

UNIVERSIDA DO SAGRADO CORAÇÃO

Alunos: João Vagner de **CAMPOS**
Rafael Sampaio **BUCHALA**

BANCO DE OSSOS EM IMPLANTOLOGIA

BAURU
2007

UNIVERSIDA DO SAGRADO CORAÇÃO

Alunos: João Vagner de **CAMPOS**
Rafael Sampaio **BUCHALA**

BANCO DE OSSOS EM IMPLANTOLOGIA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências Biológicas e Profissões de Saúde como parte dos requisitos para obtenção do grau de Cirurgião Dentista sob orientação do Professor Dr. Carlos Eduardo Francischone Junior.

BAURU
2007

SUMULA CURRICULAR

NOME: João Vagner de Campos

DATA DE NASCIMENTO: 15 de Janeiro de 1984

FILIAÇÃO: MÃE: Cleuza Ap. Bózoli de Campos

PAI: José Ap. de Campos

ENSINO FUNDAMENTAL: E.E.P.G Dr. Paulo Zillo

ENSINO MÉDIO: E.E Dr. Virgilio Capoani

ENSINO SUPERIOR: USC – Universidade do Sagrado Coração

NOME: Rafael Sampaio Buchala

DATA DE NASCIMENTO: 27 de Maio de 1983

FILIAÇÃO: MÃE: Silvana Regina Sampaio Buchala

PAI: Marcos Zugaiar Buchala

ENSINO FUNDAMENTAL: Objetivo

ENSINO MÉDIO: Objetivo

ENSINO SUPERIOR: USC – Universidade do Sagrado Coração

RESUMO

O transplante de órgãos e tecidos é um procedimento relativamente novo, muito usado pela Medicina. O transplante ósseo, assim como outros procedimentos atuais, surgiu da necessidade em que os médicos tinham de tratar soldados gravemente feridos em guerras e que não tinham condições de serem curados com os métodos convencionais. Desde o final da década de 50, os médicos da Marinha Americana já tinham protocolos de processamento e tratamento com transplantes ósseos. No Brasil, o transplante ósseo é realizado desde a década de 70 na ortopedia médica. Mas, desde 1999, esse procedimento também passou a ser utilizado pela Odontologia brasileira para reconstituir o osso de pacientes que perderam os dentes, ou seja, para o uso de implantes dentários. Até então, para esse tipo de situação, usava-se apenas o enxerto ósseo autógeno. Nesse caso, o osso a ser colocado é retirado do próprio paciente. Normalmente é retirado o osso da bacia, chamado crista ilíaca, de regiões intra-orais como o mento e ramo mandibular. Esse processo envolve uma intervenção cirúrgica, o pós-operatório e só depois a colocação do implante e da prótese. Já no transplante ósseo, o osso a ser colocado vem de um banco de ossos, de uma doação. O paciente não precisa remover osso algum e ainda tem um procedimento totalmente realizado no consultório, apenas com anestesia local. É o chamado enxerto alógeno, no qual se utiliza o osso de outra pessoa, um doador.

ABSTRACT

The transplant of agencies and fabrics is a relatively new procedure, very used for the Medicine. The Osseo transplant, as well as other current procedures, appeared of the necessity where the doctors had to treat welded seriously wounded in wars and that they did not have conditions to be cured with the conventional methods. Since the end of the decade of 50, the doctors of the American Navy already had protocols of processing and treatment with Osseo transplants. In Brazil, the Osseo transplant is carried through since the decade of 70 in the medical orthopedic. But, since 1999, this procedure also passed to be used by the Brazilian Odontologia to reconstitute the bone of patients who had lost teeth, or either, for the use of dental implantations. Until then, for this type of situation, exert was used only Osseo autogenic. In this in case that, to be placed bone is removed of the proper patient. Normally the bone of the basin, called is removed iliac crest, of infra-verbal regions as the mento (chin) and of the jaw branch that is behind the molar inferiors. This process involves a surgical intervention, postoperative and the alone one later the rank of the implantation and prótese. No longer has ósseo transplant, to be placed bone come of a bank of bones, of a donation. The patient does not need to remove bone some and still she has a procedure total carried through in the doctor's office, only with local anesthesia. Enxerto is the alógeno call, in which if it uses the bone of another person, a giver.

SUMARIO

1.	INTRODUÇÃO.....	06
2.	DESENVOLVIMENTO.....	09
2.1	REVISÃO DA LITERATURA.....	09
2.1.1	BIOLOGIA DOS TECIDOS ÓSSEOS.....	09
2.1.2	ANTIGENICIDADE.....	22
2.1.3	PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DOS TECIDOS.....	30
2.1.4	REDUZINDO O RISCO DE INFECÇÃO.....	32
2.2	DISCUSSÃO.....	34
2.3	CONCLUSÃO.....	46
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
4.	ANEXOS.....	49
4.1	TERMO DE ACEITAÇÃO.....	49
4.2	GUIA DE SOLICITAÇÃO.....	50
4.3	CAPTAÇÃO DE TECIDOS MUSCULO – ESQUELÉTICOS.....	51
4.4	COLETA DE TECIDOS.....	57

1. INTRODUÇÃO:

Em 1858 Ollier criou a fundação científica para estudos de transplantes ósseos, e a partir daí houve abundantes relatos na literatura, com opiniões divergentes em relação ao processo de formação óssea. Uma das questões mais discutidas foi se a responsabilidade da osteogênese era das células do enxerto ou do leito receptor. Ollier defendeu a teoria de que o perióstio representava um papel decisivo na osteogênese dos transplantes ósseos, que as células do enxerto sobreviviam por difusão de nutrientes do perióstio, e ficou sendo o protagonista da escola vital. Esta teoria prevaleceu até 1893, quando Barth, demonstrou que em enxertos compactos todos os elementos morrem e são substituídos por novo osso pelos tecidos que o circundam, iniciando a escola não vital. Ollier foi o primeiro a fazer distinção entre enxerto ósseo autógeno, alógeno e heterogêneo. No início de 1907 Axhausen, em extensas pesquisas com enxertos, observou que mesmo com cobertura de perióstio as células ósseas morrem, mas que se mantém vivo na periferia exercendo forte função osteogênica, concluindo que a diferença entre autógeno e alógeno era a velocidade de regeneração. Em 1923 Abee publicou os sucessos de experiências com 3000 casos clínicos de transplantes ósseos alógenos, depois de estocados sob refrigeração (4°C), em enxertos na coluna e fraturas não coaptadas. Nos anos 40 com a criação do freezer, maior número de enxertos puderam ser armazenados por longos períodos de tempo. Com esse advento o enxerto de escolha era a cabeça de fêmur de doadores vivos com fraturas. A escola vital seguidora.

Da teoria osteoblástica é a baseada nas investigações de Ollier e Axhausen, onde a nova Formação óssea nos transplante é mediada pelas células sobreviventes. Levander em 1934, afirmou que reorganização dos transplantes ocorre pelos tecidos celulares pluripotentes vizinhos que são induzidos osteogênicamente por substâncias liberadas com a morte tecidual. Esta opinião ficou conhecida como a *teoria da indução (teoria da metaplasia)*. ¹ Baseada na NBR 10520: 2001 da ABNT

A Implantodontia e a Cirurgia Buco-Maxilofacial, assumem papel importante na reabilitação oral dos pacientes desdentados totais e parciais a partir dos estudos do grupo de Bränemark (1969), que vieram a permitir que defeitos do complexo craniofacial, incluindo problemas estéticos e funcionais pudessem hoje ser tratados totalmente com muito mais previsibilidade do que antes. Os implantes dentais osseointegrados propostos por Bränemark

(1985) tiveram suas colocações limitadas a áreas com estrutura óssea disponível em altura e largura. Desta forma áreas próximas ao seio maxilar, canal alveolar, rebordos finos eram descartadas da possibilidade de receberem implantes.

Breine e Bränemark (1980) propuseram várias técnicas de enxerto, objetivando aumentar altura e largura óssea, com o propósito de ampliar as indicações das reabilitações com implantes. Abreksson (1980) estudou a regeneração óssea e descreveu as fases da cicatrização e remodelação dos enxertos ósseos e estabeleceu os princípios da osseointegração. Adel (1981) com a comprovação da osseointegração, e seus resultados à longo prazo passou a ampliar suas indicações e exigir maiores cuidados com os aspectos estéticos e biomecânicos. Com o estudo de outros pesquisadores (BOYNE; JAMES, 1980; KEELLER, 1987; SAILER, 1989; MISCH, 1990; COLLINS, 1991; SUMMERS, 1994; JENSEN, 1998;) foram propostas novas técnicas, que se tornaram rotina na implantodontia, permitindo que a reconstrução dos maxilares, com a finalidade de implantes alcançasse alta previsibilidade de sucesso.

Enxertos ósseos autógenos são bastante previsíveis, e proporcionam a mais eficiente estrutura para os implantes osseointegrados, entretanto apresentam o custo alto dos procedimentos hospitalares com anestesia geral, e a morbidade cirúrgica dos transplantes autógenos de crista ilíaca. Com o pouco volume ósseo das áreas doadoras intra-orais e o aumento da demanda, métodos alternativos usando osso fresco congelado podem oferecer um suprimento adequado, rápido e seguro em grandes reconstruções maxilo mandibulares para reabilitações com implantes. Na medicina, os ossos alógenos frescos congelados vêm sendo usados com sucesso em enxertos em pseudoartroses, operações na coluna vertebral, artroplastia total, reconstruções articulares e osteomielite.

Em 1992 Perrot et al. descreveram os resultados com o uso de osso fresco congelado isolado ou em combinação com osso autógeno, para a reconstrução dos maxilares com finalidade de implantes. Os resultados obtidos com implantes submetidos a carga foram de 96,5 % de sucesso (sobrevivência) comparado com os 95% descritos na literatura como média de sucesso de implantes em enxertos. Os resultados deste estudo mostraram que o enxerto alógeno fresco congelado pode ser um alternativo material para a reconstrução dos maxilares atroficos.

No Brasil em fevereiro de 1997 foi aprovada a Lei 9.434, regulamentada pelo Decreto nº 2268 de 30-06-97, que dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para

fins de transplante e tratamento, publicada em portaria nº. 304 do Ministério da Saúde em 16 de fevereiro de 2000, que regulamenta banco de tecidos no Brasil.

Bancos de ossos estão disponíveis para fornecer tecidos adquiridos através de fontes pós-mortem ou doadores vivos. Com critérios de seleção do doador apropriados, e técnicas de processamento, esses tecidos são eficientes e seguros. Entendendo a natureza do processamento, particularmente a influência de várias técnicas de preservação biológicas e biomecânicas, tão bem quanto o conhecimento do processo de incorporação deveria conduzir a seleção e a uma apropriada aplicação desses tecidos na reconstrução cirúrgica. A disponibilidade desses enxertos alógenos tem aumentado a agilidade na conquista de técnicas de tratamento e aumentando formas inovadoras para alcançar inúmeros desafios reconstrutivos, além de oferecer, satisfatoriamente a muitos pacientes, uma alternativa mais barata e de menor morbidade para o seu tratamento.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 REVISÃO DA LITERATURA

2.1.1 BIOLOGIA DOS TECIDOS ÓSSEOS

Burwell (1966) reportou como o tratamento físico e químico do osso alógeno derivado de íliaco e adição de osso medular autógeno afeta os resultados do transplante ósseo. Este estudo demonstrou qual a relevância do tratamento ao osso de banco, e forneceu melhores informações sobre o mecanismo de indução em transplante ósseo e na osteogênese do reparo ósseo. Foram usados na pesquisa 295 ratos. Peças de osso íliaco foram obtidas de um grupo de ratos doadores e tratadas por vários métodos físicos e químicos, congelamento (-20°C , -79°C e -196°C); liofilização (sem esterelização, esterilizado com alta energia de radiação); descalcificado (com EDTA); irradiação; fervido em água; imerso em solução de mertiolato; extração dos componentes orgânicos; calcinação a 660°C . Cada receptor recebeu do lado direito no músculo para vertebral o osso tratado e do lado esquerdo o osso tratado foi impregnado com medula vermelha do receptor antes de serem transplantados. Os enxertos foram removidos para estudos após 2, 6 e 12 semanas. Do ponto de vista da indução, o osso congelado ou seco congelado mostrou-se mais apropriado para o propósito de enxerto. A esterelização, física ou química, do osso seco congelado não apresentou diferença. O osso liofilizado remodelou mais rapidamente que o congelado. A importância da medula vermelha autógena fresca em promover osteogênese por um efeito indutivo no transplante ósseo e na cicatrização de prováveis fraturas é acentuada. O novo osso formado em cada grupo foi derivado do componente autógeno do enxerto, pois em nenhum dos enxertos alógenos tratados implantados intramuscularmente, sem medular autógena, formou osso.

Burwell (1968) revisou a literatura sobre o comportamento dos enxertos autógenos e alógenos, fresco, congelado e liofilizado. O osso cortical permanece na sua maior parte necrótico após o enxerto, mas sobreviveram células da periferia do mesmo. A camada superficial sobrevivente nunca excede 0,3mm, e se atribui à difusão plasmática canalicular que é suplementada mais tarde pela difusão vascular do leito. Os osteócitos que sobrevivem, não participam da osteogênese. Nova formação óssea é derivada dos osteoblastos advindos da periferia do perióstio e endóstio na superfície do enxerto. Quando o osso é transplantado de

ilíaco, a porção esponjosa tem três vantagens sobre a cortical: os espaços medulares facilitam a proliferação de vasos; numerosos osteoblastos estão presentes na periferia do osso trabecular; e a presença de medula vermelha, que tem uma capacidade de formação óssea muito grande. Devido à antigenicidade o osso fresco alógeno é impróprio para uso clínico, particularmente o cortical que excita a resposta imune do receptor. O principal componente antigênico dos enxertos está presente na medula vermelha. Quando é removida a medula vermelha antes do enxerto, a cortical provoca ainda uma resposta imune e a esponjosa não. O grupo sanguíneo adverso não é importante na resposta imune do enxerto congelado. As razões para que osso de banco não seja um substituto tão eficiente quanto o autógeno devem ser procuradas em outros fatores, tais como: diminuída vascularidade e migração celular e diminuída osteogênese. A invasão vascular no osso cortical congelado é mais lenta do que no autógeno fresco, isso não é evidente no cortical liofilizado, que é livre de gordura e tecidos moles. Aparentemente revascularizam mais rápido do que o fresco autógeno. Esta surpresa sugere que a remoção da gordura e tecido moles facilita a penetração de vasos. Mas o estímulo para o reparo por osteogênese só acontece quando o osso está morrendo ou recentemente morto. Osso liofilizado remodela mais rapidamente que o congelado e é preferido para uso clínico porque pode ser convenientemente armazenado em embalagens estéreis, em temperatura ambiente.

Lane et al. (1972) com o objetivo de avaliar enxertos alógenos secos congelados, como preenchimento e reparo dos defeitos deixados pela remoção de enxertos cortiço - esponjosos autógeno da base anterior da mandíbula, desenvolveram um estudo em macacos comparando o osso autógeno fresco e homogêneo seco congelado em mandíbulas de macacos *Irus*; realizaram uma análise clínica radiográfica e histológica destes enxertos. Um lado recebeu autógeno fresco retirado do lado oposto; o outro foi enxertado com homogêneo seco-congelado, um sítio doador foi deixado sem preenchimento como controle. Os enxertos foram cirurgicamente removidos após 16, 17 e 18 semanas observaram poucas e leves diferenças clínicas entre autógeno e homogêneo, todos preencheram totalmente o defeito. Avaliações radiográficas foram feitas a cada 4 semanas, até a 8ª semana e não puderam ser observadas diferenças entre os dois tipos de enxerto. Na 12ª semana o autógeno se mostrou menos radiopaco e os limites menos evidentes, e o homogêneo com bordas evidentes e áreas radiolúcidas começaram a aparecer. Ao final da 16ª semana o autógeno estava mais uniformemente radiopaco e homogêneo do que o sítio receptor, e o alógeno com alterada radiolucidez e radiopacidade. O sítio doador controle ao final da 22ª

semana mostrou - se com evidente defeito. O resultado histológico com avaliação da presença ou ausência de osteogênese, sendo considerado sucesso da incorporação quando novo osso estava em íntimo contato com o enxerto, ou quando o enxerto não era identificado. Os achados para o enxerto alógeno mostraram a permanência de todos, 50% com ativa atividade osteogênica, e 50% passivamente sendo incorporados no sítio receptor. Foram observadas algumas áreas de fibrose, mas com a maior área de fusão ao leito e algumas porções de osso necrótico remanescente na periferia sendo reabsorvido. O osso autógeno mostrou diferentes fases de osteogênese, áreas com lacunas sem vascularização e áreas com atividade osteoblástica e osteoclástica intensa, células osteogênicas proliferando e novo osso sendo formado ao redor das trabéculas existentes. O osso autógeno mostrou parcial reabsorção, uma porção sobrevivente aparece como osso cicatrizado e incorporado ao leito receptor. Os resultados radiográficos, clínicos e histológicos indicaram que o osso seco-congelado é um material de enxerto satisfatório em conjunto com a técnica de processamento, para preenchimento de defeitos de sítios doadores de osso fresco autógeno.

Urist (1976) estudando enxertos autógenos e alógenos descreve importantes propriedades biológicas do tecido ósseo, que é a base para pesquisas com aloenxertos e desenvolvimento de bancos de ossos. O resultado do enxerto foi determinado por propriedades específicas do osso medular e cortical. A primeira fase é a osteogênese: a síntese de novo osso por ambos, células do leito receptor e do enxerto. O novo osso é produzido por células da superfície do osso cortical e medular fresco. O início do processo de incorporação se dá durante toda a primeira semana após a cirurgia. O osso medular apresenta uma grande superfície coberta por células com grande potencial para produzir novo osso a partir do enxerto, do que a cortical. O novo osso é produzido por células do leito receptor através do processo de osteoindução. Este é um processo pelo qual células mesenquimais do leito receptor são recrutadas para diferenciarem-se em osteoblastos. O recrutamento e diferenciação dessas células é provavelmente modulado por polipeptídeos de baixo peso molecular, tal como a glicoproteína: proteína morfogenética óssea (BMP). A atividade da BMP não requer viabilidade das células do enxerto, e está presente não somente em enxertos autógenos frescos, como também em enxertos alógenos modificados. A BMP pode ser mais facilmente exposta nos processos de desmineralização do enxerto, que não pode ser autoclavado pois destrói a atividade da BMP. A terceira propriedade do enxerto é a osteocondução que é dada por um processo tridimensional de crescimento de capilares, tecidos perivasculares e invasão por célula osteoprogenitoras do leito dentro do enxerto. O enxerto propicia uma ponte ou estrutura

para o crescimento tecidual. Em adição a esta função biológica, o enxerto pode providenciar estrutura de suporte até o futuro osso poder suportar carga. Enxerto de osso cortical mantém mais comumente a integridade estrutural durante o remodelamento. Porém a incorporação de todo o enxerto procede por substituição, em uma gradual reabsorção do enxerto e troca por novo osso. A incorporação do enxerto é caracterizada por cinco estágios definidos. Inicia-se pelo processo inflamatório, seguido pela revascularização, osteoindução, osteocondução, e finalmente remodelação terminando com uma estrutura mecanicamente eficiente. Embora o enxerto possa funcionar como uma estrutura mecânica efetiva, ainda pode persistir de uma certa quantidade de tecido não viável. Enxertos esponjosos são totalmente reabsorvidos e trocados pelo osso do receptor, mas enxertos corticais podem nunca serem reabsorvidos completamente e podem permanecer em uma mistura de enxerto necrótico e osso viável originário do receptor. Portanto, isto dificulta definir um exato momento para o estado de incorporação. Ambos os enxertos autógeno e alógeno provocam uma resposta inflamatória aguda. Aproximadamente na segunda semana, o processo inflamatório promove a fibrogranulação e aumento da atividade osteoclástica.

O segundo e terceiro estágio de incorporação, que pode demorar por varias semanas, inclui vascularização e osteoindução. É durante estes estágios de incorporação que o sistema imune do receptor é sensibilizado pelos antígenos do enxerto alógeno. A proliferação vascular, tecido perivascular e células osteoprogenitoras infiltram no enxerto pelo leito receptor. A Osteocondução pode demorar por vários meses em esponjosa autógena, mas pode persistir por anos em um grande enxerto cortical, autógeno ou alógeno, ao mesmo tempo em que o enxerto é remodelado e isto fornece uma estrutura de suporte mecanicamente eficiente. O remodelamento é influenciado pelas cargas mecânicas a que o enxerto está sujeito. Em qualquer circunstância, osso alógeno funciona pobremente em comparação ao osso autógeno. O que mais chama a atenção é demora em incorporação. A fase de inflamação é similar em osso fresco alógeno ou autógeno.

Algumas células sobreviventes da superfície do leito produzem novo osso durante as duas primeiras semanas, porém com o final da segunda semana, inicia uma resposta imune do receptor e células mononucleares invadem o enxerto. Esta resposta imune aparece para atrasar a importante fase osteoindutiva de incorporação do enxerto. A proliferação vascular ocorre rapidamente no osso alógeno, e esses vasos são circundados por células inflamatórias, que bloqueiam a sua produção e degeneram o enxerto. O resultado é uma rápida e progressiva necrose do enxerto. A fase de incorporação é caracterizada por osteoindução e subsequente

osteocondução, não sendo tão bem sucedido como visto em enxerto autógeno e é marcadamente atrasado. Esta resposta inferior é mediada por uma resposta imunológica do receptor. Restos de enxerto permanecem por 4 a 6 semanas após implantação, quando uma gradual onda de osteogênese, pode ocorrer. Se bem sucedida a consolidação, em um ano, as diferenças entre alógeno e autógeno, gradualmente diminuem. Porém, a porcentagem de falhas em todas as formas de enxerto alógenos são significativamente maiores do que em autógenos. Enxertos alógenos frescos têm geralmente sido clinicamente insatisfatórios devido a sua resposta imunogênica, resultando em um atraso da incorporação. Métodos de preservação e modificação do enxerto têm sido experimentados para reduzir a antigenicidade do enxerto. Desidratação e congelamento, congelamento a fresco aparecem para improvisar uma incorporação mais eficiente. Outras técnicas como a descalcificação e desproteínização, são menos efetivas. Todos estes métodos matam as células podendo não ocorrer e a osteogênese primária. Enxertos modificados servem como fontes de osteoindução e como treliça para o crescimento vascular e migração de células do receptor. Estas funções embora presentes sejam ainda significativamente interferidas por uma resposta imune diminuída, mas, detectável do doador. Os enxertos autógenos proporcionam a mais eficiente estrutura para as reconstruções de defeitos ósseos. Porém, devido ao aumento da demanda e o pequeno suprimento desse material, métodos alternativos usando materiais alo gênicos podem ser necessário.

Kelly e Friedlander (1977) descreveram que o osso alógeno interage biologicamente com o tecido receptor no sítio do enxerto. A adição de osso autógeno particulado, e medular, ao osso alógeno, aumenta a osteogenicidade do enxerto. O processamento para secar e congelar o osso reduz com significativo resultado clínico, a antigenicidade do enxerto alógeno. Julgando-se pelo resultado dos 14 casos, que estiveram sob contínuo acompanhamento, o osso alógeno para o aumento de rebordos desdentados pode ser uma possível alternativa para o osso autógeno. O processo de obtenção e preparo do osso de banco para cirurgia são razoáveis, embora algumas questões ainda existam como o indesejável aumento do tempo para a reconstituição do enxerto com soro fisiológico antes do uso do seco congelado e, a necessidade de se adicionar antibióticos na solução usada na reconstituição. Isto mostra que a adição de osso autógeno ao enxerto deve ser considerado, a menos que a dimensão da área a ser enxertada seja muito pequena, ou uma osteotomia em íliaco seja contra-indicada por razões médicas. A ocorrência de

complicações, como infecção e deiscências, durante o pós-operatório são as mesmas do osso autógeno. Deiscência pode ser esperada, embora a adição de osso autógeno pareça diminuí-la.

Marx et al. (1984) compararam a qualidade e quantidade óssea formada entre osso autógeno particulado e medular e esponjosa DFDBA em fissura alveolar completa bilateral com fístula nasosinusal em cachorros; com o objetivo de testar a capacidade do DFDBA de induzir o sítio receptor na formação óssea, para evitar a necessidade de coletar osso autógeno e diminuir a morbidade cirúrgica. Foram operados 26 cachorros para fechamento de fissura dos quais 16 receberam enxerto ósseo e seis foram fechadas sem enxerto. Dos que receberam enxerto, de um lado receberam o autógeno de íliaco e do outro receberam DFDBA particulado. Um animal experimental foi morto a cada semana da segunda a 17^a semana, os demais 10 experimentais e seis controles foram mortos seis meses após. Os enxertos autógenos após os seis meses foram avaliados histológica e radiograficamente. Histologicamente o osso estava maduro com trabéculas bem mineralizadas e osteócitos viáveis presentes nas lacunas. As trabéculas estavam margeadas por osteoblastos produzindo osteóide, os espaços medulares cheios de medula hematopoiética com características normais. O enxerto DFDBA no 6^o mês apresentou sinais iniciais de osteoindução, e as fissuras não estavam completas; radiográfica e microscopicamente existiam porções residuais de osso não reabsorvido, embora estivessem bem incorporados. Contudo existiu uma má-indução do sítio receptor, estando ela limitada à área imediatamente próxima ao sítio receptor. Radiograficamente apenas 20% a 30 % de osso viável ocupava a fissura. Este estudo demonstrou que osso autógeno tem superior osteoindução, a indução é atrasada no alógeno e o osso formado é quantitativamente insuficiente para suportar erupção dentária e forças ortopédicas.

Weiland et al. (1984) desenvolveram um modelo experimental para comparar a eficácia de enxertos ósseos autógenos livres vascularizados, e alógenos frescos para reconstruir sete cm de falhas criadas no fêmur canino. Quarenta e cinco cachorros adultos foram estudados e acompanhados por 6 a 12 meses, antes do sacrifício. Avaliações incluíram taxas radiológicas de incorporação de enxerto e hipertrofia histológica e testes biomecânicos. Os resultados indicaram que enxerto autógeno micro cirurgicamente revascularizados foram superiores a todos os outros grupos em termos de incorporação mais rápida, hipertrofia e maior resistência mecânica à falha.

A união de enxerto ósseo a um recipiente do fêmur foi alcançada no sexto mês em 25 dos 26 enxertos autógenos, e nenhuma diferença na velocidade da união foi observada. No entanto,

apenas dois dos cinco alógenos atingiram a união dos ossos durante este mesmo intervalo de tempo. Estudos histológicos apoiaram o conceito de que enxertos revascularizados micro cirurgicamente, quando bem sucedidos, mantêm sua viabilidade. No entanto, para os autores, a premissa de que todos os osteócitos sobrevivem satisfatoriamente em enxertos ósseos revascularizados está aberta para questionamento. Enquanto seções descalcificadas mostraram que todos os enxertos revascularizados micro cirurgicamente mantiveram uma viabilidade normal na medula central e porções esponjosas comparadas com outros três grupos, a viabilidade do osso cortical nos autógenos vascularizados foi menos clara e a circulação não foi preservada em todas as porções do córtex. A revascularização de autógenos não-vascularizados foi completa em três meses, enquanto que em alógenos avasculares o processo não foi completo em seis meses.

Wilson; Rhinelander; Stewart (1985) partindo de conceitos já estabelecidos, de que o enxerto uma vez transplantado, a origem, a natureza e qualidade influenciam na resposta e no efeito do mesmo. Descreveram a partir de estudo em cachorros a revascularização do osso esponjoso enxertado. Três tipos de blocos esponjosos foram usados. O enxerto autógeno foi coletado da tíbia e crista ilíaca e imediatamente enxertados. Osso fresco alógeno de crista ilíaca congelado a -20 °C e enxertado após um mês. E osso xenógeno, de bezerro processado foi também utilizado. O enxerto autógeno foi enxertado em defeitos provocados em tíbias de 20 animais, 10 desses receberam também osso alógeno e outros 10, osso xenógeno. O osso autógeno após uma semana mostrou uma grande invasão de vasos sanguíneos pelo leito receptor e nova formação óssea na periferia do enxerto, menor quantidade de pequenos vasos foram vistos em três semanas do que na 1ª. Em seis semanas a vascularidade do leito enxertado diminuiu bastante, porém a formação óssea estava no pico. O leito estava totalmente tomado por osso trabecular, com elementos medulares celulares entre as trabéculas. O remodelamento e reposição óssea estavam evidentes por sinais de atividade de osteoclastos e osteoblastos. Após 12 semanas, o padrão vascular do enxerto foi igual ao encontrado em tíbia não enxertada. No enxerto congelado em uma semana, a micro angiografia mostrou ausência total de vasos infiltrados. Apenas pequenos tufo de arteríolas foram encontradas invadindo a periferia. O enxerto estava intacto e sem presença de osteoblastos e novo osso formado, somente na junção com o leito receptor foi observada uma pequena formação óssea. Após três semanas, houve uma marcante invasão por vasos, estendendo dentro das cavidades medulares, mas sem presença histológica de atividade osteoclástica e osteoblástica. Após seis semanas a vascularidade estava menos

proeminente, com aumento da porosidade do leito na área de união e um novo osso formado sobre algumas espículas do enxerto. Em 12 semanas, se observou menos vascularidade do que se observou com seis semanas em autógeno. Todas as espículas do enxerto mostram no seu interior osteócitos viáveis. Já existem mudanças na atividade osteoblástica e osteoclástica. A incorporação parece estar bem encaminhada, porém retardada em relação ao autógeno, no mesmo período. O xenógeno ao final de 12 semanas ainda não está totalmente revascularizado, muitas regiões apresentaram reação de corpo estranho apresentando-se parcialmente incorporado ao leito, e a aderência do novo osso não parece ser tão boa quanto os outros; a cicatrização está retardada em relação ao autógeno e pior que o alógeno, com mudanças adversas no padrão de vascularização e na morfologia. O enxerto alógeno se mostrou com a vascularização lenta e cicatrização atrasada, mas sem mudanças no padrão de cicatrização.

Pelker e Friedlaender (1987) atentaram para o fato de que os requisitos estruturais da reconstrução esquelética deveriam ser incluídos na consideração de um tipo de enxerto ósseo, no momento em que autogênicos ou alogênicos são escolhidos. Esta análise deveria incluir a natureza da fixação a ser usada, tanto quanto as características do hospedeiro e do doador ósseo. As propriedades mecânicas e resposta biomecânica do enxerto devem ser balanceadas de acordo com o tipo e a magnitude da resistência a que cada enxerto será submetido. Por exemplo, a informação apresentada aqui sugere que, de uma perspectiva biomecânica, ossos congelados seriam mais bem adaptados que ossos seco-congelados quando o enxerto é submetido a uma grande carga de torção, ou ainda que o enxerto deveria ser protegido apropriadamente durante a incorporação por uma fixação interna adequada ou ligamento externo. Em uma situação em que é submetido unicamente a uma carga compressora, no entanto, enxertos seco-congelados não alteram biomecanicamente. Deste modo, um entendimento dos requisitos biomecânicos da região anatômica a ser reconstruída é crucial. As propriedades mecânicas do enxerto são afetadas pela preservação, estocagem e esterilização. A incorporação e o remodelamento do enxerto promovem alteração de suas propriedades. O enxerto revascularizado pode responder o tempo todo a mudanças nas condições de carga por um remodelamento adaptativo. Até que seja totalmente revascularizado, o enxerto não pode sofrer carga por não ter potencial fisiológico para remodelar. Estas propriedades são influenciadas pela resposta imunológica do hospedeiro tanto quanto o ambiente biomecânico local. A influência de cada um desses fatores é previsível. Um congelamento a -20°C causa pouca ou nenhuma alteração nas propriedades físicas, porém a

degradação enzimática não é completamente afastada nesta temperatura. Temperaturas de -70° C, -80° C e nitrogênio líquido a -196° C, além de preservar, altera a imunicidade do enxerto. A resistência à torção permanece invariável e a resistência à compressão pode diminuir em torno de 10% a 20%. O osso seco congelado pode sofrer um aumento de 20% na resistência à compressão ou não mudar após reidratado, a flexibilidade diminui de 55% a 90%, e a resistência à torção diminui 39%. O decréscimo da resistência do seco congelado pode ser pelas micro fraturas que ocorrem no processamento. Obviamente, existem numerosas considerações na escolha do material para a reconstrução esquelética, além das características mecânicas discutidas; mas um entendimento das propriedades mecânicas envolvidas ajudará na otimização do sucesso clínico do enxerto.

Goldberg, Stwverson (1987) estudaram a biologia do enxerto ósseo cortical autógeno e alógeno, em modelos caninos. Enxertos autógenos e alógenos, frescos e congelados foram implantados e acessados histologicamente de uma semana a dois anos após. Em modelos autógenos, a precoce reação inflamatória após o enxerto cortical é a mesma descrita na literatura para o osso esponjoso. Nas duas primeiras semanas os núcleos dos osteócitos desaparecem e uma larga e espalhada necrose acontece. O índice de revascularização da cortical autógena é significativamente menor do que a esponjosa. Enxerto cortical usualmente não é penetrado por vasos sanguíneos do doador até o sexto dia, e dependendo da medida do enxerto, a completa revascularização pode não ocorrer até dois meses. A penetração vascular do enxerto é resultado da reabsorção osteoclástica da periferia e infiltração vascular dos canais haversianos, portanto, o que atrasa a revascularização do osso cortical é a densa estrutura do mesmo. A incorporação e reparo do osso cortical, em contraste ao osso esponjoso, é inicialmente dado por uma atividade osteoclástica maior do que osteoblástica. Uma espalhada e larga reabsorção do osso cortical começa em duas semanas, aumenta até a sexta semana, e gradualmente diminui para quase um nível normal antes de completar um ano. A reabsorção do enxerto resulta em uma estrutura mecanicamente fraca da sexta semana até seis meses do transplante. A aposição de novo osso em formação inicia antes da terceira semana e segue vagarosamente, embora sempre por um ano aproximadamente, 40% do osso original permanece necrótico em enxertos corticais autógenos.

Em contraste com o esponjoso, sempre permanece uma mistura de osso necrótico e viável. A medula do enxerto autógeno é rapidamente invadida por tecido conjuntivo e se transforma em medula normal até nove meses após o enxerto. Devido à reabsorção ser a parte

inicial da incorporação do osso cortical, significante porosidade do enxerto pode ocorrer durante o remodelamento, e isto reduz de 40% a 50% da resistência quando comparado com osso normal. Quando um enxerto volumoso é realizado e, sai da fase de reabsorção para a de aposição óssea, falhas e colapso podem ocorrer facilmente, com carga normal. Em modelos animais, enxerto alógeno cortical fresco funciona pobremente e invoca uma extensa resposta imune que aumenta a reabsorção enquanto atrasa o processo de revascularização. Os vasos que migram do leito receptor são circundados por células inflamatórias que os bloqueiam e sofrem degeneração. A medular é invadida por granulação fibrosa inicialmente e transformação em medular normal só é vista após 24 meses. Uma ampla e espalhada necrose osteócítica está presente por duas semanas, novo osso aposicional ocorre esporadicamente, e sempre após Dois anos do transplante permanecem grandes áreas de osso necrótico. A reorganização do osso cortical atrasa e, ocorre somente durante o segundo ano após transplantação. Se esses enxertos forem submetidos à carga normal, falhas podem ocorrer rapidamente. Porém, quando enxertos corticais alógenos frescos são estabilizados apresentando baixa compressão, osteoindução e osteocondução falhas podem ocorrer mesmo na presença de resposta imune. Após Um ano esses enxertos alógenos podem ser estruturalmente e mecanicamente similares aos autógenos. O congelamento e congelamento a seco do osso cortical alógeno pode melhorar a incorporação. A reabsorção é o principal evento desse material e independe do estado do sitio receptor. Formação óssea procede muito mais lentamente e atrasada do que no autógeno, embora isto seja um pouco mais eficiente que no alógeno fresco. Enxertos modificados permanecem significativamente mais fracos por Seis meses, e proporcionam uma inefetiva estrutura mecânica, se a nova formação óssea aposicional é atrasada além deste tempo. Sempre após um ano, uma grande porção necrótica permanece como característica proeminente. Apesar de o inicial estágio inflamatório ser diminuído após transplantação de congelado ou congelado seco, a reabsorção e nova formação óssea procede de forma similar ao alógeno fresco. Todos os enxertos passam por uma fase inflamatória, revascularização, osteoindução, osteocondução, e finalmente, remodelação, para proporcionar uma eficiente estrutura. E o início do reparo depende da revascularização seguida por acréscimo mineral. As falhas do enxerto alógeno têm sido atribuídas à inadequação destas funções, que podem ser imunologicamente mediadas. Recentes trabalhos laboratoriais sugerem que histocompatibilidade pode ser um significante fator do aumento do sucesso de osso fresco congelado alógeno. Enxertos alógenos que de outra maneira estariam fadados a falhar,

demonstram aumento da incorporação com o uso de um tratamento breve com imunossuppressores. Uma combinação de modificação imune não tóxica e melhor histocompatibilidade, podem proporcionar uma imediata revascularização resultando em um enxerto ósseo com total sucesso.

Kirkeby; Pinholt; Larsen (1992) estudaram a influência de três formas de processamento na revascularização e incorporação de enxertos ósseos. Foram coletados enxertos de crista ílica de 10 ratos. Uma parte foi imersa em solução salina por 30s. A segunda congelada a -70° C por duas semanas. A terceira sofreu desmineralização por imersão em 0.6nmol/l HCL a 4° C por 24h e então congelada a -70° C por duas semanas. As peças foram transplantadas para uma bolsa intramuscular em músculos longos dorsais de ratos receptores após o tempo mínimo de estocagem. Os animais foram sacrificados após um período de três semanas. Após o sacrifício as peças foram todas removidas e a revascularização foi avaliada com micro esferas radioativas, injetadas na circulação. A formação de um novo osso foi avaliada pela incorporação de estrôncio, administrado três dias antes do sacrifício. A reabsorção foi avaliada pela medição da redução do peso do enxerto. Os enxertos autógenos e alógenos frescos se diferenciaram significativamente em todas as três variáveis. Osso autógeno congelado foi significativamente melhor revascularizado do que o osso alógeno congelado, mas não houve diferença na formação do novo osso ou reabsorção. Não existiu significativa diferença entre ossos autógenos e alógenos descalcificados em qualquer das variáveis estudadas. Concluiu-se que as diferenças na incorporação de enxertos de ossos autógenos e alógenos foram reduzidas pelo pré-tratamento com congelamento profundo ou desmineralização. Este estudo mostrou que a revascularização foi melhor no descalcificado que congelado, mas, só houve diferenças estatísticas quando comparado com o fresco autógeno. Não houve diferença no fluxo sanguíneo e mineralização entre autógenos e alógenos desmineralizado. Foi detectado uma ligeira e deteriorada revascularização no FFB comparado com o autógeno congelado, mas o autógeno fresco foi bem mais revascularizado que ambos, sugerindo que o congelamento reduz a qualidade do enxerto.

Foi comprovado que a vascularização inicial e mineralização entre os enxertos autógeno e alógeno são consideravelmente reduzidos por pré-tratamento com congelamento e desmineralização. Ambos afetam a incorporação com rendimento menor do que o autógeno.

Marx e Garg (1998) descreveram três diferentes processos associados com enxertos ósseos bem sucedidos: osteogênese, osteoindução e osteocondução. A osteogênese é a formação

e desenvolvimento do osso. Um enxerto osteogênico é derivado ou composto de tecido envolvido no crescimento ou reparo do osso. As células osteogênicas podem estimular formação de osso em tecidos moles ou ativar um crescimento ósseo mais rápido em locais ósseos. A osteoindução é o ato ou o processo de estimular a osteogênese. Os enxertos osteoindutores podem ser usados para aprimorar a regeneração óssea, e o osso pode até crescer ou se estender em uma área onde ele normalmente não é encontrado. A osteocondução propicia uma matriz física ou uma estrutura adequada para a deposição de novo osso. Os enxertos osteocondutores, são favoráveis ao crescimento ósseo e permitem a aposição óssea a partir de osso pré-existente, mas eles não produzem formação óssea quando enxertados nos tecidos moles. Para estimular o crescimento ósseo a partir de sua superfície, um enxerto osteocondutor requer a presença de osso pré-existente ou células mesenquimais diferenciadas. Todos os materiais de enxerto ósseo possuem pelo menos um dos três modos de ação. Os três principais tipos de materiais de enxerto ósseo são ossos autógenos, enxerto alógeno e aloplásticos. O mecanismo pelo quais estes materiais funcionam, depende normalmente da origem e composição do material. O osso autógeno utiliza a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução, na formação de um novo osso. Os enxertos alógenos, que podem ser corticais ou esponjosos, possuem propriedade osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras, porém, não são osteogênicos. Os enxertos aloplásticos, que podem ser compostos de materiais naturais ou sintéticos, são tipicamente osteocondutores. Os enxertos alógenos são obtidos de cadáveres, são processados em condições estéreis e estocados em banco de ossos. As formas encontradas são o seco congelado (FDBA) o congelado seco desmineralizado (DFDBA) e o fresco congelado (FFBA) e os frescos (FB). Quando são empregadas as devidas precauções e adequados testes em laboratório, o risco de usar ou receber um aloenxerto de um doador recém infectado por HIV não reconhecido é de aproximadamente 1:1. 600.000. O osso transplantado induz a uma resposta imune do hospedeiro. Os aloenxertos frescos são os mais antigênicos, porém o congelamento dos dois, seco ou não, reduz significativamente a antigenicidade. Algumas das vantagens do aloenxertos incluem uma disponibilidade imediata, eliminação de um local doador no paciente, anestesia e tempo cirúrgicos reduzidos, menor perda de sangue, e menos complicações. As desvantagens estão associadas principalmente pelo uso de tecidos de outros indivíduos porque uma resposta imune, mesmo que discreta, pode ocorrer e a qualidade do enxerto ósseo depende da história médica do doador.

Tomford e Mankim (1999) apresentaram um caso clínico de enxerto longo de fêmur onde após 2,5 anos do enxerto apenas 2 cm na área de osteosíntese estava revascularizada e remodelada e explicaram que pequenos segmentos de cortical com maior contato com o leito receptor , revascularizam e incorporam mais facilmente. A incorporação de ossos alográficos permanece um processo osteocondutivo, como novos fatores que estimulam o crescimento ósseo estão refinados, à adição desses fatores pode promover características osteoindutiva para ossos alógenos, proporcionando desse modo um significativo passo em direção de fazer do osso alográfico tão efetivo quanto o autógenos. Embora nenhum estudo tenha provado que o osso alógeno seja mais que um material osseocondutor.

2.1.2 ANTIGENICIDADE

Burchardt e Enneking (1978) apontaram três diferenças histológicas entre transplantes ósseos esponjosos e corticais e diferenças na incorporação do autógeno e alógeno; 1) enxertos esponjosos são mais rapidamente e completamente revascularizados do que os corticais; 2) substituição de osso esponjoso primeiramente envolve uma fase de formação óssea e depois uma fase de reabsorção, enquanto enxertos corticais sofrem um processo de remodelação reverso de substituição; 3) enxertos esponjosos tendem a ser reparados completamente em tempo, enquanto que, enxertos corticais permanecem com porções de osso necrótico e osso viável. A resistência mecânica do enxerto esponjoso e cortical pode ser correlacionada com seu respectivo processo de regeneração: enxerto esponjoso tende a ser primeiramente fortalecido, enquanto que o cortical é enfraquecido. Com o tempo, os dois tipos de enxerto retornaram à resistência mecânica normal. Em um estudo experimental, a resistência do enxerto de osso cortical foi ganha em aproximadamente de um para dois anos assim, que a porosidade interna se aproximou do osso normal. Um fator no reparo em transplantes corticais é o metabolismo fisiológico esquelético do hospedeiro, o qual influencia a taxa e quantidade do reparo. O reparo do transplante cortical é também caracterizado pelo ordenamento espacial; está localizado na periferia e próximo das junções do enxerto-hospedeiro e migra da junção para a região média do transplante. O processo ordenado do reparo é também caracterizado pela regeneração preferencial do “osteon” do que da lamela intersticial. A incorporação do transplante é uma função do hospedeiro e das células que permaneceram viáveis do transplante autógeno. O grau de participação de cada população não é conhecido. As células osteogênicas requeridas para o processo de regeneração podem ser derivadas do periósteo e endósteo. O processo de regeneração pode ser influenciado pela quantidade de trauma cirúrgico, lugar de transplantação, e capacidade do transplante de diferenciação induzido por células osteogênicas. O transplante alogênico de osso e cartilagem segue princípios imunológicos de outros tecidos alógenos. Osso alógeno fresco pode ser rejeitado como resposta do sistema imunológico do hospedeiro. A cartilagem é pouco apta para provocar ou ser afetada por uma resposta imune por causa de sua relativa avascularidade, e por causa de sua composição da matriz, a qual pode atuar como uma barreira mecânica. A

histobiocompatibilidade antigênica da cartilagem e do osso alógeno são presumivelmente a proteína ou glicoproteína na superfície celular enquanto que, componentes citoplasmáticos e nuclear e a matriz podem não ser conhecidos para iniciar a rejeição do transplante. A rejeição do osso e cartilagem é considerada por ser mais celular do que humoral, ainda que o componente humoral possa atuar na rejeição de ambos os tecidos. O grau da resposta do hospedeiro pode ser relacionado à concentração antigênica e dose genética. A rejeição do osso fresco é histológica e variadamente expressa pelo bloqueio dos vasos por um processo inflamatório dominado pelos linfócitos no final da primeira semana, a hialinização da parede vascular é aparente, conseqüentemente, as células ósseas morrem por inanição. A ação dos linfócitos perdura por dois meses com encapsulação fibrosa, e a resposta inflamatória crônica pode durar até oito meses ou mais, com reabsorção periférica ou total do enxerto. O grau de incorporação do enxerto indica o quanto o enxerto foi aceito ou rejeitado. O sucesso da incorporação inclui a formação de calo e consolidação do enxerto e o reparo interno do osso. Com enxerto ósseo autógeno no final da 1ª semana já há indícios de formação óssea na periferia. Com aloenxerto, osteogênese pode se iniciar após quatro semanas pelo leito receptor, devido à deficiência vascular inicial e revascularização total, podendo durar até oito meses. Uma vez que o osso e cartilagem diferem de outros tecidos, os princípios imunológicos do transplante de tecido podem ser modificados.

Cartilagens têm sido declaradas privilegiadas imunologicamente, porque sua composição modifica componentes aferentes e eferentes do sistema imunológico do hospedeiro. Ossos diferem de outros tecidos de duas maneiras: funciona física e fisiologicamente, e é capaz de se auto-regenerar pela formação de um mesmo tecido. Desta maneira, diferente dos transplantes renais, um assalto humoral num segmento de osso alógeno pode não ser desastroso, a menos que conduza a uma perda na integridade física do enxerto. Similarmente, existem algumas evidências de que o osso fresco cause a formação de inúmeras pontes de calo ósseo através do hospedeiro, o qual fortalece mecanicamente o local enxertado. Devido a capacidade de o osso alógeno ser regenerado ou apenas funcionar fisicamente pode ser uma alternativa para o osso autógeno, empregando congelamento profundo e liofilização. A segunda alternativa abordada é a imunossupressão temporária do hospedeiro, enquanto que o osso sofre uma remodelação por substituição e eliminação de transplantação antigênica. A utilidade clínica desses implantes tem sido freqüentemente debatida. Para os autores, este conceito está no início e requer avanços e

melhoramentos na sua área de tolerância, bem como escolha de tecidos, e o uso de drogas imunossupressivas.

Goldenberg et al. (1985) estudaram o papel da histocompatibilidade do enxerto ósseo alógeno, em dois modelos de enxerto ósseo canino. Em um modelo foi reposicionado um segmento ulnar esponjoso, enxertos ósseos alógenos congelados trocado entre cachorros de mesma origem genética, incorporaram significativamente melhor em avaliação histológica e radiológica, do que em enxertos com forte incompatibilidade. Enxertos alógenos congelados de doadores distintos, em receptores imunosuprimidos não se distinguiram em seis meses mais tarde daqueles grupos não suprimidos compatíveis e com frescos autógenos. Enxerto ósseo fibular fresco vascularizado colocado ortotopicamente, foi avaliado pela quantidade do fluxo sanguíneo, micro angiografia, e histomorfometria. Enxertos revascularizados trocados entre cachorros compatíveis mostrou preservado fluxo sanguíneo e um padrão de reparo que está atrasado, mas não adversamente diferente ao autógeno vascularizado. Estes resultados sugerem que enxertos frescos vascularizados criteriosamente compatíveis, ou receptores imunosuprimidos oferecem uma possibilidade clínica atrativa.

Virolainen; Vuório; Aro (1997) relataram que a compatibilidade entre doador e receptor para tecidos antigênicos tem vital importância para o sucesso do transplante em todos os órgãos e tecidos, e a maior exceção é o osso. Porém, isso gera discussão, por uma resposta imune celular e humoral, ter sido observada em enxertos experimentais. O presente estudo comparou o processo de cicatrização do enxerto alógeno congelado com compatibilidade antigênica com o não compatível e cortical fresco autógeno com estudos em ratos. Histomorfometria da interface enxerto-leito revelou que nova formação óssea inicia significativamente mais rápida no autógeno que no alógeno. Em duas semanas a quantidade de formação de novo osso no enxerto alógeno compatível é praticamente a mesma do autógeno. Porém, os enxertos não compatíveis, continuam a exibir um retardo na consolidação e formação óssea. Esta observação foi confirmada por análise da biologia molecular do nível de mRNA de colágeno tipo I, que aumenta rapidamente e alcança um nível mais alto no autógeno que no alógeno. O uso de enxerto compatível resulta em persistência de colágeno tipo I com expressão na cicatrização tecidual do que no enxerto não compatível. Não existem diferenças aparentes entre alógeno e autógeno na expressão do colágeno tipo III. Nenhuma cartilagem específica, colágeno tipo II RNA foi observado, indicando que o enxerto não compatível e o congelamento não alteram o mecanismo básico do processo de

cicatrização da interface ou consolidação, embora o início do processo seja lento e inferior. O experimento sugere que a maior incompatibilidade entre o doador e receptor afeta temporariamente a expressão do código genético da matriz óssea extracelular como uma resposta imunológica e atrasa a nova formação óssea na interface entre enxerto e leito de um enxerto ósseo cortical alógeno congelado. A cicatrização na interface é superior no osso autógeno no início do processo, mas esta diferença começa a diminuir na quarta semana e quase desaparece na oitava semana.

Hoje no Brasil se observa um maior incentivo a doação de órgãos e tecidos. Campanhas publicitárias, realizações de palestras para educação de profissionais de saúde e da população, são formas encontradas pelas centrais de notificação, captação e doação de órgãos (CNCDO) para que o número de transplante aumente.

Uma das áreas em que se observa uma conscientização da população e conseqüentemente um aumento de transplantes é a de tecidos músculo-esquelético, apartir de doadores cadáveres e doadores vivos. Conforme dados da associação brasileira de transplantes de órgãos. Segundo a associação brasileira de transplantes de órgãos (2004), em 2003 foram oficialmente realizados 636 transplantes de tecidos Músculo-Esqueléticos e em 2004 esses números subiram para 723. Observamos maior diferença ainda quando comparamos com 1999 onde foram realizados somente 122 transplantes de tecidos músculo-esqueléticos oficiais.

Relatos de transplantes ósseos datam desde tempos bíblicos ate os tempos atuais (FEOFILOFF, 2001). A cada ano as especialidades médicas incidam novas utilizações para tecidos músculo-esqueléticos, nas especialidades de ortopedia, oncologia, pediatria, urologia, otorrinolaringologia, cirurgia de coluna, oftalmologia, e na odontologia, por implantodontistas, periodontistas e cirurgiões buco-maxilo faciais.

A necessidade de utilização de enxertos em grandes falhas ósseas aumentou a necessidade de obtenção de homoenxertos. Segundo Drumond (2000) enxertos homólogos são aqueles realizados entre seres da mesma espécie, mas com características geneticamente desiguais, podendo ser chamado também de aloenxerto. Conforme Tomford (1993), estes enxertos podem ser provenientes de doador vivo ou doador cadáver. Os tecidos provenientes de doadores vivos são obtidos quando esse é submetido à cirurgia de Artroplastia total de quadril na qual a cabeça femoral não é utilizada e é enviada, com consentimento do doador, para o banco de ossos. Também são tecidos de doadores vivos ossos de membros amputados ou tecidos dados por

parentes, por exemplo, uma mãe que retira uma porção do osso do íliaco para uma cirurgia de coluna do seu filho que não possui suporte ósseo para tal. Ainda de acordo com Tomford (1993) e com a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (2003), a principal fonte de tecidos homólogos é o doador cadáver, do qual podem ser retirados grandes ossos (fêmur, tíbia, fíbula, úmero, rádio, e ulna), crista ilíaca e hemipelve, aparelho extensor do joelho, tendões tibiais, tendão de Aquilles e em situações especiais, mandíbula, escápula, costela e corpos vertebrais.

Muitas são as etapas as quais o tecido é submetido, desde a retirada do doador até o seu implante no receptor. Qualidade e segurança são fundamentais e para isso critérios rigorosos são seguidos (MUSCLOW, 1992; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ORGAOS, 2003). Em vários países do mundo existem associações que determinam protocolos a serem seguidos, como as normas do *American of Tissue Banks* – Associação americana de banco de tecidos, para se evitar a transmissão de microorganismos. Essa é uma das maiores preocupações dos bancos de tecidos músculo-esqueléticos, ou seja, a contaminação por microorganismos com potenciais e graves complicações ao receptor.

Dentre alguns cuidados tomados para sua prevenção, incluem-se a seleção rigorosa de doadores, a escolha da sala de cirurgia onde será realizado o procedimento de captação, a preparação da pele do doador, o emprego da técnica cirúrgica apropriada, exames complementares e exames microbiológicos e a embalagem, transporte e armazenamento dos tecidos. Além de dados de história médica pregressa e análise do prontuário de internamento do doador (BANCO DE TECIDOS MUSCULO-ESQUELETICOS, 2004).

A retirada dos tecidos pode ser realizada até 12 horas após o óbito, se o corpo estiver em temperatura ambiente, ou em até 24 horas, se mantido sob refrigeração, a temperatura de 4°C (MUSCLOW, 1992; TOMFORD, 1993; FEOFILOF, 2001). Tomford (1993) relata a necessidade do cuidado de se desviar grandes veias e artérias durante o procedimento para não umedecer os campos cirúrgicos. Muscslow (1992) relata que a ordem de retirada dos tecidos não importa, mas em contradição, Tomford (1993) diz que seguindo a ordem de membros inferiores, superiores e íliaco, o índice de contaminação será menor.

A base científica do transplante ósseo foi estabelecida na metade do século XIX com observações feitas por OLLIER (1867) sobre as propriedades osteogênicas do osso e periosteio, assim como por FRIEDLANDER (1885), a influência benéfica do frio na preservação dessas características. INCLAN em 1942, e WILSON em 1947 51 publicaram estudos onde descreviam

o uso de osso preservado em cirurgia ortopédica. A necessidade de encontrar material de enxerto para as falhas ósseas segmentares criadas no esqueleto vem crescendo dia-a-dia, como se pode evidenciar nas publicações de vários autores (HYATT & BUTLER, 1957; HEIPLE et al., 1963; TOMFORD et al., 1983; SCHNEIDER & BRIGHT, 1976).

A obtenção de auto-enxerto é, por vezes, revestida de alguma morbidade. Por outro lado, nas crianças, a quantidade de enxerto é freqüentemente insuficiente. A falta de adequada quantidade de ossos para preencher grandes defeitos, vem aumentando as aplicações clínicas da utilização de homoenxertos frescos e congelados, para os quais ainda não existe substituto sintético satisfatório e em quantidade suficiente.

O espectro de uso dos homoenxertos ósseos é bastante amplo, podendo ser utilizados em cirurgias de ressecção de tumores, traumas, cirurgias de coluna e em todos os procedimentos cirúrgicos que necessitem grande quantidade de enxerto ósseo.

A maior parte das instituições (banco de ossos) preconizam para a seleção dos pacientes as normas do American Association of Tissue Bank, Doenças como AIDS, hepatite, sífilis, tuberculose, micoses ósseas ou doenças metastáticas excluem os doadores potenciais, assim como também são excluídos pacientes que apresentam evidências de doenças sistêmicas ou localizadas nos ossos e tecidos moles, vítimas de morte por envenenamento, grandes queimados, pacientes que permanecem com respiração assistida por mais de 72 horas, ingerido drogas ou substâncias tóxicas.

A obtenção dos ossos é realizada da seguinte forma, logo após a parada dos batimentos cardíacos, obedecendo a rigorosas técnicas assépticas. Utilizando técnicas cirurgias convencionais, realiza-se degermação da pele com solução degermante de PVPI, anti-sepsia com PVPI alcoólico, colocação de campos cirúrgicos e através de incisão longitudinal tanto nos membros superiores como nos inferiores, os ossos são retirados com auxílio de instrumentos cirúrgicos convencionais. Após a retirada dos ossos, os cadáveres são condignamente recompostos com auxílio de tubos plásticos ou de madeira, de diferentes diâmetros que são encaixados e ajustados nos membros dos doadores, de forma a substituir os ossos retirados. (NATHER, 2000; PARANÁ, 2004; ALENCAR; FEOFIOFF 2001). Após o fechamento da incisão, os corpos são entregues aos responsáveis para sepultamento ou necropsia, sem nenhuma mutilação aparente.

Musclow (1992) diz que a retirada dos tecidos deve ser feita de forma profissional e digna, refletindo respeito e possibilitando que o funeral seja realizado, inclusive, com caixão aberto. Os ossos obtidos são submetidos à esqueletização, que consiste na remoção de todas as partes moles. Na região das inserções capsulares e ligamentares há sempre uma maior dificuldade na esqueletização.

Após a retirada dos tecidos moles (esqueletização) são colhidas amostras de todos os ossos, onde são enviadas ao laboratório para testes bacteriológicos. Em seguida os ossos são imersos um a um em solução crioprotetora de glicerol 10% onde permanecem por 30 minutos. (Banco de tecidos músculo-esqueléticos 2007).

Ainda na mesa de instrumental cirúrgico auxiliar, os ossos são embalados separadamente em dois sacos plásticos de poliamida número 6, incolores, transparentes, flexíveis, inodoros e estéreis, um dentro do outro e fechados em seladora apropriada. Este material mostra-se resistente ao congelamento por longos períodos.

Para cada osso armazenado no congelador é confeccionada uma ficha onde são descritas suas características assim como os tratamentos submetidos. Além da ficha para identificação do enxerto são preenchidos outros formulários contendo registro do doador e dos ossos retirados.

Os ossos são congelados a temperaturas de 70°C negativos em congelador especial de ultra baixa temperatura equipado com alarme que dispara cada vez que a temperatura sofre alguma variação de mais do que 10 graus. Esta área possui um gerador próprio o qual evita a falta de energia por tempo prolongado. Os refrigeradores são equipados com tacógrafos que registram as temperaturas em gráficos de papel.

A captação de ossos pode ser realizada em todo o país. Quando surge um potencial doador, o hospital entra em contato com a central de transplantes da secretaria de estado de saúde que comunica as equipes de plantão. A equipe do banco realiza uma triagem, que verifica a possibilidade desta doação se concretizar. Após a doação os tecidos ficam em quarentena em um freezer com temperatura de -85c, aguardando o resultado de todos os testes realizados, para que estes tecidos possam ser processados e posteriormente liberados para o uso.

Para que a doação seja realizada, precisa haver autorização da família do doador. Além do desconhecimento sobre a possibilidade de doação destes tecidos, muita gente deixa de realizá-la por acreditar que o procedimento irá fazer com que o doador não tenha sua aparência preservada

para o velório. A legislação brasileira vigente exige a perfeita reconstrução do corpo do doador, inclusive partes que ficam visíveis à família (mãos e rosto) nunca são tocadas.

2.1.3 PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DE TECIDOS

Tecidos músculo-esqueléticos (ossos, cartilagens, tendões, ligamentos, meniscos etc.) podem sofrer processamento, isto é, ser avaliados e preparados para o seu uso definitivo. O processamento permite controle mais rigoroso da qualidade do tecido, aumenta sua segurança e permite que um maior número de pacientes seja beneficiado a partir de um doador.

Após o término do período de quarentena dos tecidos coletados, em que os resultados dos exames imunogenéticos e culturas de bactérias e fungos.

Vieram negativos, as peças são retiradas do congelador, onde foram mantidas. A 85° C negativos. A equipe de técnicos, paramentada como para um procedimento cirúrgico, retira as embalagens e descongela o osso em uma sala equipada com aparelho de fluxo laminar classe 100.

São realizadas novas coletas para cultura, e o osso e tecidos adjacentes são preparados para seu uso final, conforme programação. Por exemplo, o fêmur de um doador pode resultar em dois enxertos preparados, em um fêmur proximal e outro fêmur distal, que podem ser utilizados em revisões de artroplastia ou cirurgia de tumores ósseos. Ou podem então ser preparadas quantidades de osso esponjoso para diversas finalidades, divididas em diversas embalagens, e a diáfise pronta para ser utilizada como tábua cortical em fraturas periprotéticas do quadril. Como ao final do processamento os segmentos ósseos são embalados individualmente, o número de receptores pode aumentar consideravelmente, sem risco de contaminação dos enxertos.

Em geral, durante o processamento dos tecidos, as partes moles (periósteo, restos de tendões) são retiradas mecanicamente, e então são empregados métodos físico-químicos para eliminar os elementos figurados sangüíneos do interior do osso medular e a gordura presente.

Outras vezes, segmentos osteoarticulares são preparados, preservando-se cartilagem articular e elementos capsuloligamentares. Tendão patelar com segmentos ósseos em cada extremidade é bastante utilizado em medicina desportiva, assim como transplantes de meniscos do joelho.

Após resultado das culturas realizadas no início e no final do processamento, o tecido mantido no freezer à temperatura de 80 ° C negativos está disponível para uso. Em condições ideais, em temperatura constante, pode ficar estocado por um período de 5 anos. De acordo com as normas da AATB (American association of tissue banks).

Alguns bancos de tecidos tratam ossos por um processo chamado liofilização. Este consiste em retirada de toda a água presente no enxerto congelado, passando a diretamente ao estado gasoso, através de uma combinação de temperatura e pressão. Assim é possível armazenar os tecidos desidratados à temperatura ambiente, em frascos à vácuo, aumentando a capacidade de estocagem do banco. Também facilita muito o transporte de tecidos do banco para outros hospitais, muitas vezes localizados em cidades distantes. Como toda água é extraída no processo, com conseqüente destruição celular, o risco de transmissão de doenças é mínimo. Por outro lado, há uma considerável redução da resistência mecânica do enxerto e, portanto, apenas enxertos picados, e não segmentos ósseos estruturais são liofilizados.

2.1.4 REDUZINDO O RISCO DE INFECÇÃO

Como o maior temor dos profissionais e usuários de tecidos transplantados é a possibilidade de o tecido estar contaminado por vírus ou bactérias, diversos bancos de ossos utilizam Métodos secundários para reduzir este risco. Um dos métodos aplicados é autoclavagem dos tecidos, o que elimina tais microorganismos. Infelizmente o processo também provoca degradação das proteínas presentes no tecido, responsáveis pelo processo de osteoindução, de modo que tecidos esterilizados em autoclave têm baixo índice de consolidação.

Alguns centros utilizam esterilização a gás, através do óxido de etileno, que é tradicionalmente empregado na esterilização de instrumentos cirúrgicos; um dos problemas relacionados ao seu uso é a permanência de resíduos do gás nos tecidos, já que ocorrem reações químicas quando empregados na presença de água, que é o caso em tecidos congelados a fresco. Tais resíduos podem provocar irritação local e também são considerados cancerígenos. São ainda eventualmente utilizados na esterilização de ossos esponjosos picados liofilizados, já que este processo retira todo o conteúdo líquido do tecido e não traz o risco da presença de resíduos. Há ainda relatos de sobrevivência de vírus em tecidos esterilizados por óxido de etileno, enquanto que bactérias são completamente eliminadas.

O método mais utilizado para a redução do número de organismos presentes em tecidos humanos é a irradiação, feita habitualmente por raios gama; a dose utilizada varia de acordo com diversos autores. Cada bactéria tem sua dose apropriada de radiação para ser eliminada, enquanto vírus são bem mais resistentes ao processo e necessitam doses maiores. Parece razoável propor, então, uma alta dose de irradiação para garantir a descontaminação dos tecidos. Infelizmente, tecidos irradiados tem menor possibilidade de incorporação ao osso hospedeiro, além de terem sua resistência mecânica reduzida. Tais efeitos são diretamente proporcionais à dose empregada e, portanto, não se aplica, na prática, quantidade de radiação que permita esterilização terminal.

Outras formas de tratamento de tecidos ósseos têm sido descritas na literatura, como limpeza mecânica e alta pressão por jatos da água esterilizada, degermação superficial com

PVPI ou outros anti-sépticos e detergentes, mais tais processos não garantem total descontaminação dos tecidos e são considerados apenas métodos auxiliares.

2.2 DISCUSSÃO

Mesmo o transplante de ossos sendo o primeiro a ser citado na história, não é do conhecimento popular a sua prática. Historiando o transplante, Pereira (2000), relata que no ano de 348 a.C. São Cosme (o clínico) e São Damião (o cirurgião), após amputação da perna de um senhor idoso, transplantaram nele a perna de um soldado mouro que havia morrido naquele dia. Contudo o primeiro registro de transplante ósseo data de 1682, por Job van Meekren, que preencheu um defeito na cabeça de um soldado russo, com um pedaço de osso de cão (TOMFORD, 1983). O autor comenta que a primeira publicação de transplante homólogo em humanos ocorreu em 1881 e a partir de então, os métodos de estocagem de tecidos músculo-esqueléticos começaram a ser investigados. Cita ainda que em 1899 foram publicados os primeiros trabalhos sobre banco de tecidos ósseos e estudos com ossos de animais, proveniente da Europa. Em 1948, há referência da criação do primeiro banco de ossos, no hospital geral britânico (TOMFORD, 1993). Ainda, existem relatos históricos de que entre 1950 e 1951, durante o conflito da Coreia, a marinha, vendo a necessidade de estocar partes do corpo humano para o tratamento em massa, fundou o banco de tecidos da marinha, sediado no Centro Médico Naval Nacional em Bethesda, Maryland, EUA. Hyatt, seu primeiro diretor, desenvolveu conceitos para a coleta de tecidos de cadáveres, sendo que a partir desta época os bancos de ossos começaram a se expandir por vários lugares do mundo (TOMFORD e MANKIM, 1999).

A utilização de ossos de banco é sem dúvida, uma técnica que vem sendo largamente utilizada em vários países. Publicações de artigos descrevendo o uso de ossos preservados apareceram mais frequentemente a partir das décadas de 40 e 50 (INCLAN, 1942; WILSON, 1947-51). Para a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (2003) a idade mínima é de 15 anos, para Tomford (1993) e Noda (2000) 16 anos, já Musclow (1992) e Feofiloff (2001) mencionam a idade mínima de 18 anos. Os autores são unânimes quando relatam que a idade máxima gira em torno de 55 a 60 anos, podendo chegar a 70 anos, em casos especiais. Estes limites decorrem do fato de que antes dos 15 anos ainda podem ser encontradas placas de crescimento e após os 55 anos a possibilidade de se encontrar ossos osteoporóticos ou com malignidade é muito maior (MUSCLOW, 1992; TOMFORD, 1993; ALENCAR; FEOFILOFF,

2001). *A retirada de tecidos ósseos de crianças envolve critérios emocionais, então muitos bancos preferem não fazer esse procedimento* (TOMFORD, 1993).

Apesar da inferioridade do homoenxerto ósseo quando comparado ao auto-enxerto no que se refere ao seu potencial osteogênico, é estabelecido que seja bem incorporado em crianças e adultos. Os homoenxertos são também úteis em pacientes idosos, cujos ossos osteoporóticos fornecem auto-enxertos de má qualidade (NATHER, 1991). Os homoenxertos, também conhecidos com aloenxertos, são enxertos de tecidos nos qual o doador e o receptor são da mesma espécie. Esse tipo de transplante ósseo é largamente utilizado na Medicina e há varias décadas vem gerando resultados extremamente satisfatórios. Na Odontologia o uso de homoenxertos restringia-se a reconstrução de ossos que sofreram grandes recessões cirúrgicas ou traumas.

O osso autógeno fresco é o melhor material para aumento ósseo disponível hoje. Muitos autores, entre eles Lyford, Mills, Knapp (2003) corroboram com essa afirmação. Afirmação esta feita pela primeira vez por Ollier (1867), quando este estabeleceu as bases científicas concernentes às propriedades osteogênicas do tecido ósseo e do periósteo. Esse desempenho superior do osso autógeno é creditado as suas propriedade osteogênicas, osteoindutoras e osteocondutoras. A osteogênese, inclusive, é citada por vários autores, entre eles Goldberg, Stevenson (1987), como uma propriedade exclusiva do osso autógeno fresco. O osso homogêneo congelado, por sua vez, não é dotado de propriedades osteogênicas, já que não possui células viáveis, mas provê osteoindução e osteocondução, como demonstrado por Mizutani, Fujita, Watanabe, e, Sakakida (1990); Salamon (1991). Esses autores afirmaram, ainda, que o congelamento, diferente da liofilização e esterilização, preservava essas duas propriedades. Já os trabalhos de Aspenberg, Johnsson, Thorngreen (1990) Goclawska (1991) Stephenson, Oakeshott (1994) Batista et al (1997); Munting (1998) também concluíram que os processos de liofilização ou esterilização prejudicam significativamente a regeneração dos enxertos.

Muitos autores têm relatado como maiores vantagens no uso de homoenxertos preservados a redução do tempo de cirurgia e anestesia, redução da perda sangüínea, redução das potenciais complicações relativas ao local da doação de auto-enxertos como infecções, hematomas, lesões vasculares e nervosas, instabilidade da articulação sacro-ilíaca, deformidade

cosmética e a dor crônica atribuída aos locais de doação. Outra vantagem é evitar a dor que costuma ser mais acentuada no local da doação que na região operada propriamente dita. (NATHER, 1991).

A seleção dos doadores é um dos passos mais importantes da transferência de órgãos entre seres humanos. Através do transplante de órgãos podem-se resolver várias patologias, porém existe o risco de contaminação do receptor com implantes infectados, o que é motivo de grande preocupação para todos aqueles que lidam com transplantes de órgãos em sua prática diária. Devido a isso, uma bateria completa de exames sorológicos e bacteriológicos é realizada em todos os doadores potenciais, visando diminuir ou mesmo eliminar esse risco. A Associação Americana de Bancos de Tecidos (American Association of Tissue Bank, 2004), referencia mundial, possui um formulário próprio para exame físico, o qual engloba todos os dados de identificação do doador, observações do exame físico e análise do prontuário.

Musclow (1992, p.31) demonstra de forma simples critérios de exclusão de doadores, conforme a seguir:

- Presença de infecção crônica.
- Período de assistência de respirador que exceda 72 horas.
- Presença de malignidade (com exceção de carcinoma de células basais da pele).
- Presença de doença auto-imune.
- Presença de doença inflamatória (incluindo artrite reumatoide).
- Presença de debilidade, doença neurológica degenerativa.
- Abuso da pratica de drogas intravenosa.
- Presença de altos fatores de risco para AIDS e/ou hepatite.
- Presença de doenças de etiologia desconhecida.
- Uso prolongado de corticosteróides.
- Exposição tóxica previa (produtos industriais).
- Tratamento prévio com hormônio humano derivado da célula pituitária.
- Presença de doença nos ossos (osteoporose, osteopenia, osteonecrose induzida por esteróides).
- Tratamento cirúrgico de grande porte dentro de 72 horas antes da morte.

- Desconhecimento da causa precisa de morte.

Uma das vantagens da obtenção de tecidos de doadores com morte cerebral é que a retirada dos ossos acontece imediatamente após a parada dos batimentos cardíacos. Desta forma, ficam diminuídas as chances de desenvolvimento de microorganismos no corpo do doador que possam resultar na obtenção de ossos contaminados.

Acredita-se que homoenxertos congelados, obtidos em condições assépticas funcionam como uma plataforma para a formação de osso novo, agindo mais como osteocondutor que como osteoindutor (MIZUTANI et al., 1990; SOLOMON, 1991). Além disso, os enxertos ósseos congelados podem ser reabsorvidos e transformados com mais facilidade do que os enxertos tratados com substâncias químicas, muito difíceis de ser removidas (BOYNE, 1968).

Em 1951, foram realizados experimentos com um banco de ossos preservados em solução aquosa de timoral, afirmando ser este um método de preservação simples, barato e asséptico (1); acredita-se, todavia, que a glicerina também é um meio de preservação simples, barato e asséptico, tal como o timerosal. É possível armazenar o banco de ossos imersos em glicerina á temperatura ambiente, não sendo necessário o congelamento e outros métodos lesivos (7,8,9) esta é outra vantagem da utilização da glicerina, pois armazenando-se á temperatura ambiente não há formação de cristais intra e extracelulares, além de alterações eletrolíticas deletérias as células e potencialmente destrutivas a matriz óssea. Seu efeito asséptico na conservação de tecido ósseo deve-se particularmente as suas propriedades físicas (10), e, portanto não há problema quanto ao fenômeno da resistência bacteriana, assim como ocorre atualmente com o timerosal.

A esterilização permanece como o maior problema na enxertia, sendo freqüente a contaminação bacteriana, fungica e viral (3); devido a este fato diversos autores estudaram a viabilidade do oxido de etileno como meio de conservação de fragmentos ósseos (4, 11, 12, 13, 14,15). Porém, sua viabilidade é questionável após 32 semanas de estocagem (13), sendo que o período Maximo de estocagem aceitável é de seis a 18 meses (2,3). Pode se constatar que a glicerina é capaz de conservar o tecido ósseo por um prazo de nove anos de armazenamento (108meses aproximadamente), superando o oxido de etileno neste aspecto.

Levando-se em consideração que o numero de amostras positivas para o crescimento microbiano é estaticamente muito pequeno em comparação com as amostras negativas, deve-se considerar,

portanto, a glicerina como um excelente meio de conservação de tecido ósseo, mantendo o tecido isento de microorganismos por um período de até nove anos. No entanto, algumas desvantagens também têm sido citadas, como o risco de transmissão de doenças através de homoenxertos contaminados, as reações imunológicas provocadas pelo enxerto e as altas taxas de infecção descritas na literatura.

De acordo com Purita (1987); Moura (1996); Silva, Rodrigues e Cesaretti (1997) Parra e Saad (2001); Murray (2002) e Possari (2004) esterilização é o processo de destruição de todas as formas de vida microbiana. Bactérias nas formas vegetativas e esporulada, vírus e fungos, através de processos físicos ou químicos. Existem várias formas de esterilizar os materiais, comumente é utilizado calor úmido, por ser o método mais confiável e efetivo (SILVA, RODRIGUES e CESARETTI, 1997) Frente à existência de artigos que não suportam calor, denominados termo sensíveis, outras formas de esterilização, com óxido de etileno, radiação ionizante, formaldeído, glutaraldeído e peróxido de hidrogênio podem ser utilizados.

Várias técnicas de preservação de homoenxertos ósseos já foram descritas, entre elas a utilização de ossos congelados a baixas temperaturas (aproximadamente 20°C negativos), ultra baixas temperaturas (em torno de 70°C negativos), uso de ossos liofilizados, ossos preservados em substâncias químicas como álcool, glicerina, solução de beta-propiolactone e mertiolato, enxertos submetidos à esterilização com gás de óxido de etileno, autoclavação e irradiação (LOGRIPPO et al.1957; LAVRISHEVA, 1981; MEHRA, 1993; REYNOLDS et al., 1951).

O congelamento a temperaturas em torno de 70°C negativos diminui marcadamente a antigenicidade dos enxertos, além de promover a preservação dos ossos por longos períodos (HART et al., 1986). A liofilização tem mostrado ser muito eficaz na preservação de enxertos ósseos, além de facilitar a armazenagem que pode ser feita em prateleiras à temperatura ambiente (BOYNE, 1968; FRIEDLANDER, 1976; HERROU & NEWMAN, 1989), mas os elevados custos de execução e manutenção tornam este método inviável no momento.

Repetidos congelamentos de enxertos ósseos não são recomendados, pois a estrutura do osso enfraquece a cada recongelamento (EVANOFF, 1983). Este é um dos argumentos que se utiliza para desprezar os ossos descongelados e não utilizados durante as cirurgias.

Os ossos são descongelados em temperatura ambiente. O uso de solução salina aquecida 40c para descongelamento dos ossos foi descrito por DELLOYE et al. (1991), porem observou-se que os ossos processados desta forma no momento da utilização apresentavam-se descongelados apenas externamente. As regiões mais internas do osso permaneciam endurecidas devido ao congelamento por longo período.

Nos EUA a probabilidade de obtenção de um enxerto ósseo contaminado pelo vírus HIV que tenha conseguido passar pelos diferentes testes de triagem é de 1 (Um), em 8.000.000 (DELLOYE et al., 1991). Delloye acredita que os ossos deveriam ainda permanecer armazenados por pelo menos seis meses antes da utilização. Durante este período os pacientes receptores de outros órgãos do mesmo doador eram acompanhados a fim de verificar o desenvolvimento de alguma patologia que não tenha sido identificada na ocasião da doação.

DELLOYE et al. (1991) observou que enxertos armazenados de três semanas a 4 anos, não apresentavam qualquer diferença relacionada com o tempo de armazenamento. Os ossos poderiam permanecer armazenados por tempo indeterminado, não havendo alteração em sua qualidade, desde que estivessem protegidos do ar e de contaminações (CLOWARD, 1982).

Segundo o coordenador do curso de especialização em implantodontia da Associação Brasileira de Cirurgiões-Dentistas, Dr. Fábio Bastos Neto, apesar do uso do banco de ossos na Odontologia serem recente e não existir uma comprovação cientificamente absoluta e embora já se tenha uma comprovação clínica por tempo de uso dessa técnica, o transplante ósseo é um sucesso e um meio seguro e viável para implantes.

Uma pesquisa conduzida por Navarro (2002) avaliou 77 pacientes submetidos a 267 implantes instalados sobre 99 homoenxertos, relatando um índice de sucesso de 90,9% dos homoenxertos e 93,6% dos implantes.

Com pouco volume ósseo das áreas doadoras intra-orais e o aumento da demanda, métodos alternativos usando osso fresco congelado podem oferecer um suprimento adequado, rápido e seguro em grandes reconstruções maxilo mandibulares para reabilitações com implantes. (ALENCAR, 2001).

O Ministério da Saúde é o órgão responsável pela regulamentação do banco de ossos. O processo de obtenção dos ossos passa por um rigoroso controle, desde o processo de captação, exames laboratoriais, limpeza até o armazenamento. Há uma equipe especializada em remoção de ossos que é avisada quando um doador de órgãos e tecidos entra em óbito. Assim como outros órgãos que servem para doação, como o coração, por exemplo, a equipe tem um prazo máximo de 6 a 12 horas para retirar os ossos e congelá-los em um freezer especial que resfria o material em até 80° negativos. Depois disso, são cortados em pequenos blocos para se adequarem ao uso odontológico. Tudo é feito com muito critério e cuidadosa reconstrução para que a aparência do paciente doador seja preservada. São esses pequenos blocos que são transplantados nos pacientes que precisam do osso. Ao contrário do que muitos pensam, o osso transplantado serve apenas para ativar a regeneração óssea do próprio paciente, já que depois de seis meses, já é substituído pelo osso da própria pessoa. “Vale ressaltar que o osso utilizado é o chamado osso fresco”. Ele é congelado, processado e aí sim implantado. Os ossos de um único doador podem beneficiar cerca de 50 pacientes, vítimas de perdas ósseas provocadas por tumores, troca de prótese articular e problemas odontológicos. Esclarece Fabio Bastos Neto, 2006.

As vantagens dos transplantes é que não existe incompatibilidade entre doador e receptor. Nada impede que um pedaço da tíbia sirva para substituir um pedaço de bacia, por exemplo. Os tecidos músculo-esqueléticos podem ficar armazenados, em ultra baixa temperatura, por até 5 anos, enquanto os órgãos devem ser transplantados imediatamente após a doação. E são poucos os impedimentos do doador.

O protocolo do banco de tecidos Músculo-Esquelético (2004) padroniza que para transporte de até uma hora não é necessário colocar os tecidos em gelo. Até seis horas pode ser utilizado gelo comum e acima disso é necessário o uso de gelo seco, sendo que os tecidos devem ser totalmente cobertos por gelo. O tempo máximo de conservação de gelo seco é de 24 horas. O que foi observado na revisão da literatura em relação ao reparo cirúrgico e biologia óssea foi que já no início (AXHAUSEN, 1907 apud PURANEN, 1966), em pesquisas com transplantes autógenos, observou-se que mesmo com cobertura de periosteio as células ósseas morriam, mas que se mantinham vivas na periferia exercendo forte função osteogênica, e foi concluído naquela época já, que a diferença entre autógeno e alógeno era a velocidade de regeneração.

Uma outra escola defendeu que a reorganização dos transplantes ocorria pelos tecidos celulares pluripotentes vizinhos que são induzidos osteogênicamente por substâncias liberadas com a morte tecidual. Esta opinião ficou conhecida como a *teoria da indução ou teoria da metaplasia*, (LEVANDER, 1934 apud PURANEN, 1966).

Ocorreram novas evidências (Urist, 1965 apud TONFORD e MANKIN, 1999) à favor da teoria da indução sugerindo que a formação óssea no interior de enxerto ósseo desvitalizado e descalcificado, ocorre por auto-indução, em que ambas células indutoras e induzidas são derivadas da invasão celular do leito ósseo, estimuladas pela degradação de produtos da matriz do enxerto, morta. A osteoindução é um processo pelo qual células mesenquimais do leito receptor são recrutadas para diferenciarem-se em osteoblastos. O recrutamento e diferenciação dessas células é provavelmente modulada por polipeptídeos de baixo peso molecular, como as glicoproteínas, que é o caso da proteína morfogenética óssea (BMP). A atividade da BMP não requer viabilidade das células do enxerto, e está presente não somente em enxertos autógenos frescos, como também em enxertos alógenos modificados. A BMP pode ser mais facilmente exposta nos processos de desmineralização do enxerto, que não pode ser autoclavado, pois desnatura as proteínas e destrói a atividade da BMP (URIST, 1976).

A outra propriedade do enxerto descrita (URIST, 1976) é a osteocondução que é dada por um processo tridimensional de crescimento de capilares, tecidos perivascular e invasão por célula osteoprogenitoras do leito dentro do enxerto. O enxerto propicia uma ponte ou estrutura para o crescimento tecidual. Em adição a esta função biológica, o enxerto pode providenciar estrutura de suporte até o futuro osso poder suportar carga. Enxertos de osso cortical mantêm mais comumente a integridade estrutural durante o remodelamento. Porém a incorporação de todo o enxerto procede por substituição, em uma gradual reabsorção do enxerto e troca por novo osso. Embora o enxerto possa funcionar como uma estrutura mecânica efetiva, ainda pode persistir certa quantidade de tecido não viável. Enxertos esponjosos são totalmente reabsorvidos e trocados pelo osso do receptor, mas enxertos corticais podem nunca serem reabsorvidos completamente e podem permanecer em uma mistura de enxerto necrótico e osso viável originário do receptor. Portanto, isto dificulta definir um exato momento e o estado de incorporação.

O osso alógeno fresco congelado cicatriza principalmente por osteocondução, apresenta células mortas e não é desmineralizado. A presença de medula óssea vermelha que é o principal

componente antigênico, e gordura, atrasam a revascularização. A invasão vascular no osso cortical congelado é mais lenta do que no autógeno fresco, isso não é evidente no cortical liofilizado, que é livre de gordura e tecidos moles. Aparentemente revascularizam mais rápido do que o fresco autógeno. Esta surpresa sugere que a remoção da gordura e tecidos moles facilita a penetração de vasos. Mas perdem a resistência mecânica torcional inicial, por micro fraturas que ocorrem pelo processamento na sublimação da água, que com a rígida fixação e o tempo ideal de remodelação, não representando riscos para a implantodontia. Mas o que se observou (BURWEL, 1968) é que o liofilizado reabsorve mais que o fresco congelado, e consideramos que seja uma boa indicação para enxerto no seio maxilar, mas prefere-se para enxerto aposicional o osso alógeno fresco congelado, por apresentar características físicas mais próximas do autógeno. Apenas com o congelamento e remoção da medula o osso esponjoso perde a ação antigênica, mas o osso cortical ainda provoca uma resposta imune discreta, retardando também a revascularização e remodelação do enxerto. O grupo sanguíneo adverso não é importante na resposta imune do enxerto. As razões para que osso de banco não seja um substituto tão bom quanto o autógeno deve ser procurado em outros fatores como: diminuída vascularidade e migração celular, com diminuída osteogênese (BURWEL, 1968)

Todos os enxertos passam por uma fase inflamatória, de revascularização, de osteoindução, de osteocondução, e finalmente remodelação, para proporcionar uma eficiente estrutura de suporte. O início do reparo depende da revascularização seguida por acréscimo mineral. As falhas do enxerto alógeno têm sido atribuídas pelo não cumprimento destas funções, que podem ser imunologicamente mediadas. Para que se entenda o que ocorre com a resposta imune, mas de uma forma discreta e fugaz, no osso alógeno fresco congelado podemos fazer associação ao que ocorre com o osso alógeno fresco em animais (GOLDBERG; STWENSON, 1987). Os vasos que migram do leito receptor no final da primeira semana, são circundados por células inflamatórias, que os bloqueiam, e provocam degeneração dos vasos; a medula é invadida por granulação fibrosa e a remodelação óssea normaliza após o primeiro ano. Com a fixação rígida e ausência de carga pode ocorrer osteoindução e osteocondução mesmo com a resposta imune. A imunossupressão pode diminuir a rejeição, mas aumentar complicações cicatriciais (HARDIN, 1994)

Os enxertos alógenos, que podem ser corticais ou esponjosos, possuem propriedade osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras, porém, não são osteogênicos (MARX; GARG,

1998) só induzem formação óssea na presença de osso viável no leito receptor. Isso implica em qualidade do leito receptor em relação à vascularidade, saúde e rígida fixação com cobertura muco periosteal. Além de um tempo maior para o reparo.

Enxerto cortical usualmente não é penetrado por vasos sanguíneos do doador até o sexto dia, e dependendo da medida do enxerto, a completa revascularização pode não ocorrer até 2 meses. A aposição de novo osso em formação inicia antes da terceira semana e segue vagarosamente, embora sempre por um ano aproximadamente, 40% do osso original permanece necrótico em enxertos corticais autógenos. Em contraste com o esponjoso, sempre permanece uma mistura de osso necrótico e viável. Ainda que o congelamento ou liofilização dos ossos alógenos melhorem a aceitação, a cicatrização ainda é lenta. O resultado clínico dos procedimentos de enxerto ósseo depende de muitos fatores, incluindo tipo e fixação do enxerto ósseo tanto quanto o lugar e estado do leito receptor (GOLDBERG; STWENSON, 1987).

Quando foram feitos estudos em cachorros (WILSON; RHINELANDER; STEWART, 1985) comparando a revascularização do enxerto autógeno com alógeno de tibia, em 12 semanas, se observou menos vascularidade no alógeno do que foi observado com seis semanas em autógeno. Todas as espículas do enxerto mostram, em seu interior, osteócitos viáveis. Já existem mudanças na atividade osteoblástica e osteoclástica. A incorporação parece estar bem encaminhada, porém retardada em relação ao autógeno, no mesmo período. O enxerto alógeno se mostrou com a vascularização lenta e remodelação atrasada, mas sem mudanças no padrão da remodelação.

Esse atraso na revascularização que ocorre com enxertos em humanos, é que provoca diferenças no período de remodelação, mostrados no estudo de Lane (1972), pelas avaliações radiográficas feitas a cada 4 semanas até a 8ª semana, não observou diferença no remodelamento entre autógeno e alógeno; na 12ª semana o autógeno se mostrou menos radiopaco e os limites menos evidentes e o alógeno com as bordas evidentes e áreas radiolúcidas começam aparecer. Ao final da 16ª semana o autógeno está mais uniformemente radiopaco e alógeno que o sítio receptor e o alógeno com alternadas radiolucidez e radiopacidade. Após o enxerto estar totalmente incorporado pelo receptor, é difícil distinguir um enxerto autógeno de um alógeno. Se bem sucedida a consolidação, em um ano, as diferenças entre alógeno e autógeno, gradualmente diminuem, (URIST, 1976).

A preocupação com doenças transmissíveis como a AIDS, hepatite B e C, através de enxerto alógeno parece estarem diminuindo como resultado do uso de testes de sangue altamente sensíveis, como *polymerase chain reaction* (PCR) ou reação da polymerase em cadeia, este teste multiplica o genoma viral (DNA), para detectar pequenas quantidades de vírus. É um teste extremamente sensível, serve para detectar o vírus no doador bem no início, como 7 dias após a inoculação. Os último 3 casos reportados de AIDS transmitida através de enxerto alógeno de um doador infectado, foi em 1992 resultado dos enxertos feitos em 1985. Depois disso nenhum caso apareceu de AIDS ou hepatite. Outro teste é o “genome amplification tests”, ou teste de amplificação do genoma que detecta a presença de vírus HIV e hepatite C no sangue do doador, pela detecção de RNA ser mais eficiente do que PCR, pois HIV é um vírus RNA. A triagem do doador através da análise do histórico médico é outro método para prevenção da transmissão de doenças, e elimina 90% dos doadores inapropriados. A Associação Americana de Banco de Tecidos (AATB) que tem desenvolvido modelos para banco de tecidos, desenvolveu um modelo de triagem padronizado de histórico e é usado em todos os bancos que seguem as diretrizes da AATB. (TOMFORD; MANKIN, 1999). O risco de usar ou receber um aloenxerto de um doador recém infectado por HIV não reconhecido, era de aproximadamente 1:1. 600.000, em 1998, (MARX; GARG, 1998), hoje proporcionalmente ao número de enxertos feitos desde 1998, em relação aos casos de infecção de 1992, os riscos já diminuíram.

O congelamento e a incompatibilidade não afetam o mecanismo básico do processo de cicatrização da interface ou consolidação do osso fresco congelado, embora o início do processo seja lento e inferior, não existem diferenças aparentes entre osso alógeno e autógeno na expressão do colágeno tipo III. Nenhuma cartilagem específica colágeno tipo II MRNA é observada na interface sugerindo ausência de consolidação. A maior incompatibilidade entre o doador e receptor afeta temporariamente a expressão do código genético da matriz óssea extracelular, como uma resposta imunológica, e atrasa a nova formação óssea na interface entre enxerto e leito de um enxerto ósseo cortical alógeno congelado. A cicatrização na interface é superior no osso autógeno no início do processo, mas esta diferença começa a diminuir na quarta semana e quase desaparece na oitava semana. (VIROLAINEM; WORIO; ARO, 1997).

Com enxerto ósseo autógeno no final da 1ª semana já há indícios de formação óssea na periferia. Porém com enxerto alógeno, osteogênese pode se iniciar após quatro semanas pelo leito receptor, devido à deficiência vascular inicial, e a revascularização total pode durar até 8

meses.(BURCHARDT; ENEKING,1978). Em achados radiográficos no enxerto autógeno, na 4^a semana a linha de consolidação é observada, já na 16^a semana o enxerto está incorporado e a linha de união não aparece. Nos enxertos processados a linha de consolidação e a formação de novo osso é lento em relação ao autógeno (ITOMAN; NAKAMURA, 1991)

A ocorrência de complicações, como infecção e deiscências, durante o pós-operatório são as mesmas do osso autógeno. Deiscência pode ser esperada, embora a adição de osso autógeno e PRP parece diminuir-la. A adição de osso autógeno particulado e PRP, ao enxerto alógeno aumentam a osteogenicidade do enxerto. (KELLY; FRIEDLANDER, 1977; MARX, 1999)

2.3 CONCLUSÃO

Grande parte da literatura específica de bancos de tecidos é internacional, a qual necessita ser adaptada aqui através de pesquisas e estudos, no momento da “adaptação” pode-se estar perdendo segurança e qualidade.

A realização de pesquisas e desenvolvimento de processos no Brasil é de extrema importância, mesmo porque a nossa necessidade não é igual à necessidade de outros países. Há necessidade de treinamento de equipes de captação, profissionais de saúde e pessoas que tenham algum tipo de contato com essa área para que possuam conhecimento do trabalho. A informação para a população também é necessária para possibilitar um aumento das doações e diminuir o número de pessoas que necessitam de um tecido.

O emprego do osso homogêneo tornou as cirurgias mais rápidas e menos traumáticas do que quando se utiliza osso autógeno, pois não houve a necessidade de acesso cirúrgico para remoção do osso de uma área doadora.

Alguns autores criticam o uso do osso homogêneo congelado alegando que o mesmo pode, ainda que seja bastante improvável, conter microorganismos do doador. Entretanto, nem mesmo os processos de esterilização utilizados rotineiramente nas práticas médicas e odontológicas garantem a completa eliminação de microorganismos. Não obstante, não se questiona ou evita-se o emprego desses processos. Deve-se levar em consideração que, atualmente, os exames de detecção de doenças são bastante precisos e que os protocolos de seleção de doadores são bastante rígidos, tornando insignificante a possibilidade de transmissão de doenças.

Conclui-se que o enxerto ósseo congelado é uma alternativa viável, segura e pouco traumática para o aumento ósseo com finalidade reabilitadora, embora haja a necessidade de pesquisas a longo prazo.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **AMARA**, D.M., **MENDONÇA**, V.O. & **LAURINO**, B.L.: “Enxertos e transplantes ósseos osteoderivados”, in Patologia óssea – fundamentos, São Paulo, Byk, 1994. Cap. 13, p. 119-128.
2. **ANVISA**. Legislação em vigilância sanitária. Disponível na internet, site: <http://www.anvisa.org.br>. acesso em março de 2007.
3. **BEUME III**, J; **LEWIS**, S. Sistema de Implantes Branemark. Edição 2. Editora Pancast, 1995.
4. **BREINE**, U. & **BRÅNEMARK**, P.I. Reconstruction of alveolar jaw bone. An experimental and clinical study of immediate and preformed autologous bone grafts in combination with osseointegrated implants. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 14: 23-48, 1980.
5. **CALDONHA**, A.M ; **HAYASHIDA**, M. Transplante ósseo: aspectos legais para a reflexão da prática em enfermagem. Revista de enfermagem UFRJ. [s.n.], Rio de Janeiro, 2006, p. 287- 291
6. **CASTANIA**, V.A; **VOLPON**, J.B. Enxerto ósseo processado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno. Ensaio mecânico e teste em cães. *Rev Bras Ortop Ped.* 2003;4(2):22-9.
7. **FERNANDES**, Nei I; **MACHADO**, Iria G; **MINELLO**, Luiz F. Enxertos com osso autógeno e xenógeno. *Revista Gaúcha de Odontologia*, vol 46, nº. 3, jul/set, pag162-168,1998.
8. **GARCIA**, E.T.; **GARCIA**, J.R. Técnicas de obtenção, processamento, armazenamento e utilização de homoenxertos ósseos: protocolo do banco de ossos da Escola Paulista de Medicina. *Revista Brasileira de Ortopedia*, Vol 31 (11), novembro, 1996. p. 895- 903.
9. **KUABARA**, Marcos Rikio; **VASCONCELOS**, Laércio Wonhrodh; **CARVALHO**, Paulo Sergio Perri de. Técnicas cirúrgicas para obtenção de enxertos ósseos autógenos. *Revista da Universidade de Piracicaba*, vol.12, nº1, pag44-51, jan/dez, 2000.
10. **OLIVEIRA**, Bruna. Banco de Ossos também é utilizado na Odontologia. Disponível em <[HTTP//WWW.abomi.org.br/ossos.htm](http://www.abomi.org.br/ossos.htm)>. Acesso em abr. 2007.
11. **PALECKIS**, LG et al. Enxerto ósseo: por que e quando utilizá-lo. *Rev Implante News.* 2005; 2(4): 369-72.
12. **PETERSON**. J.L. et al. *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Edição 3. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2000.

- 13. RONDINELLI, P.C.** et al. Rotina do banco de ossos do Hospital de Tráumato- Ortopedia (HTO- RJ). Revista Brasileira de Ortopedia, Vol. 29 (06), Rio de Janeiro, [s.n.] , junho, 1994, p. 385- 388.
- 14. STEFANI, A.E.** Banco de Osso: Um método simplificado. Revista Brasileira de Ortopedia, vol. 24 (03), [s.n.], março, 1989, p. 66- 72.
< <http://www.abomi.org.br/ossos.htm>>. Acesso em 15 abr. 2007.
- 15. UFRP.** Banco de tecidos Musculoesqueléticos. Disponível na internet, site: <http://www.btme.org.br>. Acesso em Março de 2007.
- 16. VOLPON, J.B; COSTA RMP.** Ensaio mecânico e uso clínico do enxerto homogêneo processado. Rev Bras Ortop. 2000;35(6):219-24.

4. ANEXOS

4.1 TERMO DE ACEITAÇÃO

BANCO DE TECIDOS MÚSCULO-ESQUELÉTICOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
HOSPITAL DE CLÍNICAS

TERMO DE ACEITAÇÃO

Através deste TERMO DE ACEITAÇÃO, tomo consciência de que o enxerto ósseo homólogo a ser utilizado na reparação ou reconstrução de minha patologia óssea foi submetido aos mais rigorosos testes de controle sorológico e bacteriológico, com a finalidade de se evitar a transmissão de doenças.

Entendo também que em alguns pacientes pode não haver total incorporação do enxerto ao foco de reparação, uma vez que fatores independentes da qualidade do enxerto de banco podem influenciar a integração do mesmo.

Estou de acordo com todas as explicações que foram fornecidas e comprometo-me a arcar com os custos operacionais que envolvem a coleta, processamento, armazenamento, embalagem e testes de laboratório (exceto sorologia) para controle da qualidade do enxerto a ser utilizado.

Data: _____/_____/_____

Nome:

RG:

Endereço:

Cidade:

Estado:

Assinatura:

Testemunha – Nome:

RG:

Telefone:

Assinatura

Rua General Carneiro, 181 – 6º andar – Centro – CEP: 80060-900 – Curitiba –Paraná.
Fone /fax; (0xx41) 262 –4569. E-mail: btme@hc.ufpr.br

4.2 GUIA DE SOLICITAÇÃO

BANCO DE TECIDOS MÚSCULO-ESQUELÉTICOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
HOSPITAL DE CLÍNICAS

SOLICITAÇÃO DE TECIDOS MÚSCULO-ESQUELÉTICOS

SOLICITAÇÃO Nº. _____

BTME)

(preenchido pelo

Cirurgião:

Data:

Fone/ fax

E-mail:

Data prevista para retirada do enxerto no BTME: ___/___/___ Hora: __:___

Data prevista da cirurgia: ___/___/___ Hora__ : __

Local (Hospital, Clínica, Cons. Odontológico):

Endereço:

Cidade:

Estado:

Tipo de cirurgia:

Tecido solicitado:

Quantidade /medida:

Comentário:

Nome do paciente:

Endereço:

Telefone

Sexo:

Idade

Assinatura: _____

(pessoa que preencheu este questionário)

Rua General Carneiro, 181 – 6º andar – Centro – CEP: 80060-900 – Curitiba –Paraná – Brasil
fone /fax; (0xx41) 262 –4569 E-mail: btme@hc.ufpr.br

4.3 CAPTAÇÃO DE TECIDOS MÚSCULO-ESQUELÉTICO

I. A EQUIPE DE CAPTAÇÃO

I.I Identificação das qualificações requeridas para captação de tecidos músculo - esqueléticos para o Banco de Tecidos Músculo- Esqueléticos (B.T.M.E) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

I.II Programa de Plantão

II DOADOR

II. I Critérios de seleção de doador cadáver

II. II Testes requeridos para doadores

II. III Coleta de amostra de sangue para PCR

II. IV Coleta de amostra para cultura de bactérias aeróbias

II. V Coleta de amostra para cultura de fungos

III COLETA DE TECIDOS

III. I Materiais que compõe a caixa de coleta

III. II Materiais que compõe a caixa cirúrgica básica

III. III Materiais que compõe a caixa cirúrgica complementar

III. IV Preparação do doador para a coleta

III. V Procedimento para retirada cirúrgica de tecidos

III. VI Procedimento para embalagem de tecido para transporte e
Armazenamento de tecido

IV RECONSTRUÇÃO DE DOADOR

IV. I Reconstrução de doador

I EQUIPE DE CAPTAÇÃO

I.I Identificação das qualificações requeridas para a captação de tecidos músculo-esqueléticos para o Banco de Tecidos Músculo-Esquelético (B.T.M.E.) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Para um membro da equipe de captação ser aceito pelo (B.T.M.E.), ele/a deve apresentar as seguintes qualificações:

Certificado de participação no curso para captadores do B.T.M.E.

Médico cirurgião, preferencialmente ortopedista.

Profissional da saúde, que ficará encarregado de procedimento

Complementar à captação propriamente dita.

Registro do CNCDO local.

I.II. Programa de Plantão

A equipe de captação deve estar disponível 24 horas por dia, podendo haver.

Rodízio de integrantes da equipe, desde que todos estejam filiados e apresentem as qualificações requeridas pelo B.T.M.E.

II DOADOR

II. I Critérios para seleção para doador cadáver

A seleção inicial é feita através da Central de transplantes. A decisão de aceitar ou rejeitar um doador é feita pelo diretor médico do B.T.M.E. Os critérios a seguir são considerados durante a decisão no processo de doação.

Idade média do doador cadáver:

Homens: 18 aos 65 anos

Mulheres: 15 aos 60 anos

Idade média de doador vivo:

Qualquer idade (idade femoral)

Remoção dos tecidos:

12 horas-corpo em temperatura ambiente

24 horas-corpo refrigerado, até 6 horas após a morte.

Estocagem:

Após a retirada dos tecidos, estes podem ficar estocados em freezers -25°C ou -40°C , aguardando envio para o B.T.M.E.

Sorologia

Todos os testes devem possuir resultado negativo

Histórico Médico;

Os critérios devem incluir história negativa para os seguintes itens:

- Processo de doença septicêmica infecciosas
- Doença maligna (vide exceções)
- Doença neurológica degenerativa
- Doença de etiologia desconhecida
- Pacientes em respirador por mais de 96 horas
- Doenças auto-imune
- Uso de drogas injetáveis
- Presença de tatuagens
- Traqueostomia
- Lacerações
- Fraturas no segmento
- Abrasões
- Icterícia
- Transfusão sanguínea múltipla (>10 Unidades)
- Comportamento de risco para AIDS
- Documentos sobre história médica devidamente preenchidos.

II. II Testes sorológicos são feitos através das centrais de transplante, porém o B.T.M.E. requer teste de PCR e coleta culturas para assegurar que os tecidos não apresentem nenhum tipo de contaminação que seja contagiosa ou que futuramente possa trazer algum desconforto para o receptor destes tecidos.

Os testes realizados pelas centrais são os seguinte:

- # Sífilis
- # Chagas- 2 testes que podem ser hemoaglutinação, Elisa ou imunofluorescência
- # A-HIV I e II- 2 testes
- # HbsAg
- # A-Hbc
- # A-HCV
- # A-HTLV-I
- # tipagem ABO/Rh

**Os testes para PCR são realizados em laboratório conveniado ao B.T.M.E.

- #HIV
- #HBV
- #HCV
- #Culturas para fungos
- #Culturas para bactérias aeróbias

Os tecidos não são liberados para processamento antes do resultado negativo para os testes sorológicos, PCR e culturas dos tecidos.

II. III coletas de amostras de sangue para PCR

Abaixo estão descritos os procedimentos para coleta de amostra de Sangue para o teste de PCR executado por laboratório conveniado com B.M.T.E.

Após as coletas, se nos for possível encaminhar as amostras em 2 horas no máximo ao B.T.M.E. para procedimento de envio ao laboratório,

Separar as amostras da seguinte maneira;

Material:

Seringa 10 ml com agulha

Algodão

Álcool 70%

Tubos de coleta estéreis

3 tubos de coleta contendo gel separador + EDTA

3 tubos contendo apenas gel separador

Caixa térmica

Procedimento:

Para realização do teste PCR o doador não pode estar heparinizado

Coletar 4,5 ml de sangue em cada um dos tubos contendo gel separador+ EDTA

Tampar e inverter o tubo para homogeneizar a amostra

Coletar 8 ml de sangue em cada um dos tubos sem anticoagulante

Identificar cada amostra com o código ou nome do doador e data

Enviar o mais rápido possível ao BTME, juntamente com a ficha de solicitação de exames PCR, com código, data de nascimento e sexo do doador.

Centrifugar a amostra em 2000 RPM por minuto ou em 3000 RPM por 30 segundos.

Identificar os tubos corretamente com dados do doador, inclusive se a amostra foi com anticoagulante EDTA (plasma) ou sem anticoagulante (soro) e o teste a que é destinada. Retirar o plasma/soro do tubo centrifugado e coloca-lo em tubo limpo, estéril com tampa. Guardar em freezer, e enviar em caixa térmica ao banco quando possível.

A identificação dos tubos é muito importante

II. IV coleta da amostra para cultura para bactérias aeróbias

Material: *Culture swab plus*

Etiquetas de identificação

Procedimento:

Seguindo normas assépticas, fazer um esfregaço de toda extensão do tecido.

Introduzir o swab dentro do tubo que contém o meio de cultura

Identificar o tubo com código ou nome do doador, data e nome ou lote do tecido.

Preencher as requisições para encaminhamento das culturas

Manter as amostras a temperatura ambiente (20°C a 24° C) por até 24 horas, até que encaminhadas ao laboratório de bacteriologia do HC-UFPR.

II. V Coleta de amostra para cultura de fungos

Material: Tubos de cultura com caldo Sabouraud

Estante para tubos

Swab estéril

Etiquetas de identificação de amostras

Caixa térmica para transporte de amostras

Procedimento:

Passar *swab* estéril em toda extensão do tecido

Inserir o *swab* dentro do tubo que contém o caldo *sabouraud*

Identificar o tubo com código ou nome do doador, data e nome do tecido coletado.

Preencher as requisições para encaminhamento das culturas

Manter as amostras a temperatura ambiente (25°C a 30° C) por até 24 horas, até serem levadas ao laboratório de micologia do HC-UFPR.

4.4 COLETA DE TECIDOS

III. I Caixa de coleta

A seguir estão descritos os materiais que devem estar presentes nas caixas enviadas para coleta de cadáver:

- | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| - 04 Kits coleta no. 1 | -01 procedimento para coleta de |
| culturas | |
| - 04 Kits coleta no. 2 | - 01 plástico branco grande |
| - 03 Kits coleta no. 3 | - 02 seringas 20 ml |
| - 03 Kits coleta no. 4 | - 48 coringas |
| - 05 gessos grandes | - 02 agulhas 40x16 |
| - 07 cadarços estéreis | - 02 óculos de proteção |
| - 10 agulhas cortantes | - 01 rolo de fita crepe |
| - 10 antibióticos | - 04 pares de luvas não |
| estéreis | |
| - 24 etiquetas grandes | - 04 pares de luvas cirúrgicas 7½ |
| - 24 etiquetas pequenas | - 04 pares de luvas cirúrgicas 8½ |
| - 24 swabs estéreis | - 10 lâminas de bisturi |
| - 24 tubos de cultura para fungos | - 02 frascos para PCR com EDTA |
| - 24 tubos para cultura de bactérias | - 02 frascos para PCR sem EDTA |
| - 02 relatórios de coleta | - 04 ataduras médias |
| - 01 procedimento para PCR | - 02 tricótomos |
| -10 lâminas para tricotomia (gilete) | |

III. II Caixa cirúrgica básica

- 01 par de Farabeuf
- 01 cabo de bisturi no. 3
- 02 cabos de bisturi no. 4
- 02 tesouras Metzmbaun curvas
- 02 tesouras Metzmbaun retas
- 01 tesoura para fio
- 02 portas-agulha com vides
- 01 pinça Vought sem dente
- 01 pinça Vought com dentes
- 03 pinças anatômicas
- 03 pinças dente de rato
- 02 pinças Mixer
- 02 pinças Russas
- 01 pinça Adson sem dente
- 01 pinça Adson com dente
- 03 pinças Kelly curvas
- 03 pinças Kelly retas
- 03 pinças mosquito retas
- 03 pinças mosquito curvas
- 03 pinças Kocher retas
- 03 pinças Kocher curvas
- 10 pinças Backhaus
- 01 pinça Cheron

III. III Caixa cirúrgica complementar

- 01 martelo
- 01 par de garras grande (4 dentes)
- 01 par de garras média
- 01 par de garras pequeno
- 01 par de garras com 2 dentes
- 01 afastador autostótico grande
- 01 saca bocado grande
- 01 saca bocado pequeno
- 01 cisália
- 01 osteótomo médio
- 01 osteótomo largo
- 01 osteótomo estreito
- 03 escropo em calha
- Curetas
- rugina reta
- rugina curva
- par de farabeuf grande
- afastadores Roux
- 02 alavancas grandes
- 02 alavancas pequenas

III. IV Preparação do doador para coleta

A preparação do doador é de extrema importância. Para que os tecidos retirados tenham qualidade para aplicação médica, o doador deve estar propriamente preparado. Devido a grande população de microorganismos presentes na pele humana, para diminuir a possibilidade de contaminação durante a coleta do tecido, todos os doadores são submetidos aos rigores da preparação para procedimentos cirúrgicos, antecedendo a colocação do campo estéril.

Coloque o doador sobre uma maca e cuidadosamente raspe o corpo do doador desde o pescoço até os dedos dos pés, incluindo os braços e antebraços. Remova todas as áreas com pelos, exceto a área da região genital. Após a remoção dos pelos, transfira o doador para uma mesa cirúrgica. Independentemente do tipo de tecido a ser coletado, o corpo deve ser raspado, isso diminuirá a quantidade de contaminação da pele. Coloque o doador na posição supino.

Toda a superfície do corpo é pintada com PVPI tópico ou álcool iodado. Levante a perna durante o procedimento para permitir o acesso a toda superfície. Se o úmero for coletado, eles devem ser levantados. O PVPI tópico ou álcool iodado deve ser aplicado em toda superfície e esperado secar.

Para manter o doador estéril coloque campos estéreis sob as pernas do doador.

III. V procedimento para retirada cirúrgica de tecidos.

As retiradas de tecidos músculo-esqueléticos devem ser realizadas em salas cirúrgicas hospitalares. A preparação do doador é de extrema importância. Para que os tecidos retirados tenham garantia de qualidade para aplicação médica, o doador deve ser preparado adequadamente. Devido a grande população de microorganismos presentes na superfície da pele humana, e com o objetivo de diminuir a possibilidade de contaminação durante a retirada dos tecidos, todos os doadores devem ser submetidos aos rigores dos procedimentos cirúrgicos ortopédicos.

Coloque o doador sobre uma maca e cuidadosamente raspe as áreas onde serão efetuadas as retiradas dos tecidos, ombros, braços cristas ilíacas, coxas, pernas e terminando nos tornozelos, removendo todas as áreas com pêlos, exceto a área da região genital. O corpo deve ser lavado com solução degermante PVP, e depois transferido para uma mesa cirúrgica. É importante a colocação de um coxim por baixo do sacro de 15x10x10 cm para facilitar a retirada de ossos da pelve. Toda a superfície do corpo é pintada com PVPI tópico ou álcool iodado, inclusive as

regiões posteriores dos membros inferiores e superiores. Isola-se ao pé e as mãos com dois pares de luvas cirúrgicas e a região pubiana, colocando-se a seguir os campos estéreis e envolvendo as áreas doadoras com campos plásticos adesivo. As incisões só devem ser feitas sobre a pele intacta, qualquer sinal de lesão deve ser evitada. As lâminas dos bisturis devem ser trocadas após a incisão da pele e periodicamente durante a retirada. Se possível a retirada deve ser feita por equipes e materiais cirúrgicos distintos em cada lado do corpo, se não for possível, as luvas devem ser trocadas a cada retirada de osso. As estruturas a serem retiradas devem ser manipuladas o mínimo possível e sempre através de compressas.

A incisão inicia-se na espinha íliaca ântero-superior, descendo em linha reta pela região anterior da coxa, face medial da patela, crista da tíbia e terminando na articulação do tornozelo.

1- TÍBIA: faz-se uma osteotomia da porção distal da tíbia, ou liberação da articulação tíbio-társica, em seguida eleva-se a tíbia liberando-a proximalmente até a articulação do joelho, mantendo a inserção do ligamento patelar e 10 cm do tendão patelar proximalmente.

2- FÍBULA: retira-se a fíbula de proximal para distal, não esquecer de trocar as luvas e as lâminas de bisturi.

3- FÊMUR: retira-se o fêmur após uma dissecação profunda sobre a sua diáfise proximalmente até a cápsula articular, que deve ser seccionada juntamente com todos os ligamentos e inserções musculares proximais do fêmur, para facilitar a remoção, tracionar o fêmur distalmente luxando-o parcialmente a cabeça femoral e cortando-se o ligamento redondo.

4- ÚMERO: faça uma incisão na face ventral do braço, iniciando no acrômio até abaixo do cotovelo através de um corte profundo de todos os músculos e estruturas ligamentares, eleve proximalmente e desarticule a cabeça umeral tomando-se o cuidado de manter a integridade do manguito rotador.

5-ILÍACO: continue a incisão ao longo da crista íliaca até seu 1/3 posterior. Continue dissecando profundamente com o bisturi para expor a crista íliaca. Com um instrumento rombo descole a musculatura das tábuas externa e interna da asa do íliaco, tomando-se muito cuidado para não lesar bexiga ou intestino. Faça osteotomia da articulação sacro-íliaca, do púbis e do ramo isquiático. Quando se retira a hemipelve de um lado retira-se somente a asa íliaca do outro, para que o corpo não fique “desconjuntado”. Lembrar de sempre deixar a retirada dos ossos da pélvis por último, pela maior possibilidade de contaminação pelas estruturas intrapélvicas.

III. VI Procedimento para embalagem de tecidos para transporte e estocagem.

O procedimento estabelecido para embalagem de tecidos é designado para eliminar qualquer possibilidade de contaminação durante o transporte de tecidos coletados pelo B.T.M.E. Os seguintes passos desse procedimento são feitos na sala de operação em um ambiente estéril.

Depois de colhida a cultura e tratamento com antibióticos no tecido, este é inserido num saco plástico estéril, fechado com cadarço estéril, identificado, embrulhado em um campo cirúrgico, colocado novamente em um saco plástico estéril, fechado com cadarço estéril e novamente identificado.

As identificações claramente indicam o tecido e o código doador.

O pacote é então colocado dentro da caixa de coleta com gelo reciclável ou normal* (se for imediatamente levado ao B.T.M.E.) ou gelo seco (caso o encaminhamento seja feito acima de 6 horas) mantido em gelo até que o transporte ao B.T.M.E. seja possível.

Desde que o gelo normal seja embalado em plástico para evitar derramamento de líquidos.

Os tecidos devem ser processados ou congelados o mais rápido possível.