

RODRIGO DIAS NASCIMENTO

**INFLUÊNCIA DA OSTEOPENIA NA REGENERAÇÃO DO ENXERTO
AUTÓGENO RECOBERTO OU NÃO POR MEMBRANA DE PTFE-e.
ESTUDO HISTOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO EM RATAS.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

RODRIGO DIAS NASCIMENTO

**INFLUÊNCIA DA OSTEOPENIA NA REGENERAÇÃO DO ENXERTO
ÓSSEO AUTÓGENO ASSOCIADO OU NÃO À MEMBRANA DE PTFE-
e. ESTUDO HISTOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO EM RATAS.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Neves Jardim

Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Pugliesi Alves de Lima

São José dos Campos
2006

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

BELLINI, A.B.; SILVA, E.A. **Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico.** São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2002. 82p.

NASCIMENTO, R.D. **Influência da osteopenia na regeneração do enxerto ósseo autógeno associado ou não à membrana de PTFE-e. Estudo histológico e histomorfométrico em ratas.** 2006. 133f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2006.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	06
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
RESUMO.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Osteoporose.....	18
2.2 Regeneração óssea guiada (ROG).....	27
2.3 Enxerto ósseo autógeno.....	35
3 PROPOSIÇÃO.....	39
4 MATERIAL E MÉTODO.....	40
4.1 Animais e grupos experimentais.....	40
4.2 Procedimentos cirúrgicos.....	41
4.3 Eutanásia.....	48
4.4 Análise histológica.....	49
4.6 Análise histomorfométrica.....	51
4.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	51
5 RESULTADO.....	53
5.1 Análises clínicas.....	53
5.2 Análise histológica descritiva.....	56
5.3 Análise histomorfométrica.....	77
6 DISCUSSÃO.....	86
7 CONCLUSÃO.....	97
8 REFERÊNCIAS.....	98
Apêndice A.....	108
Apêndice B.....	110
Apêndice C.....	112

ABSTRACT..... 113

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 4.1 –	Ovariectomia (OVZ) e Ovariectomia Simulada (SHAM).....	43
FIGURA 4.2 –	Exposição e preparo do leito receptor: a) tricotomia e desinfecção; b) incisão linear; c) e d) divulsão muscular; e) exposição do ângulo mandibular; f) perfuração para fixação do enxerto; g) e h) passagem do fio de sutura para a fixação do enxerto.....	46
FIGURA 4.3 –	Exposição e preparo do leito doador: a) incisão e exposição da calvária; b) osteotomia circular realizada com a broca trefina; c) enxerto removido; d) perfuração central para fixação ao leito receptor.....	47
FIGURA 4.4 –	a) e b) fixação do; c) e d) fixação da membrana de PTFE-e sobre o enxerto.....	48
FIGURA 4.5 –	Microondas utilizado para descalcificação das peças.	50
FIGURA 5.1 –	Aspecto dos ovários (❖) e útero (▶) de uma rata do grupo SHAM.....	55
FIGURA 5.2 –	Aspecto do útero atrofiado (▶) de uma das ratas do grupo OVZ. Notar a ausência dos ovários (❖) evidenciada pelas ligaduras.....	55
FIGURA 5.3 –	a, b, c: grupo SHAM-E0; d: grupo SHAM-ME0; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L).	58

Aumento original 25x. b) aumento maior da região da interface enxerto (E) – leito receptor (L). Aumento original 100x. c) enxerto (E) com lacunas preenchidas por osteócitos (*). Aumento original 200x. d) enxerto (E) justaposto ao leito (L) e recoberto pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x.....

FIGURA 5.4 –

a, b, c, d, e: grupo OVZ-E0 e OVZ-ME0; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L). Aumento original 25x. b) aumento maior do enxerto (E), notar traves de tecido conjuntivo (†). Aumento original 100x. c) enxerto (E) com e amplos espaços medulares (*). Aumento original 100x. d) traves de tecido conjuntivo (†) no interior do enxerto (E). Aumento original de 200x. e) amplos espaços medulares no enxerto (E). Aumento original 200x.....

59

FIGURA 5.5 –

a, b, c: grupo SHAM-E7; d, e: SHAM-ME7; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto. Aumento original 25x. b) aumento maior da região da interface enxerto (E) – leito receptor (L) com tecido conjuntivo (TC) interposto. Presença de osso imaturo na superfície medial mandibular Aumento original 100x. c) borda do enxerto (E) circundada por tecido conjuntivo (TC). Aumento original de 100x. d) enxerto (E) justaposto ao leito (L) e recoberto pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x. e) relacionamento enxerto (E) – leito (L) – membrana (ME) e tecido conjuntivo

63

- conectado (TC). Aumento original 100x.....
- FIGURA 5.6 – a: grupo SHAM-E21; b, c, d: SHAM-ME21; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto e neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) recoberto pela membrana de PTFE-e (ME) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶). Aumento original 25x .c) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares (+). Aumento original 100x. e) tecido ósseo neoformado (NO) na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original 100x..... 67
- FIGURA 5.7 – a: grupo OVZ-E21; b, c, d: OVZ-ME21; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto e pouca neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Notar ainda amplos espaços medulares (▼) no enxerto (E) Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶). Aumento original 25x .c) e d) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x..... 69
- FIGURA 5.8 – a, b, c: grupo SHAM-E45; d: SHAM-ME45; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) 72

neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 200x .c) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x. d) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶), no espaço subjacente à membrana. Aumento original 25x.....

FIGURA 5.9 –

a: grupo OVZ-E45; b, c, d: OVZ-ME45; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com alguma quantidade de tecido conjuntivo interposto (*) e neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto em algumas áreas. Notar ainda amplos espaços medulares (▼) no enxerto (E) Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶), no espaço subjacente à membrana. Aumento original 25x. c) enxerto (E) recoberto por tecido osteóide sob a membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 100x. d) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x.....

73

FIGURA 5.10 –

a: grupo SHAM-E60; b: SHAM-ME60; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com união

74

entre o leito e o enxerto sem limites nítidos (+). Aumento original 25x. b) a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com união entre o leito e o enxerto sem limites nítidos (+) e recobrimento pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x.....

FIGURA 5.11 – Ratas SHAM. Gráfico de pontos (<i>dot plot</i>), que indicam a dispersão ao redor da média, para valores de reparação óssea (mm ²) obtidos em 4 ratas segundo a presença (P) ou ausência de membrana PTFE-e (A) e os períodos de sacrifícios: 0, 7, 21, 45 e 60 dias.....	77
FIGURA 5.12 – Ratas OVZ. Gráfico de pontos (<i>dot plot</i>), que indicam a dispersão ao redor da média, para valores de reparação óssea (mm ²) obtidos em 4 ratas segundo a presença (P) ou ausência de membrana PTFE-e (A) e os períodos de sacrifícios: 0, 7, 21, 45 e 60 dias.....	78
FIGURA 5.13 – Curva normal dos valores resíduos do modelo ANOVA para verificar a distribuição dos resíduos	81
FIGURA 5.14 – Diagrama de dispersão dos valores resíduos do modelo ANOVA em relação aos valores ajustados pelo modelo para verificar a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade).....	81
FIGURA 5.15 – Curva normal dos valores resíduos do modelo ANOVA para verificar a distribuição dos resíduos após transformação ln.....	82
FIGURA 5.16 – Diagrama de dispersão dos valores resíduos do modelo ANOVA em relação aos valores ajustados pelo modelo para verificar a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade) após a	82

transformação ln.....	
FIGURA 5.17 – Gráfico de médias referente às condições membrana PTFE-e e período (dias) para os valores de área (mm ²) do enxerto.....	84
FIGURA 5.18 – Gráfico de médias referente às condições experimentais para os valores de área do enxerto (mm ²).....	84

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Médias e desvio padrão dos pesos finais e iniciais (g)	54
TABELA 2 – Grupo SHAM: Média (\pm desvio padrão) dos dados de reparação óssea do enxerto (valores em mm^2) obtidos sob duas diferentes condições de membrana PTFE-e e cinco diferentes períodos de avaliação.....	79
TABELA 3 – Grupo OVZ: Média (\pm desvio padrão) dos dados de reparação óssea do enxerto (valores em mm^2) obtidos sob duas diferentes condições de membrana PTFE-e sob cinco diferentes períodos de avaliação.....	79
TABELA 4 – ANOVA para os dados obtidos (após a transformação ln).....	83
TABELA 5 – Formação de grupos de mesmo desempenho quanto à área por meio do Teste de Tukey (5%).....	85
TABELA 6 – Peso dos animais (g) segundo a condição, nos períodos inicial (cirurgia de ovariectomia ou ovariectomia simulada) e final (realização do enxerto).....	108
TABELA 7 – Área total de osso regenerado em mm^2	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TNF α = fator de necrose tumoral alfa

WHO = World Health Organization

RTG = regeneração tecidual guiada

ROG = regeneração óssea guiada

DFDBA = osso desmineralizado desidratado por congelamento

MFDBA = osso mineralizado desidratado por congelamento

GTAM = modelo comercial de membrana de politetrafluoretileno expandido

GTAM-TR = modelo comercial de membrana de politetrafluoretileno expandido reforçada por titânio

ITI = marca comercial de implante

ANOVA = análise de variância

PTFE-e = politetrafluoretileno expandido

OVZ = ovariectomizado

SHAM = ovariectomia simulada

E = enxerto

ME = membrana de politetrafluoretileno expandido

HE = hematoxilina & eosina

n = número de espécimes do estudo

NASCIMENTO, R.D. **Influência da osteopenia na regeneração do enxerto ósseo autógeno associado ou não à membrana de PTFE-e. Estudo histológico e histomorfométrico em ratas.** 2006. 133f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2006.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar quantitativamente e qualitativamente o processo de reparação óssea de enxerto ósseo autógeno em bloco, associado ou não a membrana de PTFE-e, em ratas fêmeas, portadoras de osteopenia induzida. Oitenta animais pesando aproximadamente 300g foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: Grupo 1 (n=20): ovariectomia simulada (SHAM) e realização de enxerto ósseo autógeno em bloco tendo como área doadora o osso parietal e área o ângulo da mandíbula; Grupo 2 (n=20): ovariectomia simulada e realização de enxerto ósseo autógeno em bloco tendo como área doadora o osso parietal e área receptora o ângulo da mandíbula com recobrimento por membrana de PTFE-e; Grupo 3 (n=20): ovariectomia (OVZ) e realização de enxerto ósseo autógeno em bloco tendo como área doadora o osso parietal e área receptora o ângulo da mandíbula; Grupo 2 (n=25): ovariectomia e realização de enxerto ósseo autógeno em bloco tendo como área doadora o osso parietal e área receptora o ângulo da mandíbula com recobrimento por membrana de PTFE-e. Os enxertos foram realizados 30 dias após as cirurgias OVZ e SHAM. Os animais de cada grupo foram sacrificados em cinco períodos diferentes como segue: 0 hora, 7, 21, 45 e 60 dias. Para cada período obteve-se 4 animais por grupo. As peças foram descalcificadas, incluídas em parafina, os cortes corados com Hematoxilina e Eosina e submetidas à análise histológica e histomorfométrica com o auxílio de microscopia de luz. Os resultados obtidos foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey ambos ao nível de 5%.

PALAVRAS CHAVE: osteopenia, osteoporose, reparo ósseo, enxerto autógeno, membranas.

1 INTRODUÇÃO

A descoberta do princípio da osseointegração por Brånemark na década de 60 do século passado abriu as portas para uma história de 40 anos de pesquisas na área que resultaram em inúmeras inovações científico-tecnológicas tornando os implantes osseointegrados um marco na reabilitação oral.

Os implantes osseointegrados atualmente são alternativas consagradas funcionalmente e esteticamente na reabilitação de espaços protéticos unitários ou múltiplos. No entanto, o processo de osseointegração é complexo e dependente de diversos fatores que podem estar relacionados ao implante (tipo de material, desenho e superfície) ou ao leito receptor no que diz respeito à qualidade e densidade ósseas e sua capacidade de remodelação. Portanto, deficiências ósseas quantitativas e qualitativas são tidas como fatores que possam interferir no processo de osseointegração e conseqüentemente levar ao insucesso do tratamento reabilitador com implantes.

Volume ósseo deficiente frequentemente causa dificuldades na instalação dos implantes e conseqüentemente no resultado final das próteses implanto-suportadas. Atualmente, o anseio dos pacientes por prótese mais estéticas obriga o profissional a otimizar a instalação dos implantes com um posicionamento adequado para que seja possível a formação de ponto de contato, perfil de emergência, formação de papila e concavidade gengival adequados. Este posicionamento deve ser observado tridimensionalmente, nos sentidos mesio-distal, vestibulo-lingual e ocluso-cervical.

Nos casos em que o volume ósseo existente não possibilita a colocação das fixações em local adequado deve-se lançar

mão de técnicas reconstrutivas buscando esse volume adequado. Diversas técnicas já foram descritas, utilizando materiais de origem autógena, homogênea, heterogênea ou sintética. No entanto, o osso autógeno tem sido considerado o “Gold Standard” por mostrar melhores resultados em relação à quantidade e qualidade óssea da área reconstruída no momento da instalação dos implantes, especialmente quando utilizados no aumento da espessura local (enxertos onlay).

Com o advento da regeneração tecidual guiada (RTG) descrita pela primeira vez em 1959 por Hurley, demonstrada na regeneração periodontal e extrapolada para a regeneração óssea guiada (DAHLIN et al.¹²,1990) os enxertos ósseos, autógenos ou alógenos, passaram a ser utilizados em conjunto com a ROG. Esta associação busca diminuir a parcial ou completa absorção dos enxertos ósseos onlay observada quando estes são utilizados isoladamente(CURTIS & WILLIAM⁹, 1983; DADO & IZQUIERDO¹⁰, 1989; LA TRENTA et al.³⁵, 1989; HARDESTY & MARSH²⁵, 1990; JENSEN & SINDET-PETERSEN²⁸, 1991; DONOVAN et al.¹⁹, 1993; ALONSO et al.², 1995; DE MARCO et al.¹⁵, 2005; JARDINI et al.²⁷, 2005). e também melhorar a incorporação do enxerto ao leito receptor (TEN BRUGGENKATE et al.⁵⁴, 1992; JARDINI et al.²⁷, 2005).

Doenças sistêmicas como diabetes e osteoporose sugerem uma potencial contra-indicação para os implantes. A osteoporose é definida como uma doença esquelética sistêmica que se caracteriza por baixa massa óssea e deteriorização da microarquitetura do tecido ósseo, com conseqüente aumento da fragilidade óssea e susceptibilidade às fraturas (WHO⁵⁸, 2003) e manifesta-se frequentemente na população feminina pós-menopausa como conseqüência da diminuição de estrogênio. Na osteoporose a remodelação óssea é alterada em função da diminuição da formação óssea enquanto que a reabsorção mantém-se relativamente constante. (DAO et al.¹⁴,1993.).

O diagnóstico da osteoporose pode ser realizado segundo critérios histológicos, medidas de densidade óssea e presença de fraturas. No entanto, apesar das fraturas atraumáticas constituírem um evento discreto, basear o diagnóstico de osteoporose nesta condição torna-o tardio e coloca a prevenção em segundo plano. Em função da perda de massa óssea isoladamente não causar nenhum sintoma evidenciado pela literatura, a osteoporose é também conhecida como “a epidemia silenciosa” (SZEJNFELD et al.⁵³, 2000).

Na tentativa de simular a deficiência de estrógeno gerada no período pós-menopausa em humanos muitos estudos têm utilizado modelo de animais ovariectomizados. Através desse modelo, pesquisadores demonstraram que existe uma influência negativa da deficiência de estrógeno no tecido ósseo ao redor de implantes inseridos nesses animais. O efeito deletério parece resultar em menor área de contato, quantidade e qualidade óssea ao redor de implantes bem como menor resistência ao torque (DAO et al.¹⁴, 1993).

No entanto, a influência da osteoporose pós-menopausa no processo de reparo dos enxertos ósseos autógenos em bloco ainda não é completamente conhecida e explicada.

Levando-se em consideração o aumento da incidência dessa patologia nas mulheres no período da menopausa e o aumento da demanda pelas reabilitações com implantes osseointegrados e conseqüentemente dos procedimentos reconstrutivos seria interessante avaliar o comportamento biológico no processo de reparo dos enxertos autógenos onlay nessas situações.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão de literatura será dividida em três tópicos relacionados ao tema proposto para um melhor entendimento: osteoporose, regeneração óssea guiada e enxerto ósseo autógeno.

2.1 Osteoporose

2.1.1 Definição, prevalência e etiologia

A osteoporose é uma doença caracterizada por baixa massa óssea e deteriorização da microarquitetura do esqueleto, levando a acentuada fragilidade óssea e ao conseqüente aumento do risco de fraturas (SZEJNFELD⁵³, 2000). É a doença osteometabólica mais comum e causa importante de morbidade no idoso mostrando relação direta de sua prevalência com a idade. Estima-se que 75 milhões de pessoas na Europa, Japão e EUA são afetadas, o que levaria a um número de 2,3 milhões de fraturas anuais decorrentes de osteoporose apenas na Europa e EUA (WHO⁵⁸, 2003).

A osteoporose acomete as mulheres três vezes mais do que os homens, devido em parte pela menor massa óssea nas mulheres e às alterações hormonais que ocorrem na menopausa (WHO⁵⁸, 2003).

O aumento da expectativa de vida da população em grande parte do mundo faz com que nos dias atuais as mulheres vivam mais de um terço de suas vidas após a menopausa. A exata etiologia

desta doença não é bem conhecida, mas fatores hormonais, genéticos e a dieta contribuem para a perda da densidade mineral óssea. O risco de osteoporose pode ainda ser aumentado pela influência de outros fatores como consumo exagerado de cigarros e álcool, ausência de estresse físico dos ossos, baixa ingestão de vitamina D e cálcio e diminuição do nível de hormônio de crescimento (WHO⁵⁸, 2003).

Tem sido aceita a existência de dois tipos de osteoporose, a tipo I, cujo aparecimento ocorre após a menopausa e está associada à deficiência estrogênica, com aumento da reabsorção óssea em relação à formação e solubilização do mineral ósseo. Estas variações metabólicas estão associadas a fatores adicionais, provavelmente mediados pelo estrógeno, como as citocinas, as prostaglandinas e o fator de necrose tumoral. No tipo II ou senil, a evolução é mais lenta, com as mesmas características em ambos os sexos e onde o hiperparatireoidismo secundário associa-se a deficiente formação. O recente conhecimento de que a deficiência de estrógeno também possa estar presente nesta eventualidade, dá origem à teoria unitária da gênese das osteoporoses I e II (WHO⁵⁸,2003).

2.1.2 Deficiência estrogênica

O estrógeno possui fundamental importância na preservação da massa óssea na vida adulta e sua redução nas mulheres pós-menopausa também acarreta diminuição de massa óssea pelo desequilíbrio entre a formação e reabsorção óssea, sendo a última beneficiada. Algumas citocinas liberadas na medula óssea aumentam a rotatividade ou turnover ósseo. TNF α , interleucina 1 e interleucina 6, estimulam reabsorção óssea *in vitro* e *in vivo* e devem iniciar a reabsorção

óssea induzida pela deficiência estrogênica (JOHNSTON & SLEMENDA²⁹, 1995).

O processo de remodelação óssea é realizado pelas células ósseas, osteoblastos e osteoclastos, derivadas de progenitores que residem na medula óssea. Os osteoblastos originam-se de células mesenquimais do estroma medular e os osteoclastos de células hematopoiéticas. O desenvolvimento dos osteoclastos é regulado por citocinas, como as interleucinas 6 e 11, liberadas pelos osteoblastos. No entanto, a produção e a responsividade das células da medula óssea a estas citocinas são reguladas por hormônios esteroidais. A excessiva osteoclastogênese e inadequada osteoblastogênese causam o desequilíbrio entre a formação e reabsorção ósseas, com prejuízo para a primeira, levando à diminuição de massa óssea também conhecida como osteopenia (MANOLAGAS et al.⁴⁰, 1995).

Johnston & Slemenda²⁹ (1995) em um estudo utilizando ratos transgênicos nos quais a atividade de TNF α era permanentemente prevenida pela presença de altas concentrações de receptores circulantes solúveis 1 de TNF α , não observaram diminuição da massa óssea ou aumento do turnover ósseo após ovariectomia dos animais do grupo teste quando comparados aos animais do grupo controle, sugerindo uma participação fundamental de TNF α neste caso.

Segundo Kubo et al.³⁴, 1999, apesar das evidências que TNF α , interleucina 1 e 6 estejam envolvidos na remodelação óssea e que mostrem considerável interrelação, apenas o TNF α parece ser necessário para aumentar a remodelação óssea que ocorre após a deficiência estrogênica. Esta evidência é consistente também com o papel da osteoprotegerina, um inibidor da formação osteoclástica. Como a osteoprotegerina é um receptor solúvel da superfamília TNF, ela tem a capacidade de neutralizar a ação de TNF na osteoclastogênese (WHO⁵⁸, 2003).

2.1.3 Demais causas endócrinas de perda óssea

Além da deficiência de hormônios sexuais, outros fatores endócrinos também pode alterar a massa óssea por interferirem na remodelação óssea.

O hiperparatireoidismo primário e o hipertireoidismo aumentam o turnover ósseo e portanto induzem à perda de massa óssea (LINDSAY³⁷, 1993). Por outro lado, excesso de glicocorticóides reduzem a formação óssea. A administração excessiva de doses farmacológicas de corticosteróides podem diminuir a absorção intestinal de cálcio e possivelmente sua reabsorção pelos túbulos renais (JOHNSTON & SLEMENDA²⁹, 1995).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico da osteoporose pode basear-se em critérios histológicos, medidas de densidade óssea e presença de fraturas. Os dois primeiros critérios são baseados apenas em informações que retratam uma diminuição da densidade óssea, ou seja, a osteopenia. A osteopenia indica um tecido ósseo com densidade mineral abaixo dos padrões para o gênero e idade. O termo osteoporose é utilizado quando existe uma combinação de osteopenia com alguma evidência clínica de aumento de fragilidade óssea, como por exemplo fraturas assintomáticas (FROST²⁰, 1992).

A Organização Mundial de Saúde em 1994 propôs uma estratificação da osteoporose. Segunda a classificação proposta, uma mulher pode ser diagnosticada como portadora de osteoporose se apresentar densidade mineral óssea, em relação ao adulto jovem, menor

que 2,5 desvios-padrões, independente da ocorrência de uma fratura. Densidade mineral óssea entre -1 e -2,5 desvios-padrões é classificada como osteopenia, tornando as mulheres deste grupo altamente susceptíveis às fraturas.

A diminuição da densidade mineral óssea aumenta exponencialmente o risco de fraturas. Para cada diminuição de um desvio padrão na densidade mineral óssea, o risco de fratura aumenta três vezes (RADOMINSKI et al.⁴⁹, 2002)

O diagnóstico baseado somente na presença de uma ou mais fraturas atraumáticas torna-se tardio, em uma doença em que a prevenção é a melhor forma de tratamento (SZEJNFELD⁵³, 2000). Entretanto, a definição atual de osteoporose e os critérios de diagnóstico baseados na densidade mineral óssea desvincularam o termo osteoporose da necessidade de ocorrência de fraturas (WHO⁵⁸, 2003).

As fraturas de quadril, antebraço e vértebras são as mais associadas à osteoporose, apesar de outros sítios de fratura estarem aumentando a sua incidência nestes pacientes. No entanto, a fraturas de quadril são as que oferecem maior morbidade e mortalidade ao paciente, além de representarem o tratamento mais oneroso financeiramente. Dos pacientes acometidos por este tipo de fratura e que tinham uma vida independente, apenas a metade consegue ter uma vida independente após a ocorrência da fratura (WHO⁵⁸, 2003).

2.1.5 Aspectos histológicos

Observações histológicas de osso osteoporótico indicam um espaço trabecular significativamente aumentado pela presença de uma delgada e descontínua estrutura óssea e um osso cortical

ligeiramente fino, resultante de uma perda gradativa do conteúdo mineral e orgânico do tecido ósseo.

A redução da massa óssea e deteriorização de sua microarquitetura resultam em fragilidade do tecido ósseo e conseqüente aumento da incidência de fraturas e dor. As principais fraturas relacionadas à idade e provavelmente à osteoporose ocorrem nos corpos vertebrais, fêmur e úmero proximal, antebraço distal e pelve. (MOSEKILDE⁴⁵, 1995).

Para o entendimento da influência da osteoporose na cicatrização de fraturas, Kubo et al.³⁴ (1999) fizeram um estudo em ratos com osteoporose induzida e com dieta baixa em cálcio e em um grupo controle sadio. Os ratos foram monitorados por mais de 12 semanas e pode-se observar que até a sexta semana o processo de cicatrização foi semelhante para ambos os grupos. Após este período observou-se que o novo osso formado no grupo teste, tinha uma baixa densidade mineral, sugerindo que a deficiência de estrógeno e a dieta com pouco cálcio, afetam os estágios mais tardios da cicatrização. Esses achados podem ter implicações na cicatrização óssea adjacentes aos implantes.

2.1.6 Modelos animais em osteoporose

A utilização de modelos animais *in vivo* no estudo da osteoporose vem sendo cada vez mais comum e necessária para o entendimento da patogênese da doença bem como para a descoberta e validação de novos agentes terapêuticos. Diferentes condições osteopênicas foram relatadas por Miller et al.⁴² (1995) em animais. Entre elas os autores destacaram como uma condição hormonal, a deficiência estrogênica resultante da ovariectomia.

Segundo Kalu et al.³² (1989), apesar do esqueleto de cachorros e primatas terem unidades estruturais básicas e padrões de remodelação óssea comparáveis aos humanos, estes não são os animais ideais devido ao alto custo, baixa disponibilidade e dificuldades de armazenamento e manutenção. Desta forma, o rato continua a ser o modelo animal mais comum no estudo da osteopenia provocada pela deficiência de hormônio ovariano. Com relação às similaridades da osteopenia no modelo animal do rato decorrente da deficiência estrogênica e a osteoporose humana pós-menopausa os autores observaram que a perda óssea dos animais ovariectomizados foi maior nas vértebras do que no fêmur assim como no humano, no qual a perda óssea trabecular sobressai-se à cortical na osteoporose pós-menopausa. O aumento observado nos osteoblastos do endóstio, na área medular da diáfise tibial, na concentração de fosfatase alcalina sérica e a diminuição do trabeculado ósseo indicam que a formação e reabsorção ósseas aumentaram com a deficiência hormonal ovariana, com a reabsorção excedendo a formação. Similarmente, ocorre expansão da área medular no osso da mulher pós-menopausa assim como a perda óssea pós-menopausa está associada ao aumento de marcadores bioquímicos da remodelação. Com estas similaridades os autores concluíram que o rato como modelo animal no estudo da osteoporose apresenta um bom custo-benefício e similaridades com o humano que justificam o seu uso no estudo da patogênese da doença e métodos terapêuticos.

Szejnfeld⁵³ (2000) em uma revisão da literatura relata a utilização do rato como modelo animal para a osteoporose desde 1950, quando estudos demonstraram a capacidade do osteoclasto em digerir tecido ósseo. É relatado ainda que apesar da rata não apresentar menopausa natural, ela experimenta perda óssea devido à deficiência estrogênica. Assim como nos humanos, a perda óssea é acelerada após a diminuição da função ovariana e sofre desaceleração em seguida, evoluindo para uma fase estável de platô. Da mesma forma o processo de

remodelação óssea acompanha o ritmo da perda óssea. Com relação aos métodos terapêuticos, os resultados obtidos em animais ovariectomizados quando comparados aos resultados em humanos assemelham-se tanto na terapia de reposição estrogênica como na utilização de drogas anti-reabsortivas como os bifosfonatos e a calcitonina. Por outro lado, o rato como a maioria dos modelos experimentais, não exhibe fraturas associadas a traumas de baixo impacto. Entretanto, esta desvantagem é hoje em dia contornada pela utilização de técnicas modernas na avaliação biomecânica do tecido ósseo. Os autores concluem colocando o rato como modelo animal ideal no estudo da osteoporose pós-menopausa.

2.1.7 Osteoporose e a cavidade bucal.

Manolagas et al.⁴⁰ (1995), determinaram, através de microdensitometria, a relação entre a massa óssea da mandíbula e a massa óssea do osso rádio e das vértebras de um grupo de 85 mulheres pós-menopausa portadoras de osteoporose. Os resultados demonstraram correlação positiva entre a mandíbula e a massa esquelética em relação à espessura da cortical e altura da crista mandibular. No ano seguinte, o mesmo grupo de pesquisadores mediu a massa óssea, densidade e espessura cortical mandibular de 50 mulheres normais com idade entre 20 e 90 anos, comparando-as com medidas tomadas na espinha dorsal e rádio. Os autores encontraram correlação positiva entre a massa óssea mandibular e o total de massa óssea do esqueleto na população estudada.

Miller et al.⁴² (1995) examinaram através de radiografias laterais e frontais das vértebras, 44 pacientes idosos edêntulos portadores de osteoporose classificando-os de acordo com o grau de severidade da doença. Em seguida, a redução da altura da crista alveolar residual foi

obtida através de tomadas radiográficas panorâmicas. Os autores concluíram que a altura da crista óssea residual nesses pacientes foi correlacionada com a severidade da osteoporose. Outros estudos clínicos mais recentes têm sugerido que um maior risco de perda óssea oral em mulheres apresenta correlação com a osteoporose pós-menopausa (MARDAS et al.⁴¹, 2002).

Dao et al.¹⁴ (1993) em uma revisão da literatura sobre a influência da osteoporose na osseointegração relataram algumas características que contra-indicariam a utilização de implantes osseointegráveis em pacientes com osteoporose. Segundo os autores a osteoporose afeta a mandíbula e maxila da mesma maneira que outras partes do esqueleto utilizadas para diagnóstico da doença e o metabolismo ósseo alterado no osso osteoporótico influenciaria o processo de osseointegração. Para isto os autores relatam que diferenças estatisticamente significantes foram encontradas na massa e densidades ósseas entre o osso mandibular de indivíduos sadios e doentes. No entanto, o teste estatístico utilizado para confirmar estes dados não foi relatado no artigo.

Por outro lado, a remodelação óssea é um processo local, que varia segundo as partes do esqueleto e o período num mesmo sítio. Além disso, existe o fato de que o osso mandibular é predominantemente cortical e na população normal a massa óssea mandibular parece não estar relacionada à massa óssea de outras partes do esqueleto que consistem principalmente de osso trabecular (MARDAS et al.⁴¹, 2002). Isto portanto tornaria inapropriado concluir que a maxila e mandíbula de pacientes com diagnóstico de osteoporose realizado em outros sítios sejam considerados também osteoporóticos. Análises histomorfométricas mostraram ainda que a remodelação óssea se dava normalmente em vários pacientes diagnosticados com osteoporose. Esta heterogeneidade pode ser reflexo das fases flutuantes da doença, mas também é possível que o metabolismo ósseo tenha voltado ao normal no momento do

diagnóstico. Os autores concluíram que a osteoporose não pode ser considerada um fator de risco para osseointegração e que pacientes diagnosticados com baixa densidade óssea ou com presença de fraturas traumáticas em um sítio diferente da região maxilofacial não devem ser excluídos das reabilitações com implantes osseointegráveis.

Em 2000, Szejnfeld⁵³ realizaram um estudo em coelhos com osteoporose induzida e grupo controle, para avaliar a osseointegração de 2 tipos de implantes. Após a colocação dos implantes que permaneceram por 8 semanas, os animais foram sacrificados. Pode-se observar que o volume trabecular e a aposição mineral foram significativamente maior no grupo controle do que nos animais com osteoporose, independente do tipo de implante.

2.2 Regeneração óssea guiada (ROG)

A idéia de se intervir de modo a favorecer a regeneração tecidual utilizando-se algum tipo de barreira física, já era utilizada em cirurgia reconstrutiva e em regeneração neural, desde meados de 1959.

A primeira tentativa de reconstrução óssea utilizando este princípio foi realizada por Murray em 1957. Esses autores concluíram que seriam necessárias três condições básicas para o crescimento ósseo: 1- presença de coágulo sanguíneo, 2-osteoblastos preservados e 3- contato com tecido vital. Neste trabalho, o coágulo sanguíneo foi protegido com uma estrutura plástica fenestrada, e observou-se crescimento ósseo no seu interior.

Breine & Brånemark⁵ (1980) estudaram a reparação de defeitos ósseos no fêmur de ratos. Neste estudo foram utilizadas

diferentes barreiras físicas para proteção do coágulo sanguíneo no defeito. Os autores concluíram que, a cobertura protegeu o coágulo da invasão de células não osteogênicas e direcionou o tamanho do coágulo pois preveniu a pressão dos tecidos adjacentes.

Entretanto, os estudos iniciais não conduziram à aplicação clínica das membranas em pacientes. Somente a partir da demonstração do princípio da Regeneração Tecidual Guiada (RTG) objetivando a regeneração periodontal é que houve o avanço desta técnica.

Após a comprovação desta em animais e em humanos (GORDH et al.²²,1998) este princípio também foi testado também para a regeneração de tecido ósseo.

Dahlin et al.¹¹ (1988) estudaram a reparação óssea em defeitos ósseos na mandíbula de ratos. Foram utilizados 30 animais, nos quais se realizaram defeitos bilaterais nas mandíbulas. Em um dos lados, o defeito foi coberto por uma membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e), enquanto no outro lado o recobrimento foi realizado apenas com o retalho mucoperiosteal. Os resultados mostraram que no grupo teste houve preenchimento ósseo do defeito enquanto que no grupo controle o defeito foi preenchido por tecido conjuntivo fibroso, com pouco desenvolvimento de osso neoformado nas margens do defeito.

A validade do princípio da ROG (regeneração óssea guiada) foi avaliada em primatas antes de ser utilizada em humanos. Dahlin et al.¹² (1990), produziram defeitos trans-ósseos bilaterais em regiões desdentadas da mandíbula e maxila, e apicetomias em incisivos laterais. Um dos lados serviu como teste, colocando-se a membrana tanto na face vestibular como na lingual, enquanto o outro lado serviu como grupo controle. Nos defeitos tratados com membrana houve completa regeneração óssea, enquanto os defeitos controle mostraram pouca ou nenhuma regeneração óssea, e sua parte central estava totalmente preenchida por um tecido conjuntivo rico em fibras colágenas.

Baseado neste princípio, e com o objetivo de se ampliar às indicações dos implantes osseointegrados, diversos autores iniciaram pesquisas sobre a reconstrução lateral do rebordo alveolar.

Jovanovic et al.³⁰ (1992), avaliaram o princípio da ROG em 19 implantes de titânio com deiscência óssea. Membranas de PTFE-e foram fixadas pelo parafuso de cobertura do implante, permitindo a manutenção de um espaço para a neoformação óssea. Após quatro a seis meses de reparação, 16 membranas foram removidas, sendo que 3 já haviam sido removidas prematuramente devido à exposição das mesmas. Os autores concluíram que o uso de membranas permitiu a regeneração óssea em áreas de deiscência ao redor de implantes. Porém, a quantidade e a qualidade do tecido ósseo regenerado dependeram do manuseio dos retalhos, da manutenção de um espaço entre o implante e a superfície interna da membrana, e de um período de reparação de, no mínimo, 4 a 5 meses.

O propósito do trabalho de Dahlin et al.¹³ (1991), foi o de analisar o potencial de osteopromoção da técnica, utilizando-se membranas associadas a enxerto ósseo inlay e onlay. Foram utilizados um total de 28 ratos, divididos em seis grupos diferentes. Um grupo recebeu enxerto ósseo inlay da fíbula, implantado em defeitos bicorticais realizados no ângulo da mandíbula, protegido por duas membranas de PTFE-e. O outro lado do animal serviu como controle, isto é, o procedimento foi idêntico, porém a membrana não foi colocada. O mesmo procedimento foi realizado em um outro grupo, com a diferença que o enxerto utilizado foi retirado do osso parietal; o outro lado também serviu como controle. Outro grupo teve como área receptora o osso occipital, e o enxerto utilizado, foi removido da mandíbula, para a criação dos defeitos iniciais. Nesses animais também houve enxerto recoberto ou não por membrana. Após 12 semanas os espécimes foram analisados por microscopia óptica, e pode-se observar que:

- o enxerto intramembranoso inlay teve completa incorporação ao defeito;
- o enxerto endocondral inlay permaneceu com uma fina cápsula fibrosa, e não foi incorporado totalmente;
- os enxertos onlay recobertos por membrana reabsorveram menos que os não recobertos.

Os autores concluíram que seus resultados confirmam a existência de diferenças biológicas entre osso intramembranoso e endocondral; e que a utilização de membranas, induz a neoformação óssea e favorece o uso de enxertos de menor tamanho.

Com a finalidade de alcançar a previsibilidade na obtenção da ROG, Buser et al.⁶ (1996), desenvolveram uma técnica cirúrgica para aumento localizado de rebordo na maxila. Após 4 anos de experiência clínica, os autores recomendaram os seguintes passos:

- uso de incisões em bisel e a utilização de retalho de espessura parcial/total;
- correto desbridamento da área;
- perfuração da cortical óssea, permitindo assim a presença de coágulo sangüíneo sob a membrana;
- uso apropriado de um enxerto ou material de preenchimento para estabilizar o coágulo;
- colocação de uma membrana de PTFE-e para criar espaço, sem se estender aos sulcos dos dentes adjacentes;
- íntima adaptação da membrana à superfície do osso prevenindo, desta forma, a invasão de células do tecido mole;
- fixação e estabilização da membrana com microparafusos;
- manutenção do espaço sob a membrana mediante o uso de parafusos ou de enxerto ósseo autógeno;
- suturas do tipo colchoeiro horizontal simples, para conseguir uma coaptação livre de tensão sobre o retalho;

- período de reparação de 9 meses.

Em casos de exposição da membrana, deve-se removê-la para evitar infecções. Em 1995, os mesmos autores publicaram os detalhes da técnica para o aumento localizado do rebordo mandibular.

Becker et al.⁴ (1996) avaliaram em cães a utilização de membranas (GTAM) utilizadas isoladamente e associadas ao osso autógeno ou osso desmineralizado desidratado por congelamento (DFDBA) em defeitos ao redor de implantes colocados em alvéolos pós-extração. Os resultados indicaram que apenas as membranas GTAM utilizadas isoladamente ou associadas ao osso autógeno produziram os melhores resultados clínicos e histológicos. Por outro lado, a associação ao DFDBA não mostrou os mesmos resultados.

Em 1996, Buser et al.⁶ realizaram um estudo no qual o objetivo era avaliar a previsibilidade e sucesso do tratamento, combinando o uso de enxerto autógeno e membrana de PTFE-e para aumento lateral de rebordo em pacientes parcialmente desdentados. Foram tratados 40 pacientes que tinham áreas potenciais para a colocação de implantes tanto na maxila como na mandíbula. Durante a cirurgia atenção especial foi dada à técnica cirúrgica. Perfurações foram realizadas na cortical objetivando expor os espaços medulares, estabilização dos blocos de enxerto ósseo autógeno cortiço-medular obtidos da região retromolar ou mento, adaptação e estabilização da membrana com mini parafusos e a realização de suturas sem tensão. Após 7 a 13 meses foi realizada a reentrada para remoção da membrana e colocação dos implantes. Trinta e oito pacientes apresentaram um resultado excelente, com bom aumento da espessura do rebordo alveolar. Este estudo demonstrou que a associação de enxerto ósseo autógeno e membrana de PTFE-e é um procedimento cirúrgico previsível, resultando em aumento da espessura mandibular. O enxerto autógeno promove suporte à membrana e induz à formação óssea pelas suas propriedades

osteocondutora, osteoindutora e osteoprogenitora. A membrana, por sua vez, age como uma barreira física às células não osteogênicas e protege o enxerto contra a reabsorção durante a reparação da ferida cirúrgica.

A regeneração óssea guiada também foi utilizada para se conseguir a reconstrução óssea vertical em pacientes parcialmente desdentados. Em 1996, Tinti et al.⁵⁵, demonstraram a possibilidade de se conseguir mais de 4 mm de neoformação óssea vertical. Quatorze implantes foram colocados em 6 pacientes, com 3 a 7 mm de rosca exposta na sua porção coronária. O enxerto ósseo autógeno coletado durante a perfuração dos sítios dos implantes foi colocado sobre as roscas e o conjunto recoberto por uma membrana com reforço de titânio (GTAM-TR). Após 12 meses, no segundo estágio cirúrgico, as membranas foram removidas, e observou-se preenchimento com tecido ósseo neoformado. As mensurações mostraram um aumento ósseo vertical médio de 4,95mm.

Simion et al.⁵² (1998) em um estudo clínico, avaliaram a regeneração óssea vertical com a utilização de enxertos ósseos autógenos ou alógenos, associados à membrana de PTFE-e com reforço de titânio, ao redor de implantes osseointegrados inseridos parcialmente no rebordo alveolar restando de 1,5 a 7,5 mm da porção coronária dos implantes exposta acima do nível ósseo. Após 7 a 11 meses de reparação, na reentrada cirúrgica, as membranas foram removidas e as medidas clínicas mostraram um ganho ósseo vertical médio de 3,1mm para o osso alógeno, enquanto os casos tratados com osso autógeno tiveram um ganho vertical médio de 5,02mm. A análise histológica mostrou uma correlação direta entre as densidades do osso preexistente e daquele regenerado. Os resultados clínicos e histológicos indicaram o efeito benéfico da colocação de osso autógeno ou alógeno associado à membrana para os procedimentos de regeneração óssea vertical em humanos.

Em um estudo retrospectivo multicentro, Nevins et al.⁴⁶ (1998), analisaram 526 implantes colocados em osso regenerado e em função. A ROG foi conseguida utilizando-se osso autógeno ou alógeno associados com membranas de PTFE-e. Os procedimentos foram realizados simultaneamente ou em dois estágios. Os implantes foram examinados de 6 a 74 meses após o início do esforço funcional. Oito foram perdidos um a dois anos após, sendo que cinco estavam associados à sobredentadura. O índice de sucesso foi de 97,5%. Os autores concluíram que independentemente do material de enxertia utilizado, do implante ser submerso ou não, ou dos procedimentos serem em dois estágios ou simultâneo, o tecido ósseo regenerado reagiu à colocação de implantes de modo semelhante ao osso natural.

Chiapasco et al.⁸ (1999) analisaram o resultado clínico de dois diferentes métodos cirúrgicos para reconstrução de rebordos desdentados delgados antes da instalação de implantes: ROG com membrana de PTFE-e e osso autógeno particulado, ou enxerto ósseo autógeno em bloco sem membrana de PTFE-e. Trinta pacientes apresentando largura óssea menor que 4 mm foram selecionados. Quinze pacientes (grupo ROG) foram tratados com ROG e osso autógeno particulado, enquanto os demais pacientes (grupo E) foram tratados com enxerto ósseo em bloco, retirado da cavidade oral, crista ilíaca ou calvária, e fixados com micro parafusos de titânio. Após 6 a 8 meses, durante a reentrada para colocação dos implantes, o ganho de largura foi mensurado. No grupo ROG a média de ganho ósseo foi de 2,7mm, enquanto no grupo E foi de 4 mm. Após 5 a 6 meses da colocação dos implantes foi iniciada a reabilitação protética. Os pacientes foram observados em média por 22 meses após o término das próteses. Baseados nos critérios utilizados neste estudo, os autores puderam concluir que:

- a) ambos os métodos são viáveis para a correção de rebordos desdentados com pouca espessura;
- b) ambas as técnicas necessitam aperfeiçoamento devido à interposição de tecido conjuntivo abaixo da membrana no grupo ROG e devido à reabsorção óssea no grupo E;
- c) o uso de membranas semipermeáveis aumenta o custo do procedimento cirúrgico, quando comparado ao enxerto ósseo sem membrana;
- d) regeneração óssea guiada apresenta um alto risco de infecção provocada por deiscência na ferida e conseqüente exposição da membrana. Desta forma, os autores recomendam a utilização de enxerto ósseo autógeno em bloco não associado às membranas no aumento de rebordos alveolares.

Jardini et al.²⁷ (2005) desenvolveu um estudo com o objetivo de analisar, quantitativa e qualitativamente, o padrão de reparação do enxerto ósseo autógeno associado ou não à membrana de PTFE-e. para tal, foram utilizados 60 ratos da raça Wistar, divididos em dois grupos: o primeiro recebeu o enxerto associado à membrana (ME) e o segundo somente o enxerto (E). O enxerto ósseo em bloco foi removido da calvária dos animais com o auxílio de uma broca trefina. Em seguida, foi fixado à cortical externa do ângulo mandibular, sendo o mesmo no grupo ME recoberto por uma membrana de PTFE-e. Os animais foram sacrificados em 0 hora, 7, 14, 21 e 45 dias após a realização do enxerto.

Os resultados para o grupo E mostraram perda óssea ao longo do período de reparação, isto é, a área inicial do enxerto diminuiu ao longo do tempo. Já para o grupo ME observou-se ganho de tecido ósseo em quantidade significativa ao longo dos períodos de observação, ou seja, a área total de osso neoformado foi maior que a área do enxerto inicialmente. Sendo assim, concluiu-se que o enxerto ósseo autógeno em

bloco reabsorveu-se parcialmente ao longo do tempo, enquanto que o enxerto recoberto pela membrana de PTFE-e apresentou neoformação óssea na sua periferia.

2.3 Enxerto ósseo autógeno

Desde o estudo pioneiro de Clementschitch (1948), citado por Breine & Brånemark⁵ (1980), sobre a reconstrução do rebordo alveolar com o uso de enxertos autógenos, diversos estudos experimentais e clínicos têm sido descritos na tentativa de se buscar uma técnica segura que possa prover previsibilidade e ao mesmo tempo cause menor morbidade e melhores resultados.

Breine & Brånemark⁵ (1980), realizaram um estudo que procurava desenvolver um procedimento reconstrutivo utilizando osso autógeno particulado e implantes osseointegrados. Para tanto, dezoito pacientes desdentados totais com atrofia severa do rebordo alveolar mandibular ou maxilar foram submetidos à cirurgia reconstrutiva, tendo como área doadora a tíbia. O enxerto e a colocação dos implantes foram realizados na mesma sessão, sendo que o recobrimento da área cirúrgica foi dado pelo retalho mucoperiósteo. Após um acompanhamento clínico de aproximadamente 10 anos, os autores observaram uma boa estabilidade da maioria das próteses instaladas, porém notaram que após a ativação dos implantes a reabsorção dos enxertos tornou-se acelerada. Isto ficou mais evidenciado na altura, na qual praticamente não se observou ganho em longo prazo. O aumento do volume ósseo pós-enxerto ficou mais evidenciado no sentido vestibulo-lingual.

Adell et al.¹ (1981), estudaram a cicatrização e a revascularização de enxerto ósseo autógeno *onlay* e enxerto alógeno

liofilizado de crista ilíaca em macacos. Os dados foram analisados após oito meses e os resultados mostraram que a cicatrização e a revascularização foram similares para ambos os tipos de enxerto, mas a reabsorção do enxerto alógeno ocorreu aproximadamente 3 meses mais tarde do que o autógeno.

Misch et al.⁴³ (1992) descreveram a técnica de enxertos ósseos em bloco, usando como área doadora à sínfise mandibular, para reconstrução de defeitos ósseos localizados. Em 1995, Misch & Misch⁴⁴ confirmaram a técnica, demonstrando a reparação de defeitos ósseos severos na mandíbula. Os autores concluíram que há uma melhor densidade óssea quando enxerto ósseo é usado, comparado com ROG, fato relevante para a colocação de implantes.

Jensen et al.²⁸ (1995) utilizaram a borda inferior da mandíbula de cães para testar o aumento vertical de rebordo com enxertos ósseos, associados a implantes. Os enxertos estudados foram: DFDBA irradiados ou não (para esterilização), enxerto ósseo autógeno córtico esponjoso do ilíaco, coágulo sangüíneo e controle. O enxerto autógeno córtico esponjoso de ilíaco foi estudado com e sem membrana de PTFE-e associada. Os resultados mostraram que a utilização de membranas melhora tanto o volume de enxerto incorporado como a quantidade de contatos osso implante. O enxerto autógeno foi melhor que o alógeno e a irradiação pareceu não afetar o enxerto.

O estudo comparativo clínico e histológico de Becker et al.⁴ (1996), teve como objetivo avaliar três diferentes tipos de enxerto: osso autógeno, osso desmineralizado desidratado por congelamento (DFDBA) e osso mineralizado desidratado por congelamento (MFDBA). Após 4 a 13 meses, realizaram-se as biópsias. Os autores concluíram que, o osso autógeno particulado, bem como o DFDBA e MFDBA serviram apenas como um preenchimento biológico e, aparentemente, não contribuíram para a osteoindução.

A publicação de Williamsom⁵⁷ (1996) teve como objetivo fazer uma avaliação em 29 pacientes, que foram tratados com enxerto autógeno para aumento de rebordo tanto na maxila como na mandíbula, para receber implantes dentais. Um paciente adicional que recebeu enxerto alógeno, também participou do estudo. Um total de 114 implantes foi colocado nas áreas que receberam enxertos. Doze implantes foram perdidos, 28 pacientes receberam próteses fixas implanto-suportadas, e dois receberam sobredentadura. O sucesso foi de 100% na mandíbula e 86% na maxila.

Em seu estudo, Raghoobar et al.⁵⁰ 1996, avaliaram a aplicabilidade do enxerto ósseo autógeno em bloco de origem intra-oral para aumento de rebordo alveolar estreito, a fim de possibilitar a inserção de um único implante. Foram selecionados 27 pacientes com defeitos ósseos na região anterior da maxila. Esses foram reconstruídos com enxerto ósseo autógeno oriundo da sínfise mandibular (n=12), da tuberosidade (n=8) ou da área retromolar (n=7). Três meses após foram colocados os implantes, 23 do tipo Brånemark e 8 do tipo ITI; todos os locais enxertados tinham volume ósseo suficiente para sua colocação. Após 68 meses de colocação todos os implantes estavam funcionando bem. Os autores concluíram que o aumento de rebordo na maxila com enxerto ósseo autógeno possibilitam a inserção de implantes.

Durante um período de 12 anos (1984 a 1997), 32 pacientes com comprometimento ósseo avançado da maxila receberam reabilitação cirúrgica e protética por Becker et al.⁴ (1996). O procedimento mais frequentemente usado foi aumento maxilar com enxerto ósseo autógeno em bloco, onlay não vascularizado; e o tempo médio de função protética foi de 67 meses. Vinte e oito pacientes receberam procedimentos em um único estágio, isto é implante mais enxerto ósseo, e 4 pacientes receberam em dois estágios, isto é, primeiramente o enxerto e após 6 meses o implante. O sucesso do tratamento foi avaliado separadamente para os primeiros 7 pacientes tratados consecutivamente

(período de desenvolvimento da técnica) e depois para os outros 25 pacientes (período de rotina). Avaliações foram feitas, em relação à etiologia da perda óssea, tipo e comprimento do implante, tipo de prótese, tipo de oclusão e tipo de cirurgia. O índice de sucesso foi de 91% nos 25 pacientes e 65% nos 7 restantes. As variáveis analisadas tiveram, impacto significativo no resultado do tratamento realizado. O sucesso do enxerto ósseo onlay em bloco foi de 96% em todos os 32 pacientes tratados, e o sucesso obtido com a prótese nos 25 pacientes, foi de 96%.

Pikos⁴⁸ (2000) comenta em seu estudo a importância do preparo do leito receptor, quando é usado enxerto ósseo em bloco para a reconstrução da parte posterior de mandíbula. Esta região pode apresentar problemas na reconstrução com implantes, por causa da qualidade e quantidade óssea. Desta forma o enxerto ósseo autógeno em bloco pode ser uma maneira para aumentar o volume e a densidade óssea, permitindo assim a colocação de implantes de diâmetro largo, o que facilitaria a distribuição de carga, aumentando a longevidade dos mesmos.

De Marco et al.¹⁵ (2005) estudando a revascularização do enxerto ósseo autógeno em bloco associado ou não à membrana de PTFE-e observaram, através da infusão no momento do sacrifício de tinta nanquim e paraformaldeído a 4% em solução tampão em partes iguais, que os espécimes nos quais o enxerto foi realizado isoladamente, ou seja, não foram recobertos pela membrana de PTFE-e apresentaram uma revascularização do enxerto mais precoce, intensa e extensa em todos os períodos de sacrifício realizados. Os autores observaram ainda que a origem vascular limitou-se ao leito enxertado no grupo recoberto pela membrana de PTFE-e enquanto que no grupo onde ocorreu a associação enxerto-membrana de PTFE-e os vasos neoformados eram provenientes do leito e do tecido conjuntivo circunjacente.

3. PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

1. Descrever, quantitativamente e qualitativamente, o processo de reparação óssea de enxerto ósseo autógeno em bloco, associado ou não a membrana de PTFE-e.
2. Verificar se a osteopenia induzida exerceu alguma influência quantitativa sobre o processo de reparação dos enxertos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais e grupos experimentais

Para a realização deste trabalho foram utilizadas 80 ratas adultas (*Rattus norvegicus*, variação albinus, Wistar) com noventa dias de idade, com peso em torno de 300 gramas, mantidas em gaiolas em temperatura ambiente, alimentados com ração Guabi Nutrilabor e água *ad libitum*, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP. Este estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa Local da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP sob o protocolo n° 035/2204-PA/CEP (Anexo A). a trabalho recebeu apoio financeiro da FUNDUNESP (processo n° 00219/05).

Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos experimentais, que por sua vez foram divididos em subgrupos:

a) grupo teste

40 ratas ovariectomizadas (OVZ):

- OVZ – E: 20 animais somente com realização de enxerto;
- OVZ – ME: 20 animais com realização de enxerto e recobrimento com membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e- GORE

TEX[®], GT10; W. L. Gore & Associates, Flagstaff, AZ, USA).

b) grupo controle

40 ratas submetidas à cirurgia de ovariectomia simulada (SHAM)

- SHAM – E: 20 animais somente com realização de enxerto;
- SHAM – ME: 20 animais com realização de enxerto e recobrimento com membrana de PTFE-e.

Os enxertos foram realizados trinta dias após a ovariectomia ou ovariectomia simulada.

Os animais de cada grupo foram sacrificados em cinco períodos diferentes como segue: 0 hora, sete, 21, 45 e 60 dias. Para cada período havia quatro animais por grupo.

4.2 Procedimentos cirúrgicos

4.2.1 Anestesia

Para a realização das cirurgias de ovariectomia (OVZ) e ovariectomia simulada (SHAM), enxertia, coleta de sangue e sacrifício, os animais foram anestesiados com uma solução de 13mg/Kg de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5-6-dihidro-4H-1,3 tiazina (Rompum – Bayer do Brasil), substância com propriedades sedativas e analgésicas, além de relaxante muscular e 33mg/Kg de ketamina base (Dopalen – Agribands do Brasil), anestésico geral, via intramuscular.

4.2.2 Antibiótico

Após os procedimentos cirúrgicos para a realização dos enxertos ósseos, todos os animais receberam dose única de 1mg/Kg de antibiótico (Pentabiótico Veterinário – Fort Dodge) por via intramuscular.

4.2.3 Ovariectomia e ovariectomia simulada

Após anestesia os animais foram posicionados em decúbito lateral, permitindo a visualização e o fácil acesso ao flanco lateral. Foi realizada tricotomia da região, utilizando-se lâminas de barbear (Gillette do Brasil) e, logo abaixo da costela após anti-sepsia com solução de gluconato de clorexidina a 0,2%, realizou-se incisão longitudinal de 1cm na pele com lâmina de bisturi nº 15 montada em cabo de bisturi BardParker. Em seguida, foi feita a divulsão do tecido subcutâneo e posterior incisão da musculatura para que fosse possível o acesso à cavidade abdominal. Com o auxílio de uma pinça o ovário tracionado para fora da cavidade abdominal e, após amarra da vasculatura local com fio de sutura, realizou-se a excisão. Em seguida foi realizada a sutura da camada muscular com fio 5,0 absorvível de poliglactina 910 (Ethicon – Johnson & Johnson) e da pele com fio de seda 4.0 (Ethicon – Johnson & Johnson), sendo esse processo realizado bilateralmente (Figura 4.1).

Os animais do grupo controle foram submetidos à cirurgia SHAM (ovariectomia simulada) com tracionamento dos ovários para fora da cavidade abdominal, porém sem a excisão dos mesmos. O objetivo deste procedimento foi submeter os animais do grupo controle às mesmas condições de estresse dos animais do grupo teste.

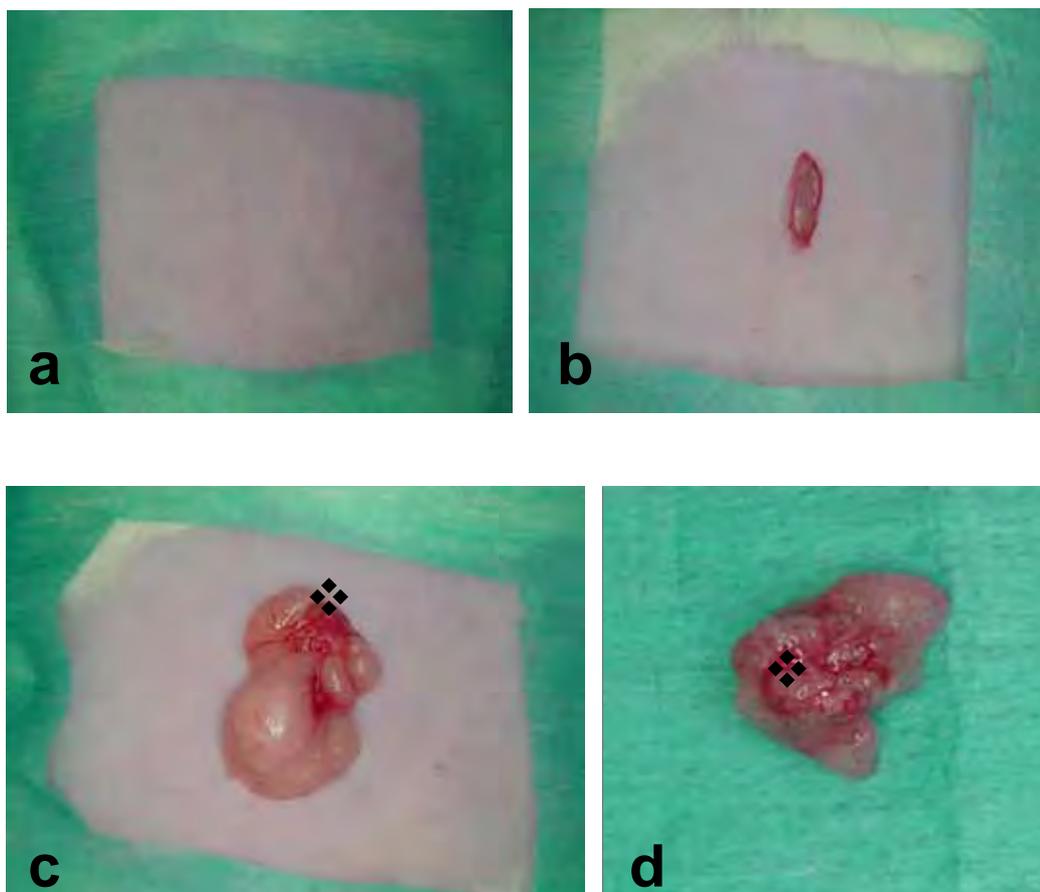


Figura 4.1 – Ovariectomia (OVZ) e Ovariectomia Simulada (SHAM). a) Tricotomia e desinfecção da região abdominal; b) incisão linear; c) tracionamento e exposição do ovário (❖). Nos animais OVZ neste momento realizava-se a ligadura e excisão dos ovários. Nos animais SHAM, após o tracionamento e exposição os ovários eram reinsertados na cavidade abdominal; d) ovário e tecido gorduroso excisado do animal OVZ.

4.2.4 Execução do enxerto

Os enxertos foram realizados trinta dias após a ovariectomia verdadeira ou simulada, sendo os animais anestesiados e as regiões temporal e parotídeo-massetérica esquerda e parietal e frontal bilaterais tricotomizadas utilizando-se lâminas de barbear. A anti-sepsia dessas regiões foi realizada com solução de gluconato de clorexidina 0,2%. O osso parietal foi a área doadora de osso autógeno, enquanto o ângulo mandibular esquerdo a área receptora.

Na mandíbula foi realizada incisão linear na pele, de extensão aproximada de 1,5cm, paralela ao arco zigomático, que se estendeu do ângulo da boca do lado esquerdo ao ângulo da mandíbula do mesmo lado. Desta maneira pode-se visualizar o músculo masséter, para que pudesse ser divulsionado, utilizando-se instrumentos desenvolvidos especialmente para esta finalidade, até atingir-se a face lateral da mandíbula. O passo seguinte foi promover o deslocamento das estruturas anatômicas linguais até a exposição da face medial mandibular com o auxílio de uma espátula, desenhada para esta finalidade, a fim de permitir a fixação do enxerto ósseo e da membrana de acordo com o grupo experimental (Figura 4.2).

Para obtenção do enxerto ósseo foi realizada incisão linear de aproximadamente 1,5 cm no centro da calvária do animal, expondo o osso parietal, de onde o enxerto foi retirado com o auxílio de uma broca tipo trefina com diâmetro externo de 4,1 mm (Neodent – Brasil) sob abundante irrigação com solução fisiológica. Após a remoção, este bloco foi perfurado no seu centro com uma broca carbide 1/2 (KG Sorensen) em baixa rotação, refrigerada com soro fisiológico visando à futura fixação do mesmo no leito receptor. O bloco permaneceu armazenado temporariamente em uma cuba contendo soro fisiológico (Figura 4.3).

Neste momento, na área receptora, foram realizadas três perfurações com broca carbide 1/2 sob abundante refrigeração, dispostas

triangularmente, que permitiram a estabilização do bloco ósseo ao leito receptor utilizando-se um fio de sutura 5,0 de poliéster verde trançado (Ethicon – Johnson & Johnson) e a adaptação da membrana de PTFE-e nos grupos onde foi realizado o recobrimento do enxerto com a membrana (OVZ-ME e SHAM-ME). Nos grupos onde o enxerto foi utilizado isoladamente (OVZ-E e SHAM-E), foi realizada uma única perfuração no ângulo mandibular com o objetivo de estabilizar o enxerto utilizando-se o mesmo fio já citado (Figura 4.4). Estes procedimentos permitiram o posicionamento do enxerto em íntimo contato com a superfície óssea mandibular, estabilizando-o e também propiciando o recobrimento de todo o bloco enxertado e estabilização da membrana de PTFE-e nos grupos OVZ-ME e SHAM-ME.

Para recortar as membranas de maneira uniforme, foi utilizada uma matriz de alumínio medindo 7 x 7 mm obtida a partir de películas radiográficas. O recorte foi feito sempre na porção oclusiva da membrana de PTFE-e.

Para a remoção do enxerto ósseo, assim como para a realização das perfurações foi utilizado um motor elétrico (Driller BLM 600 Plus) que permitiu o controle da velocidade em 960 rpm, e refrigeração com fluxo constante de soro fisiológico estéril.

As suturas foram realizadas por planos na área experimental, suturando-se primeiramente a camada muscular, com fio 5,0 absorvível de poliglactina 910 (Ethicon – Johnson & Johnson) e posteriormente a pele com fio de seda 4.0 (Ethicon – Johnson & Johnson). A área doadora também foi suturada com este último tipo de fio.

Em seguida realizou-se a limpeza das regiões operadas com solução de clorexidina 0,2%. Após a cirurgia, os animais receberam dieta normal e água “ad libitum”.

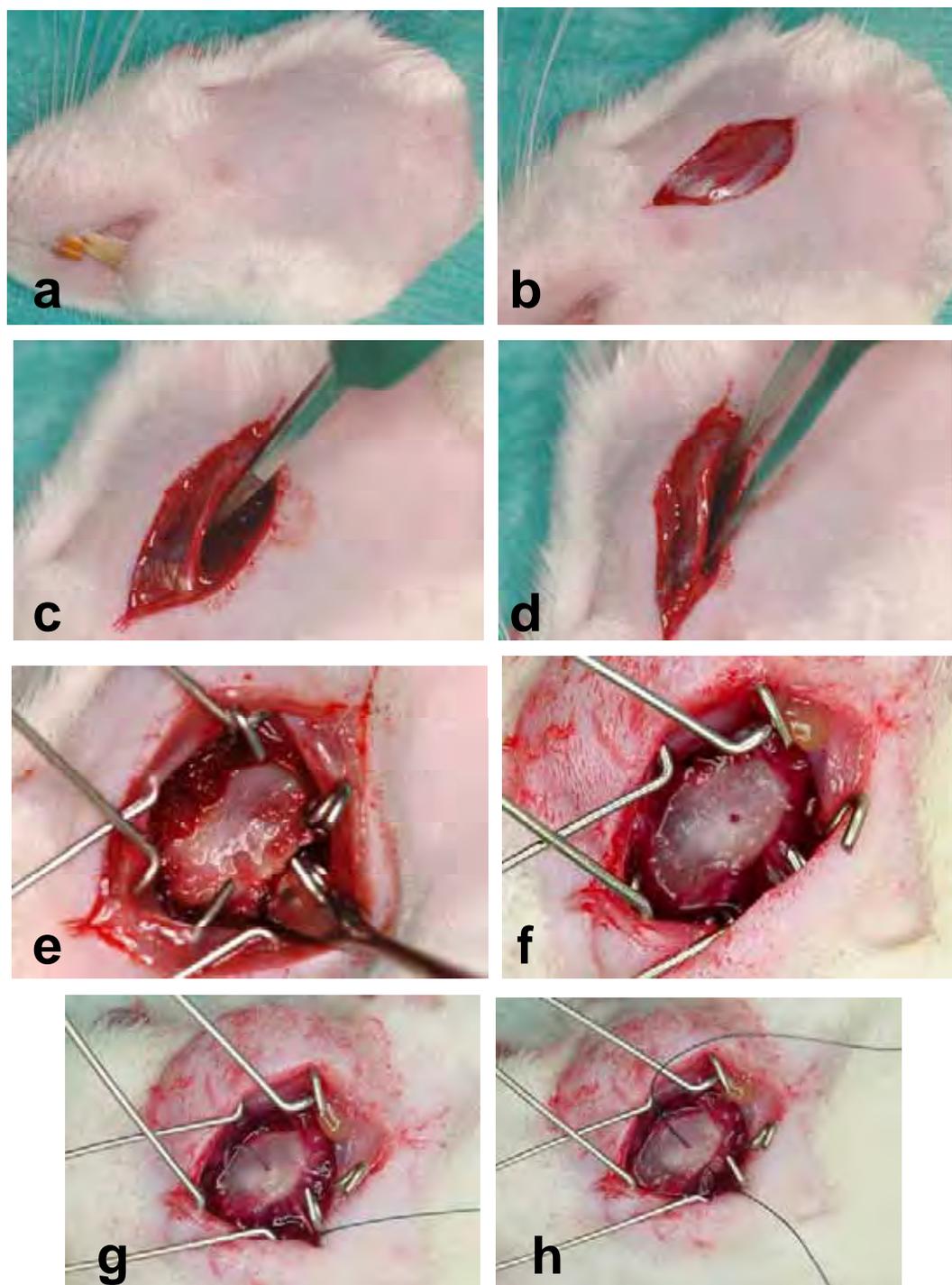


Figura 4.2 -Exposição e preparo do leito receptor: a) tricotomia e desinfecção; b) incisão linear; c) e d) divulsão muscular; e) exposição do ângulo mandibular; f) perfuração para fixação do enxerto; g) e h) passagem do fio de sutura para a fixação do enxerto.

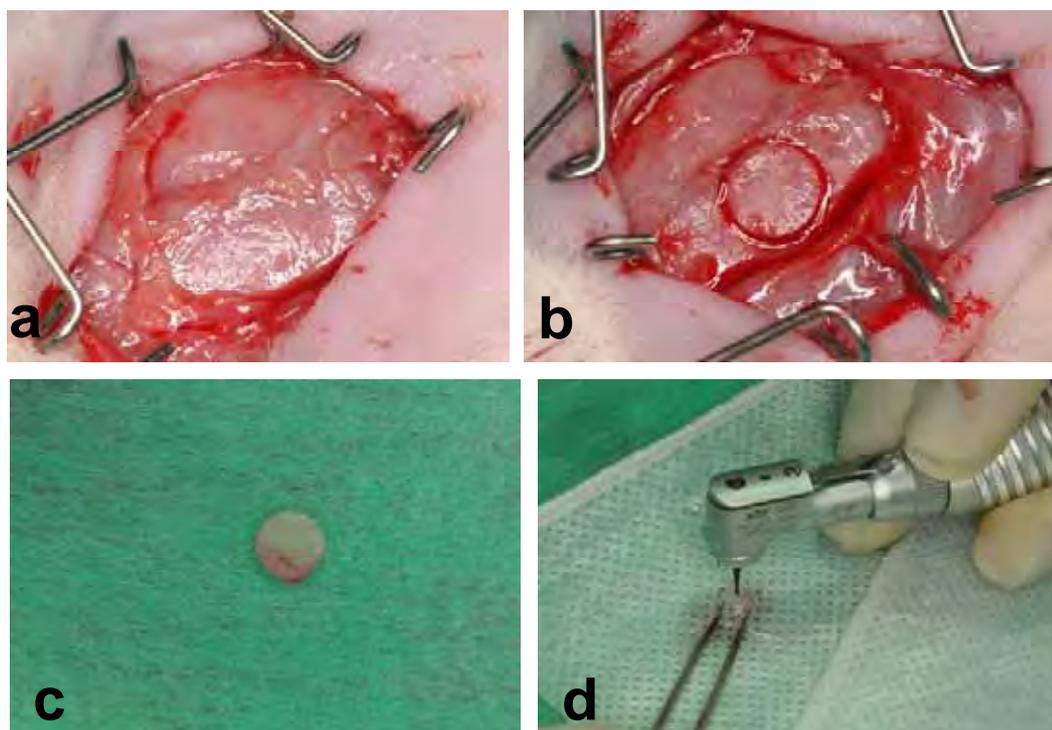


Figura 4.3 -Exposição e preparo do leito doador: a) incisão e exposição da calvária; b) osteotomia circular realizada com a broca trefina; c) enxerto removido; d) perfuração central para fixação ao leito receptor.

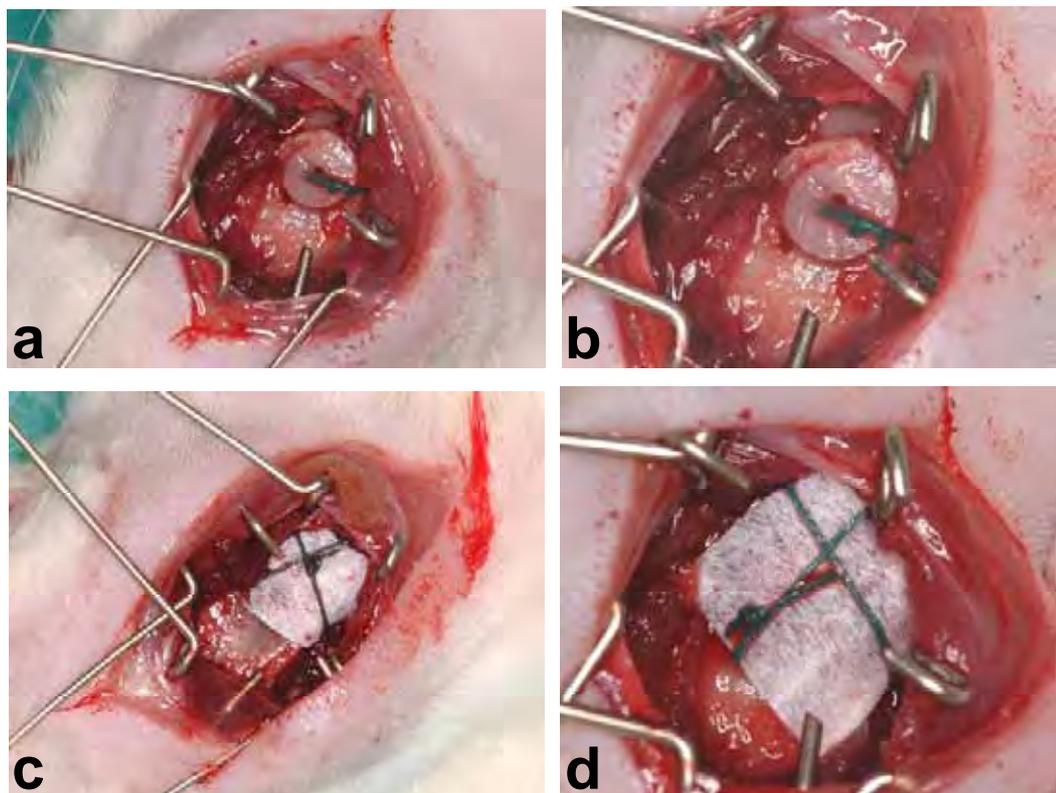


Figura 4.4 – a) e b) fixação do; c) e d) fixação da membrana de PTFE-e sobre o enxerto.

4.3 Eutanásia

O sacrifício dos animais de ambos os grupos foram realizadas em 0 hora, 7, 21, 45 e 60 dias. Para cada período, 4 animais foram sacrificados por grupo experimental.

Feito isto, as hemi-mandíbulas esquerdas foram removidas e armazenadas para fixação em solução de formaldeído a 10%, tamponado, durante um período mínimo de 48 horas. Cada espécime foi catalogado.

As peças foram descalcificadas com solução de EDTA 10%, pH 7,8 em aparelho de microondas (PELCO 3441, Ted Pella, Inc.,

CA, USA), no laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, em São Paulo. Para tanto, os espécimes foram armazenados em um recipiente contendo EDTA, que por sua vez era colocado em um segundo recipiente contendo gelo triturado para que se mantivesse a temperatura em 33°C durante a realização dos ciclos. O conjunto era então levado ao aparelho de microondas e submetido a ciclos de 15 minutos com troca do gelo entre os ciclos e troca do EDTA a cada 1 hora (4 ciclos) (Figura 10).

4.4 Análise histológica

Com a descalcificação completa, as peças foram seccionadas transversalmente na região central do enxerto ósseo. Cada fragmento foi incluído, no sentido da superfície de corte, em bloco de parafina e submetido a processamento histológico de rotina com obtenção de cortes seriados com 5 µm de espessura, somando um total de cinco lâminas com 5 cortes por bloco. A coloração utilizada foi Hematoxilina e Eosina (HE – Merck & Co, Inc.) e a análise histológica e morfométrica realizada em microscopia de luz (Figura 4.5).

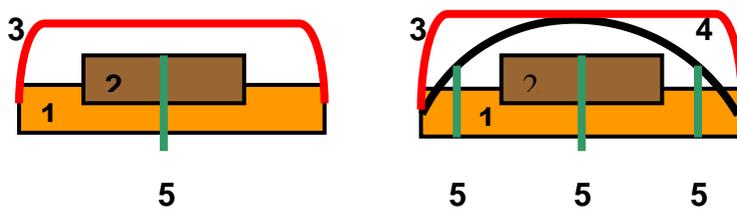
Foram utilizados para a análise os cinco cortes mais centrais. A análise histológica foi realizada inicialmente em pequeno aumento para que se tivesse uma visibilidade global dos cortes. Após a ampliação, pode-se observar os detalhes de cada área, realizando uma análise qualitativa dos tecidos. Foram avaliados, sistematicamente, os seguintes aspectos dos cortes: as características do leito receptor (características gerais como tipo de osso, áreas de reabsorção e neoformação); em seguida, a interface leito-enxerto quanto à presença de áreas de reabsorção e neoformação, áreas de tecido conjuntivo interposto, integração do enxerto com o leito; e o enxerto quanto aos

aspectos que indicam sua vitalidade, reabsorção (atividade osteoclástica), substituição e neoformação óssea (atividade osteoblástica); bem como a face do enxerto voltada para a membrana ou para o tecido muscular.

Esquema representativo dos cortes histológicos

GRUPO E

GRUPO ME



Legenda

- 1-leito receptor
- 2-enxerto
- 3-tecido muscular
- 4-membrana de PTFE-e
- 5-fio de sutura



Figura 4.5 – Microondas utilizado para descalcificação das peças.

4.6 Análise histomorfométrica

A análise quantitativa das lâminas foi feita através da captura da imagem das lâminas a partir de um microscópio de luz Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), com ocular de 10x e objetiva de 20x, sob um foco fixo, acoplado com uma câmera digital Sony (Cyber-shot DSC – S85) que permitia a visualização das imagens em um monitor de TV SONY TRINITRON RGB . As imagens arquivadas, em formato JPEG, foram submetidas à análise morfométrica com utilização do programa computacional NIH Image J 1.31, de domínio público. Tal programa possibilitou a delimitação da área do enxerto, assim como do osso neoformado na periferia e interface leito-enxerto.

Foram selecionadas lâminas de todos os grupos, sendo que o critério de seleção utilizado permitiu selecionar os cinco cortes mais centrais de cada espécime, sendo cada um com 5µm de espessura (JARDINI et al., 2005).

As imagens possuíam códigos que não permitiam a identificação do grupo experimental ao qual pertenciam, possibilitando uma análise cega dos dados. Estes foram tabulados e submetidos à análise estatística.

4.7 Delineamento experimental e análise estatística

A análise estatística obedeceu a uma estrutura fatorial tipo 2 x 2 x 5, sendo as variáveis experimentais, ou fatores de estudo, a condição dos animais (SHAM ou OVZ), a membrana de PTFE-e quanto à sua ausência ou presença no recobrimento do enxerto e os períodos de

sacrifício (zero, sete, 21, 45 e 60 dias). A variável resposta foi o valor de área dos enxertos obtidas através do programa computacional NIH Image J 1.31, de domínio público. As condições experimentais foram designadas aleatoriamente aos animais, ou seja, 20 condições experimentais sob quatro repetições.

Obteve-se 80 dados que foram submetidos à análise estatística por meio do programas computacionais: MINITAB (Minitab, version 14.12, 2004) e STATISTICA (StatSoft, version 5.5, 2000).

A estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvio padrão, enquanto que a estatística inferencial foi realizada através da análise de variância (ANOVA) três fatores (efeito fixo) e teste de Tukey, ambos ao nível de significância convencional de 5%.

O estudo do efeito interação condição x membrana x período de sacrifício foi conduzido por meio do gráfico de médias realizado no programa computacional Prism (versão 4.00, 2003 Graph Pad Software Inc.).

5 RESULTADOS

Neste capítulo foram analisados os efeitos da ovariectomia através da análise clínica do controle de peso antes e depois da castração e da atrofia uterina no momento do sacrifício dos animais. Os dados da reparação óssea dos enxertos foram analisados através de histologia e histomorfometria.

Clinicamente, os procedimentos transcorreram sem quaisquer problemas, não havendo infecção, morte de animais ou deiscências de sutura. Oitenta animais originaram 80 peças para processamento histológico. Desses animais, 40 serviram como controle, isto é, não sofreram a ovariectomia, enquanto os outros 40 pertenciam ao grupo que sofrera ovariectomia. Em cada um destes grupos havia dois subgrupos com 20 animais cada, divididos em enxerto autógeno apenas e enxerto autógeno recoberto pela membrana de PTFE-e.

5.1 Análises clínicas

5.1.1 Peso dos animais

Comparando-se os períodos que antecederam as cirurgias para castração ou castração simulada com os períodos da realização do enxerto após um intervalo de 30 dias observou-se que todos os animais do grupo OVZ apresentaram ganho de peso. No grupo SHAM, 20 animais perderam peso no período de 30 dias após a ovariectomia simulada

enquanto os outros 20 ganharam peso (Apêndice A). As médias iniciais e finais do peso corpóreo para os grupos SHAM e OVZ estão representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Médias e desvio padrão dos pesos finais e iniciais (g)

Grupo	n	Inicial	Final
SHAM	40	280,97±27,28	281,57±29,09
OVZ	40	270,87±23,68	301,55±19,95

5.1.2 Análise macroscópica uterina

A análise macroscópica dos cornos uterinos, antes do sacrifício, confirmou o sucesso da ovariectomia. No grupo SHAM, estes se apresentaram róseos e volumosos, enquanto que no grupo OVZ estavam atróficos e anêmicos. Foi possível ainda visualizar as ligaduras realizadas quando da ovariectomia (Figuras 5.1 e 5.2).

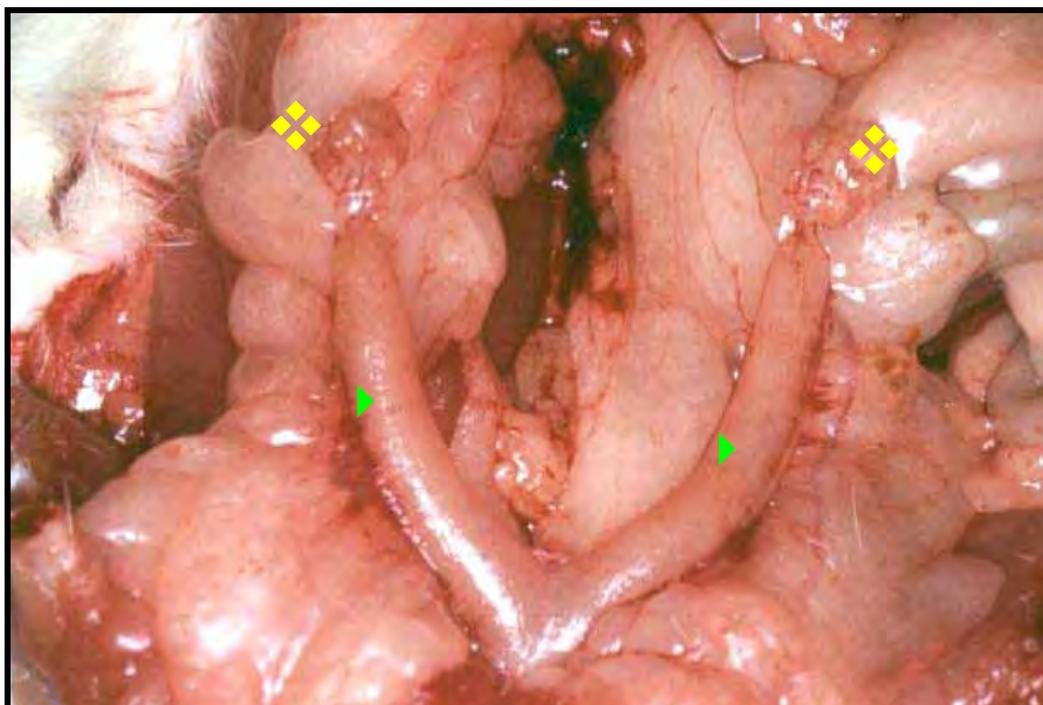


Figura 5.1 - Aspecto dos ovários (❖) e útero (▶) de uma rata do grupo SHAM

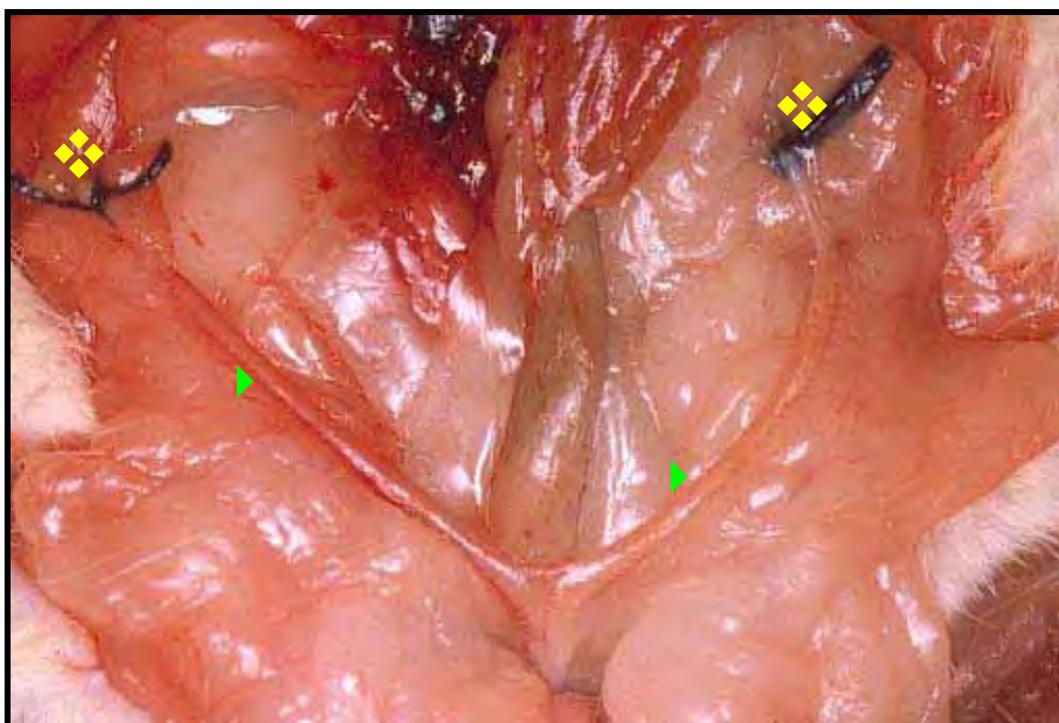


Figura 5.2 - Aspecto do útero atrofiado (▶) de uma das ratas do grupo OVZ. Notar a ausência dos ovários (❖) evidenciada pelas ligaduras

5.2 Análise histológica descritiva

Para um melhor entendimento a análise descritiva foi dividida de acordo com os períodos de sacrifício dos animais.

5.2.1 Período de zero hora

Tanto no grupo SHAM-E como no grupo SHAM-ME, o leito receptor (superfície externa da porção lateral do ângulo mandibular) apresentou tecido ósseo do tipo compacto, contendo osteócitos no interior das lacunas e um arranjo lamelar caracterizando osso maduro. A interface leito-enxerto mostrou, do lado do leito, uma superfície regular recoberta por coágulo sanguíneo e, algumas vezes, pequenas esquirolas ósseas. Também não se encontrava periosteio recobrindo o leito mandibular.

O enxerto ósseo mostrou-se com duas lâminas compactas envolvendo uma discreta região medular central. O tecido ósseo compacto se apresentou constituído por lamelas paralelas entre si, caracterizando tecido ósseo maduro. As lacunas estavam, na sua maioria, preenchidas por osteócitos, porém, algumas se mostraram vazias. As superfícies do enxerto eram regulares e com ausência de periosteio remanescente. A superfície externa do enxerto estava recoberta por coágulo e tecido muscular (Figura 5.3).

No grupo SHAM-ME e OVZ-ME, a membrana recobria a superfície externa do enxerto e suas extremidades se estendiam além dos limites do mesmo. A membrana, por sua vez, estava recoberta por tecido muscular.

Nos grupos OVZ-E e OVZ-ME tanto o leito receptor quanto o enxerto apresentavam maior quantidade de espaços medulares,

podendo ser localizadas inclusive traves de tecido conjuntivo fibroso em alguns espécimes. Tais características denotam um aumento dos espaços medulares provavelmente relacionado à deficiência estrogênica. Também não foram visualizados remanescentes de periósteo na interface leito-enxerto e na superfície externa do enxerto. As lacunas ósseas no enxerto e leito receptor apresentaram-se identicamente às do grupo SHAM (Figura 5.4).

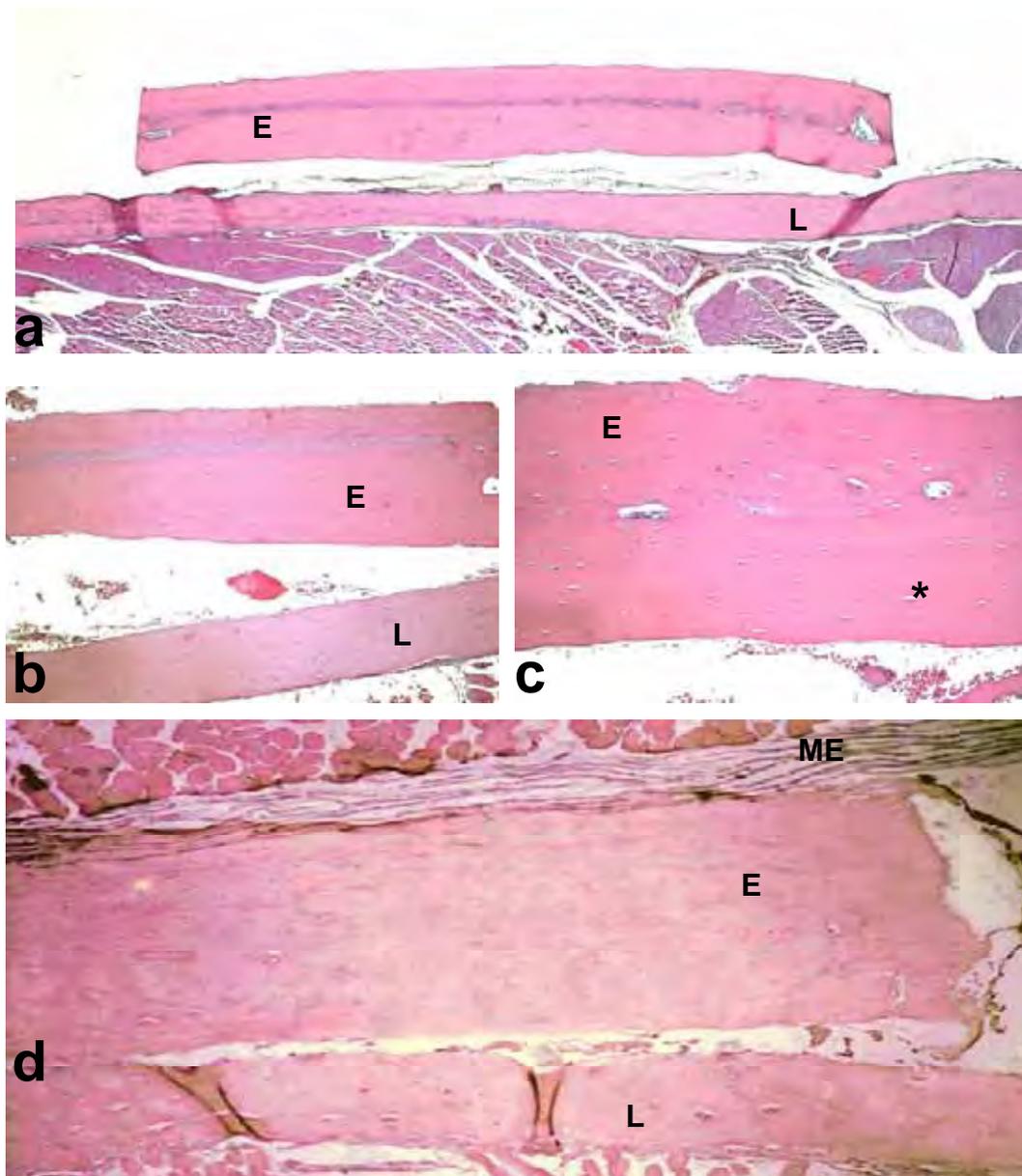


Figura 5.3 – a, b, c: grupo SHAM-E0; d: grupo SHAM-ME0; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L). Aumento original 25x. b) aumento maior da região da interface enxerto (E) – leito receptor (L). Aumento original 100x. c) enxerto (E) com lacunas preenchidas por osteócitos (*). Aumento original 200x. d) enxerto (E) justaposto ao leito (L) e recoberto pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x.

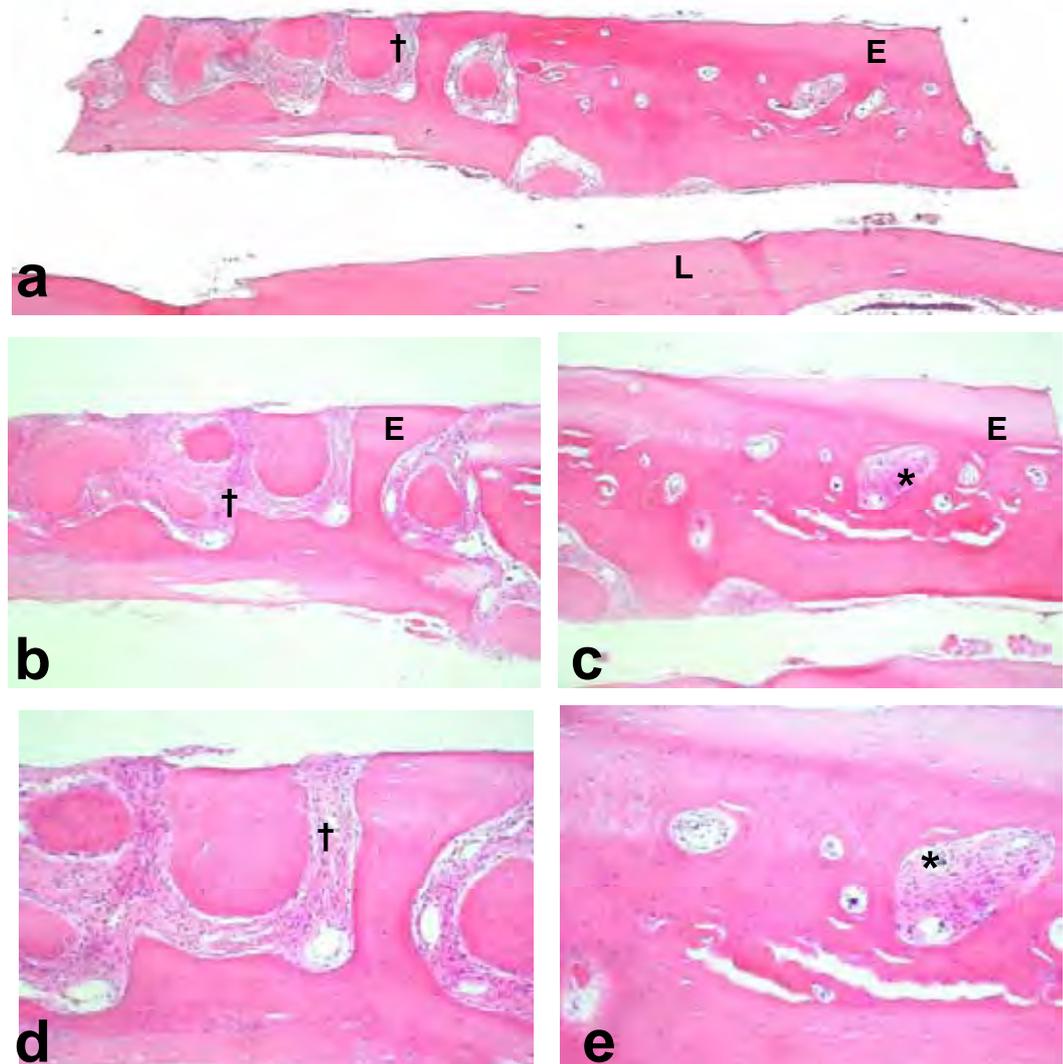


Figura 5.4 – a, b, c, d, e: grupo OVZ-E0 e OVZ-ME0; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L). Aumento original 25x. b) aumento maior do enxerto (E), notar traves de tecido conjuntivo (†). Aumento original 100x. c) enxerto (E) com e amplos espaços medulares (*). Aumento original 100x. d) traves de tecido conjuntivo (†) no interior do enxerto (E). Aumento original de 200x. e) amplos espaços medulares no enxerto (E). Aumento original 200x.

5.2.2 Período de sete dias

Nesse período, o grupo SHAM-E tinha na superfície óssea do leito voltada para o enxerto algumas linhas reversas, denotando atividade remodeladora, e raras lacunas de reabsorção (lacunas de Howship). Na proximidade das linhas reversas pode-se verificar a formação de delgadas trabéculas ósseas imaturas contendo numerosas e volumosas células semelhantes a osteoblastos no seu interior e na periferia.

Na interface leito-enxerto observou-se a proliferação de tecido conjuntivo densamente vascularizado e com considerável quantidade de células semelhantes a fibroblastos. Algumas esquirolas ósseas também se fizeram presentes.

Na cortical mandibular oposta à interface leito-enxerto, pode-se verificar a formação de diversas trabéculas ósseas imaturas, delimitando espaços medulares amplos e contornados por osteoblastos.

O enxerto ósseo, na sua face voltada para o leito, apresentou áreas de reabsorção, com a presença de poucos osteoclastos. Pode-se observar ainda um número maior de lacunas sem osteócitos, apesar de a maioria os conter. A superfície oposta à interface mostrava também algumas lacunas de Howship, recobrimento por tecido conjuntivo fibroso e remanescentes de coágulo sangüíneo nos grupos sem o recobrimento pela membrana de PTFE-e.

No grupo SHAM-ME, a maior parte da cortical externa, imediatamente vizinha ao enxerto, abaixo da membrana e além dos limites do enxerto apresentou-se mais regular, porém algumas lacunas de Howship também puderam ser visualizadas. Na superfície medial podem-se observar linhas reversas e neoformação óssea subperiosteal, com trabéculas ósseas imaturas, não lamelares, que delimitavam espaços medulares amplos. Na interface leito-enxerto foi observada a presença de

tecido de granulação com intensa proliferação vascular e algumas esquirolas ósseas.

O enxerto apresentava superfícies mais regulares, com poucas áreas de reabsorção. As lacunas encontravam-se em sua maioria preenchidas por osteócitos, sugerindo a vitalidade do enxerto. Nas bordas laterais do enxerto e na sua superfície externa, ambas recobertas pela membrana de PTFE-e, foi encontrado tecido de granulação.

Na superfície externa da membrana, observou-se infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear (linfócitos e plasmócitos), vasos congestos e dilatados além de remanescentes de coágulo sangüíneo. O estroma era constituído por tecido conjuntivo denso (Figura 5.5).

Nos grupos OVZ-E e OVZ-ME pode-se observar uma maior quantidade de espaços medulares tanto no enxerto quanto no leito receptor, além do maior diâmetro destes espaços. Além disso, também havia maior quantidade de tecido conjuntivo celularizado na interface do grupo OVZ-E. Linhas de reversão também puderam ser visualizadas na superfície do leito receptor.

A neoformação óssea subperiosteal na superfície medial da mandíbula apresentava traves mais delgadas delimitando grandes espaços medulares.

As superfícies laterais e externa do enxerto no grupo OVZ-E mostraram-se mais irregulares e com maior quantidade de áreas de reabsorção. No grupo OVZ-ME as características foram semelhantes às do grupo SHAM-ME.

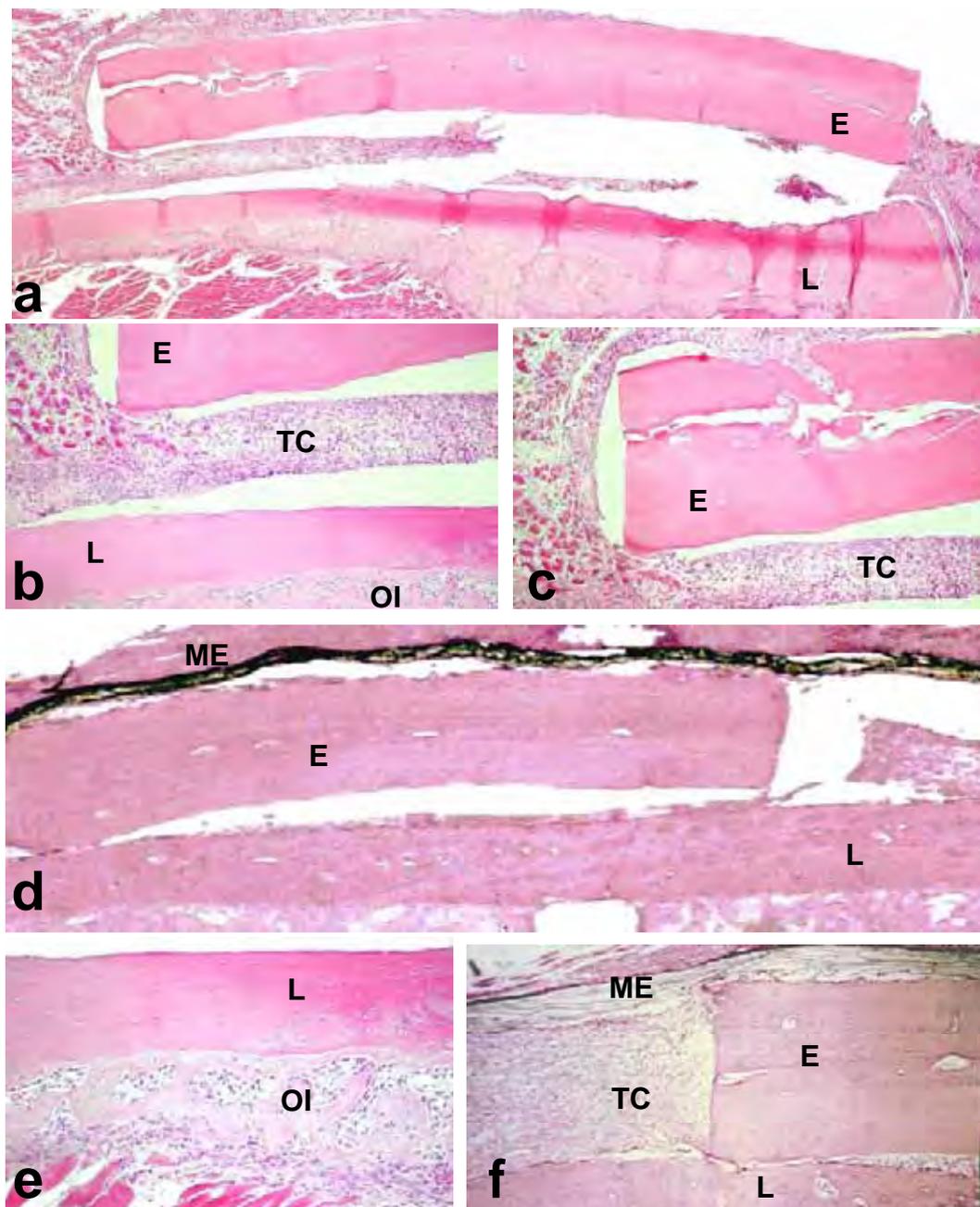
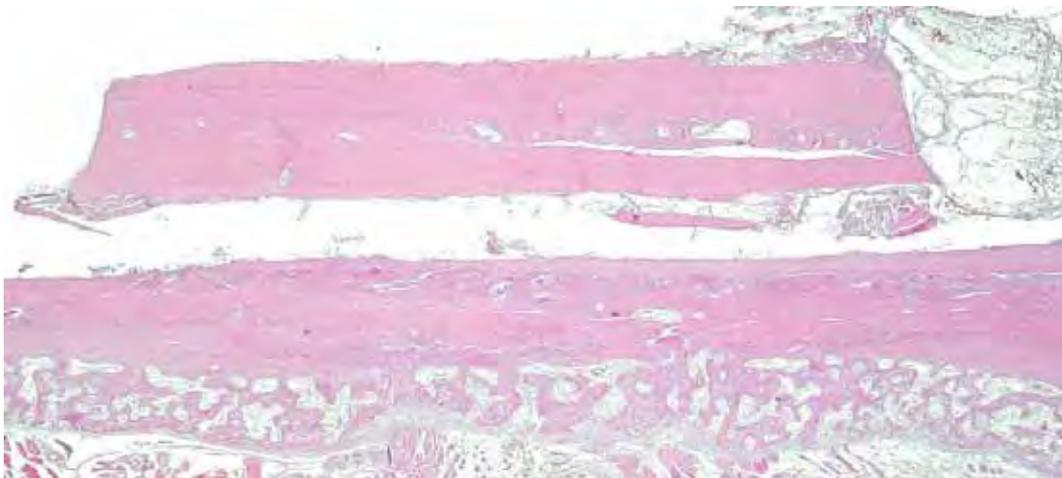
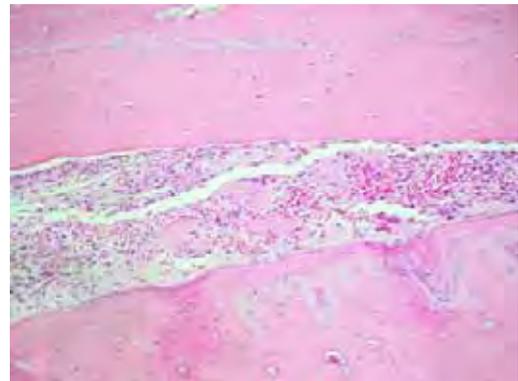
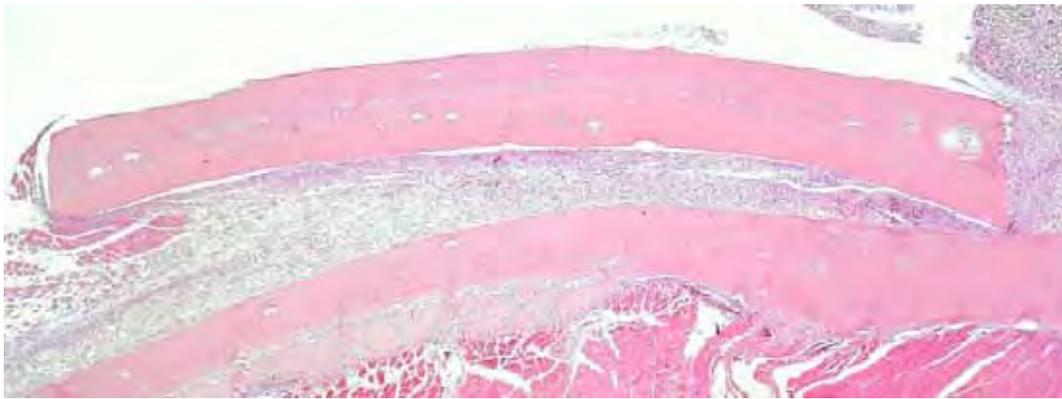


Figura 5.5 – a, b, c: grupo SHAM-E7; d, e, f: SHAM-ME7; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto. Aumento original 25x. b) aumento maior da região da interface enxerto (E) – leito receptor (L) com tecido conjuntivo (TC) interposto. Presença de osso imaturo na superfície medial mandibular. Aumento original 100x. c) borda do enxerto (E) circundada por tecido conjuntivo (TC). Aumento original 100x. d) enxerto (E) justaposto ao leito (L) e recoberto pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x. e) leito (L) e tecido ósseo imaturo na superfície medial mandibular. Aumento original 100x. f) relacionamento enxerto (E) – leito (L) – membrana (ME) e tecido conjuntivo conectado (TC). Aumento original 100x.



5.2.3 Período de 21 dias

Neste período, o leito receptor no grupo SHAM-E, apresenta características de osso compacto com menor quantidade de espaços medulares, lacunas preenchidas por osteócitos e arranjo lamelar. A interface leito-enxerto já apresentava pontos de união, sendo possível visualizar um tecido ósseo neoformado com diversos espaços medulares revestidos por células semelhantes a osteoblastos, lacunas preenchidas por osteócitos volumosos, porém sem organização lamelar. Esta característica de osso imaturo contrastava com uma menor quantidade de regiões de tecido ósseo neoformado maduro. Todavia, também foram notadas áreas de tecido conjuntivo interposto entre o enxerto e a superfície mandibular.

O enxerto mostrou significativa reabsorção nas bordas laterais e na sua superfície externa, resultando em um contorno mais irregular. Ainda foi possível observar lacunas vazias e outras preenchidas por osteócitos. A camada medular interposta pelas lâminas corticais já não pode ser bem visualizada como nos períodos iniciais. Linhas reversas e osso neoformado, com características de osso maduro associado a tecido osteóide também puderam ser identificadas. Na face externa foi possível notar em algumas regiões periósteo organizado.

No grupo SHAM-ME o leito receptor mostrou-se com intensa remodelação da área correspondente à localização do enxerto, evidenciada por diversas linhas reversas. Na interface, também foi possível identificar tecido ósseo neoformado com pontos de união entre o leito e o enxerto, com características semelhantes ao grupo E. O aspecto mesclado de áreas de osso imaturo com osso maduro também foi observado, assim como a presença de osteócitos volumosos e tecido conjuntivo interposto.

No enxerto, boa parte das lacunas estavam vazias, principalmente na porção externa, ou com osteócitos em degeneração. As bordas laterais mostravam-se reabsorvidas, com linhas de reversão e aposição óssea lamelar. Além dos limites das bordas laterais e sobre a superfície do enxerto, todos abaixo da membrana, estavam presentes tecido ósseo neoformado organizado de forma não lamelar, com vários espaços medulares circundados por osteoblastos. Tecido conjuntivo também foi observado nessas regiões.

No grupo OVZ-E o enxerto apresentava intensa reabsorção das bordas laterais, presença de linhas reversas e áreas de deposição óssea. Contudo, uma maior quantidade de espaços medulares, lacunas vazias e áreas de reabsorção foram observadas. Na interface notou-se a deposição de tecido ósseo imaturo e poucos pontos de união entre o leito e o enxerto, com interposição de tecido conjuntivo.

O grupo OVZ-ME apresentava as mesmas características do SHAM-ME, entretanto foi possível notar uma maior quantidade de espaços medulares tanto no enxerto quanto no tecido ósseo neoformado.

Em nenhum dos cortes foi observado penetração de células ou vasos pela estrutura da membrana de PTFE-e. Em alguns cortes nos grupos SHAM-ME e OVZ-ME o tecido ósseo neoformado além dos limites do enxerto já se apresentavam totalmente integrados às bordas laterais do enxerto.

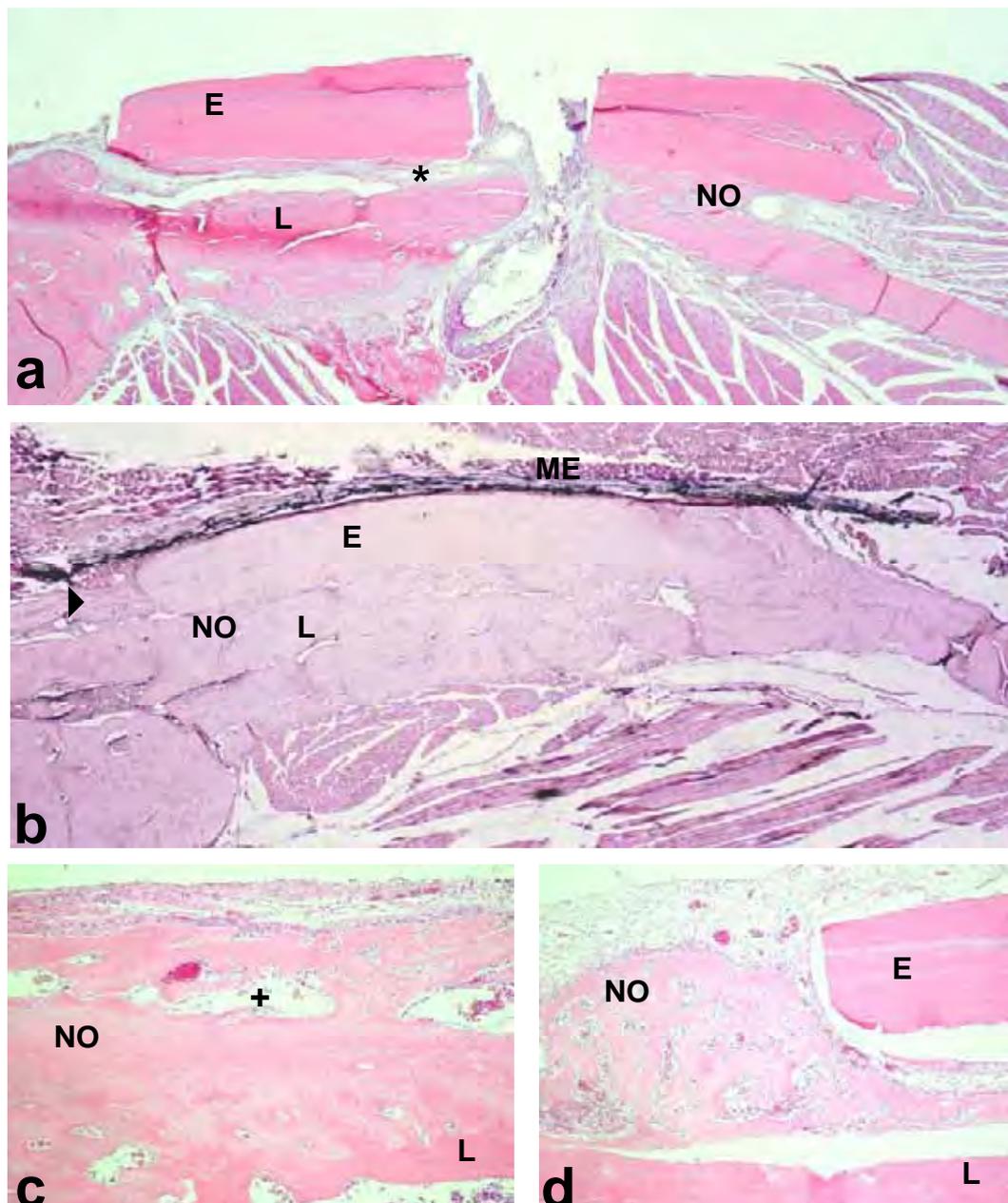


Figura 5.6 – a: grupo SHAM-E21; b, c, d: SHAM-ME21; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto e neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) recoberto pela membrana de PTFE-e (ME) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶). Aumento original 25x. c) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares (+). Aumento original 100x. e) tecido ósseo neoformado (NO) na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original 100x.

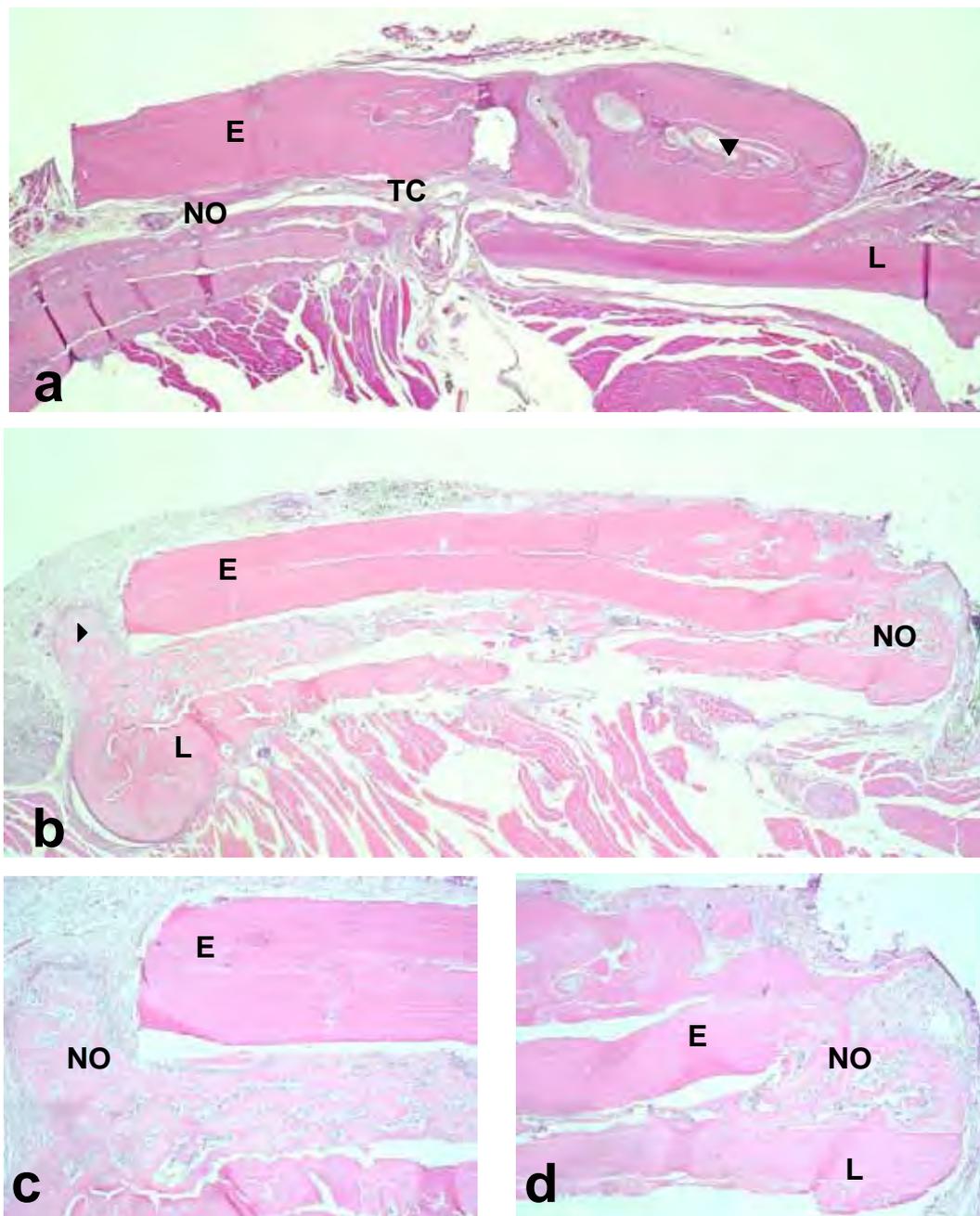


Figura 5.7 – a: grupo OVZ-E21; b, c, d: OVZ-ME21; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com tecido conjuntivo interposto e pouca neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Notar ainda amplos espaços medulares (▼) no enxerto (E) Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶). Aumento original 25x. c) e d) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x.

5.2.4 Período de 45 dias

No grupo SHAM-E, o leito receptor tinha características de osso cortical maduro e poucos espaços medulares. Nesta fase pode-se observar que poucas áreas do enxerto não estavam totalmente integradas ao leito, com tecido conjuntivo interposto. A face medial da mandíbula possuía características de tecido ósseo compacto maduro.

O enxerto mostrava áreas nas quais a estrutura lamelar organizada das corticais estava preservada, enquanto que em outras se observava substituição por novo osso.

O osso neoformado na interface e em substituição do enxerto era do tipo compacto e maduro.

No grupo SHAM-ME o leito receptor tinha as mesmas características do grupo anterior assim como a integração do enxerto ao leito. As diferenças marcantes foram encontradas no tecido ósseo neoformado na periferia do enxerto e sobre a sua superfície externa. Notou-se uma grande quantidade de tecido ósseo neoformado, com espaços medulares regulares, lacunas preenchidas por osteócitos volumosos porém ainda sem uma disposição lamelar, característica de um tecido ósseo maduro.

No grupo OVZ-E a integração do enxerto ao leito mostrou ser menor que no grupo SHAM assim como se pode notar maior quantidade de tecido conjuntivo interposto. O enxerto mostrou-se bastante remodelado, com grandes espaços medulares e traves de tecido conjuntivo fibroso no seu interior. Lacunas de Howship e revestimento periosteal completaram o quadro histológico do grupo.

As mesmas características foram encontradas no grupo OVZ-ME, no entanto, foram observados mais pontos de integração na interface. O tecido ósseo neoformado na periferia e superfície externa estava integrado ao enxerto, com abundantes espaços medulares,

organizado de forma não lamelar e, portanto, assumindo características de tecido ósseo imaturo.

A membrana mostrava-se íntegra se estendendo além dos limites do enxerto, com ausência de infiltrado inflamatório periférico. Sob a membrana pode-se notar tecido ósseo neoformado imaturo e tecido conjuntivo frouxo e diversos vasos sanguíneos.

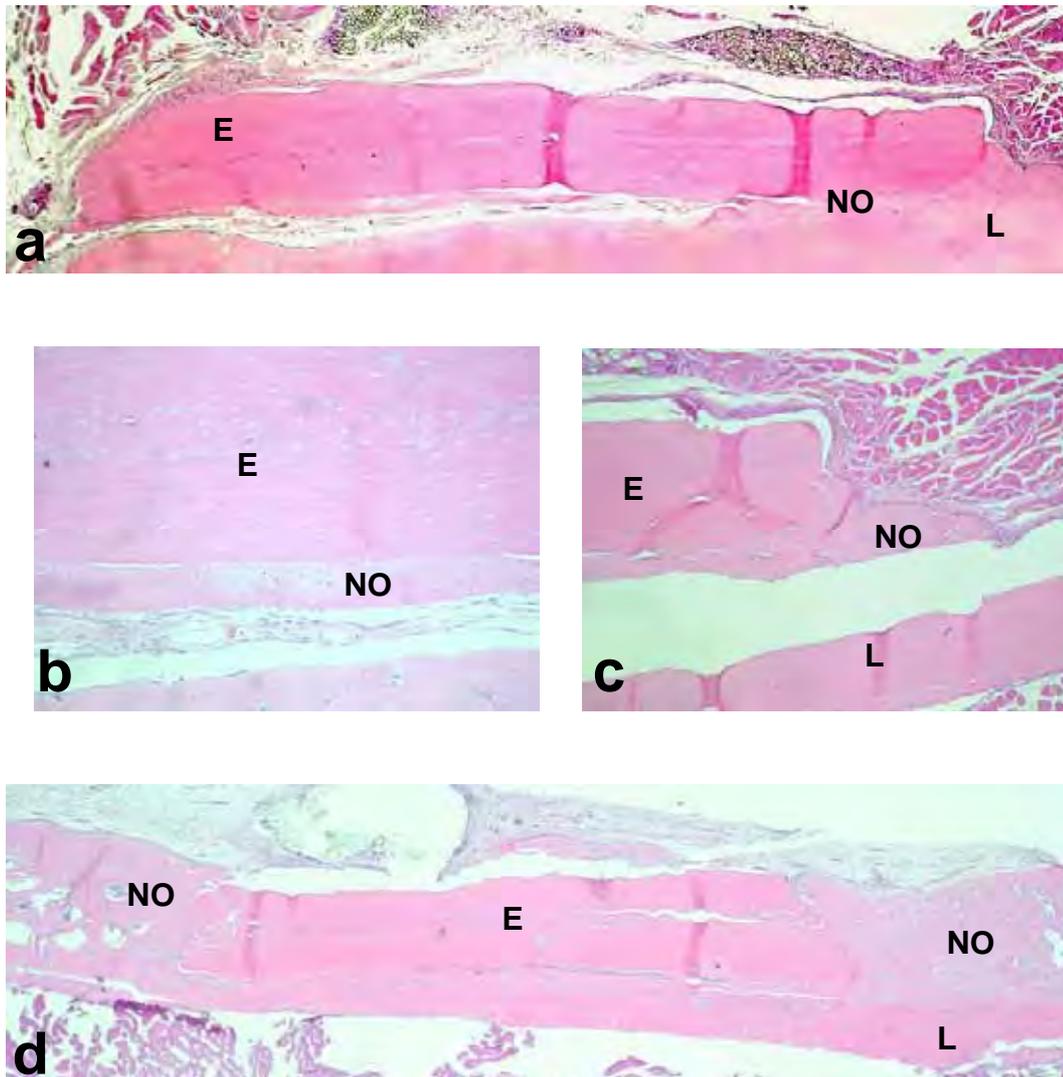


Figura 5.8 – a, b, c: grupo SHAM-E45; d: SHAM-ME45; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto. Aumento original 200x. c) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x. d) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶), no espaço subjacente à membrana. Aumento original 25x.

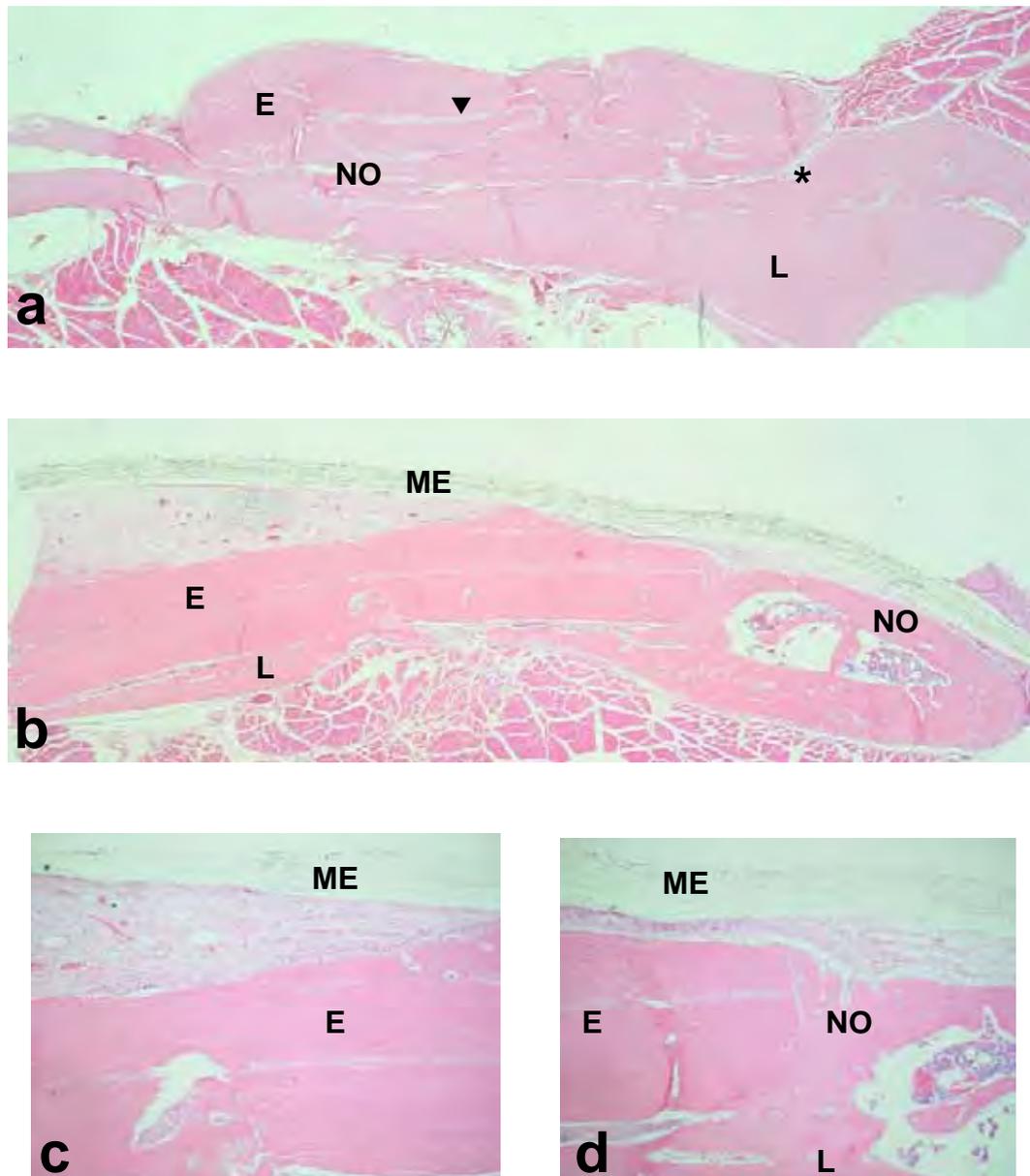


Figura 5.9 – a: grupo OVZ-E45; b, c, d: OVZ-ME45; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com alguma quantidade de tecido conjuntivo interposto (*) e neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto em algumas áreas. Notar ainda amplos espaços medulares (▼) no enxerto (E) Aumento original 25x. b) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com neoformação óssea (NO) unindo o leito ao enxerto e na periferia do enxerto (▶), no espaço subjacente à membrana. Aumento original 25x. c) enxerto (E) recoberto por tecido osteóide sob a membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 100x. d) tecido ósseo neoformado (NO) unido ao leito (L) com amplos espaços medulares, na interface enxerto (E) – leito (L) e na periferia do enxerto. Aumento original de 100x.

5.2.5 Período de 60 dias

Neste período, em todos os grupos o enxerto mostrou-se integrado ao leito receptor. Nos grupos SHAM-E e OVZ-E observou-se acentuada reabsorção do enxerto e áreas de substituição por novo osso. O enxerto do grupo castrado manteve as características observadas nos períodos anteriores, isto é, abundantes espaços medulares no seu interior.

Por outro lado, nos grupos SHAM-ME e OVZ-ME nos quais foi realizado o recobrimento do enxerto com a membrana de PTFE-e, pode-se observar uma maior preservação do volume original do enxerto, além de neoformação óssea periférica, sob os limites de extensão da membrana. O tecido neoformado mostrava-se completamente integrado ao leito receptor e ao enxerto sendo difícil na maioria das vezes delimitar com exatidão os locais de integração. Neste período o tecido ósseo neoformado possuía áreas com arranjo lamelar e lacunas preenchidas por osteócitos, característicos de tecido maduro, e áreas mais eosinofílicas com a presença de linhas reversas, denotando um processo de remodelação local. Entretanto, o grupo OVZ-ME apresentou maior quantidade de espaços medulares tanto no enxerto quanto no tecido neoformado.

A membrana permaneceu íntegra delimitando o enxerto e todo o tecido ósseo neoformado.

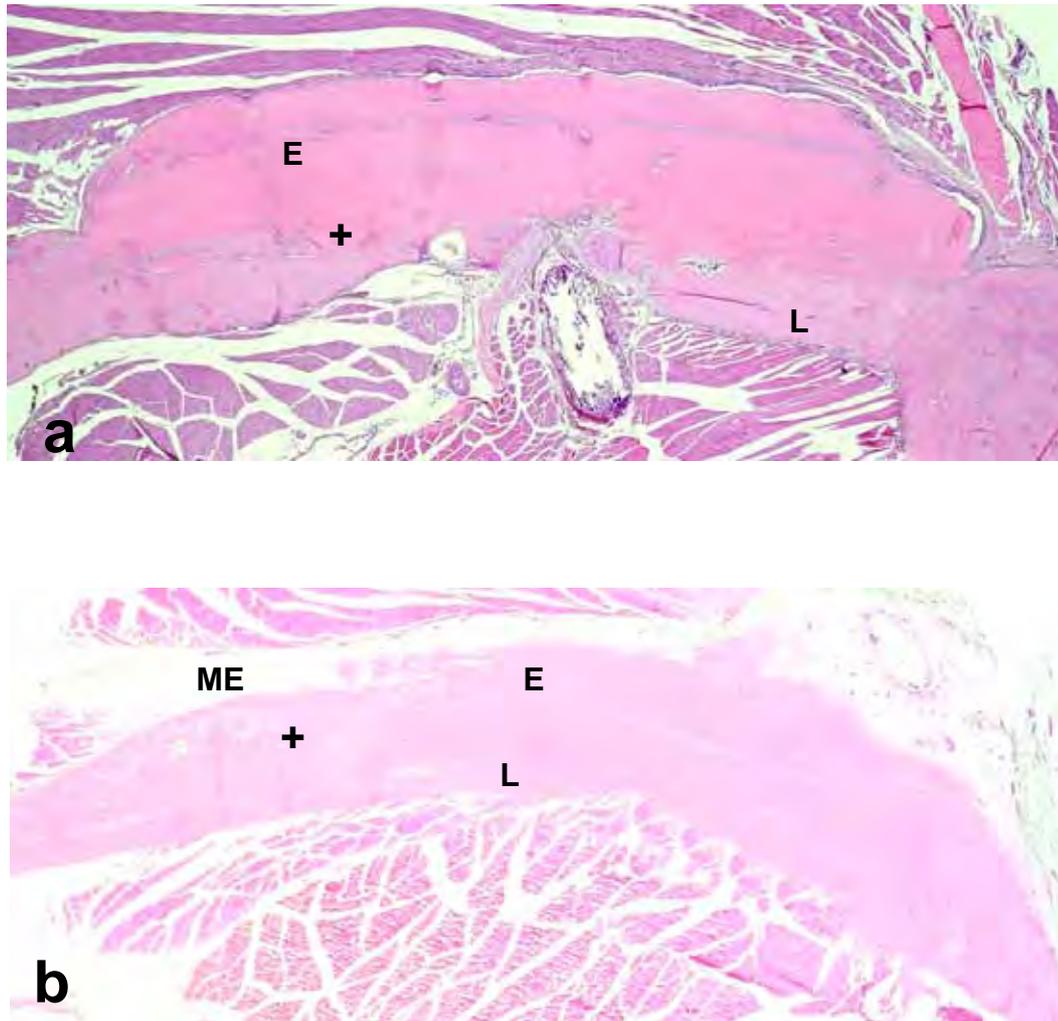


Figura 5.10 – a: grupo SHAM-E60; b: SHAM-ME60; HE. a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com união entre o leito e o enxerto sem limites nítidos (+). Aumento original 25x. b) a) enxerto ósseo (E) e leito receptor (L) com união entre o leito e o enxerto sem limites nítidos (+) e recobrimento pela membrana de PTFE-e (ME). Aumento original 25x.

5.3 Análise histomorfométrica

Os valores de reparação óssea obtidos encontram-se no Apêndice 2. Uma representação dos mesmos é apresentada por meio de gráficos de dispersão (*dot plot*), (Figuras 5.11 e 5.12).

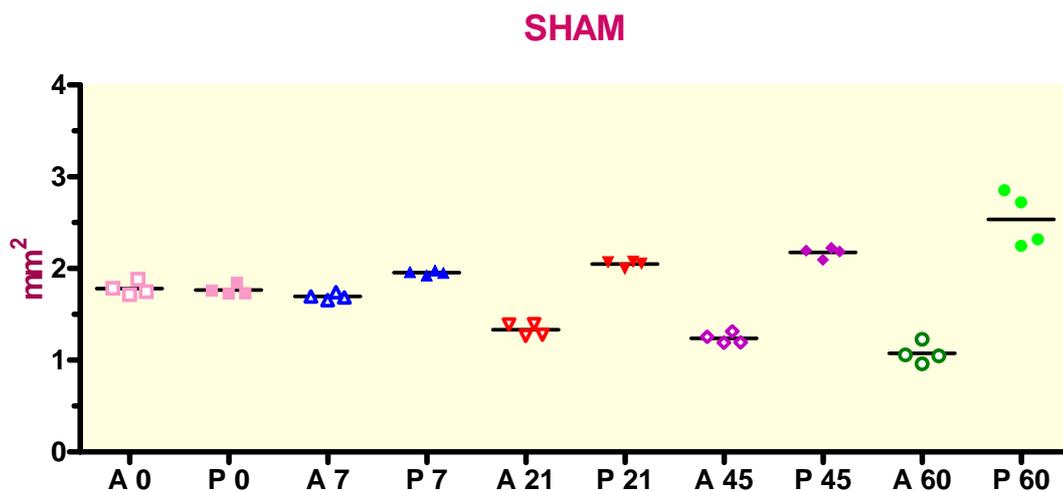


Figure 5.11- Ratas SHAM. Gráfico de pontos (*dot plot*), que indicam a dispersão ao redor da média, para valores de reparação óssea (mm²) obtidos em 4 ratas segundo a presença (P) ou ausência de membrana PTFE-e (A) e os períodos de sacrifícios: 0, 7, 21, 45 e 60 dias

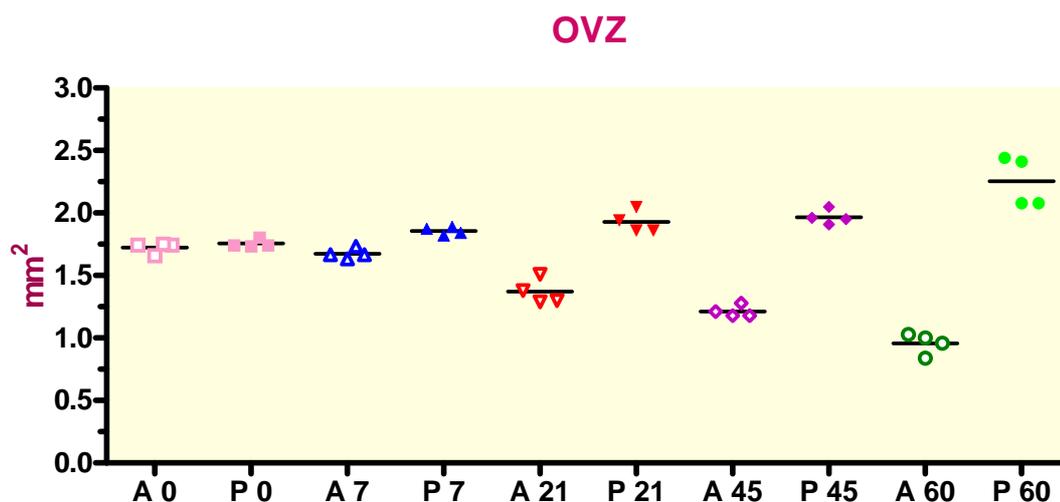


Figure 5.12- Ratas OVZ. Gráfico de pontos (*dot plot*), que indicam a dispersão ao redor da média, para valores de reparação óssea (mm²) obtidos em 4 ratas segundo a presença (P) ou ausência de membrana PTFE-e (A) e os períodos de sacrifícios: 0, 7, 21, 45 e 60 dias

Pode-se observar, por meio das figuras anteriores a ausência de valores atípicos para a maior parte das condições experimentais, seja para o SHAM quanto para o OVZ.

A estatística descritiva (média±desvio padrão) dos dados obtidos é apresentada por meio das Tabelas 2 e 3, mostradas a seguir.

Tabela 2 - Grupo SHAM: Média (±desvio padrão) dos dados de reparação óssea do enxerto (valores em mm²) obtidos sob duas diferentes condições de membrana PTFE-e e cinco diferentes períodos de avaliação

Membrana PTFE-e		
Período (dias)	Ausência	Presença
0	1,783±0,072*	1,766±0,053
7	1,694±0,035	1,954±0,022
21	1,332±0,067	2,049±0,034
45	1,240±0,058	2,176±0,055
60	1,075±0,111	2,536±0,297

*n = 4

Tabela 3 - Grupo OVZ: Média (±desvio padrão) dos dados de reparação óssea do enxerto (valores em mm²) obtidos sob duas diferentes condições de membrana PTFE-e sob cinco diferentes períodos de avaliação

Membrana PTFE-e		
Período (dias)	Ausência	Presença
0	1,725±0,044*	1,756±0,032
7	1,675±0,042	1,856±0,031
21	1,370±0,101	1,928±0,089
45	1,213±0,047	1,968±0,059
60	0,958±0,083	2,253±0,199

*n = 4

Para avaliar o relacionamento entre as variáveis experimentais: condição (SHAM ou OVZ), membrana PTFE-e (ausência ou presença) e períodos de sacrifício sobre a reparação óssea, os dados obtidos neste estudo, foram submetidos ao modelo estatístico da análise de variância, após ser considerado a distribuição dos resíduos.

Os valores resíduos, decorrentes do ajuste do modelo adotado, foram examinados para avaliar a adequabilidade do modelo para válidas inferências estatísticas e foi determinado que os dados originais não propiciaram um ajuste adequado, uma vez que não houve uma distribuição normal de probabilidade (Figura 5.13) e não foi verificada a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade) por meio do gráfico dos valores resíduo em relação aos valores ajustados (Figura 5.14). Nessas condições foi efetuado um estudo de transformações por meio do programa BIOESTAT 2.0 (AYRES et al.³, 1998). A transformação logarítmica (ln) foi a indicada pelo programa conforme a transformação BOX-COX. As figuras 5.15 e 5.16 ilustram a distribuição dos resíduos após a transformação.

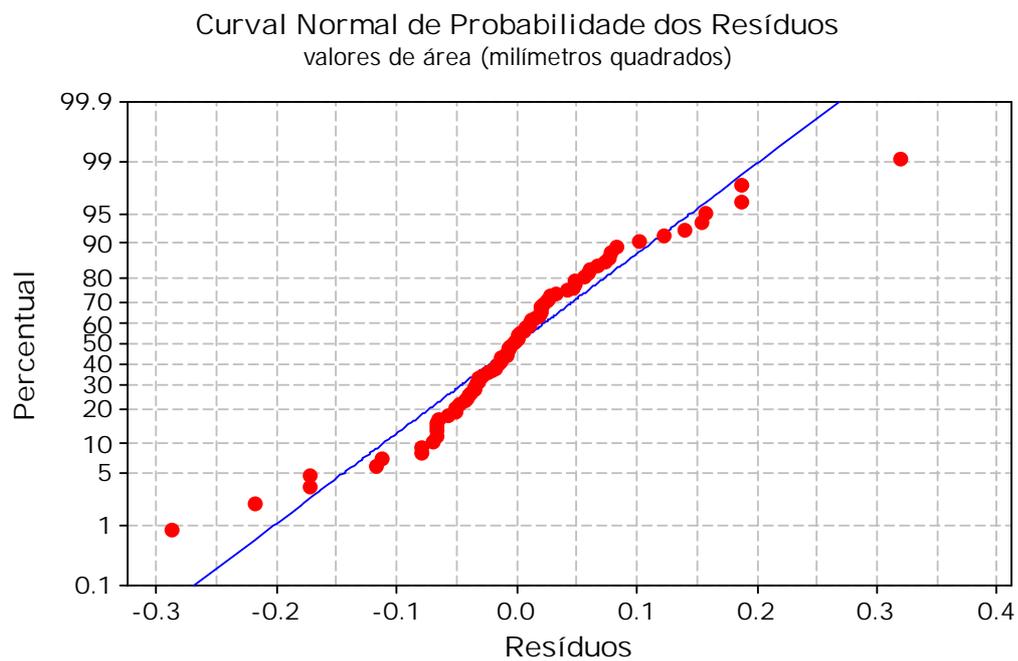


Figura 5.13-Curva normal dos valores resíduos do modelo ANOVA para verificar a distribuição dos resíduos

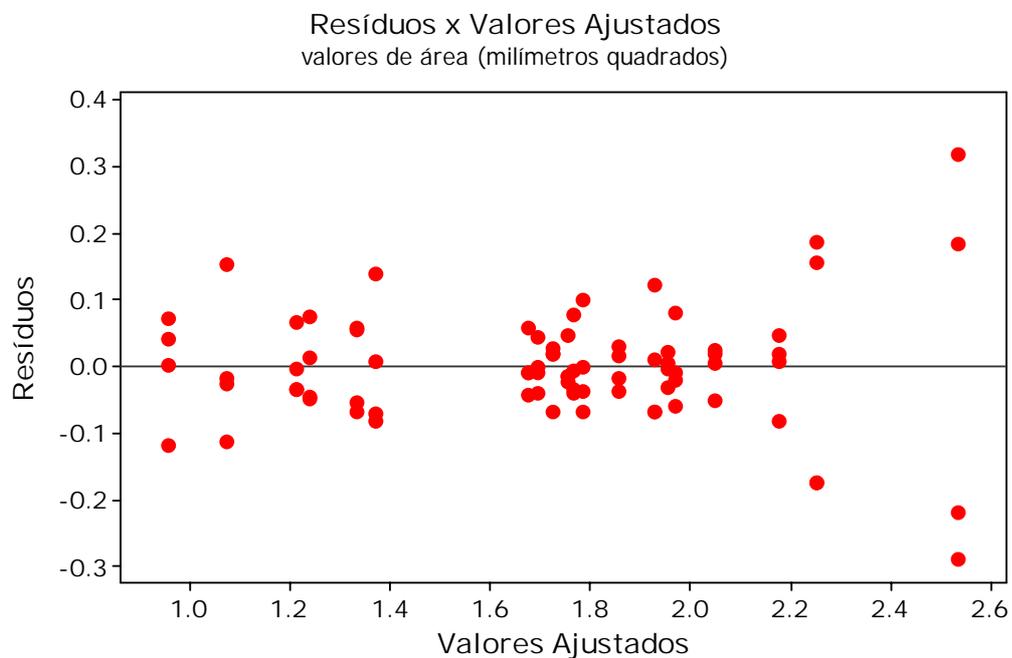


Figura 5.14-Diagrama de dispersão dos valores resíduos do modelo ANOVA em relação aos valores ajustados pelo modelo para verificar a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade)

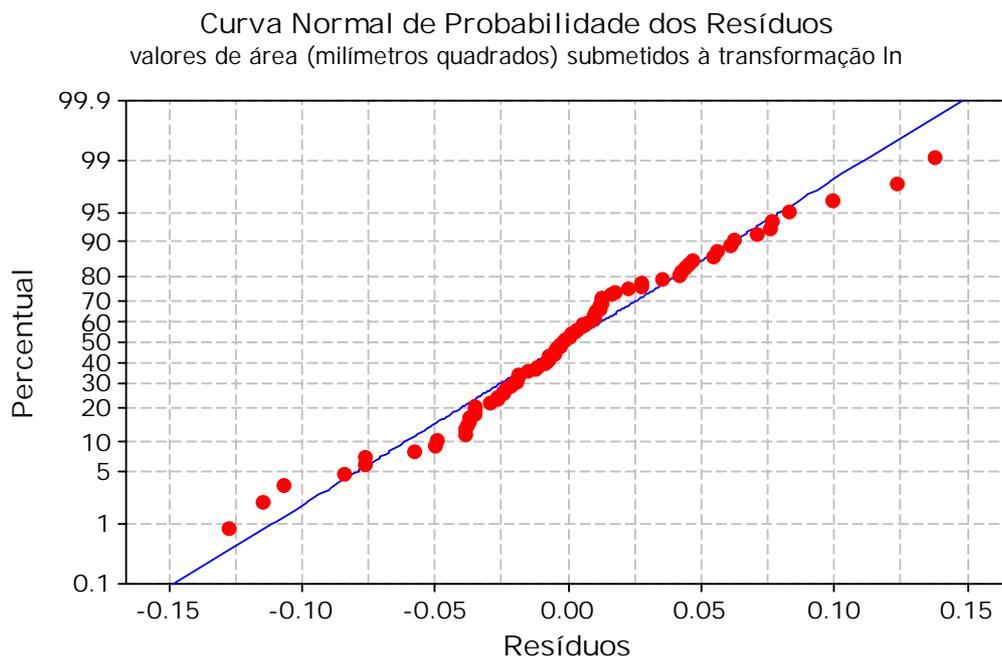


Figura 5.15- Curva normal dos valores resíduos do modelo ANOVA para verificar a distribuição dos resíduos após transformação ln

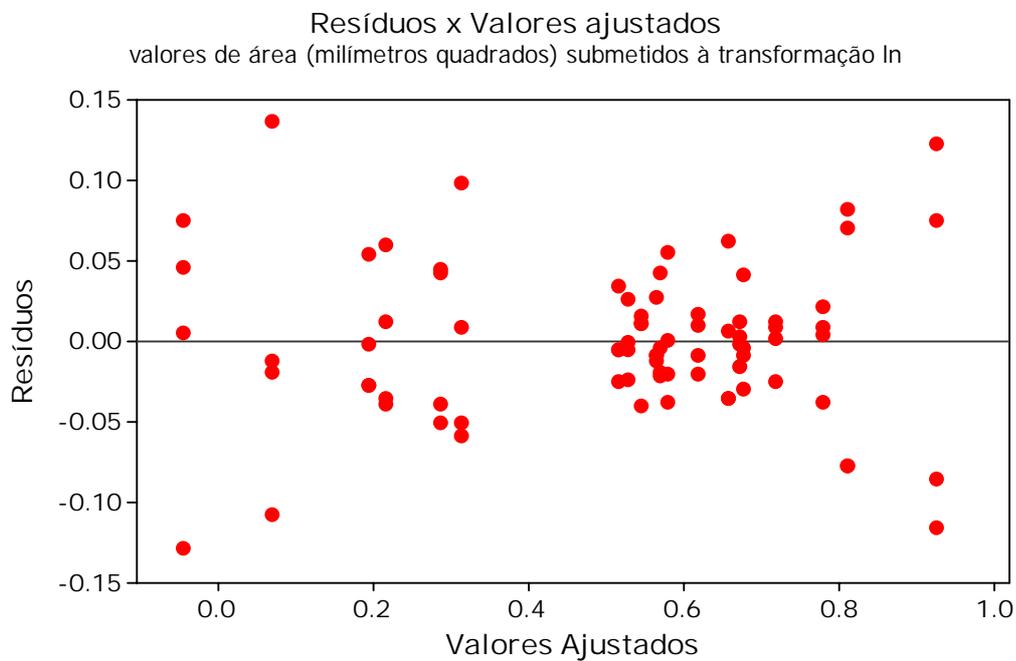


Figura 5.16- Diagrama de dispersão dos valores resíduos do modelo ANOVA em relação aos valores ajustados pelo modelo para verificar a uniformidade dos resíduos (homocedasticidade) após a transformação ln

O resultado do teste ANOVA (três fatores) é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - ANOVA para os dados obtidos (após a transformação ln)

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Condição	1	0,04768	0,04768	15,74	0,0002
Membrana	1	2,87057	2,87057	947,39	0,0000
PTFE-e					
Período	4	0,24750	0,06187	20,42	0,0000
Condição x	1	0,00669	0,00669	2,21	0,1427
Membrana					
PTFE-e					
Condição x	4	0,02699	0,00675	2,23	0,0767
Período					
Membrana	4	1,81988	0,45497	150,16	0,0001*
PTFE-e x					
Período					
Condição x	4	0,00984	0,00246	0,81	0,5226
Membrana					
PTFE-e x					
Período					
Resíduo	60	0,18180	0,00303		
Total	79	5,21093			

*p<0,05

Pode-se verificar, por meio do teste ANOVA, que o efeito interação das variáveis membrana PTFE-e e período foi o único estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Assim, pode-se estabelecer que o relacionamento entre o fator membrana PTFE-e e os períodos de sacrifício obtido na condição SHAM não é estatisticamente diferente do relacionamento dessas duas variáveis para a condição OVZ, como se pode observar nas figuras 5.17 e 5.18.

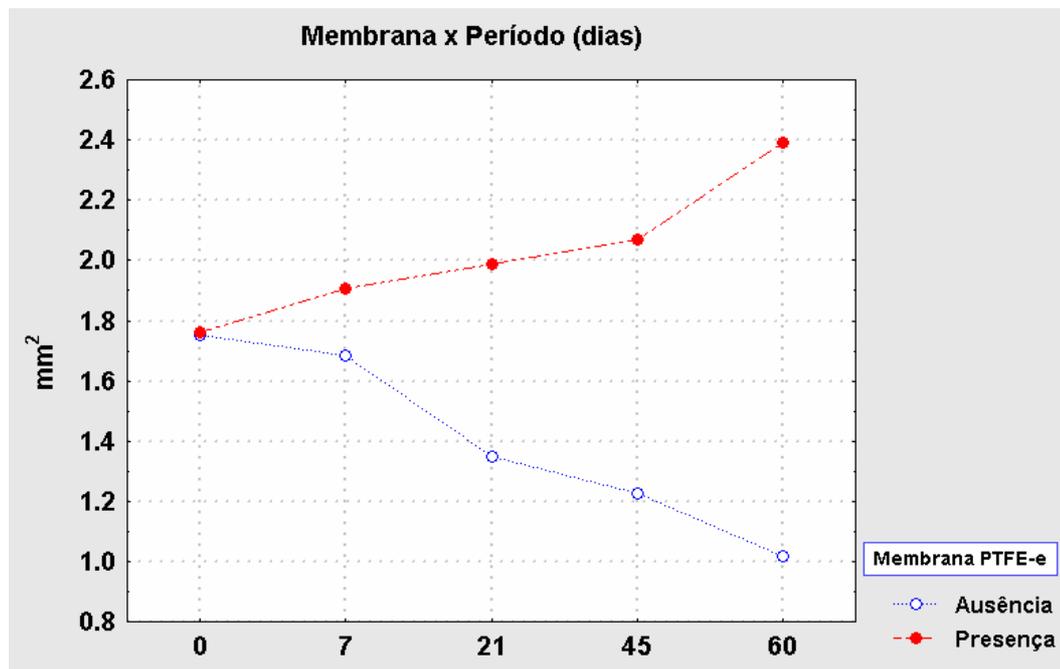


Figura 5.17 - Gráfico de médias referente às condições membrana PTFE-e e período (dias) para os valores de área (mm²) do enxerto

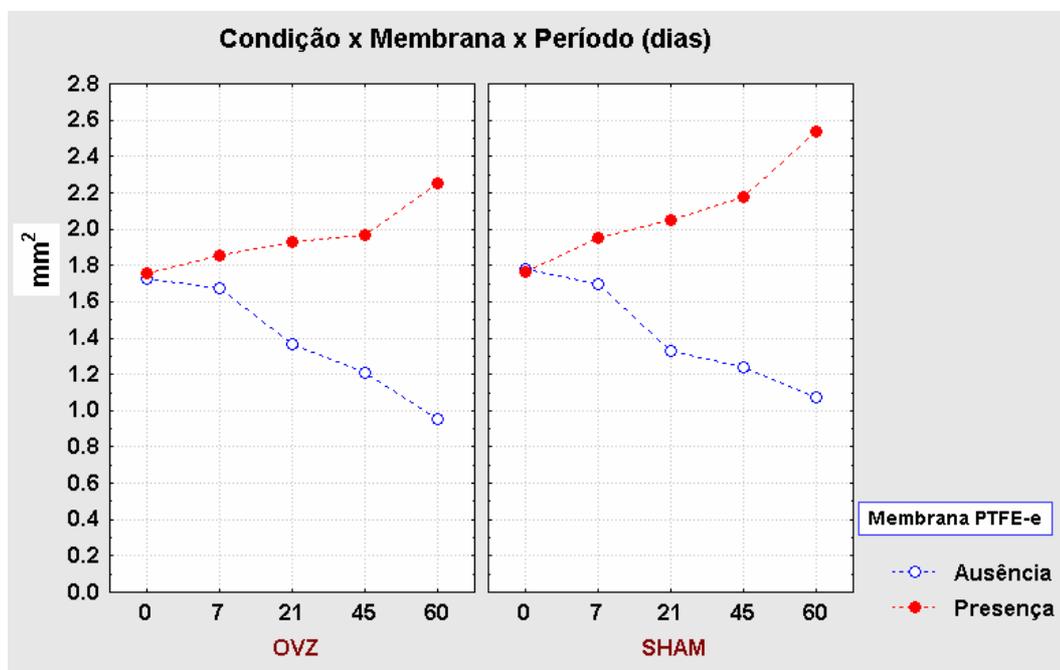


Figura 5.18 - Gráfico de médias referente às condições experimentais para os valores de área do enxerto (mm²)

Os valores médios das condições experimentais membrana PTFE-e e períodos (dias) são comparados entre si, por meio do teste de Tukey (5%). O resultado do teste é apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Formação de grupos de mesmo desempenho quanto à área por meio do Teste de Tukey (5%)

Membrana PTFE-e	Período (dias)	Média de área (mm ²)	Grupos Homogêneos
Ausência	0	0,5612	CD
	7	0,5211	D
	21	0,2991	E
	45	0,2030	F
	60	0,0108	G
Presença	0	0,8672	A
	7	0,7267	B
	21	0,6862	B
	45	0,6438	BC
	60	0,5655	CD

A ≠ B ≠ C ≠ D ≠ E ≠ F ≠ G, α = 5%

6 DISCUSSÃO

Considerando a importância da osteoporose na saúde pública e o aumento da expectativa de vida da população, que faz com que nos dias atuais as mulheres vivam mais de um terço de suas vidas após a menopausa (WHO⁵⁸, 2003), o presente estudo buscou avaliar, através de ratas Wistar ovariectomizadas como modelo experimental, a regeneração óssea de enxertos ósseos autógenos associados ou não à membranas de PTFE-e em condições semelhantes às aquelas encontradas na osteoporose pós-menopausa.

A escolha do rato como modelo experimental baseou-se no fato de se tratar de um modelo já consagrado em função do baixo custo, facilidade de armazenamento e boa disponibilidade (KALU et al.³², 1989). Além da facilidade logística, as semelhanças na patogênese da osteopenia encontrada entre o humano e o rato também foram consideradas. Apesar de não experimentarem menopausa natural, a rata após sofrer a remoção ovariana e conseqüente deficiência estrogênica, passa a ter uma diminuição da massa óssea que após um período de perda acelerada, segue por uma desaceleração e continua estável em uma fase de platô (SEJNFELD⁵³, 2000).

As alterações ósseas encontradas nestes animais após a deficiência estrogênica são denominadas osteopenia ao invés de osteoporose, uma vez que estes animais, ao contrário do humano, não sofrem fraturas por traumas de baixo impacto. Isto é explicado pelo ganho de peso desses animais provocado pela hiperfagia pós-ovariectomia, que leva à uma compensação da massa óssea devido ao aumento da carga mecânica(KALU et al.³², 1989; TURNER⁵⁶, 2001), fato este observado também neste trabalho. A média dos pesos dos animais do grupo OVZ

(301,55g) após a ovariectomia foi significativamente maior que a do grupo SHAM (281,57g). Enquanto todos os animais do grupo OVZ tiveram ganho de peso após a ovariectomia, os animais do grupo SHAM tiveram um comportamento mais heterogêneo. Metade dos animais (n=20) apresentaram ganho de peso e os demais (n=20) perda de peso. Não existe na literatura nenhuma explicação científica para estes dados. Entretanto, é opinião dos autores deste trabalho que esta variabilidade é inerente às particularidades metabólicas de cada animal, visto que era possível distinguir clinicamente que alguns animais apresentavam um desenvolvimento maior que outros.

Existem outras similaridades entre a osteopenia pós-deficiência estrogênica de ratas e a osteoporose pós-menopausa. A perda óssea vivenciada por ratas ovariectomizadas é mais marcante nas vértebras do que no fêmur, fato consistente com a maior perda de osso trabecular do que cortical nos estágios iniciais da osteoporose pós-menopausa (KALU³², 1989).

A reconstrução de rebordos atróficos com enxertos ósseos autógenos é tema de diversos estudos realizados em animais (DADO & IZQUIERDO¹⁰, 1989; HARDESTY et al.²⁵, 1990; DONOVAN et al.¹⁹, 1993) e humanos (BREINE & BRÅNEMARK⁵, 1979; MISCH & MISCH⁴⁴, 1995; BECKER et al.⁴, 1996; RAGHOEBAR et al.⁵⁰, 1996; WILLIAMSON et al.⁵⁷, 1996; GARG et al.²¹, 1998; PIKOS⁴⁸, 2000), tendo áreas doadoras intra e extra-bucais. A opção pela utilização do modelo animal escolhido já foi discutida anteriormente. A utilização da calvária como área doadora e a mandíbula como área receptora baseou-se na mesma origem embrionária e a menor reabsorção observada nestes enxertos de acordo com outros estudos realizados (DADO & IZQUIERDO¹⁰, 1989; DONOVAN et al.¹⁹, 1993; DONOS et al.¹⁶⁻¹⁹, 2002).

Concomitantemente aos estudos com enxertos ósseos autógenos onlay, o princípio da regeneração tecidual guiada passou a ser aplicado também em tecido ósseo (KARRING et al.³³, 1993; BECKER et

al.⁴, 1996), passando a ser denominada regeneração óssea guiada (ROG). A utilização de membranas de PTFE-e na ROG baseia-se na biocompatibilidade do material, a capacidade de manutenção de espaço para que haja a migração de células osteogênicas e fluídos, ao mesmo tempo que promove o isolamento de células sem potencial osteogênico (DAHLIN et al.¹², 1990; BUSER et al.⁶, 1996).

Uma das hipóteses testadas neste trabalho foi confirmar os resultados obtidos por Jardini et al.²⁷ (2005) e aplicar o modelo experimental proposto por tais autores em animais com deficiência estrogênica.

Os resultados obtidos mostraram que a associação do princípio da ROG ao enxerto ósseo autógeno onlay proporcionou melhores resultados do que a utilização isolada do enxerto em ambos os grupos experimentais (SHAM e OVZ). Enquanto o grupo SHAM-E apresentou uma perda média de volume original do enxerto de 39,8% (SHAM-E0 = 1,783 mm²; SHAM-E60 = 1,075 mm²), o grupo SHAM-ME mostrou um ganho médio de 43,6% na área (SHAM-ME0 = 1,766 mm²; SHAM-ME 60 = 2,536 mm²).

O mesmo pode ser observado no grupo OVZ no qual constatou-se perda média de área do enxerto de 44,5% nos animais em que o enxerto não foi recoberto pela membrana de PTFE-e (OVZ-E0 = 1,725 mm²; OVZ-E60 = 0,958 mm²) e ganho médio de área de 28,3% nos animais com recobrimento do enxertos pela membrana (OVZ-ME0 = 1,756 mm²; OVZ-ME60 = 2,253 mm²).

Estes resultados corroboram com os de outros estudos que mostraram integração ao leito receptor e manutenção do volume dos enxertos ósseos colocados na calvária de ratos e coelhos (RASMUSSEN et al.⁵¹, 1999), ou na mandíbula de cães (JENSEN et al.²⁸, 1991) e ratos (DONOS et al.¹⁶⁻¹⁹, 2002; JARDINI et al.²⁷, 2005), quando associados com a técnica de ROG.

A explicação para estes dados pode ser dada pelo princípio da ROG, que se baseia na utilização uma membrana inerte semi-permeável que permita a difusão de fluídos e nutrientes ao mesmo tempo que impeça a migração de células provenientes do tecido conjuntivo sem potencial osteogênico, propiciando um ambiente favorável à proliferação de células com esta capacidade (GORDH et al.²², 1998).

A perda de volume ósseo do enxerto observada nos grupos sem associação da membrana de PTFE-e também foi observada por outros autores. Uma das explicações refere-se à origem embriológica dos enxertos. Os enxertos ósseos de origem intramembranosa, como da crista ilíaca, utilizados na reconstrução esqueleto crânio-facial sofrem menor reabsorção do que os de origem endocondral, como da calvária e mandíbula (DADO & IZQUIERDO¹⁰, 1989; HARDESTY & MARSH²⁵, 1990; DONOVAN et al.¹⁹, 1993; MISCH et al.⁴³, 1992). Dado & Izquierdo¹⁰ (1989) avaliaram a reabsorção de enxertos de origem intramembranosa e endocondral na calvária de coelhos. Os dados encontrados mostraram diferenças estatisticamente significantes após 21 semanas de observação. Os enxertos de origem endocondral apresentaram 78% de redução no volume original, enquanto que os de origem intramembranosa a redução foi de 50%. Devido às dificuldades inerentes ao modelo experimental de se utilizar como região doadora a mandíbula, optou-se pela calvária para que não se tivesse prejuízo de resultados relacionado à origem embrionária.

Entretanto, a idéia de que apenas a origem embrionária é responsável pela maior reabsorção dos enxertos de origem endocondral deve ser considerada com parcimônia. A arquitetura óssea que está relacionada com a origem a origem embrionária também deve ser considerada (LA TRENTA et al.³⁵, 1989; HARDESTY & MARSH²⁵, 1990). Ossos de origem intramembranosa apresentam maior quantidade de espaços medulares e, portanto, maior potencial osteogênico que ossos compactos. Além disso, a revascularização dos enxertos esponjosos

acontece de forma mais rápida, permitindo a sua substituição completa e contribuindo para a manutenção da vitalidade (DADO & IZQUIERDO¹⁰, 1989; BUSER et al.⁶, 1995). Por outro lado, a revascularização do enxerto cortical é resultado da reabsorção periférica por osteoclastos e da infiltração vascular dos canais haversianos pré-existentes. A atividade osteoclástica no interior do enxerto cortical amplia as cavidades haversianas, sem a remoção significativa de lamelas necrosadas, até que se atinja um tamanho ideal destas cavidades. Neste momento ocorre uma diminuição da reabsorção e osteoblastos passam a colonizar o local dando início à aposição óssea. Esta dinâmica de reconstrução observada no interior do enxerto é denominada *creeping substitution*. Além disso, existe um número limitado de células do endóstio disponíveis para auxiliar a formação de anastomoses vasculares quando comparado ao enxerto medular. Este último aspecto condiz com o observado no presente estudo, desde que o enxerto utilizado era constituído por duas corticais envolvendo uma região central medular.

Outro fator a ser considerado na integração e remodelação dos enxertos ósseos autógenos em bloco é a descorticalização do leito receptor. Uma maior incorporação do enxerto foi observada quando se realizavam perfurações na cortical do leito receptor (GORDH et al.²², 1998) e também no enxerto, buscando a exposição dos espaços medulares com intuito de facilitar a angiogênese local. Contudo, a manutenção do volume do enxerto não mostrou influência por este fator em nenhum dos estudos citados. A importância da imobilização do enxerto reside nas mesmas considerações, ou seja, a manutenção das anastomoses vasculares formadas e o conseqüente suprimento de nutrientes e oxigênio para as células responsáveis pelo reparo (LA TRENTA et al.³⁵, 1989).

Neste trabalho, as perfurações realizadas no centro do enxerto e no leito receptor para a sua fixação foram suficientes para o provimento vascular, em função da reduzida espessura tanto do enxerto

quanto do leito. Este fato pode ser evidenciado pela completa integração do enxerto nos períodos finais de observação em ambos os grupos (SHAM e OVZ).

No que tange à previsibilidade dos resultados, a associação da ROG ao enxerto autógeno em bloco mostrou bons resultados. Tanto o grupo SHAM-E quanto OVZ-E mostraram significativa perda do volume ósseo. Em nenhum dos 20 cortes analisados para cada um dos grupos E0 e E60 observou-se manutenção ou ganho de área do enxerto. Paradoxalmente, todos os cortes analisados para os grupos ME0 e ME60 demonstraram aumento de área óssea, ou seja, manutenção do volume original do enxerto e neoformação óssea periférica. Esta importante constatação encontra fundamentação na literatura por trabalhos que demonstraram a previsibilidade da técnica de ROG na reconstrução lateral do rebordo alveolar (BUSER et al.⁶, 1996; LIOUBAVINA et al.³⁸, 1999; LORENZONI et al.³⁹, 1999, HÄMMERLE & JUNG²⁴, 2003; IMAZATO et al.²⁶, 2004; JARDINI et al.²⁷, 2005), assim como na reconstrução vertical do rebordo (SIMION et al.⁵², 1998).

Entretanto, algumas precauções devem ser tomadas para se ter sucesso com a técnica da ROG. A imobilização da membrana e a sua extensão além das margens do enxerto são fundamentais para que não ocorra a migração de células sem potencial osteogênico provenientes dos tecidos moles adjacentes (BUSER et al.⁶, 1995; MARDAS et al.⁴¹, 2002; JARDINI et al.²⁷, 2005). Da mesma forma, o deslocamento ou a remoção da membrana precoce da membrana também podem impedir o isolamento de células não osteogênicas e interferir na previsibilidade da técnica, conforme os estudos de Lekholm et al.³⁶ (1993), Gordh et al.²² (1998) e Rassmusson et al.⁵¹ (1999). Sendo assim, Buser et al.⁶ (1994) sugeriram um período de 9 meses de espera para a cirurgia de segundo estágio quando da associação da ROG ao enxerto ósseo autógeno em bloco. A utilização da ROG isoladamente, sem associá-la ao enxerto autógeno também mostrou resultados não satisfatórios devido ao colapso

sofrido pela pressão dos tecidos adjacentes. O enxerto se prestaria à manutenção do espaço sob à membrana e daria suporte à mesma (DAHLIN et al.¹³, 1991; JOVANOVIC et al.³⁰, 1992). A interferência de tecido conjuntivo originário de suturas de crescimento sagital e coronal também foi relatada por HÄMMERLE et al.²³ (1995) em um estudo sobre a ROG em defeitos na calvária de coelhos. Desta forma, optou-se neste trabalho em utilizar uma membrana de PTFE-e que se estendesse de 2 a 3 mm além das margens do enxerto, sendo a mesma estabilizada com uma sutura em “X” através de perfurações realizadas no leito receptor.

O processo de reparo dos enxertos ósseos autógenos em bloco associados ou não à membrana de PTFE-e também foi objeto de avaliação do presente estudo.

O período zero foi utilizado como parâmetro para as medições de área nos períodos de observação. Os resultados encontrados aos setes dias vão de encontro ao trabalho realizado em cães por Jensen et al.²⁸ (1991). Neste período foi observada proliferação de tecido conjuntivo bem vascularizado proveniente do tecido adjacente, nos grupos SHAM-E e OVZ-E, assim como atividade osteoclástica incipiente na superfície externa do enxerto. A existência de lacunas sem osteócitos nas camadas mais superficiais denotam a desvitalização destas camadas, que posteriormente serão substituídas no processo de remodelação. Por se tratar de uma camada cortical, a difusão de nutrientes dos tecidos adjacentes fica prejudicada.

A quantidade de tecido conjuntivo interposto e sobre a superfície externa do enxerto era menor nos grupos SHAM-ME e OVZ-ME, fato não observado por Jardini et al.²⁷, 2005. A explicação para este fato está na cobertura de 2 a 3 mm além das margens do enxerto neste estudo, fato este não encontrado no trabalho citado.

Aos 21 dias de observação, nos grupo SHAM-E e OVZ-E, pode-se notar pela presença de várias lacunas de reabsorção (Howship) extensa reabsorção das bordas laterais e da superfície superior do

enxerto. Na interface havia deposição de tecido ósseo imaturo com pontos focais de união entre o leito e o enxerto, juntamente com tecido conjuntivo interposto. Em contrapartida, os grupos SHAM-ME e OVZ-ME apresentaram menor quantidade de lacunas de Howship e deposição de tecido ósseo sem organização lamelar na interface, bordas laterais e superfície superior. Uma maior quantidade de pontos de união foi observada na interface e alguns pontos nas superfícies laterais. Neste período, as diferenças entre os grupos sem e com associação da membrana de PTFE-e começam a se tornar evidentes, pois a análise histológica descritiva dos grupos E denotou reabsorção significativa das bordas laterais, enquanto que nos grupos ME observou-se neoformação de osso imaturo além dos limites do enxerto, na interface e no espaço subjacente à membrana.

Nos períodos finais de observação, isto é, 45 e 60 dias as diferenças entre os grupos tornaram-se bem marcantes. Apesar do enxerto estar totalmente integrado ao leito no período de 60 dias em todos os grupos, foi observada acentuada reabsorção nos grupos E. por outro lado, nos grupos ME observou-se fusão do enxerto ao leito e ao tecido ósseo neoformado na periferia, que em algumas áreas assumia uma disposição lamelar, típica de tecido ósseo maduro.

A reabsorção da superfície do enxerto verificada neste trabalho desde o período de sete dias e a incorporação do enxerto ao leito é explicada como um processo que engloba um complexo de osso necrótico com novo osso viável, o qual se desenvolve através da reabsorção do primeiro e substituição pelo segundo, graças a proliferação vascular. A penetração vascular do enxerto cortical é primariamente resultado da atividade osteoclástica periférica e infiltração vascular dos canais de Volkmann e Havers como citado anteriormente. Uma vez estabelecida a revascularização da periferia do enxerto, o processo acontece gradualmente no seu interior. Isto evidencia que a remodelação óssea está relacionada à proliferação vascular. Este processo de

revascularização dos enxertos ósseos corticais, em ratos, pode se completar dentro de um ou dois meses (DE MARCO et al.¹⁵, 2005).

Entretanto, De Marco et al.¹⁵ (2005) observaram que a revascularização do enxerto sem recobrimento por membrana ocorreu a partir de vasos originários também do tecido conjuntivo circunjacente, e que esta aconteceu mais rapidamente do que nos grupos com associação da membrana. Isto tornaria o processo de substituição do enxerto mais rápido e poderia justificar a maior reabsorção observada nos grupos E.

Apesar de não serem encontrados dados significativamente diferentes do ponto de vista estatístico entre os grupos SHAM e OVZ, uma característica marcante foi constante na análise histológica descritiva dos animais submetidos à ovariectomia. Tanto o leito receptor quanto o enxerto mostraram maior quantidade e diâmetro de espaços medulares, sendo inclusive possível, algumas vezes, identificar traves de tecido conjuntivo no interior. Estas características denotam a influência da osteopenia, em função da deficiência estrogênica, na arquitetura óssea, conforme a literatura (WHO⁵⁸, 2003). Segundo Manolagas et al.⁴⁰ (1995) a diminuição da massa óssea, também denominada osteopenia, é resultado da excessiva osteoclastogênese e inadequada osteoblastogênese, que causam o desequilíbrio entre a formação e reabsorção ósseas, com prejuízo para a primeira.

Além disso, a maior quantidade de espaços medulares poderia favorecer uma revascularização mais acelerada do enxerto, levando a uma substituição mais acelerada. Porém, em função do desequilíbrio entre a formação e reabsorção, o tecido ósseo neoformado teria uma densidade óssea menor. A conjunção destes fatores poderia contribuir de forma negativa na osseointegração de implantes instalados nestas situações.

Neste estudo, a osteopenia foi induzida através de ovariectomia dos animais. Segundo Wronski et al.⁵⁹ (1987) a ovariectomia é um bom modelo de indução de osteopenia em ratas porque estas

desenvolvem alterações ósseas severas dentro de poucas semanas após a remoção dos ovários. Kalu et al.³² (1989) preconiza que a idade ideal para a realização da ovariectomia em ratas é aos 3 meses de idade, pois neste período estão em fase de reprodução e são capazes de responder adequadamente à deficiência de hormônios sexuais, adquirida como seqüela da ovariectomia.

Isto justifica a realização da ovariectomia em animais com 3 meses de idade nesse trabalho. Aguardou-se ainda um período de trinta dias para que os efeitos na perda óssea fossem estabelecidos. Omi & Ezawa⁴⁷ (1995), utilizaram um modelo de ratas ovariectomizadas e verificaram que após um mês da ovariectomia a densidade mineral óssea das vértebras lombares e da metáfise proximal da tíbia já se apresentava menor do que no grupo falsamente operado. Wronski et al.⁶⁰ (1988) observaram osteopenia e aumento do índice de reabsorção óssea aos 14 dias após a cirurgia, que se tornou gradualmente mais pronunciada até se estabilizar por volta dos cem dias.

Entretanto, a densidade óssea não foi objeto de estudo deste trabalho. A quantificação dos espaços medulares nos grupos SHAM e OVZ, assim como a densidade mineral óssea não foram avaliadas inferencialmente.

Apesar das limitações na extrapolação dos resultados obtidos para humanos, pode-se avaliar que a associação da ROG aos enxertos ósseos autógenos em bloco é uma técnica previsível, que demanda uma curva de aprendizado, para que se atinjam os resultados postulados por Buser et al.⁶ (1996).

A utilização dos enxertos ósseos autógenos isoladamente também exige perícia do operador. No entanto, o risco de infecção por exposição da membrana é menor, apesar do resultado final ser, conforme os resultados obtidos, perda do volume original do enxerto.

De qualquer forma, a opção pelo tipo de tratamento deve ser embasada nas particularidades de cada caso, conciliando fundamentação científica e familiaridade com a técnica.

Com relação à influência da osteopenia, pode-se notar que a integração do enxerto ao leito e o comportamento do enxerto quando associado ou não à membrana de PTFE-e se deu de forma semelhante nos animais castrados e submetidos à castração simulada. Desta forma, não é possível qualquer ilação sobre a viabilidade dos enxertos no grupo OVZ, sendo necessários outros estudos para tanto.

7 CONCLUSÃO

Frente à metodologia empregada neste trabalho élcito concluir-se que:

- a) os enxertos não recobertos pela membrana de PTFE sofreram significativa reabsorção, enquanto que a associação da BGA os enxertos proporcionou a manutenção do seu volume original e neoformação ósea preenchendo o espaço subjacente à membrana de PTFE.
- b) a osteopenia resultante da ovariectomia não influenciou quantitativamente a reparação do enxerto óseo associado ou não à membrana de PTFE.
- c) a análise histológica descritiva possibilitou observar maior quantidade de espaços medulares no enxerto, leito e osso neoformado dos grupos ovariectomizados.

8 REFERÊNCIAS*

- 1 ADEL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw **Int J Oral Surg**, v.10, n.6, p.387-416, 1981.
- 2 ALONSO, N. et al. Cranial versus iliac onlay bone grafts in the facial skeleton: a macroscopic and histomorphometric study **J Craniofac Surg**, v.6, n.2, p.113-118, Mar.1995.
- 3 AN, M. et al. **BioEstat: aplicações nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Manaus: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília: CNPq, 1998.
- 4 BREWSTER, et al. Clinical and histologic observations of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts. 15 human case reports. **J Periodontol**, v.67, n.10, p.1025-1033, Oct. 1996.
- 5 NEUMARK, P. Construction of alveolar jawbone. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v.14, p.23-48, 1980.
- 6 BRIDGEMAN, et al. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study in 40 partially edentulous patients. **J Oral Maxillofac Surg**, v.54, n.4, p.420-432, 1996.

- 7 CHIAPASCO, M. et al. Clinical outcome of autogenous bone blocks or guided bone regeneration with e-PTFE membranes for the reconstruction of narrow edentulous ridges. **Clin Oral Impl Res**, v.10, p278-288, 1999.
- 8 CHIS, TA. & MLIAM, W. Autogenous bone grafts for atrophic edentulous mandibles: a review of twenty patients. **J Prosth Dent**, v49, n2, p212-216, Feb.1983.
- 9 DADO, DV. & ZIBO, R. Absorption of onlay bone grafts in immature rabbits: membranous versus endocranial bone and bone struts versus paste. **Ann Plast Surg**, v23, p39-48, 1989.
- 10 DAHLIN, C. et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plast Reconstr Surg**, v85, n5, p672-676, 1988.
- 11 DAHLIN, C. et al. Healing of maxillary and mandibular bone defects by a membrane technique: an experimental study in monkeys. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v24, p13-19, 1990.
- 12 DAHLIN, C. et al. Osteopromotion for cranioplasty: An experimental study in rats using a membrane technique. **J Neurosurg**, v74, p487-491, 1991.
- 13 DAO, T.T.; ANDERSON, D.; ZARBA. Is osteoporosis a risk factor for osseointegration of dental implants? **Int Oral Maxillofac Implants**, v8, p137-144, 1993.

- 14 DEMARO, AC; ABINI, MAN; LIMA, LA. Vascularization of autogenous blockgrafts with or without an e-PTFE membrane. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v20, n2, p867-874, 2005.
- 15 DONOS, N; KOSTOPOULOS, L; KRINGS T. Augmentation of the mandible with TR and onlay cortical bone grafting. An experimental study in the rat. **Clin Oral Impl Res**, v.13, 175-184, 2002.
- 16 DONOS, N; KOSTOPOULOS, L ; KRINGS T. Alveolar ridge augmentation by combining autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes. An experimental study in the rat. **Clin Oral Impl Res**, v.13, 185-191, 2002.
- 17 DONOS, N; KOSTOPOULOS, L; KRINGS T. Augmentation of the rat jaw with autogeneic cancellous bone grafts and guided tissue regeneration. **Clin Oral Impl Res**, v.13, 192-202, 2002.
- 18 DONOVAN, MG et al . Autologous calvarial and iliac onlay bone grafts in miniature swine. **J Oral Maxillofac Surg**, v51, p898-903, 1993.
- 19 FOST, HM. The role of changes in mechanical usage set points in the pathogenesis of osteoporosis. **J Bone Min Res**, v7, n3, p253-261, 1992.
- 20 BRANK et al. Autogenous mandibular bone grafts in the treatment of the resorbed maxillary anterior alveolar ridge: rationale and approach **Impl Dent**, v7, n3, p169-174, 1998.

- 21 GBH, M. et al. Osteoprom otive membranes enhance onlay integration and maintenance in the adult rat skull. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v27, p67-73, 1998.
- 22 HÄMMERICH, et al. Temporal dynamics of healing in rabbit cranial defects using guided bone regeneration. **J Oral Maxillofac Surg**, v53, p167-174, 1995.
- 23 HÄMMERICH; UGR Bone augmentation by means of barrier membranes. **Periodontology 2000**, v33, p36-53, 2003.
- 24 HABSTYR, & MASH, U. Craniofacial onlay bone grafting: a prospective evaluation of graft morphology orientation, and embryonic origin. **Plast Reconstr Surg**, p5-14, an.1990.
- 25 IMAZATO, S; FUKUSHI, K Potential efficacy of CR and autogenous bone graft for autotransplantation to recipient sites with osseous defects: evaluation by re-entry procedure. **Dental Traumatology**, v20, p42-47, 2004.
- 26 ABINI, MAN; DEMARO, AC; LIMA, LA. Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes: A histomorphometric study in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v100, p666-673, 2005.
- 27 SINDI-PERIN, S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants for reconstruction of the severely atrophic maxilla: a preliminary report. **J Oral Maxillofac Surg**, v49, p1277-1287, 1991.

- 36 LINDSAY R Prevention and treatment of osteoporosis. **Lancet**, v341, n27, p801-805, Mar.1993.
- 37 LIOUVINA, N. et al. Long-term stability of jawbone tuberosities formed by guided tissue regeneration." **Clin Oral Impl Res**, v. 10, p477-486, 1999.
- 38 LOZONI, M. et al. Guided bone regeneration with barrier membranes –a clinical and radiographic follow up study after 24 months. **Clin Oral Impl Res**, v.10, p.16-23, 1999.
- 39 MANOLAGOS, SC; ILLI, R. Mechanisms of disease: bone marrow, cytokines, and bone remodeling –emergency insights into the pathophysiology of osteoporosis. **New Eng J Med**, v332, n5, p305-311, Feb.1995.
- 40 MABAS, N; KOSTOPOULOS, L. ; KRIST. Bone and suture regeneration in calvarial defects by e-PTFE membranes and demineralized bone matrix and the impact on calvarial growth: an experimental study in the rat. **J Craniofac Surg**, v.13, n3, p453-462, May 2002.
- 41 MILLER SC; SWAN, B; JONES, E. Available animal models of osteopenia –small and large. **Bone**, v.17, n4, Supl, p.117s-123s, Oct.1995.
- 42 MISCH, CM. et al. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphyseal grafts for dental implants: a preliminary

- procedural report. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v7, n3, p360-366, 1992.
- 43 MISCH, CM; MISCH, CETb repair of localized severe ridge defects for implant placement using mandibular bone grafts. **Impl Dent**, v4, n4, p261-267, 1995.
- 44 MOSKDE L. Assessing bone quality – animal models in preclinical osteoporosis research **Bone**, v.17, n4, Supl, p343s-352s, Oct.1995.
- 45 NEINS, M. et al. Implants in regenerated bone: long -term survival. **Int J Periodont Res Dent**, v.18, p35-45, 1998.
- 46 OMI, N; ZAW, L. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. **Bone**, v.17, n4, Supl, p.163s-168s, Oct.1995.
- 47 PIOS, MA. Block auto grafts for localized ridge augmentation: part II. The posterior mandible. **Implant Dent**, v9, n1, p67-75, 2000.
- 48 RODOMINSKI SC. et al. **Osteoporose em mulheres pós-menopausa**. Projeto diretrizes: associação médica brasileira e conselho federal de medicina. 16p, 2002.
- 49 ROBERTO. et al. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge without autogenous bone before insertion of implants. **J Oral Maxillofac Surg**, v54, n10, p1180-1186, 1996.
- 50 RYMERSON, L. et al. Effects of barrier membranes on bone resorption and implant stability in onlay bone grafts. An experimental study **Clin Oral Impl Res**, v.10, p267-277, 1999.

- 51 SIMION, M. et al. Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. **Int J Periodont Rest Dent**, v.18, n.1, p.9-22, 1998.
- 52 SZAFED, VL. **Osteoporose: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Sarvier, 2000.
- 53 TEICM. et al. Autogenous maxillary bone grafts in conjunction with placement of ITI- endosseous implants: a preliminary report. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.21, n.2, p.81-84, 1992.
- 54 TINTI, C; PAMAFI, S.; POLIZZI, G. Vertical ridge augmentation: what is the limit? **Int J Periodont Rest Dent**, v.16, n.3, p.221-229, 1996.
- 55 TRAS. Animal models of osteoporosis – necessity and limitations. **Eur Cell Mat**, v.1, p.66-81, 2001.
- 56 WILLIAMSON, R. Rehabilitation of the resorbed maxilla and mandible using autogenous bone grafts and osseointegrated implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.11, n.4, p.476-488, 1996.
- 57 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Prevention and Management of Osteoporosis: report of a WHO scientific group**. WHO technical report series 921. Geneva: 2000.
- 58 BANSK TJ et al. Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. **Calcif Tissue Int**, v.40, p.155-159, 1987.

- 59 ~~W~~NSK T;CINTÉ, M; DA NN, LM. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. **Calcif Tissue Int** , v43, p.179-183, 1988.

Apêndice A - Dados originais dos pesos dos animais

Tabela 6 - Peso dos animais (g) segundo a condição, nos períodos inicial (cirurgia de ovariectomia ou ovariectomia simulada) e final (realização do enxerto)

SHAM		OVZ	
n=40		n=40	
INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
261	266	242	299
304	310	247	288
287	276	241	276
275	273	291	312
247	253	286	321
243	243	280	286
260	269	263	298
263	256	250	288
261	254	331	347
267	269	288	316
274	267	307	319
277	283	313	328
280	282	270	308
326	315	255	313
278	271	251	274
264	254	250	308
208	242	251	294
282	282	249	272
268	254	249	293
274	271	245	294
245	275	256	270
245	237	271	294
317	343	274	301

302	296	306	352
285	268	285	318
233	210	255	298
321	298	266	306
326	323	237	265
331	325	270	300
273	280	305	322
298	305	285	303
296	310	260	289
296	300	270	305
278	265	268	305
297	290	273	305
289	300	228	255
287	285	286	307
299	300	294	303
305	320	288	302
317	343	299	318

Apêndice B. Tabela 7 - Área total de osso regenerado em mm² (continuação)

Cortes	SHAM															OVZ														
	GRUPO E					GRUPO ME					GRUPO E					GRUPO ME														
	0	7	21	45	60	0	7	21	45	60	0	7	21	45	60	0	7	21	45	60	0	7	21	45	60					
1	1,86	1,85	1,28	1,22	0,97	1,82	1,98	2,08	2,10	2,77	1,80	1,72	1,52	1,05	1,02	1,77	1,80	1,89	2,00	1,98	1,80	1,72	1,52	1,05	1,02	1,77	1,80	1,89	2,00	1,98
2	1,70	1,72	1,41	1,26	0,96	1,76	1,94	2,06	2,08	2,83	1,74	1,80	1,52	1,25	1,10	1,74	1,82	1,86	1,99	2,15	1,74	1,80	1,52	1,25	1,10	1,74	1,82	1,86	1,99	2,15
3	1,74	1,70	1,41	1,32	0,97	1,78	1,96	2,11	2,11	2,73	1,72	1,68	1,50	1,24	1,00	1,69	1,88	1,84	1,90	2,12	1,72	1,68	1,50	1,24	1,00	1,69	1,88	1,84	1,90	2,12
4	1,50	1,42	1,45	1,21	0,98	1,62	1,98	2,02	2,12	2,59	1,68	1,66	1,53	1,16	0,97	1,83	1,79	1,92	1,91	2,07	1,68	1,66	1,53	1,16	0,97	1,83	1,79	1,92	1,91	2,07
5	1,78	1,74	1,39	1,26	0,93	1,66	1,94	2,10	2,07	2,69	1,78	1,81	1,50	1,20	1,06	1,68	1,81	1,80	1,94	2,08	1,78	1,81	1,50	1,20	1,06	1,68	1,81	1,80	1,94	2,08
6	1,76	1,70	1,22	1,22	0,99	1,76	1,96	2,08	2,13	2,96	1,68	1,66	1,33	1,30	0,82	1,74	1,90	1,90	1,94	2,12	1,68	1,66	1,33	1,30	0,82	1,74	1,90	1,90	1,94	2,12
7	1,76	1,69	1,32	1,14	1,09	1,76	1,92	1,99	2,20	2,85	1,66	1,64	1,33	1,31	0,83	1,72	1,90	1,88	1,97	2,10	1,66	1,64	1,33	1,31	0,83	1,72	1,90	1,88	1,97	2,10
8	1,70	1,66	1,26	1,21	1,06	1,66	1,98	1,96	2,21	2,70	1,59	1,61	1,28	1,27	0,86	1,77	1,87	1,88	1,97	2,05	1,59	1,61	1,28	1,27	0,86	1,77	1,87	1,88	1,97	2,05
9	1,74	1,62	1,28	1,18	1,12	1,70	1,94	2,02	2,22	2,82	1,74	1,68	1,26	1,27	0,84	1,69	1,91	1,81	1,96	2,09	1,74	1,68	1,26	1,27	0,84	1,69	1,91	1,81	1,96	2,09
10	1,78	1,60	1,32	1,23	1,03	1,78	1,96	1,94	2,17	2,94	1,62	1,58	1,28	1,23	0,84	1,75	1,86	1,86	1,97	2,06	1,62	1,58	1,28	1,23	0,84	1,75	1,86	1,86	1,97	2,06
11	1,80	1,60	1,35	1,28	1,23	1,80	1,92	2,11	2,25	2,33	1,80	1,70	1,30	1,21	0,98	1,73	1,80	2,07	2,40	2,40	1,80	1,70	1,30	1,21	0,98	1,73	1,80	2,07	2,05	2,40
12	1,76	1,70	1,43	1,31	1,22	1,76	1,90	2,12	2,15	2,33	1,74	1,71	1,28	1,20	0,95	1,80	1,91	2,08	2,05	2,50	1,74	1,71	1,28	1,20	0,95	1,80	1,91	2,08	2,05	2,50
13	1,80	1,72	1,40	1,29	1,23	1,68	1,94	2,07	2,18	2,31	1,70	1,62	1,27	1,21	0,92	1,78	1,88	2,02	2,07	2,50	1,70	1,62	1,27	1,21	0,92	1,78	1,88	2,02	2,07	2,50
14	1,76	1,71	1,35	1,33	1,21	1,76	1,87	2,03	2,23	2,35	1,76	1,66	1,30	1,21	0,97	1,69	1,85	2,01	2,42	2,42	1,76	1,66	1,30	1,21	0,97	1,69	1,85	2,01	2,04	2,42
15	1,80	1,74	1,43	1,37	1,25	1,80	1,99	2,01	2,17	2,27	1,72	1,64	1,30	1,23	0,99	1,71	1,93	2,07	2,06	2,37	1,72	1,64	1,30	1,23	0,99	1,71	1,93	2,07	2,06	2,37
16	1,90	1,78	1,27	1,15	1,05	1,90	1,89	2,12	2,28	2,20	1,72	1,72	1,49	1,19	1,01	1,80	1,88	1,90	1,92	2,40	1,72	1,72	1,49	1,19	1,01	1,80	1,88	1,90	1,92	2,40

Apêndice B. Tabela 9 - Área total de osso regenerado em mm² (conclusão)

17	1,90	1,78	1,27	1,18	1,10	1,82	2,01	2,14	2,14	2,17	1,72	1,74	1,36	1,20	1,03	1,79	1,77	1,89	1,91	2,36
18	1,88	1,71	1,24	1,27	1,09	1,88	2,03	2,00	2,21	2,25	1,74	1,59	1,35	1,18	0,99	1,82	1,79	1,98	1,91	2,38
19	1,78	1,69	1,25	1,12	1,01	1,76	1,99	2,02	2,26	2,30	1,80	1,62	1,34	1,18	0,96	1,77	1,85	1,93	1,88	2,45
20	1,96	1,74	1,30	1,24	1,00	1,86	1,97	1,99	2,23	2,32	1,78	1,66	1,37	1,17	1,03	1,84	1,91	1,99	1,92	2,48