



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

DE ARARAQUARA

PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



Wagner Nunes de Paula

Análise histológica, histométrica e fractal de enxerto ósseo autógeno, em elevação de seio maxilar: estudo clínico

Araraquara

2011

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

WAGNER NUNES DE PAULA

Análise histológica, histométrica e fractal de enxerto ósseo autógeno, em levantamento de seio maxilar: estudo clínico

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração Implantodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Gulnara Scaf

Araraquara

2011

WAGNER NUNES DE PAULA

**Análise histológica, histométrica e fractal de enxerto
ósseo autógeno, em levantamento de seio maxilar:
estudo clínico**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Profa. Dra Gulnara Scaf

2º Examinador : Prof. Dr. Celso Eduardo Sakakura

3º Examinador : Profa. Dra. Ana Lúcia Alvarez Capellozza

4º Examinador : Prof. Dr. Roberto Henrique Barbeiro

5º Examinador : Profa. Dra. R. Adriana Chiérici Marcantonio

DEDICATÓRIA

À **Deus**, por me abençoar sempre e me guiar por bons caminhos, além de me trazer paz, paciência e serenidade nos momentos de maior dificuldade.

Aos meus pais, **Maria das Dores e Anardino**, pela criação, educação, formação, apoio e amor incondicional. Tenho muita admiração, gratidão, respeito e amor por vocês.

Às minhas irmãs, cunhados e sobrinhos, **Sandra, Tânia, Viviane, William, Ronaldo, Patrícia, Mauro Filho, Ana Teresa, Matheus, Vinicius e Gustavo**. Amo vocês!

Ao amor da minha vida, **Fernanda**. Você simplesmente me completa. Obrigado pela paciência nos momentos distantes, pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis e pelo amor em todos os momentos. Você é a melhor escolha que fiz e a você ofereço a melhor forma de amar alguém por toda a vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Profa. Dra. **Gulnara Scaf**, minha eterna gratidão por me aceitar com orientado. Por me transmitir conhecimentos, sempre com paciência e respeito. Sua retidão de caráter é singular, suas atitudes me fazem acreditar no funcionalismo público desse país. Suas condutas sempre são muito corretas e a admiro por isso.

Ao Prof. Dr. **Elcio Marcantonio Júnior**, pelas inúmeras oportunidades, pela amizade e pela maneira como sempre me tratou. Tenho um carinho enorme por você e um orgulho da sua amizade. Amizade e gratidão que levarei pela vida toda.

Ao Prof. Dr. **Elcio Marcantonio** sou grato pelo privilégio de sua companhia sempre muito agradável. Sua orientação em meu mestrado é algo que guardo com muito orgulho. A convivência com um ser humano como o senhor é uma dádiva e por isso sinto-me abençoado.

Ao Prof. Dr. **Guilherme Tosoni**, meu eterno agradecimento, por se colocar sempre a disposição em todos os momentos que necessitei de sua ajuda e não foram poucas...

Ao Prof. Dr. **Raphael Comelli Lia**, não só pela ajuda nesse trabalho, mas pela admiração que tenho por sua dedicação e devoção ao trabalho. Pelo respeito e olhar fraterno que expressa a todas as pessoas do seu convívio.

Aos meus amigos, **Mario, Lucas, João e Guilherme** muito obrigado pela grande ajuda nesse trabalho realizado.

À Profa. Dra. **Adriana Marcantonio**, pelo carinho e respeito e amizade que desde o início sempre mantivemos e assim deverá ser para sempre. Tenho muita admiração pela sua competência e humanismo.

Aos parceiros e amigos, **Andrés, Rubens Spin, Rafael Faeda, Lucas, Humberto, João Antônio, Guilherme Oliveira**, foi muito importante conhecê-los, muito bom desfrutar de suas companhias. Nossa amizade foi consolidada em bases fortes e o prazer de estar junto a vocês jamais se apagará da meu coração.

Aos meus eternos professores e amigos, **Rodolfo Jorge Boeck Neto, Luis Antonio Borelli Barros, Roberto Henrique Barbeiro e Joubert M. de Pádua** o meu muito obrigado. Vocês tem participação direta em minhas conquistas.

Às funcionárias da periodontia e amigas de todas as horas, **Regina Lúcia, Zezé, Maria do Rosário e Claudinha**, nos divertimos muito, desfrutar da companhia, amizade e auxílio de vocês foi ótimo e serão momentos que guardarei com saudade.

À **Claudinha** e ao **Leandro** pela preciosa ajuda nos corte histológicos aqui apresentados.

À **Edneide** e ao **Marcos** (funcionários da radiologia), pela ajuda imprescindível nas tomadas radiográficas desse estudo.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação, representados pela **Mara** (supervisora), por toda a capacidade, humanismo e carinho, dedicado a todos os pós-graduandos dessa universidade.

À **Maria do Carmo**, sempre de bom humor, esteve sempre solícita a resolver todos os problemas do auxílio e da bolsa FAPESP.

Aos amigos de pós-graduação, o meu muito obrigado pelo carinho e amizade.

Em especial, meu eterno reconhecimento, aos pacientes da pesquisa, por terem aceitado participar desse trabalho mesmo sem ter nenhum benefício próprio em participar dele.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla.

Aos docentes da disciplina de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Profa. Dra. Silvana Perez Orrico, Prof. Dr. José Eduardo César Sampaio, Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior, Prof. Dr. Benedito Egbert Correa de Toledo, Prof. Dr. Elcio Marcantonio Júnior, Profa. Dra. R Adriana Chiérici Marcantonio. Todos os senhores contribuíram muito em minha passagem por essa Universidade.

Aos meus colegas de pós-graduação, Mestrandos e Doutorandos, pois compartilharam das mesmas dificuldades e assim sempre nos compreendemos.

À FAPESP, instituição essencial para o desenvolvimento científico, mesmo atuando apenas no estado de São Paulo, contribui para formação de pesquisadores de todas as regiões do Brasil. A Fundação foi fundamental para o andamento dessa pesquisa, com o auxílio à pesquisa (processo n. 2004/07873-0) e a bolsa de doutorado (processo n. 2008/00795-5) à mim concedida.

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram com esse trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	10
Abstract	12
1 - Introdução	13
2 - Revisão da Literatura	15
2.1 – Elevação de seio maxilar	15
2.2 – Remodelação óssea	17
2.3 – Dimensão fractal	19
3 - Proposição	23
4 - Material e Método	24
4.1 – População	24
4.2 - Procedimento cirúrgico	25
4.3 – Biópsia	32
4.4 – Análise histológica	35
4.5 – Análise histométrica	36
4.6 – Imagem radiográfica	37
4.7 – Análise fractal das imagens radiográficas	40
4.8 – Planejamento estatístico	41
5 - Resultado	42
5.1 – Análise histológica	42

5.2 – Análise histométrica	48
5.3 – Dimensão Fractal	48
5.4 – Correlação entre histometria e dimensão fractal	50
6 - Discussão	52
7 - Conclusão	56
8 - Referência Bibliográfica	57
9 - Anexo	62

Paula WN. Análise histológica, histométrica e fractal de enxerto ósseo autógeno, em seio maxilar: estudo clínico [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2011.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a dimensão fractal (DF) de enxertos ósseos autógenos em elevação de seio maxilar em seres humanos, e comparar a DF com análise histológica e histométrica da região do enxerto ósseo, seis meses após a cirurgia.

Dezesseis seios maxilares, sendo sete de homens e nove de mulheres (idade média de 49 anos) foram selecionados, com necessidade de elevação de seio maxilar (SLAS) para posterior instalação de implantes. Três períodos radiográficos foram analisados por panorâmicas digitais diretas: (Período 1) antes da cirurgia, (Período 2) imediatamente após a cirurgia, e (Período 3) seis meses após a cirurgia. As imagens foram salvas em 8-bit e armazenadas como imagens TIFF. A SLAS foi realizada com o deslocamento da membrana sinusal para o preenchimento do arcabouço com osso autógeno removida da região retromolar. As três imagens radiográficas de cada paciente foram processadas pelo software *ImageJ*, posicionadas lado a lado para selecionar a região (64x56 *pixels*) de interesse (ROI), na área central da região do enxerto ósseo. Quarenta e oito imagens da ROI foram transformadas em binárias pelo aplicativo *threshold* correspondente pela mediana do histograma. As imagens binárias foram usadas para análise da DF pelo método *box-counting*. O teste Shapiro-Wilk foi realizado para determinar a distribuição normal dos dados ($p < 0.05$) e teste T-pareado para análise desses dados (período 1: 1.691 ± 0.08 , período 2: 1.727 ± 0.05 e período 3: 1.750 ± 0.05 , média e desvio padrão, respectivamente).

Após a radiografia de período 3, os pacientes foram submetidos a cirurgia de instalação de implantes, da qual obteve-se uma amostra de biópsia da região do enxerto ósseo. As biópsias foram processadas e analisadas por

descrição histológica e por histometria. A média e desvio-padrão, respectivamente, da histometria foram obtidos (OT: 62.75 ± 17.16 , EM: 37.25 ± 17.16). Dentro dos limites desse estudo, DF aumentou após a remodelação óssea de seis meses. Não houve correlação entre DF e a histometria do osso colhido na região de seio maxilar.

Palavras chave: Transplante ósseo, seio maxilar, radiografia panorâmica

Paula WN. Histologic, histometric e fractal analysis of autologous bone graft, in maxillary sinus: clinical study [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2011.

ABSTRACT

The sinus floor lift is a standard procedure for bone augmentation that enables dental implantation with interpositional of autogenous bone graft. Panoramic radiograph is a very useful image method for diagnostic, treatment and follow up for grafts procedures. Among some image analysis methods, we emphasize the fractal dimension (FD), which is a mathematical method that quantifies complex shapes. FD applied to bone structures can quantify the trabecular pattern. Once applied to different periods of the same bone structure, may help the understanding bone local changes.

The knowledge of structural behavior of the bone can be critical to the success of the installation and maintenance of implants. The aim of this study was to evaluate the fractal dimension of bone grafts in maxillary sinus (n=16), for 6 months of healing period. Three direct digital panoramic radiographs were obtained before surgery, immediately postoperatively and 6 months of healing. From the regions of interest fractal dimension were obtained. Biopsies were taken from implants sites at surgical procedures, processed and submitted to histological and histometric analysis.

To FD data, Shapiro-Wilk normality test, Tukey's test was performed ($p < 0.05$). No correlation between the FD and histometric data was found. A descriptive histological analysis was done. The bone change was observed from 6 months FD follow up.

Key words: Bone graft, maxillary sinus, panoramic radiograph.

1 INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegráveis (IO) se tornaram parte integrante do tratamento odontológico. Em meio à evolução técnico-científica, essa modalidade terapêutica ganhou credibilidade entre os cirurgiões-dentistas e pacientes. O sucesso clínico dos implantes dentários, nas últimas décadas, tem proporcionado o aumento do número de pacientes que buscam essas reabilitações, para restabelecer a estética e a funcionalidade do sistema estomatognático¹.

Entretanto, os procedimentos cirúrgicos de IO são possíveis quando há osso alveolar em quantidade adequada, tanto em espessura quanto em altura, no local a ser reabilitado. As regiões posteriores de maxila são consideradas áreas críticas para a reabilitação, pois apresentam freqüente redução da quantidade de osso, em decorrência da atrofia do processo alveolar e da pneumatização do seio maxilar^{3, 18}.

A cirurgia de elevação da mucosa do seio maxilar, com a interposição de biomaterial entre a mucosa e o assoalho do seio é um procedimento que foi introduzido por Boyne e James⁷ e tem sido empregado rotineiramente para viabilizar a colocação dos implantes dentários^{2, 4, 5, 20}. O objetivo primordial da técnica é corrigir a deficiência em altura do tecido ósseo e permitir assim a instalação de implantes com comprimento adequado⁴. Todavia, ao alterar a quantidade de osso na região, espera-se que a qualidade óssea também seja beneficiada. O biomaterial de interposição que tem melhor resposta biológica é o osso autógeno, por proporcionar a osteogênese, osteoindução e osteocondução³⁴.

O método considerado padrão ouro para avaliação da integração do enxerto ao osso pré-existente é o exame histológico, pois é possível verificar a dinâmica da atividade de remodelação óssea. Em imagens radiográficas, o local enxertado pode ser apenas delimitado pela diferença de radiopacidade da área em reparação e das corticais ósseas do assoalho do seio maxilar pré-existente.

Alguns autores têm utilizado a análise da dimensão fractal para avaliação de estruturas geométricas irregulares, tal qual o osso medular, em uma área pré-determinada^{6, 32, 39}. A análise fractal corresponde a um método de avaliação de padrões estruturais complexos, por meio de fórmula matemática. Quando o método fractal empregado é o *box-counting*, os valores situam-se entre 1 e 2⁴⁰.

As avaliações pré e pós-operatórias, de cirurgias de elevação de seio maxilar em enxertos ósseos são usualmente realizadas por imagens radiográficas. A indicação da radiografia panorâmica se justifica por ser um método de aquisição de imagens comumente disponível, de baixo custo e não invasivo²⁷. Essas imagens em formato digital facilitam o arquivamento, manipulação, processamento das imagens, além de ser menos prejudicial ao meio ambiente que o método radiográfico convencional³⁷.

Até onde foi possível verificar, não encontramos na literatura trabalhos que estabeleçam parâmetros objetivos, como a dimensão fractal, indicativos da modificação da estrutura interna dos seios maxilares após o enxerto de osso autógeno e que caracterizam o comportamento deste enxerto ao longo do tempo.

Desta forma, propomos avaliar, a dimensão fractal de imagens radiográficas panorâmicas digitais, em cirurgias de elevação de seio maxilar, com o objetivo de verificar o padrão do comportamento do enxerto logo após sua inserção e sua reparação até o momento da instalação do implante e provavelmente para indicar eventuais falhas e reabsorções de enxertos ósseos realizados. Os resultados da dimensão fractal foram comparados à análise histométrica, do osso que receberá o implante, complementada pela análise histológica descritiva do material obtido por meio de biópsia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O capítulo de revisão da literatura será dividido em três tópicos: Elevação de seio maxilar; remodelação óssea e análise fractal.

2.1 Elevação de seio maxilar

Desde o início da implantodontia, a região subantral da maxila sempre foi desafiadora, pois podem ocorrer a expansão do seio maxilar em decorrência da ausência dos dentes, ou pela pobre qualidade óssea do processo alveolar, que normalmente é constituído por osso trabecular.

A partir do início da década de 80, foi descrita uma técnica de abordagem ao seio maxilar por meio de um acesso na parede lateral da maxila, para interposição de enxerto ósseo autógeno entre o assoalho do seio maxilar e a membrana sinusal, com o objetivo de formar novamente o processo alveolar e possibilitar a reabilitação bucal de indivíduos⁷. Com essa alternativa cirúrgica, os autores conseguiram viabilizar o tratamento com implantes, em região posterior de maxila, recuperando a altura óssea do processo alveolar. Doze semanas após a cirurgia, foram instalados implantes laminados em novo procedimento cirúrgico.

Com a evolução das fixações para sustentação de dentes em reabilitação, os implantes laminados entraram em desuso, dando espaço a parafusos de titânio rosqueáveis que apresentavam resultados mais previsíveis a curto e longo prazo^{1, 8, 23}. Esses implantes mudaram os conceitos de osseointegração, e ampliaram as indicações de tratamento.

Todavia, para realização da técnica preconizada por Branemark et al.⁸, há necessidade de se estabilizar o implante no ato cirúrgico, chamada estabilidade primária. Para obtenção da estabilidade primária, além da destreza do cirurgião, a qualidade e quantidade óssea da região podem ser fatores primordiais. Levando em consideração esses fatores, a técnica de *sinus lift*,

preconizada por Boyne e James⁷, se difundiu por apresentar alta previsibilidade de sucesso. Esse procedimento possibilita a modificação da estrutura óssea, ampliando as possibilidades de estabilização primária por aumentar o contato entre osso e implante.

Reconhecer as particularidades da região de seio maxilar é muito importante e para isso algumas classificações dos processos alveolares maxilares foram elaboradas^{12, 25}. Na classificação proposta por Misch²⁵, do remanescente ósseo em maxila posterior, sugere-se que a altura mínima de 10 mm é compatível com a instalação de implantes; em altura óssea de até 5 mm, permite-se instalação de implantes concomitantemente a enxertia óssea para aumento de altura do osso alveolar; e disponibilidade óssea inferior à 5mm de altura impossibilita instalação de implantes e enxerto em seio maxilar, no mesmo tempo cirúrgico.

Ao descolar e deslocar a membrana sinusal faz-se necessário a interposição de biomaterial^{3-5, 7, 9, 11}, para que no mínimo promova a osteocondução (capacidade que o biomaterial tem de manter um arcabouço para formação óssea). Muitos biomateriais já foram testados para essa função, individualmente ou em associações atingindo bons níveis de previsibilidade^{2, 4, 5, 34}. Entretanto, o melhor biomaterial, considerado “padrão ouro”, ainda é o osso autógeno^{11, 34}, pois além da capacidade osteocondutora, esse material ainda reserva características de osteoindução (capacidade que o biomaterial tem de induzir diferenciação celular para formação óssea) e osteogênese (capacidade que o biomaterial tem de formar tecido ósseo).

No entanto, existem dificuldades ao se utilizar osso autógeno, que merecem destaque, como a necessidade de ampliar a extensão cirúrgica com um leito doador, maior desconforto pós-operatório na região doadora e em alguns casos, a limitação da quantidade de osso disponível para coleta e enxertia³⁰.

É importante ressaltar que a técnica de elevação de seio maxilar é bem aceita, baseada em fundamentos científicos encontrados na literatura

2.2 Remodelação Óssea

O osso é um tecido conjuntivo formado por matriz extracelular mineralizada. Em sua composição encontra-se 67% de componentes inorgânicos, entre os quais se destaca os cristais de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), que promovem sua rigidez. A característica de elasticidade e resiliência é conferida pela matriz orgânica (33%), da qual 28% é colágeno tipo I e o restante de sua composição é formado por proteínas não colagênicas, como a osteocalcina, osteonectina, sialoproteínas, proteoglicanas e proteínas morfogenéticas ósseas (BMP's). Todos esses componentes e suas funções caracterizam o tecido ósseo como altamente especializado³¹.

Ao caracterizar macroscopicamente, pode-se classificar o tecido ósseo em cortical e esponjoso ou medular. O osso cortical tem sua forma compacta, onde a matriz de colágeno orienta-se em lamelas concêntricas, normalmente ao redor de um canal vascular, formando o sistema de Havers. Já o outro tipo, o osso medular, compõe-se por trabéculas organizadas. Dessa forma, o osso cortical apresenta-se com duas funções básicas, resistência e proteção, enquanto que o medular participa das funções metabólicas. Em seu interior, há espaços medulares, onde a medula óssea vermelha produz células sanguíneas a partir de células mesenquimais indiferenciadas²⁴.

Independentemente da classificação macroscópica, no processo de remodelação e formação óssea podemos encontrar, histologicamente, o tecido ósseo em duas fases: uma é a osteóide ou primária, e a outra, lamelar ou secundária. Nas duas fases encontramos os mesmos tipos celulares, entretanto com diferentes orientações das fibras colágenas¹⁰. Na remodelação óssea, o tecido osteóide é o primeiro a se formar devido à grande quantidade de osteócitos e fibras colágenas posicionados aleatoriamente nas trabéculas ósseas neoformadas. Já o tecido ósseo secundário se forma pela deposição gradativa e paralela de fibras colágenas em substituição ao tecido ósseo primário¹⁶. A influência de forças externas sobre o tecido ósseo podem alterar o

posicionamento das fibras colágenas, participando do processo de reparação óssea e determinando características estruturais, como espaços medulares e osso compacto.

No entendimento da fisiologia óssea, é importante considerar que tanto o osso compacto como o osso medular, são envolvidos superficialmente por uma camada de tecido conjuntivo, que em sua porção externa denomina-se perióstio e em sua porção interna, endostio. Esse tecido conjuntivo possui alta capacidade osteogênica pela presença das células osteoprogenitoras²¹.

Toda a dinâmica do osso é conduzida por quatro células: células osteoprogenitoras, osteócitos, osteoblastos e osteoclastos. As células osteoprogenitoras apresentam potencial em se diferenciar nos osteoblastos, desde que exista a presença de oxigênio e nutrientes¹⁶. Os osteoblastos se organizam em camada na superfície da matriz osteóide e participam da osteogênese, sintetizando e secretando, matriz orgânica, bem como no processo de maturação e mineralização da matriz óssea²⁴.

No processo de síntese e mineralização promovido por osteoblastos, os mesmos derivam em osteócitos. Essas são células maduras que estão envolvidas pela matriz óssea calcificada e atuam na manutenção da vitalidade do tecido ósseo²¹. Já os osteoclastos são células originadas de monócitos, que fundidos formam grandes células multinucleadas. Essas células estão presentes na superfície óssea e atuam na reabsorção óssea^{21, 24, 31}. O impacto gerado pela atividade osteoclástica são formações como perfurações ou “crateras” na superfície óssea.

A relação entre osteoblastos e osteoclastos é totalmente interativa e assim conduzem a remodelação óssea. Os osteoblastos ativam a diferenciação e função dos osteoclastos por fatores que são depositados e armazenados na matriz e ou secretados localmente, em resposta a hormônios ou fatores locais²⁶. A remodelação óssea é um processo dinâmico, cíclico e de longa duração, que ocorre durante toda a vida. O processo de remodelação se baseia na ação dos osteoblastos quanto à aposição óssea, e na dos osteoclastos reabsorvendo o osso.

2.3 Dimensão fractal

O termo fractal originou-se do latim *fractus* e significa quebrar. Foi criado em 1975 por Benoit Mandelbrot, matemático francês, nascido na Polônia, que descobriu a geometria fractal na década de 70.

A análise da dimensão fractal (DF) permite a avaliação de estruturas geométricas irregulares, que não se explicam facilmente pela geometria clássica, pois têm padrões estruturais complexos, autossimilares²⁸. O termo autossimilar se usa para um objeto geométrico que ao ser dividido em partes, as mesmas são semelhantes ao objeto original.

Existem muitos métodos de análise da dimensão fractal relatados na literatura^{17,28}, indicados para avaliação de sinais como ruídos ou vibrações, ou imagens como mapas, cortes histológicos ou radiografias²⁸. Quando se avalia duas imagens radiográficas, realizadas em diferentes momentos, para casos que necessitam de acompanhamento o, importante é que estas radiografias tenham sido tomadas de maneira mais similar possível, pois, facilita a detecção das mudanças. Entretanto, como dificilmente conseguimos a reprodução de todos os fatores que envolvem a obtenção de uma imagem radiográfica, ShROUT et al.²⁹ testaram, no programa "ImageFractal", se a dimensão fractal é independente de variações na exposição dos raios-X, do alinhamento do feixe e do posicionamento da região de interesse, por meio de radiografias dentárias digitalizadas do osso alveolar. A análise de variância não mostrou diferenças significantes entre as dimensões fractais calculadas nas imagens bases e nas sub e super-expostas, nas imagens de 4 e 6 graus de variações no alinhamento, ou nas repetições das regiões de interesse. Os resultados confirmaram a hipótese de que as dimensões fractais derivadas das radiografias dentárias digitalizadas não são afetadas por variância na exposição ou pequenas variações no alinhamento, indicando que um posicionamento absoluto da região de interesse pode não ser necessário. No entanto, a reprodução mais próxima possível é necessária para evitar viés.

Até o presente momento, não foi possível encontrar estudos utilizando DF em área de enxerto ósseo, mas sim em regiões de osso e suas patologias^{6, 13, 17, 19, 32, 35, 39, 43}. As aplicações da análise fractal de tecido ósseo em imagens médicas e odontológicas foram reportadas, por diversos métodos, para medir a dimensão fractal de tecido ósseo. Algumas comparações entre ossos normais e osteoporóticos foram realizadas com resultados controversos^{17, 31}, talvez pela diferença de sítios anatômicos ou pela diferença de métodos de obtenção das imagens. Todas as fases da análise podem influenciar o resultado da dimensão fractal, mas deve-se considerar que a dimensão fractal é sempre independente e por isso, os estudos devem ser considerados separadamente.

Ao quantificar por dimensão fractal uma imagem complexa, podemos esperar que um osso de padrão trabecular deva obter valores numéricos menores que de um osso cortical, por ter maior quantidade de espaços medulares. Os resultados de Bollen et al.⁶, mostraram a possibilidade de diagnosticar osteoporose por meio de análise da dimensão fractal de radiografias periapicais e de radiografias panorâmicas e constataram valores na mandíbula inferiores às de maxila. Outro fato importante foi que em indivíduos com maior porosidade e reabsorção da cortical mandibular, os valores de DF foram maiores. Isso ocorreu em condição de doença e não em indivíduos normais.

Seguindo o raciocínio da relação inversa entre DF e massa óssea, um estudo retrospectivo de acompanhamento pré-operatório e pós-operatório de cirurgias ortognáticas de mandíbula¹⁹ chama a atenção pelo fato da dimensão fractal ter reduzido imediatamente após a operação e aumentar progressivamente de acordo com o tempo ($p < 0,05$), ao ponto que no período de 12 meses de pós-operatório DF foi semelhante ao pré-operatório. O resultado pode indicar a redução do trabeculado ósseo pela osteotomia mandibular e compressão das corticais ósseas pelas fixações com parafusos e a reorganização das regiões reposicionadas cirurgicamente.

A DF de imagens prévias e pós-tratamento endodôntico de lesões osteolíticas periapicais foi relatada¹³. Vinte e cinco entre os vinte e sete

pacientes tiveram aumento da DF no periápice dos dentes após o tratamento de canal. Diferenças significantes estatisticamente ($p < 0,05$) indicam a formação de novo trabeculado ósseo no espaço de lesões osteolíticas, em região de periápice. Outros autores⁴³ obtiveram resultados de diminuição da dimensão fractal na região óssea periapical, após tratamento clínico bem sucedido de canais radiculares ($p < 0,05$).

Como a osteoporose é um problema de saúde pública, a sensibilidade da dimensão fractal as alterações do tecido ósseo foram utilizadas entre outras avaliações como meio de diagnóstico da doença por meio de radiografias bucais, porém sem resultados significativos^{32, 40}. Como promoção de saúde, uma possível aplicação de diagnóstico precoce por radiografias pré-existentes teria um impacto de custo-benefício muito interessante a qualquer governo. Já quanto à anemia falciforme, o uso da DF apontou para a escassez de osso trabecular em indivíduos menores de 20 anos de idade¹⁴.

Outro problema de saúde pública é a doença periodontal, cujo diagnóstico da baseia-se em informações obtidas por meio dos exames clínicos e radiográficos. Porém, o padrão atual de utilização das radiografias dentárias é a análise visual, muitas vezes sem uma análise quantitativa. Para medir quantitativamente o impacto da doença periodontal no osso circundante, Updike, Nowzari³⁵ realizaram um estudo para avaliar a DF como ferramenta. Diferenças estatísticas significativas foram encontradas entre o grupo saudável e com periodontite severa ($p < 0,001$). Os maiores valores de dimensão fractal referem-se aos pacientes com o periodonto saudável.

O tipo de radiografia sob análise, periapical ou panorâmica, pode alterar o valor numérico da dimensão fractal de uma mesma área. A média das medidas de DF nas radiografias panorâmicas foram inferiores às medidas das periapicais. Entretanto como são análises independentes, quando se avalia uma área em períodos diferentes, pelas duas técnicas radiográficas, provavelmente não há alterações de resultado⁶.

Ao avaliar o comportamento ósseo ao redor de implantes já osseointegrados, Wilding et al.³⁸ utilizaram DF e constataram mudanças junto

aos implantes na posição mais próxima a crista óssea alveolar. Houve um aumento de DF sugerindo a transformação para um osso de padrão mais trabecular. Esses resultados mostram que as principais mudanças ocorrem na região do osso periimplantar.

A análise de frequência de ressonância por aparelho (Osstell™) é um método bastante utilizado em implantodontia para avaliação da estabilidade do implante por meio de vibração. Veltri et al.³⁶ não encontraram correlação entre o método *damping factor* e DF. Em contraposição, Lee et al.²² utilizaram outro parâmetro do Osstell, conhecido como coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) e encontraram correlação entre ISQ e DF. Todavia, os métodos de análise foram diferentes e o tempo pós-operatório da instalação dos implantes também.

Traini et al.³³ entre outras avaliações, utilizaram DF para investigar a vascularização entre implantes pela influencia da distancia entre eles. Constataram melhor vascularização entre implantes com distância de 3 mm, em relação a implantes posicionados a uma distância de 2 mm.

Alguns estudos^{41, 42} investigaram a possibilidade de se avaliar as propriedades mecânicas do osso ao elaborar um mapeamento dos fractais, organizado pela união de vários dados de DF obtidos por diferentes ângulos da captura da imagem. O mapeamento evidencia a estrutura trabecular anisotrópica. A anisotropia associada à análise da densidade óssea pode gerar informações das propriedades mecânicas do osso. Esses dados seriam extremamente importantes para um conhecimento prévio do osso alveolar a ser instrumentado cirurgicamente para fixação de implantes.

3 PROPOSIÇÃO

O propósito desse trabalho foi determinar a dimensão fractal da imagem radiográfica panorâmica digital direta, do padrão de remodelação óssea, em cirurgias de levantamento do seio maxilar em seres humanos. Avaliar a análise histológica descritiva de amostras do tecido ósseo e correlacionar os dados da histometria com os valores da dimensão fractal.

4 MATERIAL E MÉTODO

Neste estudo, a amostra foi composta por 16 seios maxilares de pacientes que necessitaram de atendimento clínico-cirúrgico de elevação do seio maxilar, para posterior instalação de implantes osseointegráveis. Estes pacientes foram submetidas a tomadas radiográficas panorâmicas (Figura 1) em três momentos do tratamento: pré-operatório, pós-operatório imediato e pós-operatório de seis meses (Tabela 1).

As amostras radiográficas foram divididas em três períodos separados pelo período radiográfico.

Tabela 1 – Disposição dos grupos em relação ao período radiográfico

<i>PERÍODO</i>	<i>PERÍODO RADIOGRÁFICO</i>
1	Pré-operatório
2	Pós-operatório imediato
3	Pós-operatório de seis meses

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CEP-FOAr). Os pacientes foram convidados e confirmaram a aceitação em participar do estudo, mediante assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, previamente aprovado pelo CEP-FOAr (Anexo).

1.1 POPULAÇÃO

Foram avaliados pacientes submetidos à cirurgia de levantamento de seio maxilar no Curso de Especialização em Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara. Estes pacientes tinham diferentes defeitos

anatômicos, com ausência de um ou mais dentes, unilateral ou bilateral (Figura 2). Dos 16 seios maxilares, sete eram de pacientes homens entre 22 e 57 anos de idade e nove eram de mulheres entre 40 e 67 anos de idade. A média das idades dos pacientes envolvidos na pesquisa foi de 49 anos.

Os critérios de inclusão do presente estudo foram:

- 1) Indivíduos com bom estado de saúde geral e não fumantes;
- 2) Ausência de sinais, sintomas e de lesões dento-maxilares, assim como, ausência de sinais radiográficos compatíveis com infecções e/ou inflamações sinusais e de lesões ósseas alveolares;
- 3) Indivíduos não diabéticos.

4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

4.2.1 Técnica cirúrgica de levantamento do seio maxilar

Após a antissepsia extra-bucal com PVPI e intra-bucal com digluconato de clorexidina a 0,12% do campo operatório, foi realizada a anestesia dos nervos alveolar superior posterior e médio e do nervo palatino maior (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000, DFL, Brasil), responsáveis respectivamente pela inervação da região posterior da maxila e da mucosa palatina. Foi realizada uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular, mesial e distal à região de interesse. O retalho mucoperiostal foi descolado e rebatido até a exposição completa da parede lateral externa do seio maxilar. No osso vestibular da maxila, uma abertura de acesso à membrana sinusal foi confeccionada com uma fresa esférica nº 2 em baixa rotação, sob irrigação com cloreto de sódio a 0,9%. A parede óssea cortical mobilizada foi descolada da membrana sinusal e removida (Figura 3), com o auxílio de curetas específicas. A mucosa sinusal também foi deslocada das paredes ósseas no interior do seio maxilar, até as

dimensões necessárias para o restabelecimento ósseo que permitisse a instalação de IO (Figura 4). O local preparado recebeu somente o enxerto ósseo autógeno previamente colhido (Figura 5). A região foi suturada com fio de nylon 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson S.A.), por meio de pontos interrompidos (Figura 6). Os pacientes receberam orientações pós-operatórias e prescrição de medicação sistêmica constituída por antibiótico (amoxicilina 500mg), antiinflamatório (nimesulida 100mg) e medicação tópica constituída por enxágüe de digluconato de clorexidina a 0,12%. A sutura foi removida após 10 dias e a região operada permaneceu sem influência de carga direta durante toda a fase de regeneração óssea.



Figura 1 – Imagem panorâmica inicial ilustrando a necessidade de elevação de seio maxilar do lado esquerdo.

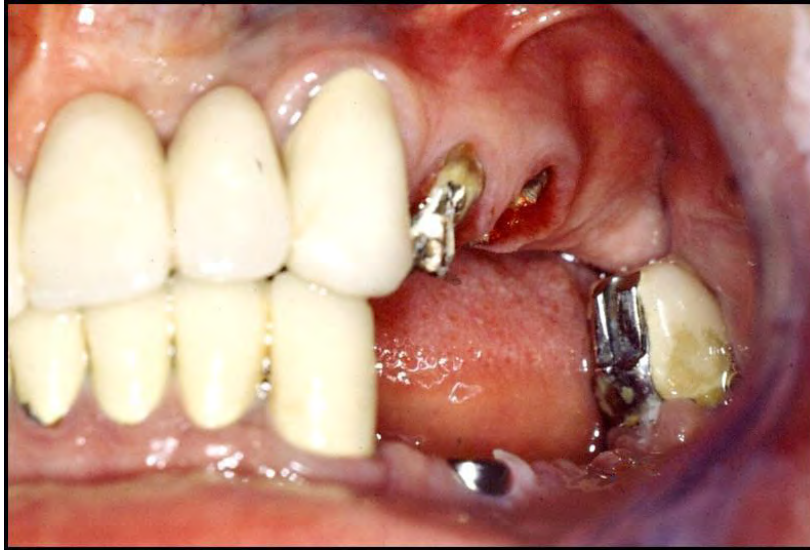


Figura 2 – Aspecto clínico da região posterior, previamente a abordagem ao seio maxilar.



Figura 3 – Aspecto da mucosa sinusal após osteotomia e remoção da cortical óssea vestibular da maxila posterior.

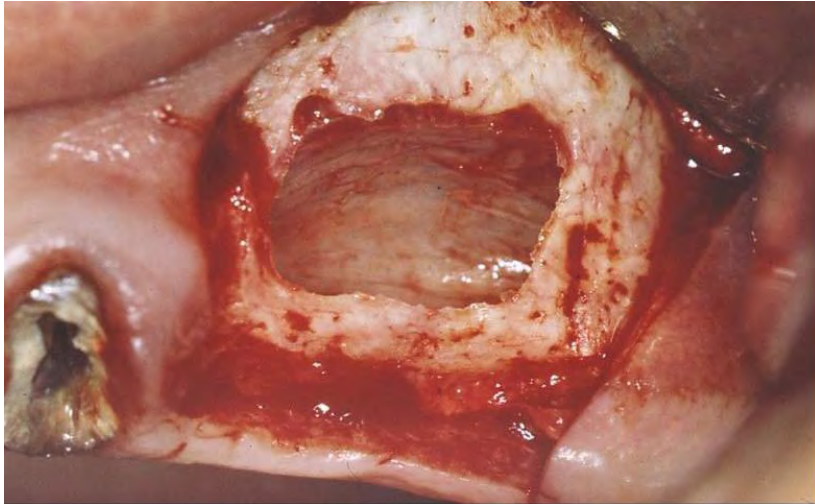


Figura 4 – Região do seio maxilar, após o deslocamento superior da mucosa sinusal criando espaço para interposição de enxerto ósseo.

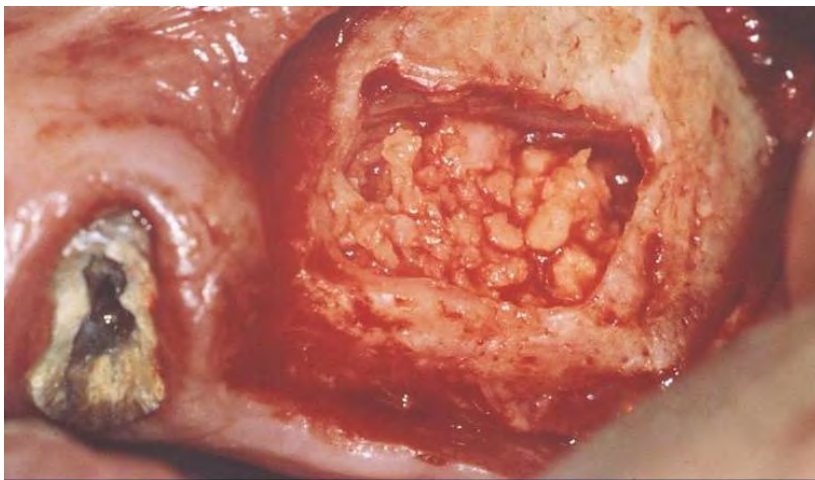


Figura 5 – Vista vestibular da maxila, após preenchimento com osso autógeno, do arcabouço criado entre o assoalho do seio maxilar e a mucosa sinusal.

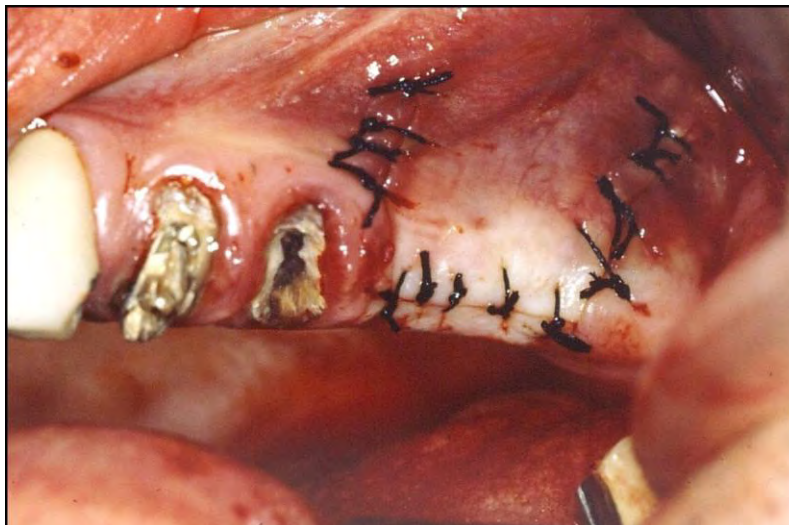


Figura 6 – Reposição do retalho muco-periosteal e sutura oclusiva por pontos simples.

4.2.2 Obtenção do enxerto

Para a obtenção do enxerto ósseo, proveniente da linha oblíqua externa da mandíbula foi realizada a anestesia (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000, DFL, Brasil) dos nervos sensitivos responsáveis pela região abordada. A incisão foi realizada apical ao limite inferior da linha muco-gengival do 2º molar inferior, seguindo posterior sobre o ramo ascendente da mandíbula. Um retalho mucoperiosteal foi obtido, expondo a linha oblíqua e vestibular da mesma região. A osteotomia do osso foi realizada por meio de broca nº 702, montada em peça reta 1:1(KaVo - KaVo do Brasil S. A. Ind. e Com. - Joinville - SC), acionada por motor específico (Driller BLM 650 - VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda., São Paulo, SP) e refrigeração constante com solução salina. A osteotomia respeitou os limites anatômicos da região, com profundidade suficiente para romper a cortical óssea externa da mandíbula (Figura 7). O

bloco cortical obtido (Figura 8) foi então preservado sob solução salina em uma cuba estéril até o momento de seu uso na área receptora. A ferida cirúrgica da área doadora foi suturada por meio da associação de pontos contínuos festonados e pontos simples interrompidos, utilizando fio seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson S.A.). Os fragmentos ósseos foram particulados, em um aparelho particulador ósseo (Dentoflex), depositados em pote estéril (Figura 9), e em seguida conduzidos ao seio maxilar (Figura 5).



Figura 7 – Vista da região retromolar após incisão, descolamento do retalho muco-periostal e osteotomia da porção vestibular do ramo mandibular.



Figura 8 – Bloco ósseo cortical removido do ramo mandibular e comparado a sonda periodontal milimetrada.



Figura 9 – Pote acondicionando o osso, já particulado, pronto para ser inserido no leito receptor.

4.3 BIÓPSIA

4.3.1 Obtenção da biópsia

Em uma segunda etapa cirúrgica, seis meses após a realização do enxerto ósseo, foi realizada a antisepsia extra e intra-bucal do campo operatório. Após a injeção local de anestésico (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000, DFL, Brasil) dos nervos alveolar superior posterior e médio e do nervo palatino maior, foi realizada uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular, mesial e distal à região de interesse, mesmo procedimento realizado na primeira cirurgia de enxerto ósseo. O retalho mucoperiostal foi descolado e rebatido até a exposição completa da parede lateral externa do seio maxilar (Figura 10). Uma biópsia foi obtida no momento do preparo da loja cirúrgica para instalação dos implantes, por meio de broca trefina (Trefine Burr, 2.0mm diameter - 3i Implant Innovations, Inc., Florida, USA) de 2,0mm de diâmetro interno e 3,0mm externo (Figura 11). A broca foi posicionada no mesmo eixo de perfuração e inserção dos implantes, justamente nas regiões que os receberiam após o período de reparação óssea (Figura 12).

O corte com a broca foi realizado, utilizando contra-ângulo com redução 20:1(Kavo do Brasil) em movimento único, sob irrigação com soro fisiológico, até o rompimento do assoalho do seio maxilar para remoção do osso, na totalidade do seu comprimento. Após a perfuração única, implantes de 3,75 mm de diâmetro foram inseridos nos leitos preparados e o osso colhido, removido cautelosamente do interior da trefina (Figura 13).

As biópsias foram acondicionadas em solução de formol de Lillie tamponado a 10%.

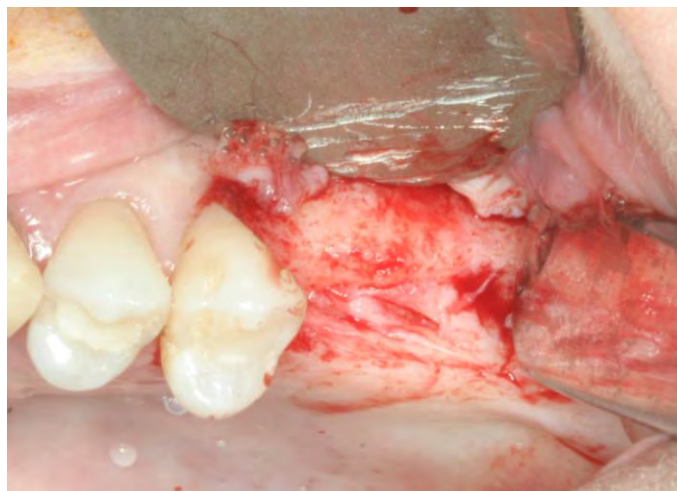


Figura 10 – Região posterior de maxila, com retalho cirúrgico muco-periosteal rebatido e exposição do processo alveolar pronto para preparo cirúrgico de implantes ósseointegráveis.



Figura 11 – Vista da broca trefina montada em contra-ângulo redutor (20:1, Kavo do Brasil Ltda, SC) se direcionando para perfuração óssea.



Figura 12 – Posicionamento da broca trefina com eixo ideal para instalação do implante osseointegrável.

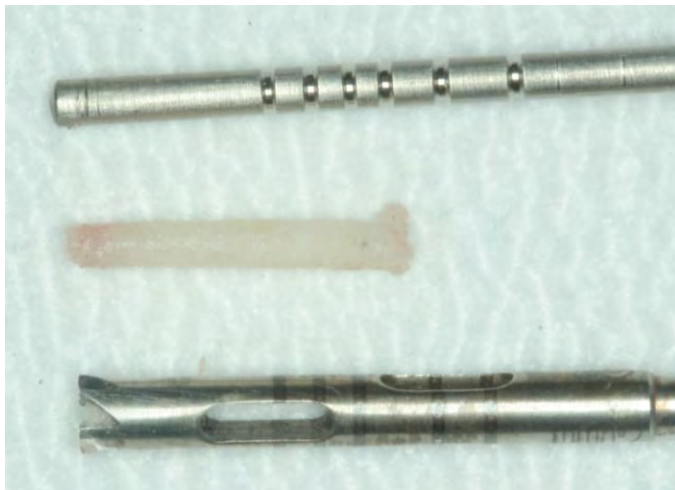


Figura 13 – Vista do osso coletado para biópsia (com 13mm de comprimento), ao lado da broca trefina utilizada para sua remoção e de um profundímetro cirúrgico.

4.3.2 Processamento da biópsia

Após a primeira fase de fixação em formol de Lillie (Formol tamponado a 10%) por no mínimo 72 horas, para manutenção das estruturas que se desejava avaliar. Na sequência, as peças foram lavadas em água corrente, durante 24 horas, para remoção do formol e foi iniciado o processo de descalcificação das mesmas, com sua imersão em solução descalcificadora de Anna Morse (Citrato de Sódio a 20% + Ácido Fórmico a 50%), trocada a cada 48 horas, durante 40 dias. Ao constatar a correta descalcificação das peças, as mesmas tiveram o excesso de ácido neutralizado por imersão em solução de Citrato de Sódio a 5% durante três dias, com trocas diárias da solução, e lavadas em água corrente durante 24 horas antes do início de sua desidratação, que foi feita em banhos crescentes de álcool (70°, 90°, álcool absoluto), permitindo que a peça fosse finalmente diafanizada em xilol durante 3 horas, e incluída em parafina. Foram obtidos cinco cortes semi-seriados, com aproximadamente seis µm de espessura de cada peça, dispostos em uma lâmina, que foram coradas pela técnica da Hematoxilina-Eosina, permitindo a correta avaliação histológica das estruturas teciduais na região dos defeitos criados.

4.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A avaliação histológica foi feita utilizando-se um microscópio de luz DIASTAR (Leica eichert & Jung products, Alemanha), com objetivas para aumento de quatro até 100 vezes, e oculares com aumento de 10 vezes, através do qual as imagens foram observadas e avaliadas. As imagens representativas à avaliação feita 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 óptico. As imagens capturadas foram reorganizadas através do programa Photoshop CS5 (Adobe Systems Incorporated, San Jose, California, US).

Na análise histológica descritiva foram avaliados o tipo e a qualidade dos tecidos neoformados, padrão de remodelação óssea, reação ao enxerto e presença de reação inflamatória. Utilizamos a coloração HE (Hematoxilina e Eosina). As análises das lâminas foram realizadas por um examinador calibrado e experiente.

4.5 ANÁLISE HISTOMÉTRICA

A análise histométrica foi feita para medir diretamente a porcentagem de estrutura óssea após seis meses da colocação do enxerto, por um examinador calibrado. Os cortes selecionados para a análise histométrica seguiram o padrão semi-seriado: o primeiro corte da primeira lâmina foi selecionado, e então quatro cortes sequenciais foram desprezados, independentemente de estarem na mesma lâmina, o próximo corte foi avaliado, e assim consecutivamente. Dos cortes avaliados calculou-se uma média, a qual representa a média do bloco.

As imagens utilizadas na análise histológica foram as mesmas da histometria. A área total foi dividida em duas partes, a partir da suposta linha de reversão. Como não foi utilizado nenhum tipo de marcador ósseo, considerou-se que a linha de reversão a ser observada poderia não ser fidedigna, sendo, portanto desprezada uma distância de 1 mm em direção ao osso neoformado, como margem de segurança, conforme o esquema abaixo:

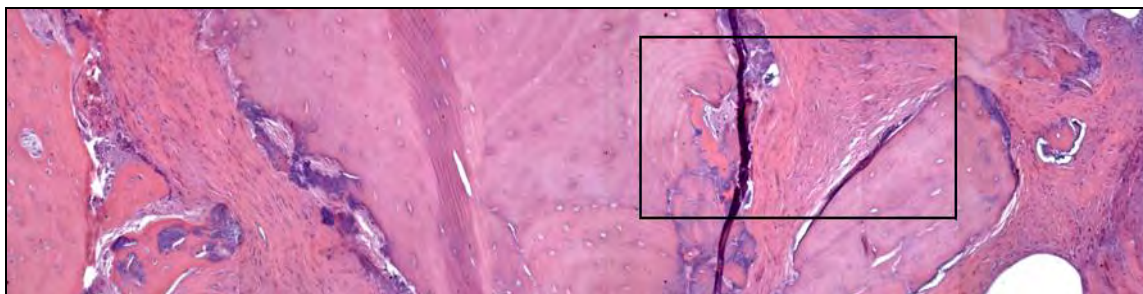


Figura 14 – Imagem da seleção da área para análise histométrica (coloração HE, 10x)

Nessa área neoformada, foi posicionado um retângulo de delimitação da área (26mm x 38 mm), para que fossem medidas em todas as imagens, áreas de mesmo tamanho.

Com o auxílio do programa Photoshop CS5 (Adobe Systems Incorporated, San Jose, California, US) Em seguida, utilizando o software ImageTool 3.0 (UTHSCSA, San Antonio, California, US), as áreas ocupadas pelo osso trabecular (OT) e espaço medular (EM) foram mensuradas separadamente. Desta forma, foi aferido o cálculo do percentual de espaço ocupado pelas duas estruturas, em relação à área neoformada.

4.6 IMAGEM RADIOGRÁFICA

4.6.1 Obtenção das radiografias

Foram obtidas três imagens panorâmicas: no momento prévio à cirurgia; imediatamente após a cirurgia de levantamento de seio maxilar e seis meses após a cirurgia de elevação de seio maxilar. As radiografias foram realizadas no aparelho *Ortopantomographic OP 100*, (*Instrumentarium Image e Sistema Digital Denoptix*). Os fatores de exposição (kVp e mA) foram selecionados de

acordo com o tipo físico do paciente, mantidos para as três exposições, para se obter imagens mais similares quanto possível.

4.6.2 Processamento das imagens para análise fractal

Um único examinador selecionou as três imagens radiográficas de cada paciente e realizou todo o processamento. Foram identificadas as regiões de seio maxilar alteradas, ao longo do período de reparação óssea (seis meses). Ao visualizar as áreas de todas as radiografias, selecionou-se uma radiografia do paciente que possuía a menor área de expansão do seio maxilar, para criar-se uma região de interesse (ROI), que também coubesse em todas as imagens radiográficas que seriam avaliadas dos outros pacientes da pesquisa. Feito isso, utilizando o programa ImageJ (*ImageJ – version 1.32j / NIH software*), criou-se um macro da ROI, um retângulo com 64 X 56 pixels, que foi salvo para ser utilizado em todas as imagens. Ao acionar o programa ImageJ, as três imagens de cada paciente foram abertas e posicionadas próximas umas as outras para facilitar o posicionamento da ROI nas regiões modificadas cirurgicamente (Figuras 15, 16 e 17). O tamanho do ROI foi selecionado pela área do menor enxerto ósseo entre todos os seios maxilares. Ao posicionar e selecionar a ROI em cada imagem radiografia, essa foi transformada em binária com o ajuste do *threshold* correspondendo à mediana do histograma. As imagens das ROI(s), transformadas em binárias, foram salvas no formato BMP (*Bitmap Image File*) para análise subsequente da dimensão fractal.

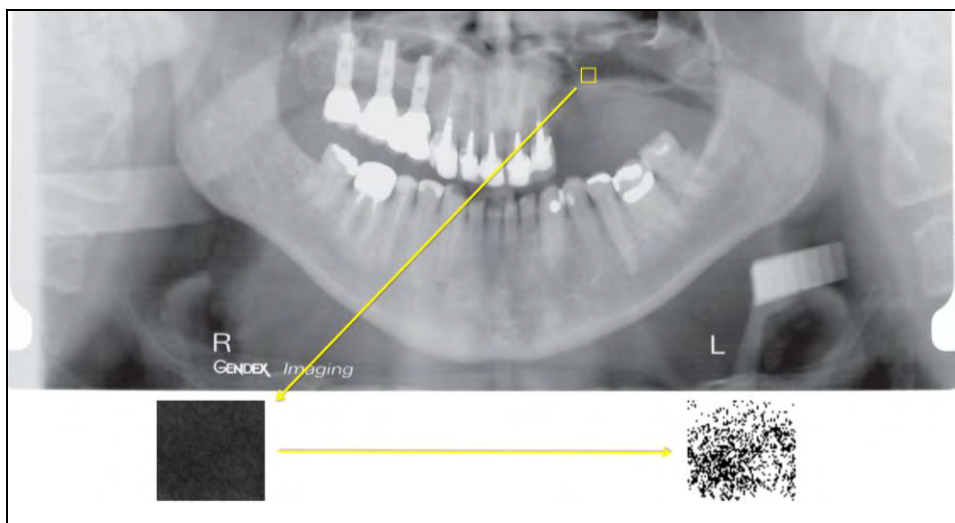


Figura 15 – Imagem radiográfica do grupo 1(imagem superior), com a ROI selecionada (imagem inferior esquerda) e salva no formato TIFF e a imagem binária (imagem inferior direita) obtida da ROI salva no formato *Bitmap Image File*

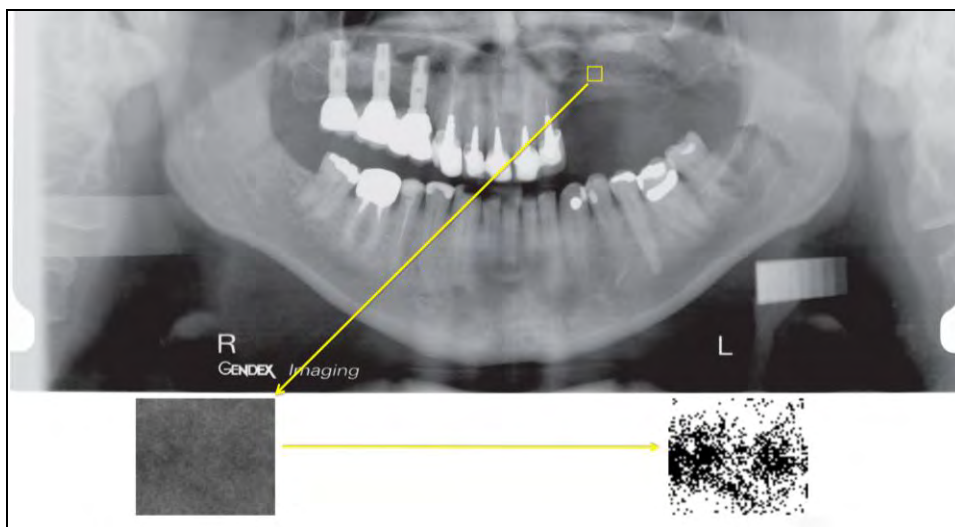


Figura 16 - Imagem radiográfica do grupo 2 (imagem superior), com a ROI selecionada (imagem inferior esquerda) e salva em formato TIFF e a imagem binária (imagem inferior direita) obtida da ROI salva no formato *Bitmap Image File*

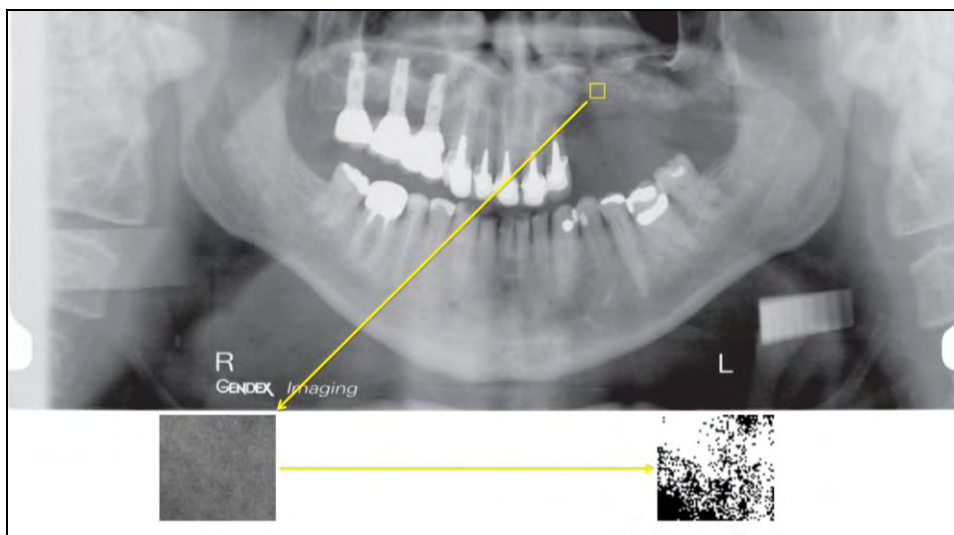


Figura 17 - Imagem radiográfica do grupo 3 (imagem superior), com a ROI selecionada (imagem inferior esquerda) e salva em formato Tiff e a imagem binária (imagem inferior direita) obtida da ROI salva no formato *Bitmap Image File*

4.7 ANÁLISE FRACTAL DAS IMAGENS RADIOGRÁFICAS

O programa Benoit 1.3 (Trusoft International Inc, St Petersburg, FL) foi utilizado para a determinação da dimensão fractal. Nele, individualmente em cada imagem binária, foi automaticamente calculado o valor da dimensão fractal (DF) pelo método *box-counting*. O método fraciona a imagem em pequenas imagens auto-similares. Essas pequenas imagens binárias calculadas uma fórmula matemática geram valores fractais que se situam entre 1 e 2, sendo que 1 corresponde ao valor de uma estrutura praticamente uniforme em um espaço fixo pré-determinado. Já, quando a dimensão fractal corresponde a 2, esta estrutura biológica ocupa todo o espaço disponível de

uma região com área pré-determinada. Após processadas as imagens, todos os dados foram dispostos em tabela para análise estatística.

4.7 PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados obtidos pela análise fractal são numéricos, por isso foi aplicado um teste de normalidade de Shapiro-Wilk para avaliar se os dados respeitavam o teorema da distribuição central. Como o teste de normalidade demonstrou que os dados são normais, testes paramétricos foram utilizados para a análise. Para avaliar as diferenças entre os períodos, foi utilizado o teste t pareado para amostras dependentes (teste de Tukey) com nível de confiança de 95% ($p < 0.05$).

Para os dados da histometria foi realizado apenas a média dos valores e desvio padrão de tecido ósseo trabecular e osso medular.

A correlação de Pearson foi executada para avaliar o comportamento dos dados histométricos do osso trabecular e do espaço medular em relação aos dados da dimensão fractal. Essa avaliação comparou os dados do grupo 3 da análise fractal, mesmo período em que removeu-se a biópsia do osso após 180 dias de remodelação.

5 RESULTADO

5.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA

As lâminas histológicas foram obtidas do osso colhido em biópsias, com fresa trefina de 2mm de diâmetro interno e 13 mm de comprimento. A coloração realizada foi HE. A análise foi feita em microscópio óptico em aumentos de 40x, 20x e 10x.

Sendo assim, observou-se que as lâminas apresentaram osso de padrão trabecular, que se modifica em sua quantidade de tecido ósseo ao longo do corte histológica. Em algumas regiões, a porção de tecido ósseo calcificado se encontra em maior volume com a redução moderada do espaço medular (Figura 18). A distribuição de osteoblastos nas trabéculas é aleatória. As rimas de osteoblastos apresentam predominância de padrão alongado (Figura 19), constando em alguns pontos osteoblastos de padrão poliédrico (Figura 20). Nas regiões onde estão presentes os osteoblastos de padrão poliédrico verifica-se uma maior aposição de tecido ósseo por ter maior atividade funcional.

Os fragmentos ósseos do novo osso formado apresentam linhas de incremento predominante às linhas (irregulares) de reversão do osso que se interpõem (Figura 21). Isto caracteriza a atividade de formação óssea habitual, no processo de *turnover* ósseo, guardadas as atividades reacionais impostas pela transição do osso, desde a sua remoção, armazenamento e inserção na cavidade criada abaixo da mucosa sinusal do seio maxilar.

As partículas trituradas de osso autógeno inseridas no seio maxilar se encontram, em sua maioria, integradas à região. Essa interação se dá pela aposição óssea na superfície das partículas de enxerto (Figura 22), que em muitos momentos são envolvidos completamente pelas linhas de incremento ósseo. As linhas incrementais interligam partículas ósseas enxertadas em muitas localidades. Encontram-se nessas regiões, em formação, alguns

sistemas haversianos (Figura 23). Entretanto, por vezes, esses fragmentos estão isolados no espaço medular. Já em situações pontuais, o material enxertado está presente em fenômenos de reabsorção por meio de atividade osteoclástica.

O espaço medular ósseo é variado em seu volume ao longo do osso biopsiado nas lâminas histológicas, encontrando-se em maior ou menor quantidade (Figura 24). Nas regiões mais próximas ao osso que já estava presente na parede inferior do seio maxilar, os espaços medulares do osso enxertado estão preenchidos predominantemente por tecido adiposo (Figura 25). Ao seguir na direção contrária à cortical inferior do seio maxilar pré-existente, observa-se no espaço medular uma transição do tecido adiposo para um tecido conjuntivo em colagenização. Por outro lado, a medula hematopoiética encontra-se presente em locais eventuais. Partículas de osso pulverizado são encontradas no espaço medular, entre tecido adiposo ou tecido conjuntivo, de maneira inerte, sem interação com o meio.

Ao observar a ausência de processo inflamatório, pôde-se verificar um bom padrão de reparação óssea em todos os exames histológicos avaliados. Obviamente, as pequenas alterações do padrão de integração do osso autógeno, variando o volume ósseo e dos espaços medulares são observadas por indivíduo. Essa observação era naturalmente esperada pela peculiaridade em relação à idade, sexo e tamanho ou tipo de defeito ósseo a ser reparado.

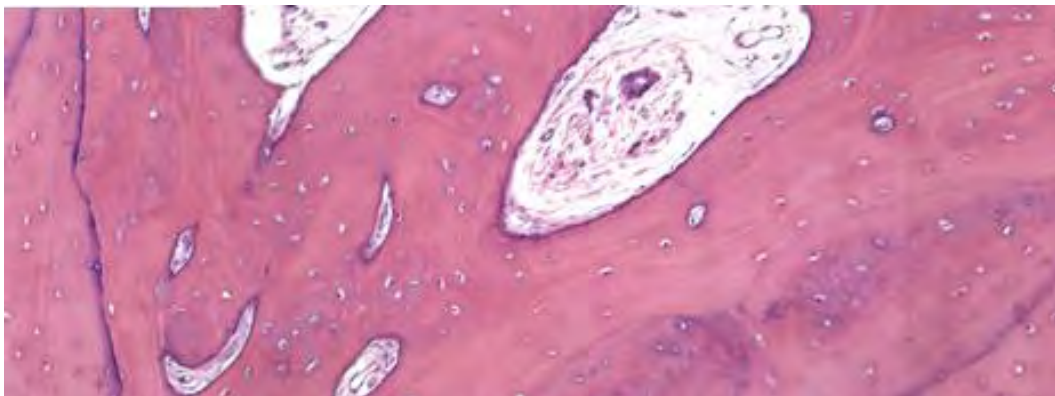


Figura 18 - Corte histológico (coloração HE, aumento 10x) evidenciando a área de neoformação óssea com grande volume de tecido ósseo e pequenos espaços medulares. Destaque para grande quantidade de osteócitos.

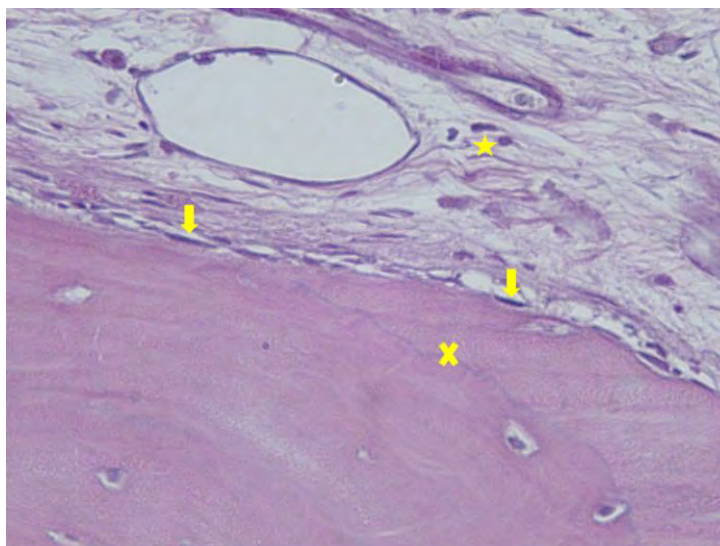


Figura 19 – Corte histológico (coloração HE, aumento 40x). Região com tecido ósseo neoformado e presença de tecido conjuntivo propriamente dito. (→) Osteoblastos em forma alongada, (x) linha de reversão do processo de formação ósseo, (*) tecido conjuntivo propriamente dito.

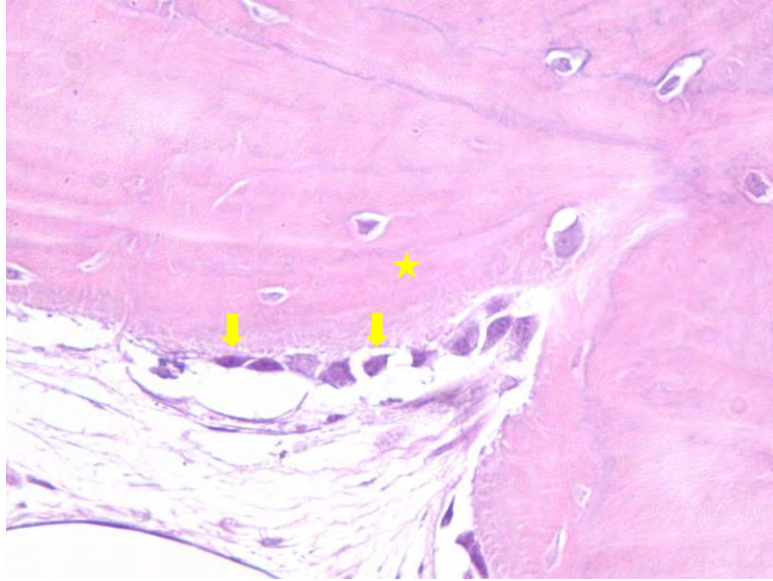


Figura 20 – Corte histológico (coloração HE, aumento 40x). (→) Osteoblastos em forma poliédrica. (*) região de aposição óssea neoformada.

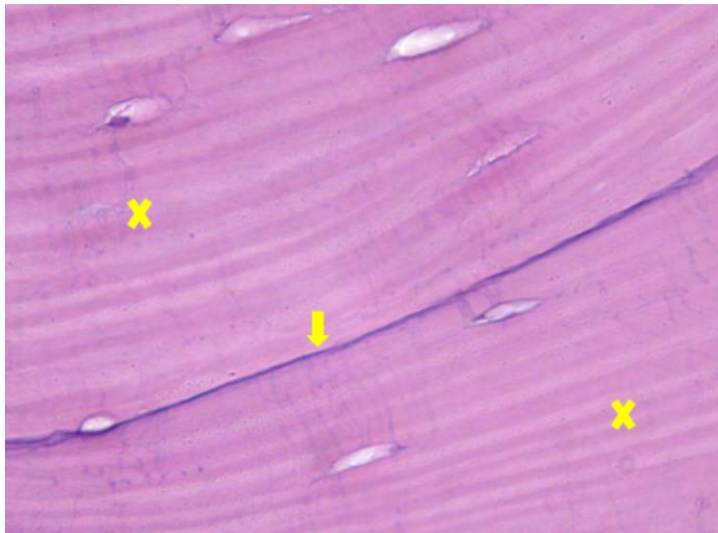


Figura 21 – Corte histológico (coloração HE, aumento 40x). (→) Linha de reversão em interposição à linhas de incremento ósseo (x), conduzindo o padrão de formação óssea.

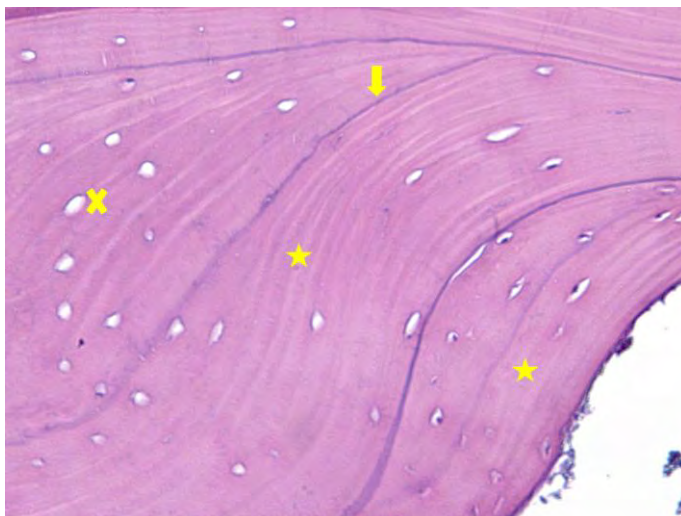


Figura 22 – Corte histológico (coloração HE, aumento 20x). (→) Linhas de reversão, separando regiões de incremento ósseo (*), (x) região de osteoplastos. Destaque para a aposição de tecido ósseo calcificado na superfície do fragmento ósseo introduzido no local por enxertia.

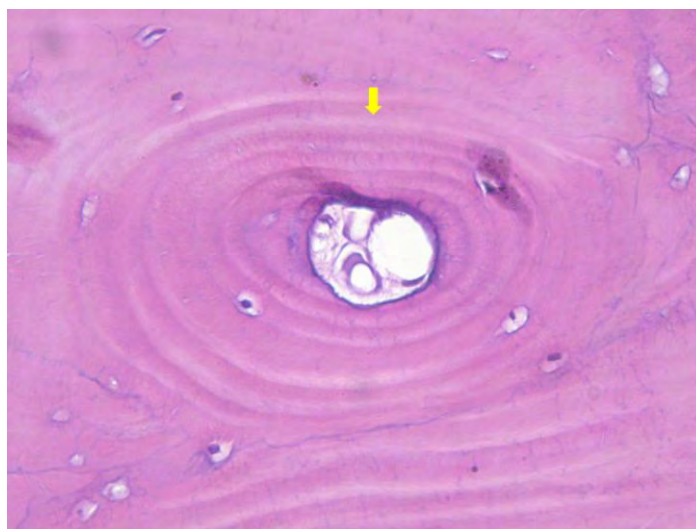


Figura 23 – Corte histológico (coloração HE, aumento 40x). (→) Sistema de Havers em meio ao tecido ósseo calcificado.

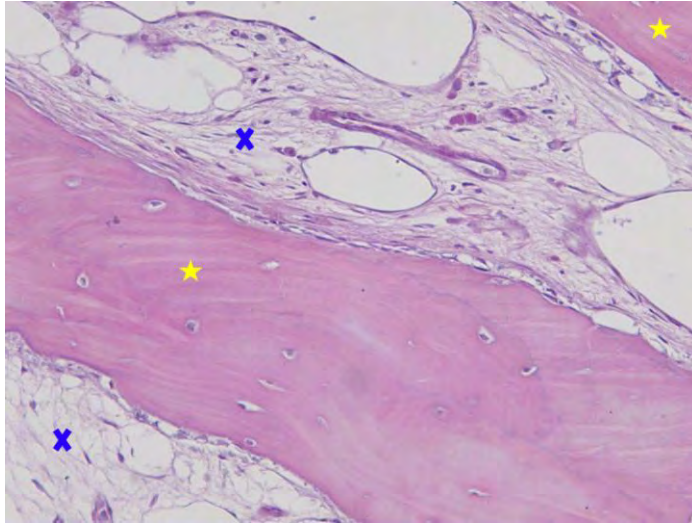


Figura 24 – Corte histológico (coloração HE, aumento 20x). (x) Espaços medulares compondo boa parte do corte histológico em meio a trabéculas ósseas (*). Destaque para a quantidade de osteócitos na imagem.

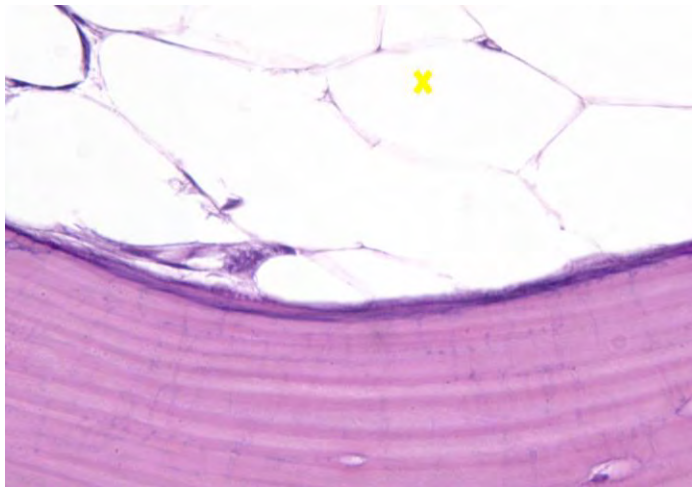


Figura 25 – Corte histológico (coloração HE, aumento 40x). Destaque para regiões pontuais com a predominância de (x) tecido conjuntivo adiposo no espaço medular.

7.2 ANÁLISE HISTOMÉTRICA

A partir das imagens histológicas com área selecionada (Figura 14) para análise histométrica, obteve-se os dados de OT e EM. Ao avaliar a média e desvio padrão dos dados histométricos, verificou-se uma maior porcentagem de osso trabecular (Tabela 2) que deve-se ao processo de remodelação óssea sobre a superfície do enxerto ósseo autógeno inserido na região do seio maxilar.

Tabela 2 – Média e desvio padrão da porcentagem de osso trabecular (OT) e espaço medular (EM)

Histometria	Média	Desvio Padrão
OT	62.75	±17.16
EM	37.25	±17.16

7.3 DIMENSÃO FRACTAL

O gráfico 1 do tipo Box plot abaixo resume a distribuição dos dados dos períodos em quartis. No período 1 a média e o desvio padrão foi de $1,691 \pm 0.080$, no período 2 a média e os desvio padrão foi de $1,727 \pm 0.054$, e no período 3 a média e o desvio padrão foram de $1,750 \pm 0.051$ (Tabela 3). Houve diferença estatisticamente significativa entre o período 1 e o período 3 ($p < 0.05$). Todos os testes utilizados nesse estudo foram aplicados com nível de significância de 95%.

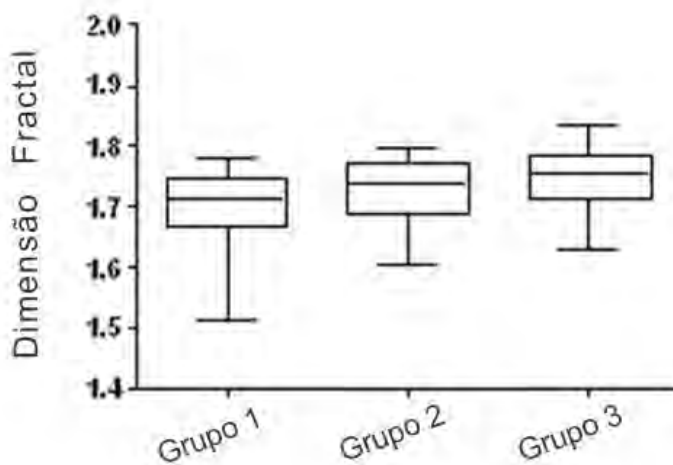


Gráfico 1 – Representa a média e desvio padrão da dimensão fractal nos períodos 1, 2 e 3.

Tabela 3 – Média e desvio padrão da dimensão fractal nos três grupos

Período	Média	Desvio Padrão
1 ^a	1,691	0,080
2	1,727	0,054
3 ^a	1,750	0,051

(a) diferença estatisticamente significante entre os grupos $p < 0,05$.

7.4 CORRELAÇÃO ENTRE HISTOMETRIA E DIMENSÃO FRACTAL

Na análise, comparando a porcentagem da área do osso cortical com a análise fractal mostrou um coeficiente de correlação(r) de 0.05 com $p=0.84$ (Gráfico 2). A correlação da área de osso medular com a análise fractal apresentou $r=0.05$ com $p=0.84$ (Gráfico 3). Dessa forma, não houve forte correlação dos dados histométricos com a análise fractal.

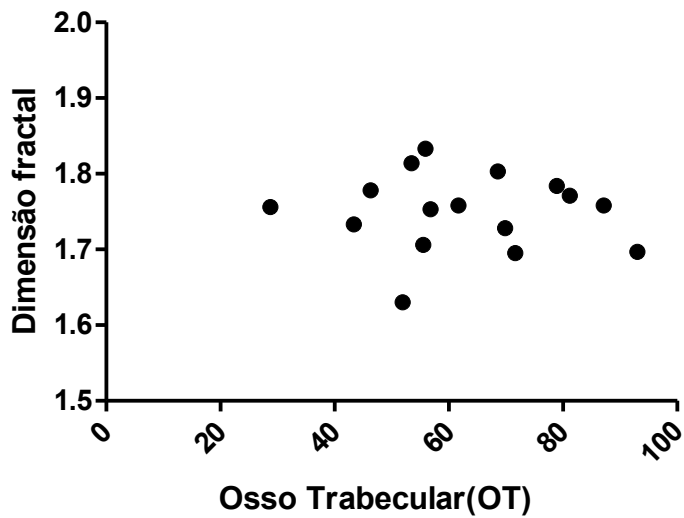


Gráfico 2 - Correlação entre o Osso Trabecular em porcentagem e Dimensão Fractal do período 3.

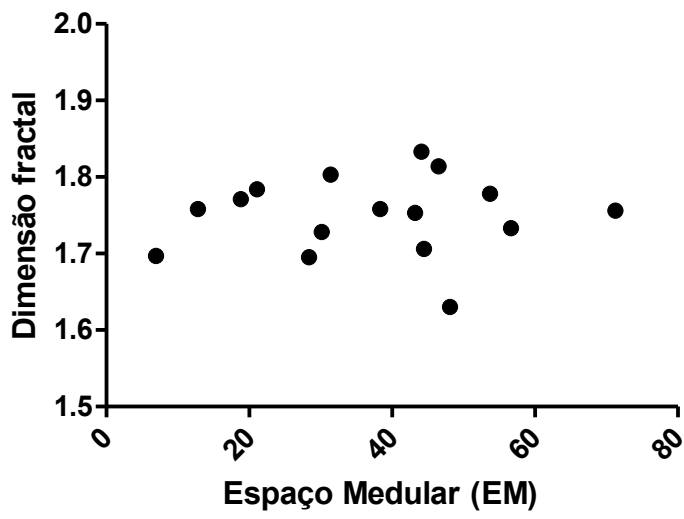


Gráfico 3 - Correlação entre Espaço Medular em porcentagem e Dimensão Fractal do período 3.

6 DISCUSSÃO

Existem muitas técnicas reconstrutivas do rebordo ósseo alveolar, com altos índices de sucesso. O importante para o clínico é perceber qual técnica está indicada ao tipo de defeito ósseo do paciente. A técnica enxerto ósseo por elevação de seio maxilar está muito bem fundamentada desde sua preconização, em 1980⁷. Alguns artigos científicos estabelecendo critérios de sucesso, limitações, biomateriais e complicações já foram relatados^{2, 3, 5, 10, 20}.

Deve-se ressaltar que os indivíduos da pesquisa se submeteram a cirurgia de elevação de seio maxilar porque tinham a intenção de receber implantes osseointegráveis, posteriormente. Todos os pacientes receberam implantes e já foram reabilitados proteticamente com sucesso. Durante o processo de remodelação óssea não houve intercorrências de sinusites, deiscência de suturas ou qualquer outro tipo de dificuldade cicatricial. Quanto à cirurgia de elevação de seio maxilar com osso autógeno, o sucesso foi de 100%. Pode-se considerar um excelente resultado, comparável aos índices de sucesso de alguns relatos^{3, 4, 7, 20}.

Apesar da possibilidade de utilização de diversos biomateriais, até o presente momento, o melhor biomaterial ainda é o osso autógeno, pois possui propriedades de osteocondução, osteoindução e osteogênese.^{3, 4, 7, 10}. Portanto, o osso autógeno, por ter melhor potencial de remodelação, foi eleito como biomaterial, para o presente estudo, para identificar o seu padrão de incorporação à área receptora, por meio da dimensão fractal.

Além disso, foi proposto a radiografia panorâmica digital para obtenção das imagens analisadas porque segundo a literatura, ainda é o exame radiográfico mais solicitado por implantodontistas na avaliação, planejamento, tratamento e acompanhamento pós-operatório de pacientes²⁷. As imagens panorâmicas já foram utilizadas para estudo da dimensão fractal em outros trabalhos^{32 6, 14}, porém não em regiões de enxerto ósseo.

As radiografias panorâmicas digitais foram padronizadas, obedecendo a mesma quilovoltagem e miliamperagem, nos três períodos radiográficos, de acordo com o porte físico de cada indivíduo. O processamento das imagens realizado no sistema Digital *Denoptix*, com resolução espacial de todas as radiografias em 300 dpi. As mesmas foram arquivadas no formato TIFF. Apesar de alguns autores descreverem que a DF é uma análise que não necessita de exatidão na obtenção das imagens²⁹, toda sequência de passos foi cuidadosamente repetida em cada radiografia processada, tanto no posicionamento como no processamento das imagens, para evitar possível viés, como recomendado^{15, 29}.

A dimensão fractal tem capacidade de avaliar a complexidade de imagens. Ao avaliar a DF de estruturas ósseas, podemos sugerir que o osso possui um padrão trabecular mais ou menos complexo que outro. Com os resultados desse estudo, pode-se entender que no grupo 1 (média e o desvio padrão foi de $1,691 \pm 0,080$) o valor da dimensão fractal foi menor porque as regiões sob análise eram compostas pela sobreposição da cortical óssea vestibular da maxila com o espaço vazio do seio maxilar, além dos ossos e tecidos moles que se encontravam posteriormente em relação a posição do feixe de raios X. Assim, como o seio maxilar estava vazio e o osso vestibular da maxila é formado por uma cortical fina, a imagem era de menor complexidade. Ao interpor osso autógeno particulado no arcabouço formado pelo acesso cirúrgico (grupo 2, $1,727 \pm 0,054$), os valores da DF aumentaram. Isso ocorre porque, o biomaterial mesmo que em partículas, possui em seu formato porções de osso denso com espaços medulares. Além disso, entre as partículas do enxerto, há uma quantidade considerável de espaços vazios. Já na situação do grupo 3 ($1,750 \pm 0,051$), houve um acréscimo em relação ao grupo 2, porém essa diferença não foi significativa estatisticamente. A explicação para esse resultado provavelmente se deve ao período insuficiente para a completa remodelação óssea do osso enxertado. Portanto, no grupo 3, a estrutura óssea foi semelhante ao grupo 2, com o acréscimo de tecido mineralizado em decorrência da aposição de osso neoformado. Possivelmente,

em uma análise fractal de radiografias com acompanhamento mais longo, após a cirurgia de elevação de seio maxilar, obteríamos resultados com diferença estatística significativa em relação ao grupo 2.

Não foi possível encontrar estudos na literatura sobre a avaliação da dimensão fractal em situações de enxerto ósseo, seja em seio maxilar ou *onlay* (para espessura). Todavia, em regiões de lesões osteolíticas periapicais tratadas endodonticamente, após o processo de neoformação óssea foi constatado acréscimo nos valores da DF^{13} , como ocorreu em nosso estudo.

As regiões peri-implantares de implantes já osseointegrados podem sofrer aumento da DF em decorrência dos estímulos da mastigação³⁸. No presente trabalho, a dinâmica da remodelação óssea ocorreu na região enxertada alterando a DF como ocorreu no trabalho de Wilding et al. (1995)³⁸ em implantes frente aos estímulos provocados. Todavia, o modelo experimental dos trabalhos é diferente, um utilizou região peri-implantar e o outro, utilizou acréscimo de enxerto ósseo autógeno ao local submetido a análise fractal.

Na análise histológica pode-se verificar a presença de remodelação óssea bastante ativa com linhas incrementais e regiões de reabsorção óssea mudando a direção dos feixes de colágeno a partir tanto das partículas de osso autógeno introduzido como do osso pré-existente no local. Situação que corresponde aos resultados da dimensão fractal do grupo 3, com os valores mais altos, provavelmente em virtude do osso remodelado e seu padrão bastante trabecular, característico de uma região posterior de maxila.

A análise histométrica desse trabalho foi realizada diferenciando apenas as trabéculas ósseas dos espaços medulares, porque imagem radiográfica oferece dados por diferença de radiopacidade, entre os osso trabecular e espaço medular. Assim, a sensibilidade da análise fractal poderia corresponder à histometria realizada. As trabéculas ósseas representaram 62.75%, com desvio padrão de ± 17.16 da amostra. Já o espaço medular obtiveram os outros 37.25% com desvio padrão de ± 17.16 . Esses resultados mostram que houve uma quantidade adequada de tecido ósseo neoformado com espaço medular

equilibrado, muito bem relatado na análise descritiva e é o que se espera de um osso de boa qualidade.

Entretanto, ao tentar correlacionar a histometria com DF do grupo 3 (mesmo momento da última radiografia e da biópsia), não obteve-se uma forte correlação entre os dados. Todavia, a fraca correlação provavelmente pode ter ocorrido por não haver correspondência entre o tamanho e posicionamento da área selecionada entre a biópsia e a dimensão fractal. Reavaliando a metodologia empregada, talvez um exame radiográfico da biópsia obtida, resultaria em uma dimensão fractal que pudesse ser correlacionada à análise histométrica da mesma amostra. No entanto, até o presente momento, não há trabalhos que correlacionem DF e histometria óssea.

Uma sugestão para futuros estudos seria a avaliação de reconstrução volumétrica, de imagens tomográficas de feixe cônico, de enxertos realizados para elevação do seio maxilar, pois, além de proporcionar imagens em terceira dimensão, com excelente resolução, poderia facilitar a comparação entre as análises histológicas e a imagem tomográfica.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste trabalho, podemos concluir que:

- a) Houve um excelente padrão de remodelação óssea seis meses após a cirurgia de elevação de seio maxilar;
- b) A análise da dimensão fractal se mostrou compatível com os achados histológicos descritivos, pois ambos indicaram um padrão de remodelação óssea trabecular no período de 180 dias;
- c) Apesar de não haver diferença estatística significativa entre os grupos 2 e 3, houve uma tendência a encontrar estrutura de maior complexidade no grupo 3;
- d) Considerando o modelo experimental utilizado, não houve correlação entre a dimensão fractal e a histometria.

8 REFERÊNCIAS

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981;10:387-416.
2. Artzi Z, Weinreb M, Carmeli G, Lev-Dor R, Dard M, Nemcovsky CE. Histomorphometric assessment of bone formation in sinus augmentation utilizing a combination of autogenous and hydroxyapatite/biphasic tricalcium phosphate graft materials: at 6 and 9 months in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19:686-92.
3. Block MS, Kent JN, Kallukaran FU, Thunthy K, Weinberg R. Bone maintenance 5 to 10 years after sinus grafting. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:706-14; discussion 14-5.
4. Boeck-Neto RJ, Gabrielli M, Lia R, Marcantonio E, Shibli JA, Marcantonio E, Jr. Histomorphometrical analysis of bone formed after maxillary sinus floor augmentation by grafting with a combination of autogenous bone and demineralized freeze-dried bone allograft or hydroxyapatite. *J Periodontol.* 2002;73:266-70.
5. Boeck-Neto RJ, Gabrielli MF, Shibli JA, Marcantonio E, Lia RC, Marcantonio E, Jr. Histomorphometric evaluation of human sinus floor augmentation healing responses to placement of calcium phosphate or Ricinus communis polymer associated with autogenous bone. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2005;7:181-8.
6. Bollen AM, Taguchi A, Hujoel PP, Hollender LG. Fractal dimension on dental radiographs. *Dentomaxillofac Radiol.* 2001;30:270-5.
7. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980;38:613-6.

8. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1977;16:1-132.
9. Bravenboer N, Holzmann P, de Boer H, Blok GJ, Lips P. Histomorphometric analysis of bone mass and bone metabolism in growth hormone deficient adult men. *Bone.* 1996;18:551-7.
10. Buser D. Guided bone regeneration in implant dentistry. Chicago: Quintessence Publ.; 1994.
11. Caubet J, Petzold C, Saez-Torres C, Morey M, Iriarte JI, Sanchez J, et al. Sinus graft with safescraper: 5-year results. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:482-90.
12. Cawood JI, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17:232-6.
13. Chen SK, Oviir T, Lin CH, Leu LJ, Cho BH, Hollender L. Digital imaging analysis with mathematical morphology and fractal dimension for evaluation of periapical lesions following endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;100:467-72.
14. Demirbas AK, Ergun S, Guneri P, Aktener BO, Boyacioglu H. Mandibular bone changes in sickle cell anemia: fractal analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106:e41-8.
15. Fidler A, Likar B, Skaleric U. Lossy JPEG compression: easy to compress, hard to compare. *Dentomaxillofac Radiol.* 2006;35:67-73.
16. Gartner L. Color textbook of histology. Philadelphia: Saunders, 2007.
17. Geraets WG, van der Stelt PF. Fractal properties of bone. *Dentomaxillofac Radiol.* 2000;29:144-53.
18. Geurs NC, Wang IC, Shulman LB, Jeffcoat MK. Retrospective radiographic analysis of sinus graft and implant placement procedures from the Academy of Osseointegration Consensus Conference on Sinus Grafts. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001;21:517-23.

19. Heo MS, Park KS, Lee SS, Choi SC, Koak JY, Heo SJ, et al. Fractal analysis of mandibular bony healing after orthognathic surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94:763-7.
20. Jensen OT, Shulman LB, Block MS, Iacono VJ. Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13 Suppl:11-45.
21. Junqueira L. *Basic histology : text & atlas.* New York: McGraw-Hill; 2005.
22. Lee DH, Ku Y, Rhyu IC, Hong JU, Lee CW, Heo MS, et al. A clinical study of alveolar bone quality using the fractal dimension and the implant stability quotient. *J Periodontal Implant Sci.* 2010;40:19-24.
23. Lekholm U. Surgical considerations and possible shortcomings of host sites. *J Prosthet Dent.* 1998;79:43-8.
24. Marx R. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. *Implant Dentistry.* 1998;7:267-76.
25. Misch CE. Divisions of available bone in implant dentistry. *Int J Oral Implantol.* 1990;7:9-17.
26. Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption--a hypothesis. *Calcif Tissue Int.* 1981;33:349-51.
27. Sakakura CE, Morais JA, Loffredo LC, Scaf G. A survey of radiographic prescription in dental implant assessment. *Dentomaxillofac Radiol.* 2003;32:397-400.
28. Sanchez I, Uzcategui G. Fractals in dentistry. *J Dent.* 2011;39:273-92.
29. Shrout MK, Potter BJ, Hildebolt CF. The effect of image variations on fractal dimension calculations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;84:96-100.
30. 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.
31. TenCate AR. *Oral histology: development, structure and function.* 5th ed. St. Louis: Mosby; 1998.
32. Tosoni GM, Lurie AG, Cowan AE, Burleson JA. Pixel intensity and fractal analyses: detecting osteoporosis in perimenopausal and postmenopausal

women by using digital panoramic images. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102:235-41.

33. Traini T, Novaes AB, Piattelli A, Papalexiou V, Muglia VA. The relationship between interimplant distances and vascularization of the interimplant bone. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:822-9.

34. Trindade-Suedam I, Dearo de Moraes JA, Faeda R, Leite FR, Tosoni G, Benatti Neto C, et al. Bioglass associated with leukocyte-poor platelet-rich plasma in the rabbit maxillary sinus: histomorphometric, densitometric and fractal analysis. *J Oral Implantol.* 2010; 36:333-343.

35. Updike SX, Nowzari H. Fractal analysis of dental radiographs to detect periodontitis-induced trabecular changes. *J Periodontal Res.* 2008;43:658-64.

36. Veltri M, Balleri P, Ferrari M. Damping factor for monitoring the bone interface at dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:738-42.

37. Wenzel A, Grondahl HG. Direct digital radiography in the dental office. *Int Dent J.* 1995;45:27-34.

38. Wilding RJ, Slabbert JC, Kathree H, Owen CP, Crombie K, Delpont P. The use of fractal analysis to reveal remodelling in human alveolar bone following the placement of dental implants. *Arch Oral Biol.* 1995;40:61-72.

39. Wojtowicz A, Chaberek S, Kryst L, Urbanowska E, Ciechowicz K, Ostrowski K. Fourier and fractal analysis of maxillary alveolar ridge repair using platelet rich plasma (PRP) and inorganic bovine bone. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:84-6.

40. Yasar F, Akgunlu F. The differences in panoramic mandibular indices and fractal dimension between patients with and without spinal osteoporosis. *Dentomaxillofac Radiol.* 2006;35:1-9.

41. Yi WJ, Heo MS, Lee SS, Choi SC, Huh KH. Comparison of trabecular bone anisotropies based on fractal dimensions and mean intercept length determined by principal axes of inertia. *Med Biol Eng Comput.* 2007;45:357-64.

42. Yi WJ, Heo MS, Lee SS, Choi SC, Huh KH, Lee SP. Direct measurement of trabecular bone anisotropy using directional fractal dimension and principal

axes of inertia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:110-6.

43. Yu YY, Chen H, Lin CH, Chen CM, Oviir T, Chen SK, et al. Fractal dimension analysis of periapical reactive bone in response to root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107:283-8.

9 ANEXO

Paula, Wagner Nunes de.

Análise histológica, histométrica e fractal de enxerto ósseo autógeno, em elevação de seio maxilar: estudo clínico / Wagner Nunes de Paula. –

Araraquara : [s.n.], 2011.

63 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Gulnara Scaf.

1. Transplante ósseo 2. Seio maxilar 3. Radiografia panorâmica

I. Título.