – aspectos histológicos, aspectos radiográficos e aspectos imunológicos.

2.5.1 Aspectos histológicos da utilização de enxertos ósseos homólogos congelados e em bloco.

O primeiro aspecto que deve ser considerado em relação à incorporação e remodelação do enxerto ósseo homólogo diz respeito à arquitetura do biomaterial que foi utilizado. Isso porque diferentes padrões de remodelação óssea (muitas vezes tratada sob os termos reabsorção e neoformação óssea) estão diretamente relacionados à proporção entre osso cortical e medular presentes no enxerto utilizado. Por exemplo, quanto maior a porção de osso esponjoso do enxerto, tanto maior a reabsorção que esse deverá sofrer⁹. Dessa forma, neste capítulo discorreremos sobre enxertos homólogos predominantemente corticais ou córtico-medulares de forma separada.

Como já abordado anteriormente, é bem estabelecido na literatura que o processamento do osso homólogo interfere negativamente nas propriedades biológicas e biomecânicas do biomaterial, o que já levaria a características histológicas diferentes daquelas vistas para o enxerto com biomaterial autólogo^{22, 74}. Em nossos resultados, previamente publicados, utilizando enxertos ósseos homólogos, em sua forma de apresentação predominantemente cortical, a avaliação macro e microscópica 7 meses pós enxertia demonstrou a biocompatibilidade do material, sem a ocorrência de reação inflamatória severa seguida de sua implantação¹¹⁸._ENREF_48 A análise destas biópsias demonstrou ainda a presença de grande quantidade de biomaterial ainda não remodelado

(não vital). No mesmo estudo, a análise histológica dos enxertos ósseos autógenos demonstrou extensas áreas de osso remodelado (vital). Confrontando nossos achados histológicos¹¹⁸ com a literatura há alguns estudos que afirmam que os enxertos ósseos homólogos podem possuir propriedades osteoindutoras, com a preservação de proteínas morfogenéticas ósseas (apesar dos protocolos para o processamento do biomaterial), as quais induzem a neoformação óssea nas regiões enxertadas^{63, 67, 71, 100}. Tais estudos relatam como resultados, extensas áreas de osso novo e viável incorporado à área enxertada. Ao contrário dos nossos resultados¹¹⁸, estes estudos sugerem que o enxerto ósseo homólogo enxertado seria totalmente remodelado cerca de seis meses após a enxertia, sem a existência de material não vital remanescente³². Contrariando essa afirmação, e indo também ao encontro com os nossos resultados com enxerto ósseo homólogo, existem outros estudos que demonstram neovascularização comprometida, pequena quantidade de osso neoformado e número reduzido de células viáveis presentes nas biópsias realizadas⁴⁸⁻⁵⁰. Todos estes trabalhos concluíram que em todas as circunstâncias, enxertos ósseos homólogos são histologicamente e biologicamente inferiores aos enxertos ósseos autólogos, principalmente ao se considerar os primeiros 12 meses após a enxertia - o que é consistente com os nossos resultados publicados¹¹⁸.

Em comparação ao enxerto ósseo autólogo, um estudo mais recente relaciona o retardo na remodelação dos enxertos ósseos homólogos ao fato desse biomaterial levar a produção de níveis reduzidos de mediadores importantes ao processo de neoformação/reabsorção óssea, tal como o fator de crescimento endotelial-vascular (VEGF)⁶¹.

A remodelação mais lenta dos enxertos ósseos homólogos, evidenciada em nossos estudos pela diminuta ou nenhuma presença de osteoclastos e osteoblastos ativos, pode indicar implicações diretas sobre a sua utilização clínica¹¹⁸. Na área da cirurgia ortopédica,

a remodelação limitada desse tipo de enxerto está diretamente associada com taxas de insucesso variando entre 25% e 35% dentro de 3 anos, devido à fratura, não incorporação e infecção do enxerto ósseo homólogo. As fraturas nesta fase seriam o resultado do acúmulo de microfissuras não reparadas, visto que estão presentes em osso ainda não vital, sem suprimento vascular, e, portanto sem atividade celular³³.

Nossos resultados com enxerto ósseo homólogo cortical deixaram nítido que seu desempenho biológico fica muito aquém do resultado obtido com o biomaterial autólogo¹¹⁸. Isso deixa claro que o biomaterial homólogo age apenas como um osteocondutor, sem as propriedades osteogênicas e osteoindutoras presentes quando da utilização do osso autólogo. Os efeitos desses eventos sobre os resultados clínicos obtidos em longo prazo, e a taxa de sucesso dos implantes e próteses implanto-suportadas instaladas nessas áreas permanecem obscuros.

Na sequência, e frente a necessidade de maiores esclarecimentos sobre o tema, nosso grupo de pesquisa passou a trabalhar com enxertos ósseos homólogos córtico-medulares. A avaliação histológica desse biomaterial, seis meses após a realização do enxerto, também evidenciou a presença de remanescente ósseo não vital, porém aparentemente em quantidade inferior ao que fora visto para o biomaterial homólogo cortical¹¹⁷.

A grande diferença foi percebida no aspecto macroscópico das biópsias obtidas, pois ao contrário do que ocorria para o material cortical, onde era possível a diferenciação do remanescente ósseo do leito receptor, nos casos onde foi empregado o material córtico-medular essa interface era mais homogênea, sem linhas de separação entre o leito receptor e a parte ainda não vital do enxerto. Ainda assim, as características histológicas do material homólogo estavam aquém do resultado obtido com a utilização do biomaterial autólogo,

visto que o último apresentava um estágio de remodelação óssea mais avançado, seis meses após a enxertia¹¹⁷.

É importante salientar que o atraso na remodelação dos enxertos ósseo homólogos pode ter implicação direta na qualidade da osseointegração dos implantes instalados nessas áreas. Tendo isso em mente, em um outro estudo, mini-implantes foram instalados em áreas previamente enxertadas com osso homólogo córtico-medular e em áreas previamente enxertadas com osso autólogo cortical. Os mini implantes foram trefinados 6 meses após suas instalações (e doze meses após a enxertia). Os resultados não demonstraram diferenças significativas comparando o enxerto homólogo e autólogo no que se refere a: 1) contato osso-implante e 2) área óssea neoformada entre as espiras do implante¹¹⁷.

No entanto, levando em consideração as informações pré-existentes na literatura e confirmada em nossos resultados sobre a remodelação atrasada dos enxertos homólogos¹¹⁷⁻¹¹⁸ em comparação ao enxertos autólogos^{71, 103}, e o que é esperado em termos de sobrevivência de implantes em áreas enxertadas¹⁰³, fica claro que estudos como o de Carinci e colaboradores²⁵, tem fundamentação biológica ao relacionar baixa taxa de sucesso a longo prazo de implantes instalados em áreas previamente enxertadas com osso homólogo.

2.5.2 Aspectos radiográficos da utilização de enxertos ósseos homólogos congelados e em bloco.

Estudos prévios acessaram o resultado de enxertos ósseos autólogos utilizando tomografia computadorizada de feixe-cônico (TCFC), embora avaliações comparativas em relação ao osso homólogo são mais recentes.^{64, 94, 106-107, 115}. Com base em uma metodologia desenvolvida especialmente para permitir a comparação tomográfica volumétrica entre

enxertos ósseos autólogos e homólogos, obtivemos resultados em relação as variações bi e tridimensionais que ocorrem com os blocos destes enxertos nos primeiros seis meses após os procedimentos de enxertia¹¹⁹. Estes resultados demonstraram que tanto o biomaterial homólogo (córtico-medular) quanto o autólogo (cortical) foram capazes de promover aumento ósseo significativo, e passível de viabilizar a instalação de implantes em rebordos ósseos com espessura limitada. Apesar disso, o biomaterial homólogo demonstrou taxas de reabsorção cerca de 3,5 vezes maiores do que o autólogo, seis meses após os procedimentos de enxertia.

Os blocos ósseos homólogos enxertados nos pacientes eram mais volumosos do que os blocos autólogos. Isto ocorreu devido a maior disponibilidade em volume do osso homólogo. Entretanto, mesmo com maior volume inicial, o enxerto ósseo homólogo apresentou maior taxa de reabsorção, próxima de 10%, em média, ao longo dos seis primeiros meses pós-enxertia, fato este não observado para o enxerto ósseo autólogo. Essa informação é relevante e deve ser considerada no planejamento reverso de cada caso clínico.

Um parâmetro que foi considerado como o possível causador dessa maior taxa de reabsorção observada para o material homólogo foi a arquitetura do enxerto utilizado. O fato de utilizarmos, para o estudo do qual citamos os resultados, enxerto homólogo córtico-medular, em comparação ao enxerto ósseo autólogo com maior conteúdo cortical, pode ter interferido em nossos resultados, embora o material homólogo tenha sido trabalhado (compactado) de forma a minimizar o seu conteúdo de tecido mole (medula óssea). Estudos prévios já demonstraram a interferência da arquitetura do enxerto ósseo na dinâmica de sua remodelação⁹. Outro fator que pode ter interferido para que houvesse essa maior perda volumétrica no enxerto ósseo homólogo seria a dificuldade de vascularização que esse

biomaterial apresenta, levando a um menor crescimento ósseo em direção à área enxertada, e a um menor número de células envolvidas no processo de remodelação⁴⁸⁻⁵⁰.

Em relação ao método tomográfico, é importante frisar que atenção especial foi dada à sua padronização, garantindo a reprodutibilidade e o poder estatístico de nossos resultados. Embora a tomografia computadorizada venha sendo utilizada exaustivamente para estudo de volume ósseo, até então isso foi feito de maneira pouco padronizada, geralmente com medidas lineares, o que prejudica o peso científico dos achados desses estudos^{3, 30, 44, 94, 129-131}.

Estes achados devem ser levados em consideração no momento da definição do plano de tratamento dos pacientes, já que a reabsorção parcial do enxerto pode ser antevista e compensada com a utilização de blocos de enxerto ósseo homólogo mais volumosos.

2.5.3 Aspectos imunológicos da utilização de enxertos ósseos homólogos congelados.

Frequentemente o osso homólogo é tratado como um material receptor universal, já que o potencial imunológico do tecido processado é reduzido através dos processos de remoção celular e congelamento. Apesar da realização do processamento do enxerto ósseo homogêneo, células osteogênicas sobrevivem ao processamento (congelamento), o que se apresenta como um fator de preocupação^{52, 113}. Estudos em animais da mesma espécie demonstraram que em alguns casos o transplante de tecido ósseo pode deflagrar resposta imunológica, embora sua relevância clínica seja desconhecida^{8, 11, 36, 120}. Com isso em mente, e sabendo que a união do enxerto ao leito receptor, e suas características funcionais, irão depender da histocompatibilidade entre doador/receptor, alguns estudos verificaram

que, em animais, a administração de agentes imunossupressores pode melhorar o desempenho dos enxertos homólogos, em detrimento dos danos sistêmicos causados ao animal pela medicação utilizada¹²¹.

Poucos trabalhos tem sido realizados para discutir a importância do fator imunológico na incorporação dos enxertos ósseos homólogos, sendo que os achados a esse respeito continuam inconclusivos. Nossa experiência sobre o assunto está pautada pela avaliação sanguínea e sorológica de pacientes submetidos a enxertos ósseos homólogos e autólogos em bloco¹¹⁶.

A análise sanguínea permite a detecção de diversas alterações fisiológicas, desde que realizada de forma padronizada e com bons padrões de comparação⁹³. Especial atenção deve ser dada ao linfograma dos pacientes, já que os linfócitos, por atuarem diretamente no sistema imune, podem evidenciar algum tipo de reação contra o material enxertado⁹⁰. Baseado nas análises de hemogramas, nossos resultados demonstraram, de maneira geral, ao longo de seis meses pós enxertia, similaridade nas populações de células sanguíneas de pacientes tratados com biomaterial homólogo e autólogo¹¹⁶. Embora na literatura a relação entre a resposta imune e a homeostasia das populações de células sanguíneas seja assunto bem estabelecido^{37, 79}, a interferência de enxertos ósseos sobre essa homeostasia ainda não havia sido testada. Nossos resultados demonstraram que enxertos ósseos em bloco apositados na região maxilo-facial, sejam autólogos ou homólogos, não elevam as populações das diferentes células que compõem o sangue humano a níveis acima dos padrões de referência.

Além disso, os níveis normais de linfócitos e ausência de linfócitos atípicos configuram um bom indicativo de que processos inflamatórios agudos sistêmicos não ocorreram devido aos procedimentos de enxertia, embora estudos mais específicos sobre o

tema, embasados na detecção de interleucinas específicas, ou de forma local (diretamente no enxerto), ainda são necessários⁴².

Em um estudo seguinte, o soro dos paciente tratados com enxertos ósseos homólogos e autólogos foi avaliado em relação a alguns marcadores imunológicos¹¹⁷. A resposta imune frente a um enxerto ósseo pode ser desencadeada por diversos dos componentes do enxerto, tais como o colágeno, gordura, ou proteínas da matriz óssea, sendo correlacionados com o complexo de antígenos leucocitários humanos (HLA)⁵². O complexo HLA é subdividido em antígenos de classe I e II, e ambos são capazes de ativar células T. Antígenos de classe I incluem o HLA-A, HLA-B e HLA-C, e são encontrados na maioria das células nucleadas⁹². Antígenos de classe II são representados pelo HLA-D e são expressos em células B, células do sistema retículo-endotelial, células T ativadas e células da linhagem de macrófagos / mielóide. Osteoblastos humanos também expressam antígenos classe II¹¹⁴. Mesmo a atividade anormal dessas populações celulares pode estar associada a alterações dos níveis séricos de alguns marcadores sorológicos sistêmicos, como citocinas e interleucinas.

Nossa experiência com enxertos homólogos e autólogos inclui uma avaliação quantitativa de interleucinas 10 (IL-10) e 1 β (IL-1 β) e dos marcadores inflamatórios int feron γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), em pacientes submetidos a procedimentos de enxertia. Os resultados mostraram que todos os pacientes tratados apresentaram boa saúde sist mica após os procedimentos de enxerto ósseo, sem quaisquer sinais de contamina o ou sinais de incompatibilidade imunológica, indicado pela normalidade nos níveis sist micos dos marcadores avaliados¹¹⁷. Apesar disso, varia es significativas foram encontradas em rela o a IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , ao longo dos seis primeiros meses pós-enxertia no soro dos pacientes tratados com biomaterial homólogo,

fato não encontrado em pacientes tratados com enxertos autólogos e submetidos aos mesmos exames.

As interleucinas e os marcadores inflamatórios selecionados podem estar direta e indiretamente envolvidos na ativação de células de reabsorção óssea (osteoclastos), e esta informação pode ser correlacionada diretamente ao destino de enxertos ósseos homólogos. O pool de interleucinas e marcadores inflamatórios investigados foi selecionado com base na reação que pode ser iniciada pelo organismo receptor de um enxerto, chamado de “resposta aloimune”, mediada por uma variedade de células e citocinas⁵². As células T podem desempenhar um papel vital na rejeição aguda e crônica dos enxertos ósseos homólogos⁹¹. As células T secretam várias citocinas que influenciam diretamente a fisiologia do tecido ósseo, e se diferenciam em células inflamatórias T CD4 (Th1) e células auxiliares T CD4 (Th2). Dentre os marcadores que foram avaliados nos pacientes tratados com enxerto ósseo homólogo, as células Th1 secretam TNF- α , e IFN- γ ⁵⁷.

As células Th2 desempenham um papel importante na rejeição de enxertos ósseos⁷². Estas células secretam IL-10, que está envolvida na ativação e na maturação completa de células T CD8 +, células plasmáticas e macrófagos⁵⁷. Células T CD8 são predominantemente citotóxicas e desempenham um papel importante na rejeição de enxertos, já que reconhecem antígenos em associação com moléculas MHC classe I, e também mediam a citotoxicidade através da secreção de IFN- γ , com a capacidade para induzir a apoptose em suas células-alvo^{5, 52}. Seguindo essa sequência de eventos, é plausível que níveis sistêmicos alterados das interleucinas e marcadores inflamatórios avaliados estariam relacionados a uma reação imunológica contra os enxertos nos pacientes incluídos.

Os macrófagos também seriam uma população de células importantes que poderiam estar envolvidas nesta reação adversa, infiltrando-se nos enxertos ósseos homólogos e levando a um efeito adverso, uma vez que eles promovem osteoclastogênese e inibem a atividade osteoblástica⁵⁸. Variações nos níveis séricos de IL-1 β e TNF- α poderiam provocar este efeito. Esses marcadores, se em níveis excessivos, podem promover osteoclastogênese por uma ação direta sobre as células precursoras de osteoclastos⁷⁸.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar, em humanos, a incorporação dos enxertos ósseos homólogos cortical e cortico medular, obtidos de bancos de tecidos, comparativamente ao osso autólogo, por meio de análise tomográfica, histológica e histomorfométrica.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 AMOSTRA

Foram utilizados 45 pacientes, edêntulos parciais ou totais, de ambos os sexos e idade variando entre os 22 e 65 anos, atendidos nos Cursos de Especialização em Implantodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-UNESP), que buscaram reabilitação oral por meio de implantes osseointegráveis, porém apresentavam defeitos ósseos maxilo-faciais diagnosticados através do exame clínico e radiográfico, que impossibilitaram a instalação imediata desses implantes, necessitando, portanto, de enxertia óssea. Os pacientes foram divididos em 3 grupos, de acordo com o tipo de enxerto: Grupo AT (enxerto de tecido ósseo autólogo); Grupo AL CM (enxerto de tecido ósseo homólogo cortico medular); Grupo AL C (enxerto de tecido ósseo homólogo cortical), todos com 15 pacientes.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CEP-FO/CAr) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP-MS) sob o número de protocolo 36/08. Os pacientes deveriam confirmar sua aceitação em participar do estudo, mediante assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, previamente aprovado pelo CEP-FO/CAr (Anexo 01).

O critério de inclusão de pacientes utilizado na pesquisa foi quanto a necessidade de realização de enxerto ósseo previamente a realização dos implantes osseointegráveis, aliado ao bom estado de saúde geral do paciente. Os critérios de exclusão foram a presença de doenças sistêmicas que reconhecidamente atrapalham a incorporação de enxertos, diabetes, fumo, etilismo, uso de drogas e ainda a presença de sinais clínicos ou tomográficos que indiquem a presença de lesões dento-maxilares que impossibilitem a realização da cirurgia de enxertos.

Os enxertos de osso homólogo foram obtidos junto ao banco de tecidos músculo-esqueléticos da UniOss (Marília-SP, Brasil). Todos os pacientes foram acompanhados desde o momento da enxertia até a instalação das próteses sobre implante instaladas sobre esses enxertos.

4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Para realização dos enxertos ósseos, após a antissepsia extra e intra-bucal do campo operatório, foi realizado o bloqueio anestésico (Articaine 200- Articaina HCl 4% + epinefrina 1:200.000 DFL) da região correspondente à inervação da área a ser enxertada, e nos casos de enxertia autóloga, também da área doadora, no caso a linha oblíqua externa mandibular.

Em todos os casos foram realizadas incisões verticais distantes ao menos o equivalente a 1 dente da área a ser enxertada e na altura da crista óssea. Um retalho de espessura total foi deslocado para exposição de todo defeito ósseo, o qual foi debridado certificando-se que qualquer remanescente de periósteo no defeito fosse removido. Com fresa tronco cônica número 701(Kg Sorensen) foram confeccionadas ranhuras para romper a cortical óssea no intuito de facilitar a revascularização da área. Para os casos de enxerto autólogo a opção como área doadora foi a linha oblíqua externa da mandíbula, optando-se pela remoção do enxerto prioritariamente do lado correspondente ao defeito a ser recuperado. A incisão era sobre a linha oblíqua externa, estendendo-se em sua parte mais posterior no terço médio inferior do ramo da mandíbula e na parte anterior próxima a distal de segundo molar. Em profundidade limitavam-se ao tecido gengival e muscular, sem

promover contato da lâmina com o tecido ósseo, sendo o tecido muscular divulsionado até a exposição do periósteo. Uma nova incisão era feita sobre o periósteo e após seu descolamento o tecido ósseo era exposto, as osteotomias realizadas sobre irrigação constante com fresas tronco cônicas 701 posicionadas em peças cirúrgicas anguladas (1:1) em dois sentidos: verticais delimitando toda extensão em altura e largura da estrutura a ser removida e horizontais unindo as osteotomias verticais, para remoção do fragmento ósseo. Cinzéis angulados biselados foram posicionados no interior das osteotomias e com auxílio do martetele realizada a fratura e deslocamento total da estrutura. Com uma pinça hemostática o fragmento era retirado do leito doador e depositado em uma cuba cirúrgica contendo soro fisiológico, o tecido mole reposicionado e a sutura realizada com pontos interrompidos em fios não reabsorvíveis (Seda 4-0, Ethicon, São José dos Campos, Brasil). Obtido o tecido ósseo a ser transplantado o fragmento então era esculpido e modelado em função do defeito, com fresas esféricas mini-cut e irrigação constante, promovendo uma adaptação precisa em toda sua extensão e íntimo contato com o leito ósseo receptor.

Nos grupos tratados com osso homólogo, um bloco de tecido ósseo córtico-medular ou cortical (de acordo com o grupo), obtido do banco de tecidos UniOss (Marília-SP, Brasil) foi utilizado como biomaterial para realização dos enxertos. Após a remoção da embalagem o bloco ósseo era colocado por 5 minutos em uma cuba contendo solução salina estéril para rehidratação e retorno à temperatura ambiente. No grupo córtico-medular, previamente à escultura, os blocos ósseos eram compactados para comprimir a espessura do trabeculado ósseo com auxílio de alicates cirúrgicos biarticulados com a ponta ativa achatada, com cautela para que o bloco não viesse a fraturar. Para modelar e adaptar os blocos foram realizados os mesmos procedimentos descritos para o grupo autólogo.

A fixação dos enxertos também foram realizadas da mesma maneira para os três grupos. Com a estrutura óssea modelada e adaptada ao defeito ósseo a fixação do bloco era realizada. Com uma pinça porta-enxerto o bloco ósseo era estabilizado no defeito e com uma fresa cilíndrica de 1,2mm de diâmetro adaptada em peça cirúrgica angulada (1:1) perfurações para alojar o parafuso de fixação eram realizadas no enxerto e no leito receptor, sempre sob irrigação constante de solução salina, no sentido vestibulo-palatino quando superior ou vestibulo-lingual quando inferior. Posteriormente uma segunda fresa de 1,6mm de diâmetro era utilizada como descrito anteriormente porém limitando sua utilização apenas ao enxerto, evitando a perfuração do leito ósseo receptor. Parafusos de enxertos auto perfurantes de comprimentos variados (escolhidos de acordo com a necessidade clínica) com diâmetro de 1,6 mm foram utilizados para fixar o bloco ao leito receptor, inseridos de maneira manual com uma chave porta parafuso com a ponta ativa em forma de cruzeta (NEODENT Curitiba, Brasil). Após a fixação averiguava-se a estabilidade da estrutura no leito receptor, se houvesse suspeita de que a estabilidade apresentasse fragilidade, mais de um parafuso de fixação era utilizado. Bordas irregulares que pudessem lacerar o retalho e conseqüentemente expor o enxerto foram removidas com fresas esféricas e sob irrigação constante.

Após a fixação dos blocos na estrutura óssea o retalho era reposicionado, e para que não houvesse tensão no tecido gengival quando as bordas fossem reaproximadas o perióstio foi dividido. Pequenos detritos e fragmentos ósseos provenientes da escultura e modelação dos blocos foram adaptados nas margens do bloco e posteriormente uma membrana reabsorvível de colágeno bovino (GenDerm- Baumer S.A.) era posicionada

sobre os enxertos. A sutura foi realizada com pontos interrompidos em fios não reabsorvíveis (Nylon 4-0, Ethicon, São José dos Campos, Brasil).

Os pacientes receberam então orientações pós-operatórias, incluindo a prescrição de medicação sistêmica constituída por antibiótico (Amoxicilina 500 mg) administrados três vezes ao dia durante sete dias, antiinflamatório (Nimesulida 100 mg) administrados duas vezes ao dia durante cinco dias, analgésico (Dipirona Sódica 500 mg) administrados seis vezes ao dia durante cinco dias e enquanto apresentar sintomatologia dolorosa e medicação tópica constituída por aplicação de digluconato de clorexidina a 0,12% sobre a região operada trinta minutos após a higienização bucal durante sete dias, quatro vezes ao dia . A sutura foi removida após sete dias e a região operada permaneceu sem influência de carga direta provenientes de uso de próteses totais parciais ou fixas na região reconstruída durante toda a fase de regeneração óssea.

4.3 INSTALAÇÃO DE IMPLANTES E OBTENÇÃO DAS BIÓPSIAS

Decorridos 8 meses para os grupos AT, AL CM e AL C foram solicitadas novas tomografias e realizadas as cirurgias para remoção de biópsias e instalação dos implantes osseointegráveis .

No momento da reabertura desses sítios cirúrgicos para a instalação dos implantes osseointegráveis, após o deslocamento de um retalho total foram realizadas biópsias, através do uso de uma trefina de 2mm de diâmetro externo, e profundidade de 8mm, montada em contra-ângulo redutor (20:1) sob irrigação abundante com solução salina estéril. A biópsia foi coletada em uma região que não prejudicasse o local escolhido para

instalação dos implantes. (Figura 1) e no sentido vestibulo palatino/lingual, removendo em uma mesma amostra tanto o enxerto quanto o leito remanescente.

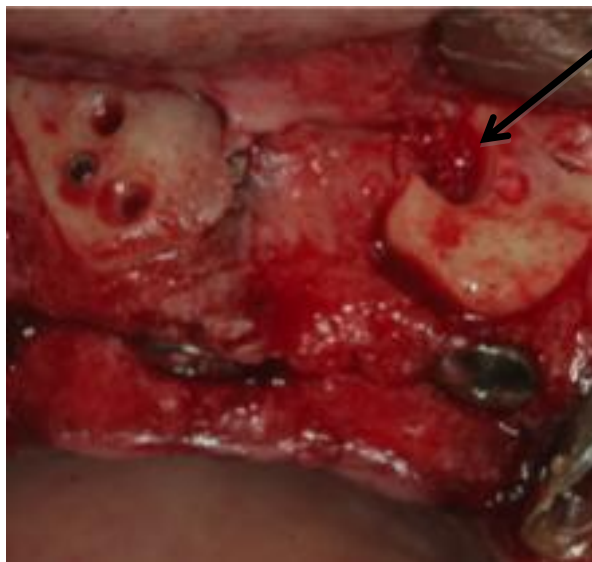


FIGURA 1- Região da biópsia (seta) removida sem prejudicar o posicionamento do implante.

Após a retirada da biópsia o parafuso de fixação do enxerto era removido e os preparos dos sítios para a instalação dos implantes osseointegráveis confeccionados conforme protocolo cirúrgico para instalação de implantes plataforma regular hexágono externo (Neodent – Curitiba –PR) com profundidade de instalação adequada a cada caso.

4.4 PROCESSAMENTO DAS BIÓPSIAS, AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA

As biópsias obtidas foram identificadas e fixadas em formol de Lillie (Formol tamponado a 10%)⁷⁶ por aproximadamente 72 horas, para manutenção das estruturas.

As biópsias foram lavadas em água corrente, durante 24 horas, para remoção do formol, e descalcificadas em solução de Morse (Citrato de Sódio a 20% + Ácido Fórmico a

50%)⁸⁹, trocada a cada 48 horas, por cerca de 80 dias, até ser constatada a descalcificação das peças, por meio de um teste com agulhas de fino calibre.

O excesso de ácido foi neutralizado por imersão em solução de Citrato de Sódio a 5% durante 3 dias, trocadas diariamente. Depois, foram lavadas em água corrente durante 24 horas, desidratadas em banhos crescentes de álcool (70°, 90°, álcool absoluto), diafanizadas em xilol durante 3 horas, e por fim incluídas em parafina.

Foram obtidos 150 cortes com 6 µm de espessura de cada peça, divididos em lâminas com 4 cortes cada, que foram coradas pela técnica da Hematoxilina-Eosina e do Tricrômico de Masson.

A avaliação histológica foi feita utilizando-se um microscópio óptico DIASTAR (Leica Reichert & Jung products, Germany), com objetivas para aumento de 2.5 até / 100 vezes, e oculares com aumento de 10 vezes. As imagens representativas à avaliação foram enviadas para um microcomputador, através de uma câmera fotográfica digital Leica Microsystems DFC-300-FX (Leica Microsystems, Alemanha), com resolução de 1.3 megapíxels, acoplada ao microscópio de luz comum, para sua posterior utilização na descrição dos resultados obtidos. As quantidades relativas (%) de osso viável (VB), osso necrótico (NCB), e tecido mole (ST), dentro dos 6 mm externos das biópsias, mensurados, em área, utilizando-se o software Image J (NIH, Bethesda, MD, EUA). Quando as biópsias eram maiores do que 6 mm, foi considerado apenas a região mais externa (os 6 mm mais externos, de vestibular para lingual), de modo a assegurar a visualização de aproximadamente 70 - 80% de osso enxertado e 20 - 30% de osso residente, em ambos os grupos. Na análise histológica descritiva foram avaliados o tipo e a qualidade dos tecidos neoformados, além da reação tecidual ao enxerto e presença de reação inflamatória. As

análises das lâminas foram realizadas por um examinador calibrado, experiente em análise histológica e cego quanto aos grupos.

4.5 AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA

Para a avaliação tomográfica, foram realizadas tomografias com tomógrafo “cone-beam”, da maxila ou da mandíbula do paciente, evidenciando as regiões aonde foram realizados os enxertos ósseos, sempre no mesmo aparelho.

O equipamento utilizado foi o tomógrafo computadorizado do tipo cone-beam I-CAT Classic (Hartfield, PA, USA), que faz a obtenção das imagens em um raio de 360 graus na região de interesse, com um tamanho mínimo de voxel de 0,25 mm, em uma escala de cinza de 14 bits. O tamanho de cada pixel foi de 0,125 mm, com espessura de corte mínima de 0,25 mm, aumentando a precisão das medidas que foram feitas sobre estas imagens^{39, 111}.

Tais exames foram realizados em três momentos diferentes para todos os pacientes: antes da realização dos enxertos (evidenciando a real necessidade do mesmo), 14 dias após a realização do enxerto ósseo (permitindo a avaliação pós-cirúrgica do ganho de tecido proporcionado pelo procedimento) e imediatamente antes da instalação dos implantes (permitindo a avaliação da real quantidade de tecido ósseo neoformado e o planejamento para instalação dos implantes), sendo que em todos os exames um guia tomográfico foi

utilizado. Estes guias foram feitos com resina acrílica, e possuíram marcações radiopacas com 1 mm de diâmetro nas posições onde os blocos ósseos foram enxertados, permitindo, desta forma, que as medidas pudessem ser feitas na mesma posição em cada uma das imagens tomográficas feitas, garantindo a sua padronização (Figura 2).



FIGURA 2- Guia tomográfico, feito em resina acrílica , utilizado na pesquisa. Atentar para as marcações circulares preenchidas com guta-percha.

A partir das tomografias informações sobre a altura e a espessura óssea na região de realização dos enxertos foram obtidas com precisão, e a correlação desses valores nos três momentos observados foi avaliada, bem como o percentual de ganho ou perda tecidual em cada momento.

4.6 OBTENÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados numéricos, sejam eles referentes à análise histomorfométrica, ou as medidas realizadas sobre as tomografias, foram agrupados em tabelas e encaminhados para avaliação estatística, específica para cada um dos dados avaliados, de forma a permitir a avaliação intra e inter grupos, enquanto que todas as lâminas histológicas

foram avaliadas, em aumentos variados, no intuito de fornecer um laudo histológico descritivo com as informações representativas de cada um dos grupos da pesquisa, destacando as características morfológicas na região enxertada.

Os dados foram descritos com médias e desvios-padrão. Normalidade dos dados foi confirmado com o teste Kolgomorov-Smirnov, e as comparações foram realizadas utilizando ANOVA seguido pelo teste de Tukey post-hos. A significância estatística foi fixado em $p < 0,05$). para desenhar os gráficos e para a avaliação estatística foi utilizado Windows GraphPad Prism 5,0 (GraphPad Software Inc., EUA).

5 RESULTADOS

5.1 Observações Clínicas

Em quatro dos pacientes tratados do grupo AL CM os enxertos foram perdidos como resultado de complicações no trans-operatório (um bloco por paciente). Nestes casos os blocos foram encontrados soltos durante o procedimento para instalação dos implantes e removidos. Além disso, um dos pacientes acima apresentou-se com um bloco de enxerto exposto (outro bloco, que não o perdido) no trigésimo dia de controle pós-operatório. O paciente foi instruído a aplicar gel de clorexidina 1% na área exposta, duas vezes por dia, durante 14 dias. Após este período, o enxerto mostrou-se novamente coberto por tecido gengival, com sinais clínicos de ausência de inflamação. Em todos os outros casos, o rebordo alveolar foi devidamente aumentado permitindo a instalação de implantes. Todos os implantes osseointegrados foram reabilitados proteticamente.

5.2 Análises Tomográficas

O poder estatístico do estudo, calculado com base na porcentagem de variação de área (CBA), foi superior a 90%. A avaliação da reprodutibilidade das medições em

duplicata não mostrou diferenças estatisticamente significativas, com um r^2 de 0,85, 0,87 e 0,89, considerando as três diferentes áreas medidas (osso do hospedeiro, bloco de osso enxertado e área óssea total, respectivamente).

A área óssea do hospedeiro (“host bone”) foi estatisticamente semelhante entre os grupos AT e AL C, e ambos os grupos diferiram do grupo AL CM ($p < 0.01$). Em relação à área óssea total aos 14 dias pós-operatórios (“14 days”, computada com base na soma entre a área óssea do hospedeiro e o bloco ósseo enxertado), todos os grupos foram semelhantes. Aos 8 meses pós-enxertia, a área óssea total (“240 days”) foi semelhante entre os grupos AT e AL CM, porém o grupo AL CM diferiu do grupo AL C ($p < 0,0001$). Esses resultados estão graficamente representados na figura 3.

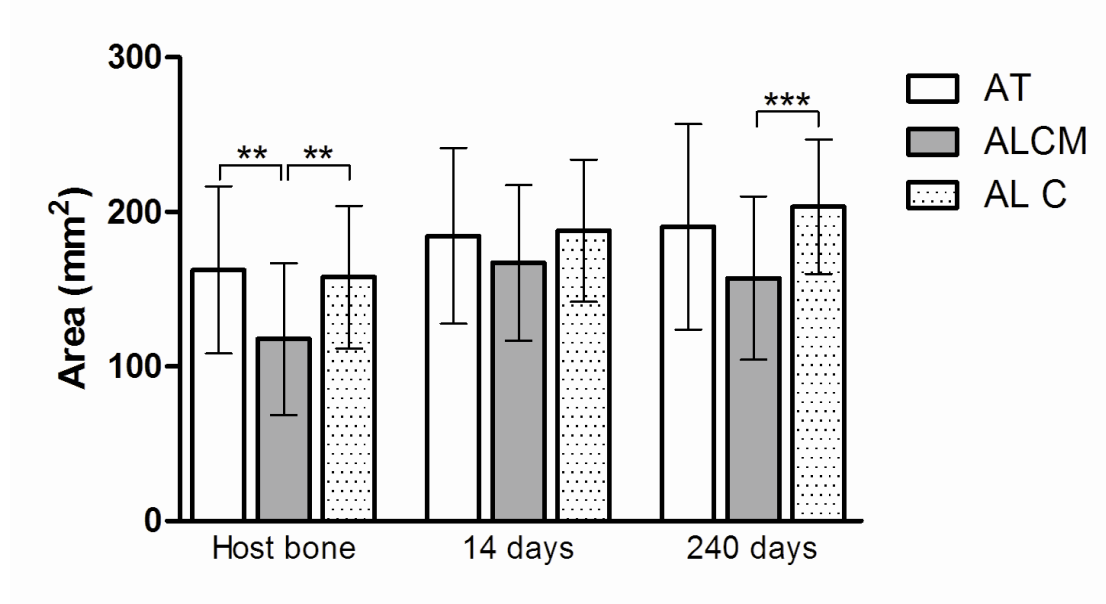


FIGURA 3 – Área óssea (média e desvio padrão), em mm^2 , de acordo com o grupo (AT, AL CM, e AL C) e região de avaliação (área óssea do hospedeiro - “host bone”; área óssea

total aos 14 dias pós-operatórios – “14 days”, e área óssea total – “240 days”). ** representa $p \leq 0,01$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey; *** representa $p \leq 0,0001$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

Na avaliação intra-grupos (figura 4), para todos os grupos foi detectado um aumento significativo na área óssea entre a área óssea antes da cirurgia (baseline – “BL”) e a área óssea obtida logo após sua realização, aos 14 dias (“14 d”) ($p < 0,0001$). Entre os 14 dias e os 8 meses pós-operatórios (“8m”), para os grupos AT e AL C, houve ganho significativo na área óssea mensurada, enquanto que para o grupo AL CM, houve uma perda significativa nessa área, com $p < 0,01$.

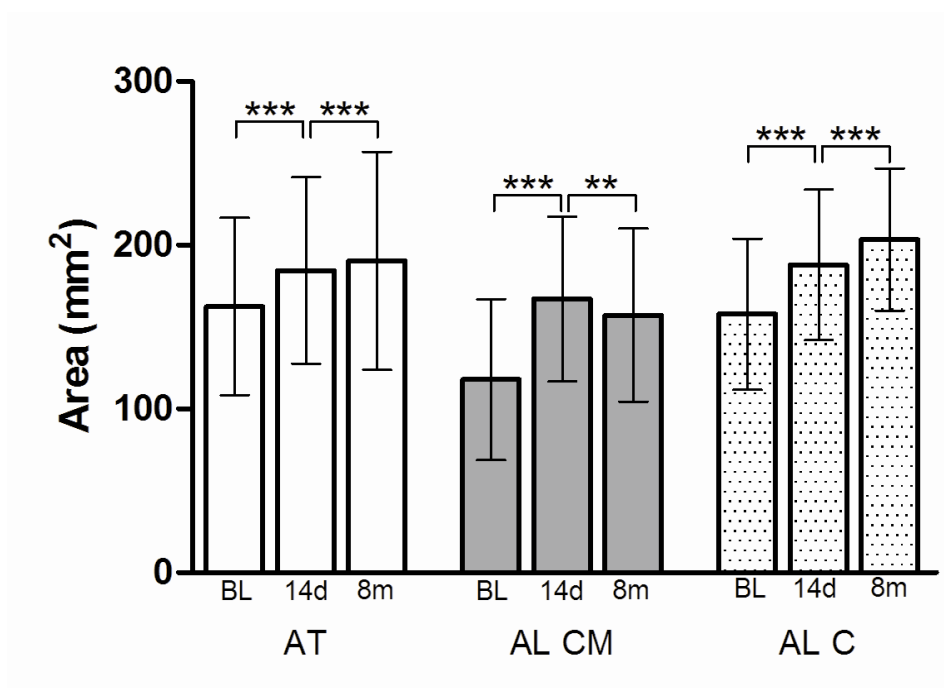


FIGURA 4 – Área óssea (média e desvio padrão), em mm², de acordo com o grupo (AT, AL CM, e AL C) e períodos de avaliação (BL - prévio a cirurgia, 14d - 14 dias após a cirurgia, e 8m - 8 meses após a cirurgia). ** representa $p \leq 0.01$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey; *** representa $p \leq 0.0001$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

No que diz respeito a área do bloco enxertado, os blocos do grupo AL CM forma estatisticamente maiores do que os blocos dos demais grupos ($p < 0.0001$, figura 5).

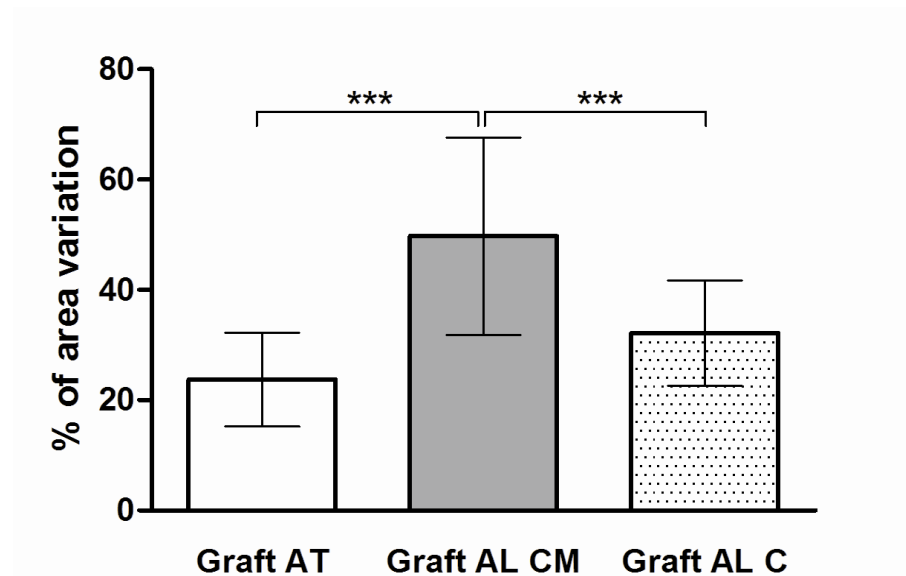


FIGURA 5 – Área óssea do bloco enxertado (média e desvio padrão), em mm², de acordo com o grupo (AT, AL CM, e AL C), entre os períodos de 14 dias e seis meses após a cirurgia. *** representa $p \leq 0.0001$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

Finalmente, em relação às alterações volumétricas que ocorreram nas regiões enxertadas (“% of area variation”) durante os 8 meses pós-enxertia, o grupo AL CM demonstrou os piores resultados, com variação negativa significativa (figura 6).

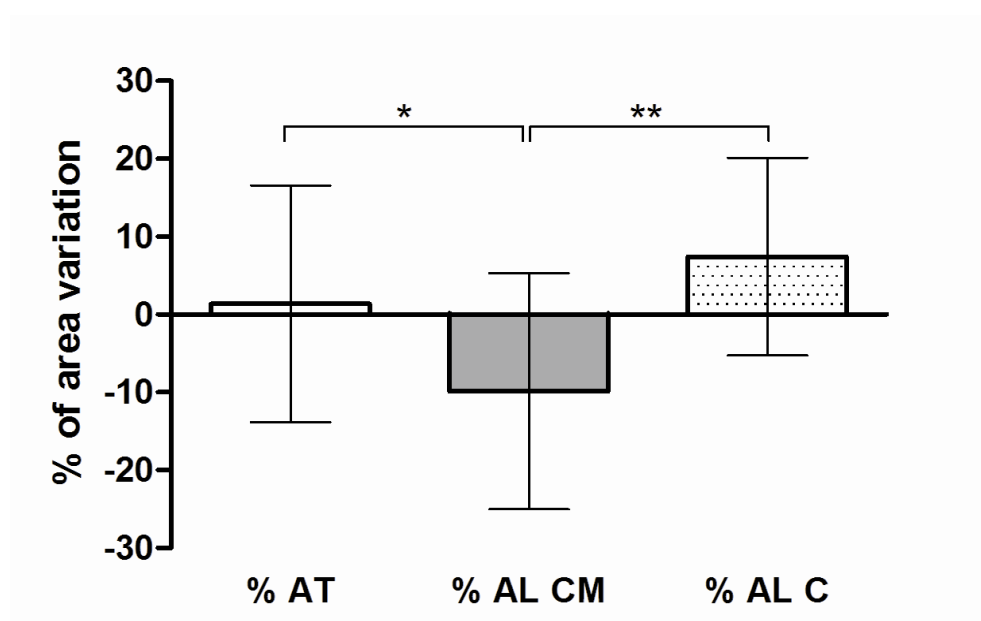


FIGURA 6 – Porcentagem da área (média e desvio padrão), em %, de acordo com o grupo (AT, AL CM, e AL C), entre os períodos de 14 dias e seis meses após a cirurgia. * representa $p \leq 0.05$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey; ** representa $p \leq 0.01$, teste de ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

A tabela 1 traz todos esses dados de forma descritiva, com base em medias e desvios-padrao.

TABELA 1 – Médias e desvio padrão para área óssea nativa, área de bloco ósseo enxertado e TBA em mm² e CBA em %, nos grupos AT; AL CM e AL C.

Parâmetro	AT	AL CM	AL C
Área óssea do hospedeiro (mm²)	165.30 ± 54.14	140.20 ± 51.14	157.8 ± 46.07
Área do bloco ósseo enxertado (mm²)	24.19 ± 8.50	54.39 ± 20.95	32.18 ± 9.52
Área óssea total aos 14 dias (mm²)	187.50 ± 56.65	194.10 ± 56.88	187.90 ± 46.06
Área óssea aos 8 meses (mm²)	195.00 ± 65.13	182.60 ± 56.07	203.4 ± 43.59
% de alteração volumétrica dos sítios enxertados	2.57 ± 14.62	-9.33 ± 9.57	7.42 ± 12.71

5.3 Análise Histológica

A análise microscópica qualitativa das biópsias ósseas do grupo AL CM demonstraram grande quantidade de osso necrótico, caracterizado pela ausência de

osteócitos nas lacunas do bloco enxertado. Os sinais de biocompatibilidade foram observados, sem a presença de células inflamatórias, aliada ao fato de que os focos de osso não vital foram sempre rodeado por osso vivo recém-formado, rico em osteoblastos. A separação entre o osso neoformado e o material residual não foi delimitado muito bem, e as interfaces entre o osso recentemente formado e do material enxertado pode ser visto em várias regiões, com uma tendência para uma maior quantidade de osso não vital na parte externa das biópsias (Figura 7).

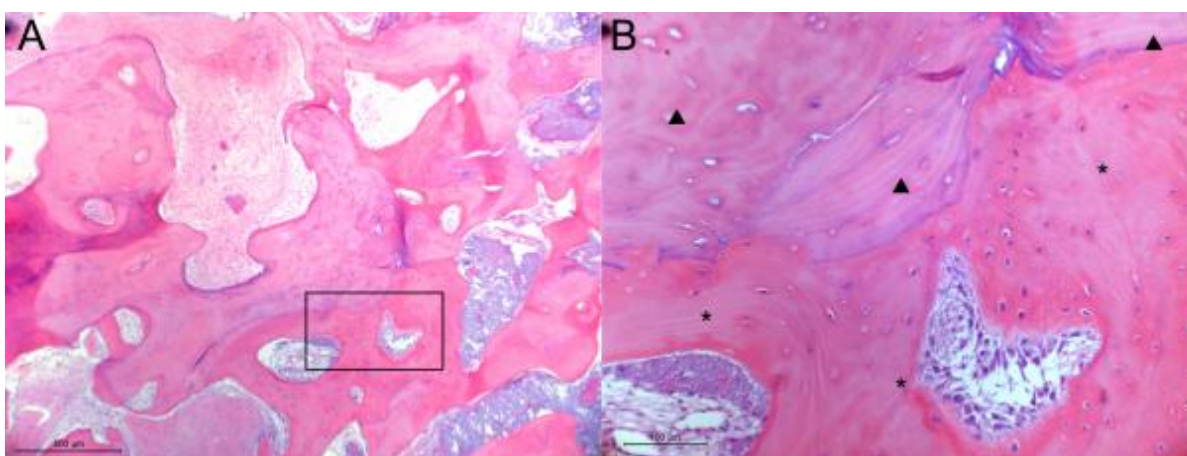


FIGURA 7 – Fotomicrografia de uma biópsia do grupo AL CM. Em (A) visão geral da área enxertada, em (B) , uma ampliação maior (área correspondente ao retângulo), mostrando o osso não vital, circundado por um tecido viável (*), com osteócitos exuberantes. Não há contato direto entre o osso viável e o material, que lembra tecido necrótico.

No grupo AL C, a análise microscópica das biópsias demonstraram grandes segmentos predominantemente de osso não vital (Figura 8 A), com lacunas de osteócitos vazias e sem a atividade dos osteoclastos. Frequentemente, os vasos sanguíneos foram vistos invadindo os canais de Havers do material enxertado (Figura 8 A). Apesar da

revascularização, não concluída, foi uma característica presente em 8 meses, poucos osteoblastos ativos dentro dos canais de Havers estavam presentes indicando que um processo de remodelação óssea centrífuga é plausível, mas muito limitado. Estas áreas de remodelação foram reconhecidos pela presença de osso primário recém formado. Além disso, ausência contato direto entre o osso remodelado e do osso enxertado pode ser visto (Figura 8 B), havendo uma clara separação entre o osso residual e o material enxertado, como observado na análise.

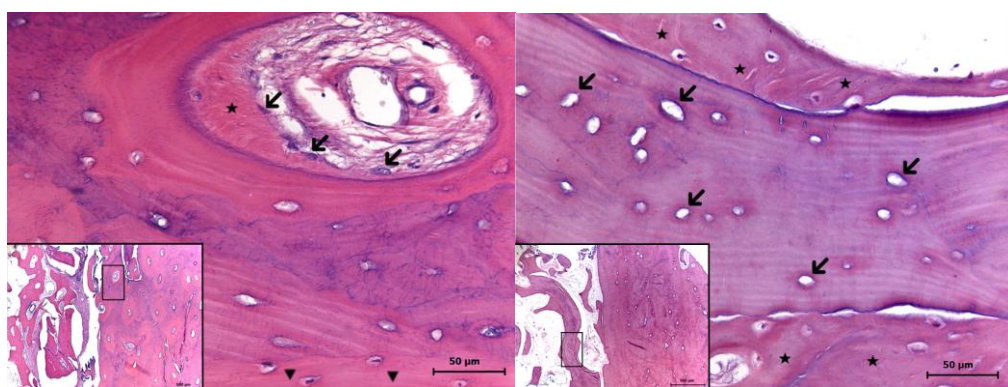


FIGURA 8 – Esquerda: Fotomicrografia de uma visão geral da área de biópsia correspondendo aos aloenxertos ósseas (no quadro) no maior ampliação, os vasos sanguíneos penetram no Sistema de Havers original do osso enxertado, com osteoblastos ativos (→) e recém-formado osso primário (*) pode ser visto. No limites osso, remodelado e viável pode ser visto (área correspondente ao retângulo), integrado ao material enxertado (ainda necrótico).

Direita: Fotomicrografia de uma visão geral da área de biópsia correspondendo aos aloenxertos ósseas (no quadro), maior ampliação, necrose óssea (→) cercada por recém-formado osso primário(*) pode ser visto.

No grupo AT, as biópsias também apresentaram as áreas de osso não vital (Figura 9 B), com a presença de osso recém-formado e tecido celularizado, rico em osteócitos nos limites exteriores da região enxertada (Figura 9 A). Linhas de reversão, também estavam presentes indicando um estágio avançado de remodelação desses enxertos, com quase nenhuma percepção da diferença entre o enxerto e o osso do hospedeiro.

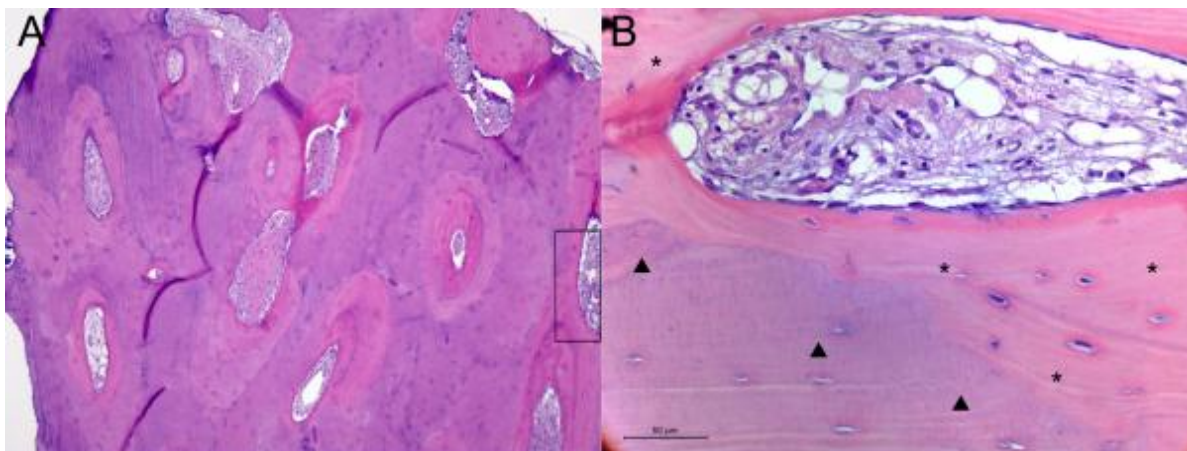


FIGURA 9 – Fotomicrografia de uma biópsia recuperados a partir do grupo AT-tratado. (A) Visão geral da área enxertada. Em (B), uma ampliação maior (de que a área correspondente ao retângulo) mostrando a presença de recém-formado osso (*) rico em osteócitos, rodeado por não-viáveis óssea (□), que ainda está presente em quantidades variáveis. A linha inversa entre estes dois tipos de tecido é evidente.

5.4 Análise Histomorfométrica

As quantidades relativas (%) de osso viável (VB), osso necrótico (NCB), e tecido mole (ST) seguem representados a seguir: nas biópsias ósseas coletadas dos grupos AL, observou-se áreas de osso não vital (NCB), com ausência de osteócitos, evidenciado por lacunas vazias, vasos e capilares presentes nos canais harversianos, com tamanhos variados.

Em geral, a interface entre o osso do hospedeiro e eBxerto AL foi visível e a interface entre o osso recentemente formado e as porções remanescentes do enxerto foram observados em aspectos mais centrais da biópsia. Em vários casos, o NCB foi completamente cercado por osso recém-formado, rico em osteoblastos. Houve uma tendência para quantidades mais elevadas de NCB, nas área das biópsias mais distantes do leito hospedeiro. Observou-se ainda ausência de inflamação excessiva nas biópsias. Áreas de NCB foram também observadas em biópsias ósseas coletadas a partir do grupo AT A distinção entre o osso do hospedeiro e o enxerto AT em bloco era mais difícil ou mesmo impossível de se observar em alguns casos. Para todos os grupos, poucos osteoclastos foram ser observados nos cortes.

Grandes quantidades de NCB foram encontrados nos enxertos do grupo AL C quando comparados aos AL CM e AT (81,3, 55,9 e 43,1 respectivamente), e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,0001$). Diferenças Estatisticamente significativas maiores de VB foram vistos nas biópsias coletadas a partir do grupo AT em comparação com aqueles dos grupos AL CM e AL C (27,6, 8,4 e 5,3 respectivamente; $p \leq 0,0001$). Mais ST foram vistos nas biópsias coletadas a partir do grupo AL CM em comparação com os do grupo C e AL (48,4, 13,4, e 16,4, respectivamente; $p \leq 0,0001$).

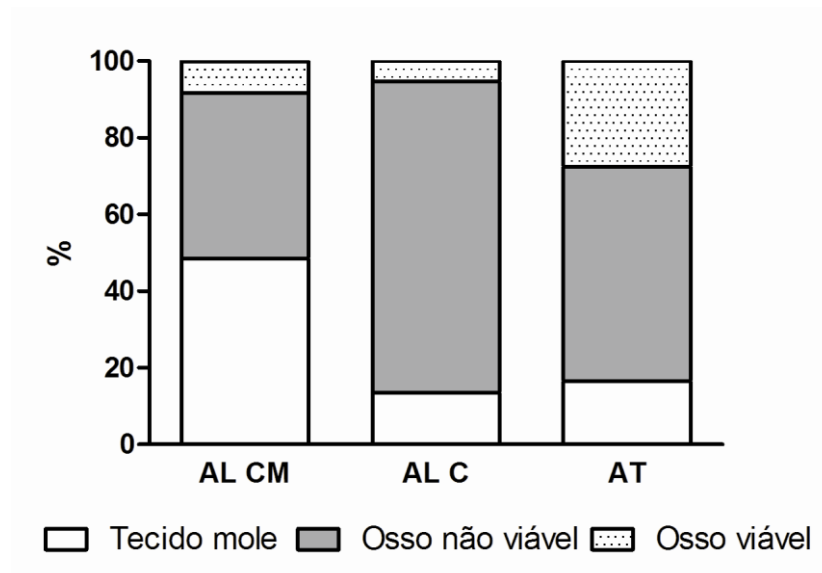


FIGURA 10 - percentual de tecido mole, osso necrótico e osso viável para os grupos osso autógeno (AT), homólogo cortiço medular (AL CM) e homólogo cortical (AL C).

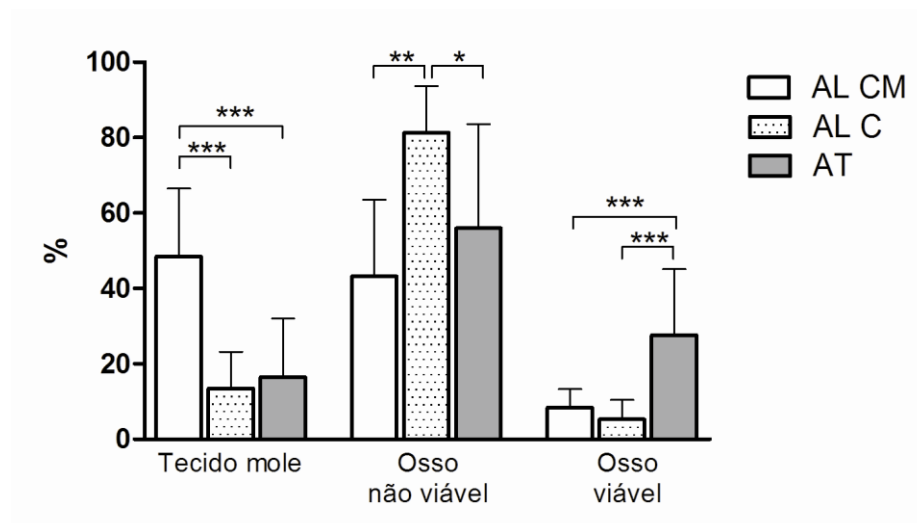


FIGURA 11 - Análise estatística e percentual de tecido mole, osso necrótico e osso viável para os grupos osso autógeno (AT), homólogo cortiço medular (AL CM) e homólogo cortical (AL C).

6 DISCUSSÃO

A evidência científica sobre o comportamento biológico de enxertos ósseos frescos congelados ainda é insatisfatória e controversa. Nesta tese procuramos estudar o comportamento biológico dos enxertos homólogos corticais (AL C) e cortico medulares (AL CM), através de análises por tomografia e histomorfometria.

O uso de tomografias computadorizadas no complexo maxilofacial tem se mostrado como uma boa ferramenta para a avaliação de procedimentos cirúrgicos como os de enxertia óssea. Os programas de reformatação destas imagens, como o que foi utilizado na pesquisa, conseguem demonstrar com precisão os limites e contornos do tecido ósseo nativo e até mesmo dos blocos ósseos enxertados em um primeiro momento; divisão que se perde com o passar do tempo com a incorporação destes blocos. Além disto, a correlação das medidas obtidas nestas imagens com o que é observado clinicamente é muita alta, tornando a tomografia uma ferramenta diagnóstica realmente confiável².

Os resultados por nós encontrados sugerem que o osso homólogo foi capaz de promover aumento de espessura considerável quando usado em procedimentos de enxertia. Também observou-se que o grupo AL C foi capaz de manter a espessura obtida ao longo do período de análise, de maneira similar ao osso autólogo sob o ponto de vista tomográfico, apresentando características ósseas compatíveis ao observado no autólogo. Já o grupo AL CM apresentou mais dificuldades em manter o volume inicial. (Tabela 1), embora a perda de volume tenha sido pequena. A primeira explicação para estes resultados é que o Grupo AL CM possui como o nome diz, uma grande quantidade de osso medular, o

que favorece a remodelação, enquanto os demais são constituídos basicamente por osso cortical.

A literatura ainda é pobre ao abordar sobre enxertos ósseos homólogos da maneira como foi mostrado neste trabalho. Também, existem poucos estudos sobre enxertos autólogos, em humanos, que utilizaram o método tomográfico para obter resultados referentes a manutenção óssea volumétrica dos enxertos^{60, 62, 115}. Ponto pacífico nestes estudos seria a pequena perda de volume ósseo que ocorre de maneira concomitante a sua remodelação, sendo que a maioria dos resultados relatados afirma que esta perda seria de cerca de 0,5 a 1 mm em espessura no primeiro ano; ou seja, mantendo uma proporção muito próxima de 1 quando comparadas a espessura óssea obtida imediatamente após a enxertia e nos momentos subsequentes, quando da instalação de implantes de titânio, tal qual mostrado em nosso estudo.

No entanto, temos que considerar as diferenças histológicas entre os 3 grupos. Enquanto alguns estudos relatam que os enxertos alógenos podem proporcionar resultados equivalentes aos obtidos com enxertos ósseos autólogos^{25-26, 133}, existem outros estudos que relatam pior desempenho biológico e piores taxas de sobrevivência a longo prazo de implantes dentários inseridos nesse tipo de biomateria¹³³ quando comparado com enxertos AT.

A literatura considera que as taxas de sobrevivência a longo prazo dos implantes dentários instalados em áreas de osso enxertado, geralmente não são tão boas como para as regiões não-enxertadas, mesmo utilizando material autólogo para a enxertia óssea¹⁰³. Até agora, poucas informações sobre a osseointegração de implantes em áreas enxertadas com aloenxertos ósseos frescos congelados constam na literatura. A qualidade óssea, do hospedeiro, é um dos mais importantes fatores a ser considerado, uma vez que podem

interferir diretamente na qualidade da osseointegração, e conseqüentemente, no sucesso longitudinal dos implantes¹³.

Uma das causas associadas aos piores resultados na osseointegração de implantes em áreas enxertadas diz respeito à sua remodelação mais lenta e quanto a sua revitalização¹⁰¹⁻¹⁰². Estas informações são especialmente importante quando se refere aos enxertos AL, uma vez que já está bem estabelecido que o processamento de osso alógeno enfraquece significativamente as suas propriedades biológicas^{24, 74}. As nossas análises histológicas revelaram segmentos de tamanhos variáveis de osso necrótico (não viáveis), com lacunas de osteócitos vazias em regiões tratadas com os blocos ósseos AL CM (homólogo cortico medular) AL C (homólogo cortical) e mesmo AT (autólogo). Porém, os enxertos AT demonstraram uma quantidade aparentemente diminuída de osso necrótico (NCB) no momento em que os implantes foram instalados, quando comparado com os enxertos AL, em ambos os grupos, mas principalmente o grupo AL C. Para relembrar os valores de NCB para os grupos AL C, AL CM e AT foram de 81,3%, 43,1% e 55,9% respectivamente, sendo esta estatisticamente significativa ($p \leq 0,0001$).

Já os valores percentuais de Osso Vital (VB) foram 27,6%, 8,4% e 5,3% respectivamente para os grupos AT, AL CM e AL C ($p \leq 0,0001$). A maior presença de tecido mole no grupo AL CM pode ser explicada pela presença dos espaços medulares remanescentes, a despeito de termos realizado manobra para condensá-lo. Os resultados acima estão em consonância com outro estudo em que foram avaliados blocos de osso cortical¹¹⁸. No momento da avaliação dos enxertos, macroscopicamente não foi possível delimitar osso residual e material enxertado.

A quantidade de osso necrótico medida nos enxertos AT foi maior do que relatos anteriores da literatura^{19, 141}, podendo estar relacionado a (1) ao período de coleta de

biópsias e (2) à forma diferente de coleta das biópsias (posição). As diferenças entre os grupos não estão relacionado apenas à origem dos enxertos em si (AL ou AT), mas pela estrutura anatômica macroscópica dos enxertos utilizados por estarem diretamente ligados aos componentes bioquímicos do osso. As diferenças entre os dois grupos de osso homólogo pode explicar a maior quantidade de tecidos moles encontrados para enxertos AL. Se este tipo de enxerto teve um melhor desempenho biológico, esta maior quantidade de tecido mole pode ser útil, funcionando como um caminho para a revascularização e chegada das células que podem se diferenciar em osteoblastos. O ponto fundamental neste mecanismo é a necessidade de moléculas osteoindutora, como BMP no tecido enxertado, por estas moléculas promovem o recrutamento de células responsáveis pela formação óssea³¹. Acredita-se que os enxertos AL carecem desse tipo de moléculas, devido à sua transformação⁵¹. A mesma analogia pode ser aplicada para explicar os resultados encontrados para AT grupo. Uma vez que o enxerto AT era principalmente cortical, o processo de revascularização tem a tendência a ser mais lento¹⁴⁰, e embora houvesse a presença de fatores de osteoindutoras no osso AT enxertado, as poucas áreas com tecido mole foram substituídas por osso viável, mas a maioria do tecido mineralizado ainda não estava revascularizada e, portanto, menos remodelado aos 8 meses. Esta poderia ser a causa dos valores estatisticamente semelhantes de necrose óssea e osso viável diversificada e quantidades de tecidos moles nos grupos avaliados.

Em estudos anteriores enxertos ósseos AL mostraram revascularização inadequada, menor creeping attachment e diminuição na deposição mineral, associado a um pequeno número de células que trabalham no processo de remodelação, atuando apenas como um biomaterial osteocondutor, e desempenho histológico e biologicamente pior quando comparado aos enxertos AT⁴⁵⁻⁴⁷. Esta remodelação retardada dos enxertos AL poderia

comprometer a osteointegração de implantes instalados nas áreas de enxerto. Tendo em vista o conjunto de informações sobre os enxertos AL, especialmente os corticais, serem mais lentos na remodelação em comparação com o AT juntamente com menores taxas de sobrevivência a longo prazo de implantes instalados em áreas de osso enxertado¹⁰³, torna-se claro que a taxa de sucesso de implantes em áreas enxertadas a longo prazo²⁴ pode ser biologicamente ratificada. Desta forma, novos estudos longitudinais devem ser realizados para melhor compreender o efeito do atraso na remodelação dos enxertos homólogos na sobrevivência e sucesso dos implantes osseointegráveis.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, frente à metodologia empregada permitiram concluir que:

1. Apesar de todos os grupos testados proporcionarem volume ósseo adequado à instalação de implantes, maior perda óssea radiográfica foi observada para o grupo tratado com enxertos homólogos cortico medulares , aos seis meses pós-enxertia;
2. Biologicamente os enxertos ósseos homólogos mostraram-se inferiores ao enxerto ósseo autólogo, com processo de incorporação mais lenta, especialmente o cortical;
3. Novos estudos são necessários para avaliar o efeito do atraso na remodelação dos enxertos homólogos no sucesso de implantes osseointegráveis a longo prazo.

REFERÊNCIAS¹

1. Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E. Healing of experimentally created defects: a review. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1995; 33: 312-8.
2. Abrahams JJ. Dental CT imaging: a look at the jaw. *Radiology.* 2001; 219: 334-45.
3. Acocella A, Sacco R, Niardi P, Agostini T. Early implant placement in bilateral sinus floor augmentation using iliac bone block grafts in severe maxillary atrophy: a clinical, histological, and radiographic case report. *J Oral Implantol.* 2009; 35: 37-44.
4. Akagawa Y, Wadamoto M, Sato Y, Tsuru H. The three-dimensional bone interface of an osseointegrated implant: a method for study. *J Prosthet Dent.* 1992; 68: 813-6.
5. Apasov S, Redegeld F, Sitkovsky M. Cell-mediated cytotoxicity: contact and secreted factors. *Curr Opin Immunol.* 1993; 5: 404-10.
6. Aspenberg P, Thoren K. Lipid extraction enhances bank bone incorporation. An experiment in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1990; 61: 546-8.

¹ De acordo com o estilo Vancouver.

Disponível no site: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

7. Barber HD, Betts NJ. Rehabilitation of maxillofacial trauma patients with dental implants. *Implant Dent.* 1993; 2: 191-3.
8. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res.* 2000; 371:10-27.
9. Bohner M, Loosli Y, Baroud G, Lacroix D. Commentary: Deciphering the link between architecture and biological response of a bone graft substitute. *Acta Biomater.* 2011; 7: 478-84.
10. Boss JH, Shajrawi I, Aunullah J, Mendes DG. The relativity of biocompatibility. A critique of the concept of biocompatibility. *Isr J Med Sci.* 1995; 31: 203-9.
11. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am.* 1999; 30: 571-81.
12. Branemark PI, Albrektsson T. Titanium implants permanently penetrating human skin. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1982; 16: 17-21.
13. Branemark, P I, Svensson B, Steenberghe D van. Ten-year survival rates of fixed prostheses on four or six implants ad modum Branemark in full edentulism. *Clin Oral Implants Res.* 1995; 6: 227-31.
14. Brasil. Lei nº 9434 de 04 de fevereiro de 1997. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências. *Diário Oficial da União: Poder Executivo, Brasília, DF, 1997.*
15. Brasil. Lei nº10.211 de 23 de março de 2001. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e

- tratamento. Altera dispositivos da Lei nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997. Diário Oficial da União: Poder Executivo, Brasília, DF, 2001.
16. Brasil. Portaria GM/MS nº 1.686 de 20 de setembro de 2002. Dispõe as Normas para Autorização de Funcionamento e Cadastramento de Bancos de Tecidos Musculoesqueléticos pelo Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União: Poder Executivo, Brasília, DF, 2002.
 17. Bridwell KH, O'Brien MF, Lenke LG, Baldus C, Blanke K. Posterior spinal fusion supplemented with only allograft bone in paralytic scoliosis. Does it work? *Spine (Phila Pa 1976)*. 1994; 19: 2658-66.
 18. Brown KL, Cruess RL. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. A review. *J Bone Joint Surg Am*. 1982; 64: 270-9.
 19. Burger EA., H. Meshkini, JA. Lindeboom. One versus two titanium screw fixation of autologous onlay bone grafts in the anterior maxilla: a randomised histological pilot study. *Eur J Oral Implantol*. 2011; 4: 219-25.
 20. Burger EL, Patel V. Calcium phosphates as bone graft extenders. *Orthopedics*. 2007; 30: 939-42.
 21. Burwell RG. 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*. 1966; 48: 532-66.
 22. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1993; 13: 29-45.
 23. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontol 2000*. 1999; 19: 151-63.

24. Carinci F, Brunelli G, Franco M, Viscioni A, Rigo L, Guidi R et al. A retrospective study on 287 implants installed in resorbed maxillae grafted with fresh frozen allogeneous bone. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2010; 12: 91-8.
25. Carinci F, Brunelli G, Zollino I, Franco M, Viscioni A, Rigo L et al. Mandibles grafted with fresh-frozen bone: an evaluation of implant outcome. *Implant Dent.* 2009; 18: 86-95.
26. Carinci F, Guidi R, Franco M, Viscioni A, Rigo L, De Santis B et al. Implants inserted in fresh-frozen bone: a retrospective analysis of 88 implants loaded 4 months after insertion. *Quintessence Int.* 2009; 40: 413-9.
27. Carr CR, Hyatt GW. Clinical evaluation of freeze-dried bone grafts. *J Bone Joint Surg Am.* 1955; 37-A: 549-66.
28. Carter G. Harvesting and implanting allograft bone. *AORN J.* 1999; 70: 660-70; quiz 72-6.
29. de Carvalho PS, Mariano RC, Okamoto T. Treatment of fibrinolytic alveolitis with rifamycin B diethylamide associated with gelfoam: a histological study. *Braz Dent J.* 1997; 8: 3-8.
30. Chadwick JW, Lam EW. The effects of slice thickness and interslice interval on reconstructed cone beam computed tomographic images. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 110: e37-42.
31. Cheng H, Jiang W, Phillips FM, Haydon RC, Peng Y, Zhou L et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am.* 2003; 85-A: 1544-52.

32. Contar CM, Sarot JR, Bordini Jr J, Galvao GH, Nicolau GV, Machado MA. Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67: 1280-5.
33. Corsi KA, Schwarz EM, Mooney DJ, Huard J. Regenerative medicine in orthopaedic surgery. *J Orthop Res.* 2007; 25: 1261-8.
34. Donk S van der , Weernink T, Buma P, Aspenberg P, Slooff TJ, Schreurs BW. Rinsing morselized allografts improves bone and tissue ingrowth. *Clin Orthop Relat Res.* 2003; Mar: 302-10.
35. Donk S van der, Buma P, Slooff TJ, Gardeniers JW, Schreurs BW. Incorporation of morselized bone grafts: a study of 24 acetabular biopsy specimens. *Clin Orthop Relat Res.* 2002; Mar: 131-41.
36. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. *J Craniofac Surg.* 2005; 16: 981-9.
37. Esposito S. Immune system and surgical site infection. *J Chemother.* 2001; 13 Spec No 1: 12-6.
38. Faiella RA. Is human bone allograft safe for the management of alveolar defects? A primer for patient consent. *J Mass Dent Soc.* 2007; 56: 18-20.
39. Faria PE, Okamoto R, Bonilha-Neto RM, Xavier SP, Santos AC, Salata LA. Immunohistochemical, tomographic and histological study on onlay iliac grafts remodeling. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19: 393-401.
40. Friedlaender GE. Bone banking. In support of reconstructive surgery of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 1987; (225): 17-21.

41. Froum SJ, Tarnow DP, Wallace SS, Jalbout Z, Cho SC, Rohrer MD, et al. The use of a mineralized allograft for sinus augmentation: an interim histological case report from a prospective clinical study. *Compend Contin Educ Dent*. 2005; 26: 259-60, 262-4, 266-8; quiz 270-1.
42. Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2010; 6: 232-41. Epub 2010 Feb 23.
43. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005; 36 Suppl 3: S20-7.
44. Gibaud B. The quest for standards in medical imaging. *Eur J Radiol*. 2010; 78: 192-8.
45. Goldberg V, Stevenso MS. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop Relat Res*. 1987; 225, 7-16.
46. Goldberg V, Stevenson MS. Bone graft options: fact and fancy. *Orthopedics*. 1994; 17: 809-10.
47. Goldberg V, Stevenson MS. The biology of bone grafts. *Semin Arthroplasty*. 1993; 4: 58-63.
48. Goldberg VM, Stevenson S. Bone graft options: fact and fancy. *Orthopedics*. 1994; 17: 809-10.
49. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop Relat Res*. 1987; 225: 7-16.
50. Goldberg VM, Stevenson S. The biology of bone grafts. *Semin Arthroplasty*. 1993; 4: 58-63.
51. Goodman, SB. Allograft alternatives: bone substitutes and beyond. *Orthopedics*. 2010; 33: 661.

52. Graham SM, Leonidou A, Aslam-Pervez N, Hamza A, Panteliadis P, Heliotis M, et al. Biological therapy of bone defects: the immunology of bone allotransplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10: 885-901.
53. Greenleaf G, Morgan J, Hansbrough W, Bartel T, Cohen R, Hansbrough JF. A new cultured human dermal-epidermal graft for wound closure in an athymic mouse model. *Transfusion.* 1993; 33: 610-21.
54. Guarino V, Causa F, Ambrosio L. Bioactive scaffolds for bone and ligament tissue. *Expert Rev Med Devices.* 2007; 4: 405-18.
55. Hall EE, Meffert RM, Hermann JS, Mellonig JT, Cochran DL. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 1999; 70: 526-35.
56. Holmquist P, Dasmah A, Sennerby L, Hallman M. A new technique for reconstruction of the atrophied narrow alveolar crest in the maxilla using morselized impacted bone allograft and later placement of dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2008; 10: 86-92.
57. Horowitz MC, Friedlaender GE, Qian HY. The immune response: the efferent arm. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 326: 25-34.
58. Horowitz MC, Friedlaender GE. Induction of specific T-cell responsiveness to allogeneic bone. *J Bone Joint Surg Am.* 1991; 73: 1157-68.
59. Ifkovits JL, Burdick JA. Review: photopolymerizable and degradable biomaterials for tissue engineering applications. *Tissue Eng.* 2007; 13: 2369-85.

60. Iizuka T, Smolka W, Hallermann W, Mericske-Stern R. Extensive augmentation of the alveolar ridge using autogenous calvarial split bone grafts for dental rehabilitation. *Clin Oral Implants Res.* 2004; 15: 607-15.
61. Ito H, Koefoed M, Tiyyapatanaputi P, Gromov K, Goater JJ, Carmouche J, et al. Remodeling of cortical bone allografts mediated by adherent rAAV-RANKL and VEGF gene therapy. *Nat Med.* 2005; 11: 291-7.
62. Iturriaga MT, Ruiz CC. Maxillary sinus reconstruction with calvarium bone grafts and endosseous implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62: 344-7.
63. Jensen J, Sindet-Pedersen S, Oliver AJ. Varying treatment strategies for reconstruction of maxillary atrophy with implants: results in 98 patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 52: 210-6; discussion 6-8.
64. Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Aberg P, Hirsch JM. Volumetry of simulated bone grafts in the edentulous maxilla by computed tomography: an experimental study. *Dentomaxillofac Radiol.* 2001; 30: 153-6.
65. Joyce MJ. American association of tissue banks: a historical reflection upon entering the 21st century. *Cell Tissue Bank.* 2000; 1: 5-8.
66. Joyce MJ. Safety and FDA regulations for musculoskeletal allografts: perspective of an orthopaedic surgeon. *Clin Orthop Relat Res.* 2005; (435): 22-30.
67. Kahnberg KE, Nystrom E, Bartholdsson L. Combined use of bone grafts and Branemark fixtures in the treatment of severely resorbed maxillae. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1989; 4: 297-304.
68. Kakaiya RM, Jackson B. Regional programs for surgical bone banking. *Clin Orthop Relat Res.* 1990 (251); 290-4.

69. Keith Jr JD, Petrungaro P, Leonetti JA, Elwell CW, Zeren KJ, Caputo C, et al. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the developmental period (2001-2004). *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006; 26: 321-7.
70. Keith Jr JD. Localized ridge augmentation with a block allograft followed by secondary implant placement: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004; (1): 11-7.
71. Keller EE, Van Roekel NB, Desjardins RP, Tolman DE. Prosthetic-surgical reconstruction of the severely resorbed maxilla with iliac bone grafting and tissue-integrated prostheses. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1987; 2: 155-65.
72. Krieger NR, Yin DP, Fathman CG. CD4+ but not CD8+ cells are essential for allojection. *J Exp Med*. 1996; 184: 2013-8.
73. Lamerigts NM, Buma P, Huiskes R, Schreurs W, Gardeniers J, Slooff TJ. Incorporation of morsellized bone graft under controlled loading conditions. A new animal model in the goat. *Biomaterials*. 2000; 21: 741-7.
74. Leonetti JA, Koup R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: case reports. *Implant Dent*. 2003; 12: 217-26.
75. Leslie HW, Bottenfield S. Donation, banking, and transplantation of allograft tissues. *Nurs Clin North Am*. 1989; 24: 891-905.
76. Lillie RD. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 1. New York: McGraw Hill; 1954.

77. Longoni S, Sartori M, Apruzzese D, Baldoni M. Preliminary clinical and histologic evaluation of a bilateral 3-dimensional reconstruction in an atrophic mandible: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007; 22: 478-83.
78. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev.* 2008; 29: 403-40.
79. Maggini J, Raiden S, Salamone G, Trevani A, Geffner J. Regulation of neutrophil apoptosis by cytokines, pathogens and environmental stressors. *Front Biosci.* 2009; 14: 2372-85.
80. Maiorana C, Sigurta D, Mirandola A, Garlini G, Santoro F. Sinus elevation with alloplasts or xenogenic materials and implants: an up-to-4-year clinical and radiologic follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006; 21: 426-32.
81. Mankin HJ, Doppelt S, Tomford W. Clinical experience with allograft implantation. The first ten years. *Clin Orthop Relat Res.* 1983; (174): 69-86.
82. Mankin HJ, Gebhardt MC, Jennings LC, Springfield DS, Tomford WW. Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 324: 86-97.
83. Mankin HJ, Gebhardt MC, Tomford WW. The use of frozen cadaveric allografts in the management of patients with bone tumors of the extremities. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 275-89.
84. Mankin HJ, Hornicek FJ, Raskin KA. Infection in massive bone allografts. *Clin Orthop Relat Res.* 2005; 432: 210-6.
85. Mankin HJ, Hornicek FJ. Treatment of giant cell tumors with allograft transplants: a 30-year study. *Clin Orthop Relat Res.* 2005; 439: 144-50.

86. Minichetti JC, D'Amore JC, Hong AY, Cleveland DB. Human histologic analysis of mineralized bone allograft (Puros) placement before implant surgery. *J Oral Implantol.* 2004; 30: 74-82.
87. Misch CE. Implant dentistry. *Dent Today.* 2002; 21: 62.
88. Mizutani A, Fujita T, Watanabe S, Sakakida K, Okada Y. Experiments on antigenicity and osteogenicity in allotransplanted cancellous bone. *Int Orthop.* 1990; 14: 243-8.
89. Morse A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. *J Dent Res.* 1945; 24: 143-53.
90. Murray CA, DeKoven J, Spaner DE. Foreign body granuloma: a new manifestation of immune restoration syndrome. *J Cutan Med Surg.* 2003; 7: 38-42.
91. Muscolo DL, Ayerza MA, Calabrese ME, Redal MA, Santini Araujo E. Human leukocyte antigen matching, radiographic score, and histologic findings in massive frozen bone allografts. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 326: 115-26.
92. Nelson KA. Human leukocyte antigen system and the immune response to it. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 326: 35-42.
93. Nunes LA, Brenzikofer R, de Macedo DV. Reference change values of blood analytes from physically active subjects. *Eur J Appl Physiol.* 2010; 110: 191-8. Epub 2010 May 6.
94. Oberoi S, Chigurupati R, Gill P, Hoffman WY, Vargervik K. Volumetric assessment of secondary alveolar bone grafting using cone beam computed tomography. *Cleft Palate Craniofac J.* 2009; 46: 503-11.

95. Palmer SH, Gibbons CL, Athanasou NA. The pathology of bone allograft. *J Bone Joint Surg Br.* 1999; 81: 333-5.
96. Park JS, Choi SH, Moon IS, Cho KS, Chai JK, Kim CK. Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 443-53.
97. Pereira-Junior OC, Rahal SC, Iamaguti P, Felisbino SL, Pavan PT, Vulcano LC. Comparison between polyurethanes containing castor oil (soft segment) and cancellous bone autograft in the treatment of segmental bone defect induced in rabbits. *J Biomater Appl.* 2007; 21: 283-97.
98. Perrott DH, Smith RA, Kaban LB. The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 21: 260-5.
99. Pietrzak WS, Woodell-May J. The composition of human cortical allograft bone derived from FDA/AATB-screened donors. *J Craniofac Surg.* 2005; 16: 579-85.
100. Pikos MA. Buccolingual expansion of the maxillary ridge. *Dent Implantol Update.* 1992; 3: 85-7.
101. Rasmusson L, Meredith N, Kahnberg K E, Sennerby L. Effects of barrier membranes on bone resorption and implant stability in onlay bone grafts. An experimental study. *Clin Oral Implants Res.* 1999; 10: 267-77.
102. Rasmusson L, Stegersjo G., Kahnberg K E, Sennerby L. Implant stability measurements using resonance frequency analysis in the grafted maxilla: a cross-sectional pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 1999; 1: 70-4.

103. Rasmusson L, Thor A, Sennerby L. Stability Evaluation of Implants Integrated in Grafted and Nongrafted Maxillary Bone: A Clinical Study from Implant Placement to Abutment Connection. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012; 14: 61-6. Epub 2010 May 11.
104. RDC/ANVISA nº 220. Dispõe sobre o Regulamento técnico para o funcionamento de bancos de tecidos músculoesqueléticos e de bancos de pele de origem humana. Brasília, 2006.
105. Sanan A, Haines SJ. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. *Neurosurgery.* 1997; 40: 588-603.
106. Santoro F, Maiorana C, Rabagliati M. Long-term results with autogenous onlay grafts in maxillary and mandibular atrophy. *J Long Term Eff Med Implants.* 1999; 9: 215-22.
107. Sbordone L, Toti P, Menchini-Fabris GB, Sbordone C, Piombino P, Guidetti F. Volume changes of autogenous bone grafts after alveolar ridge augmentation of atrophic maxillae and mandibles. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 38: 1059-65.
108. Schreurs BW, Arts JJ, Verdonchot N, Buma P, Slooff TJ, Gardeniers JW. Femoral component revision with use of impaction bone-grafting and a cemented polished stem. Surgical technique. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88 Suppl 1 Pt 2: 259-74.
109. Schreurs BW, Buma P, Huiskes R, Slagter JL, Slooff TJ. Morsellized allografts for fixation of the hip prosthesis femoral component. A mechanical and histological study in the goat. *Acta Orthop Scand.* 1994; 65: 267-75.

110. Schreurs BW, Slooff TJ, Buma P, Verdonchot N. Basic science of bone impaction grafting. *Instr Course Lect.* 2001; 50: 211-20.
111. Schultze-Mosgau S, Keweloh M, Wiltfang J, Kessler P, Neukam FW. Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure after avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2001; 39: 439-47.
112. Service RF. Tissue engineers build new bone. *Science.* 2000; 289: 1498-500.
113. Simpson D, Kakarala G, Hampson K, Steele N, Ashton B. Viable cells survive in fresh frozen human bone allografts. *Acta Orthop.* 2007; 78: 26-30.
114. Skjodt H, Hughes DE, Dobson PR, Russell RG. Constitutive and inducible expression of HLA class II determinants by human osteoblast-like cells in vitro. *J Clin Invest.* 1990; 85: 1421-6.
115. Smolka W, Eggensperger N, Carollo V, Ozdoba C, Iizuka T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17: 149-55.
116. Spin Neto R, Felipe Leite C, Pereira LA, Marcantonio E, Marcantonio Jr E. Is Peripheral Blood Cell Balanced Altered by the Use of Fresh Frozen Bone Block Allografts in Lateral Maxillary Ridge Augmentation? *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013; 15: 262-70.
117. Spin Neto R. Enxertos ósseos homólogos em humanos: Avaliação imunológica, tomográfica, histológica e histomorfométrica de sua incorporação e capacidade de osseointegrar implantes [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2011.

118. Spin-Neto R, Landazuri Del Barrio RA, Pereira LA, Marcantonio RA, Marcantonio E, Marcantonio Jr E. Clinical Similarities and Histological Diversity Comparing Fresh Frozen Onlay Bone Blocks Allografts and Autografts in Human Maxillary Reconstruction. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013; 15: 490-7.
119. Spin-Neto R, Stavropoulos A, Pereira LA, Marcantonio Jr E, Wenzel A. Fate of autologous and fresh-frozen allogeneic block bone grafts used for ridge augmentation. A CBCT-based analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2013; 24: 167-73.
120. Stevenson S, Li XQ, 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.* 1991; 73: 1143-56.
121. Stevenson S. Biology of bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 1999; 30: 543-52.
122. Summers BN, Eisenstein SM. Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion. *J Bone Joint Surg Br.* 1989; 71: 677-80.
123. Tarnow DP, Cho SC, Wallace SS. The effect of inter-implant distance on the height of inter-implant bone crest. *J Periodontol.* 2000; 71: 546-9.
124. Tarnow DP, Magner AW, Fletcher P. The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *J Periodontol.* 1992; 63: 995-6.
125. Tomford WW, Ploetz JE, Mankin HJ. Bone allografts of femoral heads: procurement and storage. *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68: 534-7.

126. Tormala P, Pohjonen T, Rokkanen P. Bioabsorbable polymers: materials technology and surgical applications. *Proc Inst Mech Eng [H]*. 1998; 212: 101-11.
127. Troyer D. Biorepository standards and protocols for collecting, processing, and storing human tissues. *Methods Mol Biol*. 2008; 441: 193-220.
128. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965; 150: 893-9.
129. Verdugo F, D'Addona A, Ponton J. Clinical, Tomographic, and Histological Assessment of Periosteal Guided Bone Regeneration with Cortical Perforations in Advanced Human Critical Size Defects. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012; 14: 112-20.
130. Verdugo F, Simonian K, Nowzari H. Periodontal biotype influence on the volume maintenance of onlay grafts. *J Periodontol*. 2009; 80: 816-23.
131. Verdugo F, Simonian K, Smith McDonald R, Nowzari H. Quantitation of mandibular ramus volume as a source of bone grafting. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2009; 11 Suppl 1: e32-7.
132. Versen von R. Musculoskeletal tissue banking in Europe--regulations and quality assurance. *Ann Chir Gynaecol*. 1999; 88: 215-20.
133. Waasdorp J, Reynolds MA. Allogeneic bone onlay grafts for alveolar ridge augmentation: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010; 25: 525-31.
134. Wadamoto M, Akagawa Y, Sato Y, Kubo T. The three-dimensional bone interface of an osseointegrated implant. I: A morphometric evaluation in initial healing. *J Prosthet Dent*. 1996; 76: 170-5.

135. Wang HL, Tsao YP. Mineralized bone allograft-plug socket augmentation: rationale and technique. *Implant Dent.* 2007; 16: 33-41.
136. Webb JC, Spencer RF. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89: 851-7.
137. Wiens JP. The use of osseointegrated implants in the treatment of patients with trauma. *J Prosthet Dent.* 1992; 67: 670-8.
138. Williams KR, Blayney AW. Tissue response of several polymeric materials implanted in the rat middle ear. *Biomaterials.* 1987; 8: 254-8.
139. Yamada Y, Ueda M, Naiki T, Nagasaka T. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2004; 15: 589-97.
140. Yaremchuk MJ. Experimental studies addressing rigid fixation in craniofacial surgery. *Clin Plast Surg.* 1994; 21: 517- 24.
141. Zerbo IR, G L de Lange, M Joldersma, A L Bronckers, E H Burger. Fate of monocortical bone blocks grafted in the human maxilla: a histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14: 759-66.

ANEXO A - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

Comitê de Ética em Pesquisa




Certificado

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "*ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓLOGOS EM HUMANOS: AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA, TOMOGRÁFICA, HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA DE SUA INCORPORAÇÃO E CAPACIDADE DE OSSEOINTEGRAR IMPLANTES*", sob o protocolo nº 36/08, de responsabilidade do Pesquisador (a) **ELCIO MARCANTONIO JUNIOR**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FOAr, com validade de 03 (três) anos, quando será avaliado o relatório final da pesquisa.

Certify that the research project titled "*BONE ALLOGRAFTS IN HUMANS: IMMUNOLOGIC, TOMOGRAPHIC, HISTOLOGICAL AND HISTOMETRICAL EVALUATION OF ITS INCORPORATION AND CAPACITY OF IMPLANTS OSSEOINTEGRATION*", protocol number 36/08, under Dr. **ELCIO MARCANTONIO JUNIOR**, responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAr-UNESP. Approval is granted for 03 (three) years when the final review of this study will occur.

Araraquara, 24 de setembro de 2008.


 Prof.^a Dr.^a **Maria Rita Brancini de Oliveira**
 Coordenadora