



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA
BUCOMAXILOFACIAL
SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA (SESAB)



LEONARDO DE ARAÚJO MELO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DE ALOENXERTO EM
MAXILAS ATRÓFICAS**

Salvador
2012

LEONARDO DE ARAÚJO MELO

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DE ALOENXERTO EM MAXILAS ATRÓFICAS

HISTOLOGICAL EVALUATION OF ALLOGRAFT IN ATROPHIC JAWS

Artigo apresentado ao Programa de Residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública/ Hospital Geral Roberto Santos como requisito para obtenção do título de especialista.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Márcio
Teixeira Marchionni

Salvador
2012

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DE ALOENXERTO EM MAXILAS ATRÓFICAS

HISTOLOGICAL EVALUATION OF ALLOGRAFTS IN ATROPHIC JAWS

Leonardo de Araújo Melo *; Deivison Borges Costa**; Silvia Regina de Almeida Reis ***; Antonio Marcio Teixeira Marchionni****

* Residente do Serviço de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Geral Roberto Santos, Salvador, Ba, Brasil.

**Graduando em Odontologia pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Ba, Brasil.

***Doutora em Odontologia pela Universidade Livre de Berlim, Alemanha.

**** Doutor em Laser na Odontologia pela Universidade Federal da Bahia, UFBA, Brasil.

Trabalho realizado na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Curso de Odontologia. Av. Silveira Martins, n° 3386, Cabula, 41150-100, Salvador, Ba-Brasil.
Telefax: (71)32578200

Correspondência para / Correspondence to:

Leonardo de Araújo Melo

Rua Cícero Simões, n°191, apt° 102, Pituba, CEP 41830-475

Telefax: (71) 30113622. E-mail: melodrleo@hotmail.com

Antonio Marcio Teixeira Marchionni

Rua Alceu Amoroso Lima, n° 314, s. 403/404

Telefax: (71) 22035859. E-mail: marchionni@uol.com.br

Resumo

A utilização de enxertos alógenos para reabilitação de áreas atróficas nos maxilares vêm despertando muito interesse de cirurgiões bucomaxilofacias em função das vantagens que este substituto ósseo apresenta: diminuição do tempo cirúrgico, maior disponibilidade do tamanho do enxerto e ausência de morbidade do sítio doador. Devido a vasta aplicação dos enxertos alógenos para o recobrimento de defeitos ósseos maxilares, a observação das características histológicas deste material é importante na medida em que se analisa a vitalidade e a qualidade do osso neoformado. Desta forma, o presente trabalho se propõe a avaliar as características histológicas de aloenxertos em humanos através da avaliação dos componentes histológicos do tecido ósseo. Para isto, foram incluídas neste estudo, cinco amostras de enxertos alógenos (osso humano congelado) obtidas através de biópsias realizadas oito meses após o levantamento de seio maxilar, em pacientes que estavam em programação para instalação de implantes dentários. A avaliação histológica demonstrou bom padrão de cicatrização e maturação óssea em todos os casos.

Palavras Chaves: aloenxertos, histologia, aumento do rebordo alveolar

Abstract

The use of allograft for rehabilitation of the atrophic jaws have attracted much interest from surgeons bucomaxilofacias according to the advantages that this presents a bone substitute: reduction of surgical time, greater availability of the size of the graft and absence of donor site morbidity. Due to wide application of the grafts alogenous for coating bone defects maxillary, the observation of the histological characteristics of this material is important insofar that one analyzes the vitality and quality of the neofomed bone. Thus, this study aims to evaluate the histology of allografts in humans by assessing the histological components of bone tissue. For this, they were included in this study, five samples of allograft (frozen human bone) obtained from biopsies performed eight months after maxillary sinus lifting in patients who were scheduled for dental implant placement. Histological evaluation demonstrated good healing pattern and bone maturation in all cases

Keywords: allografts, histology, alveolar ridge augmentation

Introdução

A reabilitação com implantes dentários é amplamente aceita por proporcionar resultados estéticos e funcionais satisfatórios. Para alcançar estes resultados o osso deve apresentar um volume adequado¹. Porém, em muitos casos, a instalação do implante fica impossibilitada pela reabsorção óssea, principalmente na região posterior da maxila devido a baixa densidade do osso em função da pneumatização do seio maxilar após a perda dentária².

Diversos tipos de enxertos são utilizados para viabilizar a instalação de implantes em áreas de pouca quantidade de osso. O enxerto autógeno é considerado o “padrão ouro” uma vez que possui as características necessárias para o crescimento ósseo, tais como, osteogenicidade, osteocondutividade e osteoindutividade³. Contudo, o auto-enxerto apresenta algumas desvantagens, incluindo, morbidade e quantidade limitada de sítios doadores^{1,4}. Para minimizar estes riscos, outros substitutos ósseos têm sido usados como alternativas⁵, e muitos autores vêm estudando diversos tipos de enxertos na busca pelo substituto ósseo ideal com a obtenção de um osso maduro em um curto período de tempo e com complicações mínimas^{1,2,6,7}.

Os substitutos ósseos do enxerto autógeno podem ser classificados em dois grandes grupos: orgânicos e sintéticos. Os biomateriais orgânicos podem ser alogênicos (osso humano congelado e liofilizado), xenogênicos (osso bovino, caprino, suíno e hidroxiapatita derivadas de coral) e proteínas morfogenéticas (BMPs). Os materiais sintéticos incluem as hidroxiapatitas sintéticas, os biovidros e as biocerâmicas^{8,9}.

Dentre estes biomateriais os aloenxertos vêm sendo amplamente utilizados. Os aloenxertos são coletados do íleo e fêmur de cadáveres e, em seguida, seguem a um protocolo rígido de preparo para eliminar transmissão de doenças. Apesar dos avanços na tecnologia de processamento do tecido ósseo para o sucesso do uso de aloenxertos, o

desafio é prepará-los esterilizados e ainda preservar as propriedades biológicas e biomecânicas do tecido¹⁰. Os dois métodos básicos de processamento são: congelamento e desmineralização (liofilização). Ambos os processos geram morte celular e diminuem a capacidade de osteoindução⁷. As principais vantagens dos aloenxertos são redução do tempo operatório quando comparados aos autoenxertos, oferta potencialmente ilimitada do osso, antigenicidade mínima, processo osteoindutor relativamente rápido e baixo grau de reabsorção tardia¹¹.

Tendo em vista o grande emprego de aloenxertos em humanos, a observação das características histológicas deste material é importante na medida em que se analisa a vitalidade e a qualidade do osso neoformado. Desta forma, o presente trabalho se propõe a avaliar as características histológicas de aloenxertos através da avaliação dos componentes histológicos do tecido ósseo.

Sujeitos, materiais e métodos

O presente estudo foi realizado entre os anos de 2010 a 2011, no Departamento e Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Tratou-se de um estudo descritivo de casos através da análise em microscopia de luz de cortes histológicos corados pela hematoxilina e eosina. O estudo foi apreciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Bahiana de Medicina e Saúde Pública comparecer favorável de número 107/10 (Anexo A).

Os indivíduos incluídos neste estudo deviam possuir uma faixa etária entre 20 a 60 anos de idade, ser classificados de acordo com a Associação Americana de Anestesiologia (ASA) no grupo I ou II, não apresentar quaisquer doença sistêmica não controlada ou condições conhecidas que alteram o metabolismo ósseo (exemplo:

osteoporose e diabetes melitus). Foram excluídos deste trabalho os indivíduos que tomaram antibióticos nos últimos três meses antes do procedimento de enxertia ou que estavam em uso crônico de medicações que modificam o metabolismo ósseo, tais como bifosfonados e corticosteróides. Também foram excluídos da amostra mulheres grávidas, indivíduos em sepse, com doenças do seio maxilar e com história de radio ou quimioterapia².

Foram analisadas cinco peças de biópsias realizadas em pacientes distintos que foram submetidos a enxerto de osso humano congelado para levantamento de seio maxilar. A obtenção do osso humano foi feita mediante solicitação para o banco de tecidos músculo-esqueléticos (Unioss). As biópsias foram realizadas após oito meses de enxertia, no mesmo momento cirúrgico da instalação dos implantes dentários, utilizando uma broca trefina de pequeno diâmetro, dois milímetros de diâmetro interno e três milímetros de diâmetro externo, a 1200RPM, para não comprometer a posterior instalação do implante (Figura 1). Espécimes das biópsias foram mantidos em formol a 10% por 24 horas. Após, eles foram descalcificados em um descalcificador contendo formaldeído 10%, ácido fórmico 8% e metanol 1% (Surgipath, Europe Ltd., Peterborough, UK) por oito dias quando então foram emblocados em parafina, cortados numa espessura de quatro micrometros e corados pela hematoxilina/eosina.

As imagens da seção histológica foram capturadas por uma câmara digital (Motic) acoplada a um microscópio óptico de luz nos graus de magnificação de 200X e 400X e foram salvas em um computador. O exame histológico foi realizado por um examinador devidamente calibrado e foram analisadas a densidade do osso neoformado, proporção de osso lamelar, atividade osteoblástica, grau de angiogênese, presença de infiltrado inflamatório e remanescentes do enxerto^{12,13}.

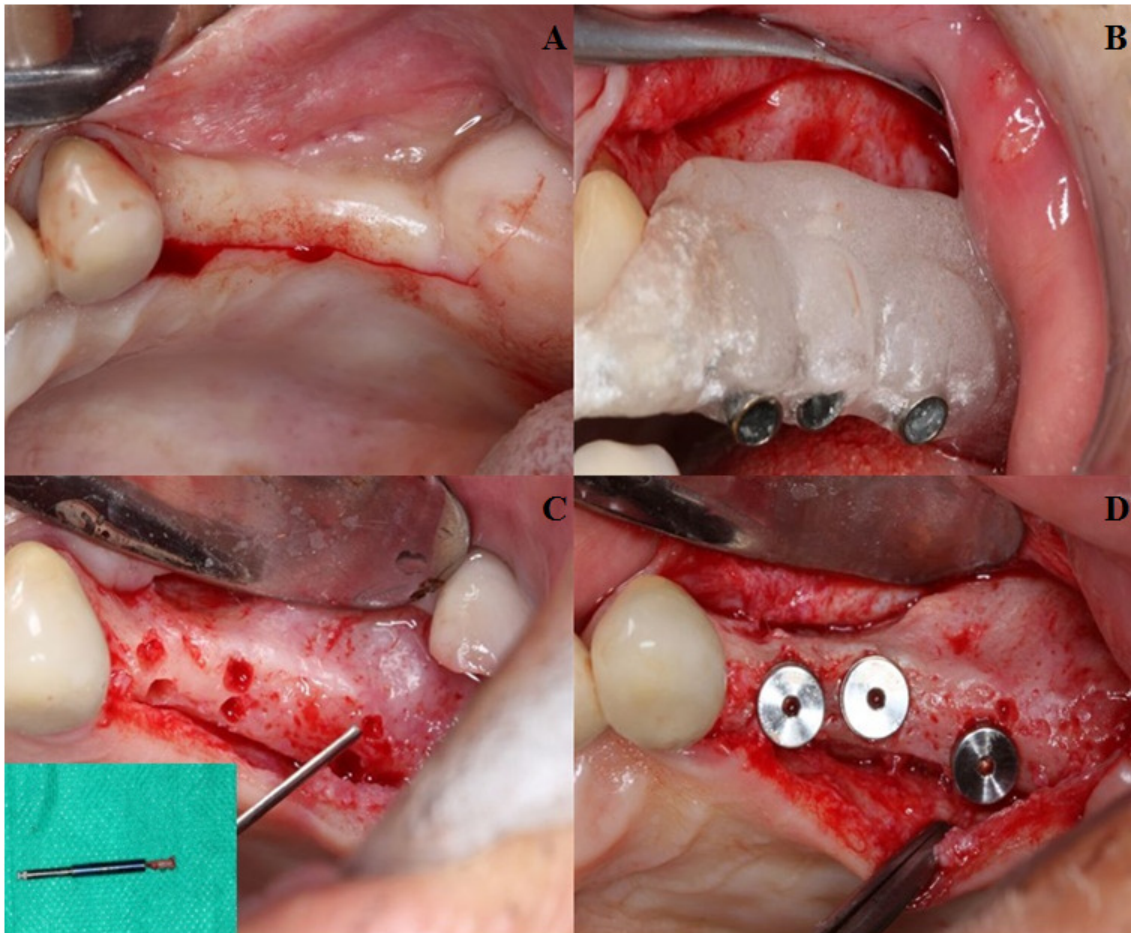


Figura 1. Sequência cirúrgica da realização da biópsia do aloenxerto, seguido da instalação dos implantes dentários. A) Incisão, após oito meses, na área onde foi feito o levantamento de seio maxilar com aloenxerto. B) Guia cirúrgico em posição para marcação com a broca lança onde o implante será instalado. C) Área onde foi feita a biópsia e broca trefina com a espécime na porção inferior direita. D) Implantes em posição.

Resultados

A avaliação histológica do osso neoformado revelou padrão trabecular. Sinais de remodelação ativa foram evidentes com presença de osteoblastos ativos e proeminentes e elevado número de osteócitos. Em alguns casos, foi observado presença de tecido

medular. Lacunas ósseas contendo vasos sanguíneos foi pobremente visualizado. Reação de corpo estranho e presença de significativo infiltrado inflamatório não foram evidenciados (Figura 2 e 3). Em todos os espécimes, observou-se remanescentes do enxerto ósseo. Em um dos casos, o tecido ósseo exibia estágio mais avançado de desenvolvimento com presença de osso cortical em maior quantidade (Figura 4 e 5).

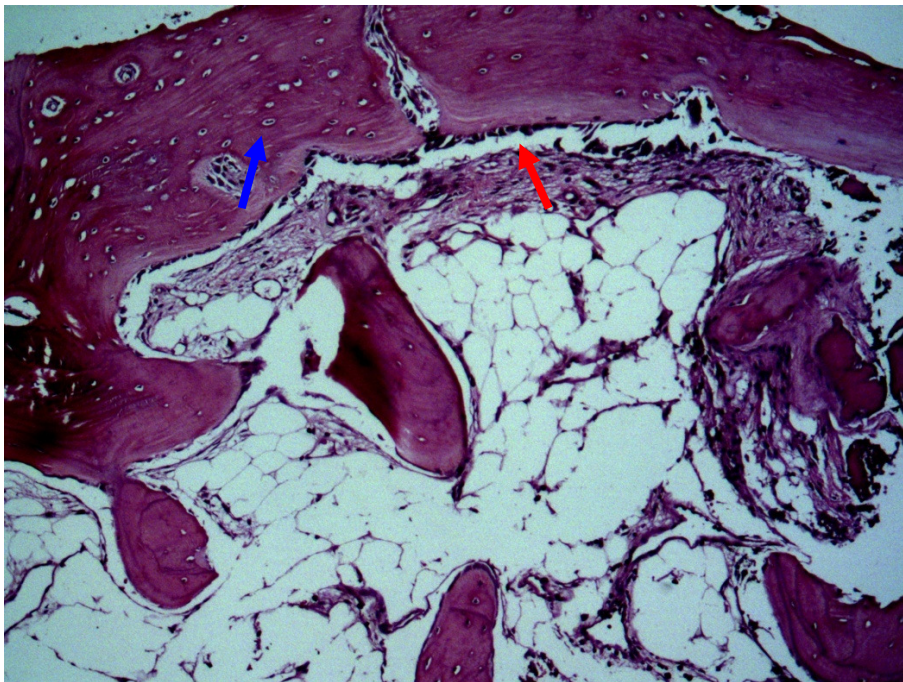


Figura 2. Aspecto histomorfológico do osso neoformado revela padrão trabecular. Sinais de remodelação ativa são evidentes com presença de osteoblastos ativos e proeminentes (seta vermelha) e elevado número de osteócitos (seta azul). (HE, 200X).

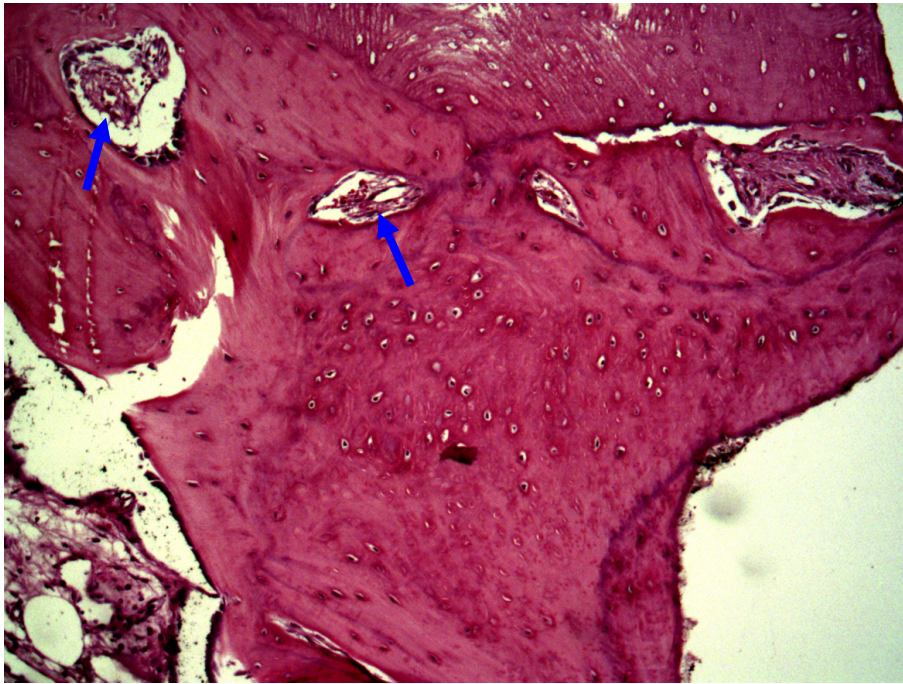


Figura3. Imagem histológica revela formação óssea compacta com elevado número de osteócito. Pode-se também visualizar presença de lacunas ósseas com vasos e osteoblastos (seta azul). (HE, 200X).

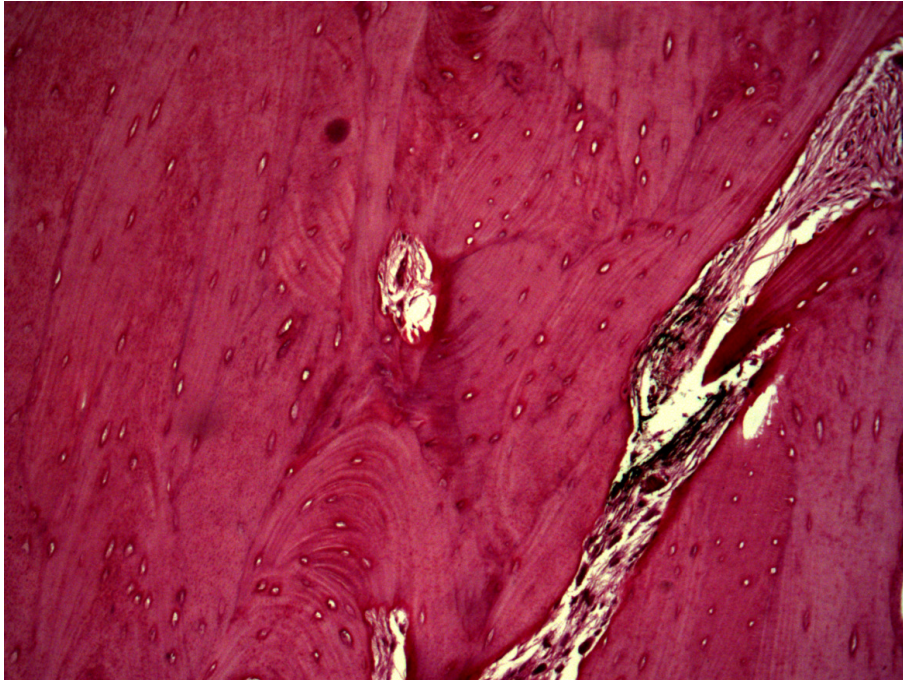


Figura 4. Imagem histológica revela estrutura óssea num maior grau de maturação com lacunas de osteócitos predominantemente vazias. Sinais de remodelação ativa não são evidentes. (HE, 200X).

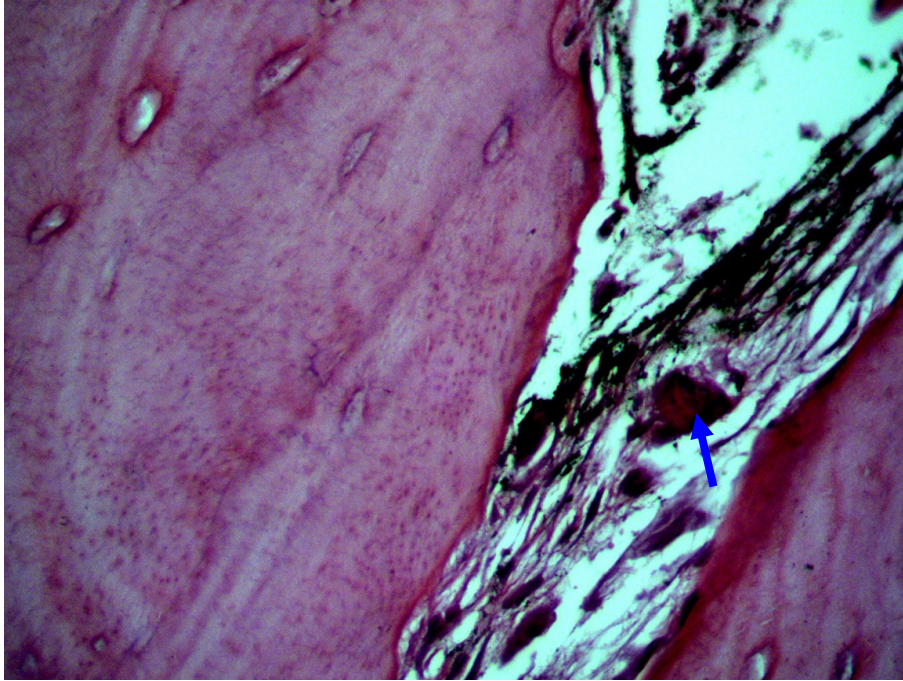


Figura 5. Fotomicrografia em maior aumento evidencia aspecto ósseo mais cortical com lacunas de osteócitos vazias. Pode-se também visualizar presença de remanescente do aloenxerto (seta azul). (HE, 400X).

Discussão

Enxertia óssea é um processo dinâmico e sequencial que envolve inflamação, revascularização e adaptação do enxerto dentro da estrutura biológica⁴. Avanços significativos no campo dos biomateriais têm sido feitos nos últimos anos e agora uma série de substitutos ósseos são aceitos para procedimentos de reabilitação óssea. Dentre estes biomateriais, os aloenxertos vêm sendo amplamente utilizados e estudos prévios têm demonstrado que este tipo de enxerto apresenta sucesso em cirurgias maxilofaciais^{4,6,7,11}.

Tendo em vista a crescente utilização dos aloenxertos como uma fonte de enxerto ósseo, o presente estudo se propôs a avaliar a maturação do osso neoformado em aloenxertos através da análise de características histológicas com foco na densidade

do osso neoformado, proporção de osso lamelar, atividade osteoblástica, grau de angiogênese, presença de infiltrado inflamatório e remanescentes do enxerto.

Pode-se observar presença de uma cicatrização normal e maturação óssea em todas as amostras. Estas evidências histológicas também foram demonstradas em outros estudos^{4,14,15}. DELLAVIA et al.⁴ ao avaliar as características histológicas de aloenxertos três meses após o levantamento de seio maxilar, relataram que em várias espécimes o osso mostrava grandes e dispersas lacunas de osteócitos e que em algumas áreas o osso se assemelhava a uma estrutura lamelar madura. ACOCELLA et al.¹⁵ também observaram em sua avaliação clínica e histológica com blocos de enxerto alógeno da tíbia, para reconstrução de rebordos alveolares maxilares, presença de osso vital maduro e tecido ósseo compacto rodeados por espaços medulares.

Apesar do nosso estudo ter demonstrado bom padrão de cicatrização e maturação óssea para os aloenxertos, WAASDORP, REYNOLDS¹⁶ em sua revisão sistemática da literatura examinaram os resultados publicados sobre a eficácia clínica e previsibilidade dos enxertos ósseos alogênicos na correção de deformidades rebordo alveolar para apoiar a instalação de implantes dentários em humanos e concluíram que as evidências disponíveis são insuficientes para estabelecer a eficácia do tratamento em relação à incorporação do enxerto e a sobrevivência a longo prazo de implantes dentários. Em adição, KEITH et al.¹⁷ também relataram que os resultados de curto prazo para os aloenxertos apresentam boa previsibilidade, porém acompanhamento a longo prazo é necessário.

Devido ao nosso estudo ter sido realizado em pacientes que já estavam em programação para instalação de implantes dentários, não pode ser possível a avaliação da união do osso receptor com o enxerto, já que as espécimes ósseas foram coletadas com a broca trefina de pequeno calibre, para não comprometer a imediata instalação do

implante. Entretanto, a avaliação cirúrgica demonstrou que o aloenxerto estava bem integrado ao osso receptor. DELLAVIA et al.⁴, KIM et al.⁷ demonstraram incorporação completa dos aloenxertos com o osso receptor após o período de cicatrização e ACOCELLA et al.¹⁵ observaram que na interface entre o aloenxerto com a área receptora, alguns espécimes mostraram quantidades variáveis de tecido fibroso misturado com nova formação óssea.

Alguns autores relatam um período de cicatrização completa de três a seis meses para os aloenxertos em áreas maxilofaciais ^{4,7,17,18}. TURNER et al.¹⁸ mostraram que em seis meses de cicatrização uma grande área de osso neoformado não apresentava partículas de aloenxertos. Em adição, HANICSH et al.¹⁹ relatam que o processo de mineralização dos aloenxertos se conclui dentro de seis meses. No entanto, KIM et al.⁷, relataram presença de remanescentes de blocos de aloenxertos mesmo após seis meses de instalação. Em nosso estudo também foi observado a presença de remanescentes de partículas de aloenxerto em todos dos casos mesmo após oito meses.

Estudos utilizando enxertos xenógenos tem demonstrado uma velocidade de cicatrização e taxa de reabsorção mais lenta em relação aos aloenxertos. TRAINI et al.²⁰ relataram que partículas de osso bovino inorgânico podem estar presentes mesmo nove meses após a enxertia e GALINDO-MORENO et al.² observaram uma média de 37,7% de remanescentes de osso bovino inorgânico mesmo após seis meses de cicatrização. ARENA-BUAZ et al.⁶ compararam a velocidade de cicatrização óssea do osso autógeno com o alógeno, plasma rico em plaquetas e hidroxiapatita de cálcio sintética. Os autores observaram que a formação óssea ocorreu mais rápido no grupo em que foi utilizado enxerto autógeno, seguido pelo alógeno que se mostrou o segundo material mais eficaz na neoformação óssea.

Em relação ao grau de angiogênese, a neovascularização foi pobremente visualizada em todos os nossos casos, já que o osso apresentava uma estrutura mais madura. Estes achados corroboram com os encontrados por ACOCELLA et al.¹⁵. Não observamos presença de inflamação significativa ou reação de corpo estranho em nenhum dos nossos casos, assim como DELLAVIA et al.⁴ e ACOCELLA et al.¹⁵ que não observaram presença de células inflamatórias em nenhum dos seus casos de enxerto alógenos.

Conclusão

As análises histológicas dos espécimes dos enxertos ósseos alógenos obtidos através das biópsias revelaram cicatrização normal e maturação óssea em todas as amostras. Estes resultados sugerem que os aloenxertos são uma boa alternativa no preenchimento de defeitos ósseos maxilares, no entanto, é necessário que estudos clínicos prospectivos avaliem a incorporação do enxerto e a osteointegração do implante a longo prazo.

Referências bibliográficas

1. Kon K, Shiota M, Ozeki M, Yamashita Y, Kasugai S. Bone augmentation ability of autogenous bone graft particles with different sizes: a histological and micro-computed tomography study. Clin Oral Implants Res. 2009 Nov;20(11):1240-6.
2. Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Avila G, Fernández-Barbero JE, Mesa F, Aguilar M, Wang HL, O'Valle F. Histomorphometric comparison of maxillary pristine bone and composite bone graft biopsies obtained after sinus augmentation. Clin Oral Implants Res. 2010 Jan;21(1):122-8.
3. Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes. Expert Rev Med Devices. 2006 Jan;3(1):49-57.

4. Dellavia C, Tartaglia G, Sforza C. Histomorphometric analysis of human maxillary sinus lift with a new bone substitute biocomposite: a preliminary report. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2009 Oct;11 Suppl 1:e59-68.
5. Beloti MM, Martins W Jr, Xavier SP, Rosa AL. In vitro osteogenesis induced by cells derived from sites submitted to sinus grafting with anorganic bovine bone. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Jan;19(1):48-54
6. Arenaz-Búa J, Luaces-Rey R, Sironvalle-Soliva S, Otero-Rico A, Charro-Huerga E, Patiño-Seijas B, García-Rozado A, Ferreras-Granados J, Vázquez-Mahía I, Lorenzo-Franco F, Martín-Sastre R, López-Cedrún JL. A comparative study of platelet-rich plasma, hydroxyapatite, demineralized bone matrix and autologous bone to promote bone regeneration after mandibular impacted third molar extraction. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 May;15(3):e483-9.
7. Kim SG, Park JS, Lim SC. Placement of implant after bone graft using J block allograft. *Implant Dent.* 2010 Feb;19(1):21-8.
8. Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006;21: 696-710.
9. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2007 Sep;9(3):166-77.
10. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am.* 1999 Oct;30(4):571-81.
11. Wallace S, Gellin R. Clinical evaluation of a cancellous block allograft for ridge augmentation and implant placement: A case report. *Implant Dent.* 2008;17:151-158
12. Nagata MJ, Melo LG, Messoria MR, Bomfim SR, Fucini SE, Garcia VG, Bosco AF, Okamoto T. Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-size defects. *J Clin Periodontol.* 2009 Sep;36(9):775-83.

13. Kim YK, Yun PY, Kim SG, Kim BS, Ong JL. Evaluation of sinus bone resorption and marginal bone loss after sinus bone grafting and implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Feb;107(2):e21-8.
14. Stacchi C, Orsini G, Di Iorio D, Breschi L, Di Lenarda R. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol.* 2008 Sep;79(9):1789-96.
15. Acocella A, Bertolai R, Ellis E 3rd, Nissan J, Sacco R. Maxillary alveolar ridge reconstruction with monocortical fresh-frozen bone blocks: A clinical, histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2011 Nov 8.
16. Waasdorp J, Reynolds MA. Allogeneic bone onlay grafts for alveolar ridge augmentation: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2010 May-Jun;25(3):525-31.
17. Keith JD Jr, Petrungaro P, Leonetti JA, Elwell CW, Zeren KJ, Caputo C, Nikitakis NG, Schöpf C, Warner MM. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the developmental period (2001-2004) *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Aug;26(4):321-7.
18. Turner TM, Urban RM, Hall DJ, Cheema N, Lim TH. Restoration of large bone defects using a hard-setting, injectable putty containing demineralized bone particles compared to cancellous autograft bone. *Orthopedics* 2003; 26:561–565
19. Hanicsh O, Lozada JL, Holmes RE, Calhoun CJ, Kan JY, Spiekermann H. Maxillary sinus augmentation prior to placement of endosseous implants: A histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Imp* 1999; 14: 329–336.
20. Traini, T., Valentini, P., Iezzi, G. & Piattelli, A. (2007) A histologic and histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone retrieved 9 years after a sinus augmentation procedure. *Journal of Periodontology* 78: 955–961.

ANEXO A

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Salvador, 22 de novembro de 2010

Ofício nº 242/2010

REFERENTE AO PROTOCOLO Nº107/2010

“ANÁLISE HISTOLÓGICA DO ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO EM HUMANOS “

O Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública da Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências, após a análise do ponto de vista bioético das respostas de pendências do Protocolo acima citado, considera que o Protocolo atende aos princípios éticos em pesquisa em seres humanos, segundo a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP CNS-MS). Diante do exposto julga o protocolo supracitado **APROVADO**.

Lembramos a necessidade do envio de relatório anual do andamento da pesquisa, dentro do cronograma citado no mesmo protocolo.


Prof. Dra. Lucíola Maria Lopes Crisóstomo
Coordenadora do CEP/EBMSP/FBDC

Ilmo. Sr.
Dr. Antonio Marcio Teixeira Marchionni
Rua: Prof. José Rescala (Cond. Vivendas do Imbui) Edf. Igeratim
Aptº 1203 - Imbui