

Francisco José Fernandes do Vale

Distração Osteogénica Mandibular Dento-Ancorada

Estudo Experimental

Dissertação de Doutoramento em Ciências da Saúde, ramo de Medicina Dentária, especialidade de Ortodontia, apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra sob orientação do Professor Doutor João Luís Maló de Abreu e do Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita

Abril 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde,
ramo de Medicina Dentária, especialidade de Ortodontia.

A Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra não aceita qualquer responsabilidade em relação à doutrina
e a forma desta dissertação (Regimento da Faculdade de Medicina de Coimbra, 1931, Art. 108, § único).

Orientadores

Professor Doutor João Luís Maló de Abreu
Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita

A elaboração deste trabalho decorreu em colaboração com:

I. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC):

- a) Área de Medicina Dentária – Pós-Graduação em Ortodontia.
- b) Instituto de Patologia Experimental.
- c) Laboratório de Bioestatística e Informática Médica.
- d) Laboratório de Tecidos Duros.

II. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC):

- a) Consulta de Ortodontia.
- b) Área de Gestão Integrada dos Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica – Serviço Medicina Nuclear.

III. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro:

- a) Departamento Ciências Veterinárias.
- b) Hospital Veterinário.

“...A vida é uma viagem experimental, feita involuntariamente.
É uma viagem do espírito através da matéria, e, como é o
espírito que viaja, é nele que se vive.”

“Livro do Desassossego”
Fernando Pessoa
(assinado pelo semi-heterónimo Bernardo Soares)

Aos meus Pais.

À Gi.

Aos meus filhos, João Francisco e António,
por partilharem a sua vida com a minha profissão.

Ao Senhor Professor Doutor João Luís Maló de Abreu

À Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

AGRADECIMENTOS

A apresentação de uma tese pressupõe uma filosofia de conduta em relação ao conhecimento científico que reflete as experiências próprias e os exemplos dos que nos influenciaram, bem como a opção de partilhar os ensinamentos obtidos.

Expressar os agradecimentos mais profundos é extrair qualquer coisa de definitivo daquele que agradece e muito dificilmente é passível de ser reproduzido em palavras; deriva de algo que se inscreve para sempre em nós, faz parte de nós e jamais se pode apagar. Pela enorme dificuldade que tenho em procurar os adjetivos que possam expressar toda a minha gratidão para com o Senhor Professor Doutor João Luís Maló de Abreu, o Senhor Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita, a Senhora Professora Doutora Maria João Pascoal Rodrigues e para com a Mestre Dr.^a Ana Luísa Maló de Abreu: abnego-me de o fazer e remeto para o silêncio onde essa gratidão é completa.

Ao longo dos anos em que este trabalho se foi desenvolvendo, foram muitos os nomes que por ele passaram e que, de forma direta ou indireta, também contribuíram em muito para o seu resultado. Alguns é forçoso dizer, outros é forçoso ocultar. Mas, em particular, quero evocar:

- O Senhor Professor Doutor Joaquim Carlos Neto Murta pela confiança em mim depositada, o risco que assumiu e que espero nunca venha a desmerecer.
- O Senhor Professor Doutor Francisco Caramelo pela sempre disponibilidade com que me presenteou e pelo empenho na orientação e supervisão da análise estatística.
- A Senhora Professora Doutora Eunice Virgínia Palmeirão Carrilho e o Senhor Professor Doutor José Pedro Figueiredo. Deixo o meu sincero agradecimento pelo constante estímulo com que sempre me apoiaram neste projeto.
- O Senhor Dr. João Pedro Marcelino pelo precioso auxílio nas intervenções cirúrgicas realizadas e pela excelência do seu gesto cirúrgico que possibilitou os bons resultados obtidos no estudo experimental.

- A Senhora Dr.^a Carla Lavado pelo precioso auxílio na compilação de artigos e organização da lista bibliográfica.
- A Senhora Mestre Dr.^a Sónia Margarida Alves Pereira, colega na docência da disciplina de Ortodontia, que me acompanha desde os primeiros passos profissionais e com quem também tenho trilhado, dia-a-dia, um caminho de procura constante de melhoria da prática clínica e científica.
- A Senhora Professora Doutora Helena Figueiredo pelo entusiasmo contagiante com que acompanhou a parte de avaliação histológica deste trabalho.
- O Senhor Dr. João Martins e o Senhor Dr. João Cavaleiro pela preciosa disponibilidade com que me agradeceram na realização de algumas tarefas, sem a qual não seria possível efetuar todos os estudos pretendidos. A prontidão com que aderiram ao meu pedido foi uma lição de solidariedade que em tempo algum esquecerei.
- O Senhor Professor Doutor Carlos Viegas e o Senhor Dr. Humberto Abreu pelo profissionalismo e empenho no desenvolvimento de todos os procedimentos da fase experimental relacionados com o animal de experimentação realizado no Hospital Veterinário da UTAD.
- Os colegas Senhor Dr. Fernando Teixeira da Rocha e Senhora Dr.^a Paula Bebiano pela colaboração e compreensão pela minha momentânea menor disponibilidade.
- A Senhora Dr.^a Anabela Albuquerque e o Senhor Professor Doutor Pedroso de Lima, do Serviço de Medicina Nuclear do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pelas facilidades e meios concedidos na avaliação por Absorciometria de Raios X Dupla Energia.
- O Senhor Professor Doutor Fernando Alberto Deométrio Alves Guerra, diretor do Laboratório de Tecidos Duros da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, pelas facilidades e meios disponibilizados no processamento histológico das amostras.
- A Senhora Dr.^a Anabela Pedroso pela excelência do seu trabalho, como Técnica Laboratorial de Prótese, que possibilitou a construção dos dispositivos médicos utilizados.
- A Senhora D.^a Cláudia Brites pela disponibilidade, auxílio precioso na realização da parte experimental e pelo rigor técnico com que executou as preparações histológicas.
- O Senhor Nuno Beirão pelo apoio na componente gráfica desta tese.
- A Senhora D.^a Alda Neves e a Senhora D.^a Carla Marques pela ajuda incansável na resolução de problemas não clínicos que tem permitido o bom e saudável funcionamento da clínica de Ortodontia da Pós-Graduação em Ortodontia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Agradeço também a todos os docentes, discentes e funcionários da nossa instituição com quem tenho tido o prazer de trabalhar.

Aos meus familiares e amigos, de quem recebi afeto e ânimo em todo o momento, o meu muito obrigado.

Por fim àqueles que mais considero, a minha mulher e os meus filhos, agradeço todo o amor e compreensão com que sempre me rodearam.

Sumário

Agradecimentos

I – Introdução

1. Exposição da problemática
2. Tecido ósseo
- 3 Origem e evolução da distração osteogénica
4. Distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial
5. Princípio da distração osteogénica
6. Dispositivos de distração osteogénica
7. Revisão da literatura sobre o protocolo da distração osteogénica
8. Fatores que influenciam o processo de distração osteogénica
9. Efeitos sobre os tecidos associados
10. Processos biológicos da distração osteogénica

II – Estudo experimental em modelo animal

1. Objetivos
2. Materiais e métodos
3. Resultados
4. Discussão
5. Conclusões

III – Resumo

IV – Abstract

V – Bibliografia

VI – Anexos

VII – Índice

Capítulo I. Introdução

I. Exposição da problemática

A possibilidade de poder vir a responder, através de investigação experimental, a ansiedades sentidas no exercício da prática médica, reforçada pela preocupação de uma medicina baseada na evidência, é motor deste trabalho e assegurará a continuada procura de soluções para os problemas e dificuldades encontrados nos protocolos de tratamento ortodôntico. As deformidades dento-faciais afetam cerca de 20% da população mundial (Wolford e Fields, 1999). Destas, a deficiência mandibular por posição ou por dimensão é das que frequentemente requerem tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático, apresentando uma prevalência de 41% a 56%, em algumas sociedades ocidentais (Proffit et al, 2013).

A deficiência mandibular pode resultar de um distúrbio da embriogénese ou de uma causa adquirida pós-natal e pode aparecer isolada ou associada a síndromes malformativos congénitos.

Com o aparecimento de novas técnicas e materiais, observado na segunda metade do século passado, verificou-se um significativo avanço na cirurgia ortognática e nos processos de tratamento ortodôntico. Desde então, os cirurgiões maxilo-faciais e ortodontistas desenvolveram um protocolo ortodôntico-cirúrgico-ortognático que permite o restabelecimento da oclusão dentária, função mastigadora, função respiratória e harmonia facial dos pacientes com malformação esquelética de classe II.

O protocolo ortodôntico-cirúrgico-ortognático mais frequente, para corrigir estas deformidades, está estudado de forma exaustiva e divide-se, sucintamente, em quatro fases:

1. Fase ortodôntica pré-cirúrgica: é a fase que corresponde ao tratamento ortodôntico para eliminar as compensações dentárias e harmonizar as arcadas dentárias, com o objetivo de colocar os dentes em posição estável relativamente às bases ósseas.

2. Fase cirúrgica: a técnica cirúrgica mais utilizada é a osteotomia sagital bilateral, nas suas diferentes variações. É realizada sob anestesia geral e, habitualmente, exige uma fixação maxilo-mandibular, rígida ou não, durante 4 a 6 semanas.

3. Fase ortodôntica pós-cirúrgica: tem uma duração média de 6 meses, durante a qual se processa a consolidação do tecido ósseo e se ajusta a oclusão dentária na tentativa de prevenir recidivas ou camuflar pequenas recidivas esqueléticas.

4. Fase cirúrgica final: é a fase que finaliza todo o processo, com a remoção cirúrgica das placas de osteossíntese, colocadas na primeira cirurgia.

O protocolo descrito apresenta, no entanto, muitas limitações e riscos, tais como:

- Aumenta do tempo global de tratamento, uma vez que o tratamento ortodôntico deve estar praticamente concluído antes da cirurgia. A má relação oclusal e esquelética dificulta a movimentação dentária,

não permitindo a observação imediata da evolução do tratamento; o alinhamento e nivelamento dos dentes é feito independentemente para cada maxilar.

- Requer frequentemente a extração cirúrgica dos dois primeiros pré-molares inferiores para corrigir as compensações dentárias, que resultam da adaptação do crescimento e desenvolvimento do indivíduo à má oclusão.
- É aconselhável que este protocolo seja realizado após a adolescência, no término do crescimento esquelético do paciente, na tentativa de evitar a recidiva do tratamento.
- É um tratamento dispendioso e temporariamente incapacitante. A cirurgia obriga a um internamento hospitalar, por um período mínimo de três dias e com recobro de sete a catorze dias.
- Apresenta elevada taxa de complicações pós-operatórias como: infeção; distúrbios neurosensoriais; reabsorção condilar; edema facial e; limitação na abertura bucal (Schreuder et al, 2007; Ow e Cheung, 2009 e 2010).
- Dentro das deformidades crânio-faciais que necessitam de tratamento ortodôntico-cirúrgico, é a que apresenta a taxa de recidiva mais elevada (Franco et al, 1989; Ueki et al, 2005). A recidiva deve-se, principalmente, ao estiramento brusco e repentino dos músculos mastigadores, músculos supra-hioideos e restantes tecidos moles durante o avanço mandibular.

A elevada taxa de recidiva e as restantes limitações expostas contribuíram também para que o tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático convencional esteja a ser, gradualmente, substituído pela Distração Osteogénica, como primeira escolha para o tratamento das deformidades dento-faciais que requerem avanço mandibular.

Os estudos clínicos e experimentais são, na maioria, sobre distratores externos adaptados da ortopedia, pois foram os primeiros a serem utilizados. No entanto, são os que apresentam mais efeitos secundários e riscos para o paciente, dos quais se destacam: maior período incapacitante; problemas psico-sociais provocados pela visibilidade do dispositivo; sequelas cicatriciais na face; edema local; dificuldade na orientação do vetor de distração; instabilidade na fixação dos dispositivos; risco de lesão dentária e; necessidade de, pelo menos, três intervenções cirúrgicas (colocação-osteotomia-remoção).

Com o aparecimento dos distratores internos, os problemas relacionados com a visibilidade dos dispositivos e com as sequelas cicatriciais deixaram de existir, mas as restantes limitações e riscos relacionadas com a fixação, mantiveram-se.

Em 1998 foi publicado um estudo clínico sobre o tratamento de deformidades dento-esqueléticas de classe II, com um distrator interno dento-ancorado (Razdolsky et al, 1998), onde foram apontadas as seguintes vantagens em relação aos dispositivos convencionais fixados ao tecido ósseo:

- O ato cirúrgico é reduzido apenas à corticotomia ou osteotomia. Não é necessária a intervenção cirúrgica para a colocação ou para a remoção do aparelho, uma vez que o distrator é cimentado diretamente aos dentes, permitindo também que a cirurgia se possa fazer em ambulatório sem necessidade de internamento prolongado e anestesia geral.
- A orientação do dispositivo pode ser feita de forma a ficar paralelo ao vetor de distração ou plano oclusal, evitando a tendência para a rotação posterior da mandíbula, facilitando o tratamento ortodôntico.

A escassez de estudos experimentais sobre a distração osteogénica dento-ancorada para o alongamento sagital mandibular e sobre os vários fatores que lhe estão associados, desde o protocolo mais adequado, até à qualidade e quantidade do novo tecido ósseo formado, associado à versatilidade, simplicidade e potencialidades destes dispositivos cimentados diretamente aos dentes, justificaram o interesse neste projeto e é neste contexto que se situa o trabalho experimental aqui apresentado.

2. Tecido ósseo

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo existente no organismo dos vertebrados, cujas células e fibras se encontram imersas numa matriz extracelular mineralizada (Gonçalves et al, 2006), formada essencialmente por cristais de fosfato de cálcio. A combinação da fase mineral e da fase orgânica confere a este tecido propriedades únicas, permitindo-lhe desempenhar importantes funções de sustentação e proteção, tornando-o muito resistente às solicitações mecânicas (Standring et al, 2009; Junqueira, 2008). Por sua vez, a matriz colagénica proporciona-lhe uma certa maleabilidade fornecendo-lhe algumas possibilidades de extensão e flexão (Bostrom et al, 2000).

Além das funções de suporte e proteção, o tecido ósseo está também associado à mobilidade do organismo e, constitui ainda um importante reservatório de iões minerais, particularmente de cálcio e fósforo (Kierszenbaum, 2008), participando ativamente na manutenção da homeostase dos níveis de cálcio no sangue e, conseqüentemente, em todos os fluidos tecidulares, condição essencial para a preservação da vida.

Apesar do seu aspeto aparentemente inerte, o tecido ósseo é altamente dinâmico mantendo-se ativo durante toda a vida do organismo (Erikson, 1994; Gonçalves et al, 2006; Kierszenbaum, 2008). Esta permanente capacidade de remodelação do tecido ósseo garante a manutenção das suas propriedades mecânicas e capacidades metabólicas.

Quando lesados, os ossos têm capacidade regenerativa, ou seja, o processo de reparação óssea é efetuado através da formação de novo osso e não pela formação de tecido fibroso, desde que determinadas condições estejam asseguradas.

Apesar do aspeto aparentemente inerte, os ossos são estruturas plásticas altamente dinâmicas que crescem, remodelam-se e mantêm-se ativos durante toda a vida do organismo. Esta permanente reorganização, constituindo contínuas pequenas mudanças em direção ao equilíbrio deixa marcas na estrutura que são verdadeiros arquivos de informação.

A formação, modelação e remodelação do tecido ósseo é levada a cabo por diversas células ósseas, que assumem várias formas e funções e que, no seu conjunto, constituem a série osteoblástica e a série osteoclástica (Standring et al, 2009; Geddes, 1913).

A atividade destas células está, contudo, sujeita à ação de numerosos fatores de regulação, situados quer a nível sistémico quer a nível local, sintetizados, neste último caso, tanto pelas próprias células como pelas células da linha hematopoiética e pelas células do sistema imunitário presentes no microambiente ósseo (Kwan

et al, 2004; Urist, 1965). Estes fatores medeiam, pelo menos parcialmente, os efeitos dos estímulos mecânicos (Bonewald et al, 2008).

Para que a massa óssea se mantenha constante e para que as células tão diversas como os osteoblastos e osteoclastos estejam, sob um ponto de vista funcional, tão intimamente associadas no tempo e no espaço, é necessária a existência de uma completa coordenação e integração dos eventos celulares, que caracterizam o processo de formação / reabsorção óssea, de modo a manter-se um equilíbrio perfeito (Sims et al, 2008). O controlo molecular destes processos não está, ainda, totalmente esclarecido, mas assenta num sistema integrado de citocinas designado por eixo RANKL/RANK/OPG (Roberts et al, 2006).

O tecido ósseo tem origem na mesoderme embrionária e a sua formação, desenvolvimento e crescimento, designado por osteogénese ou ossificação, são realizados através de dois mecanismos distintos: ossificação intramembranosa e ossificação endocondral (Gonçalves, 2006; Kierszenbaum, 2008).

Estes dois processos de osteogénese diferem, essencialmente, pela ausência ou presença de uma fase cartilaginosa, revestindo-se de grande importância. Com efeito, o conhecimento da sequência de eventos observada nos processos de osteogénese embrionária, ainda que não pareça, reveste-se de grande importância, pois esta sequência de eventos é basicamente a mesma que vamos encontrar na reparação de uma fratura óssea.

A ossificação intramembranosa, característica dos ossos que formam a maior parte do esqueleto crânio-facial, consiste na substituição gradual e direta do tecido conjuntivo primitivo, ou mesênquima em tecido ósseo (Gonçalves e Bairos, 2006; Kierszenbaum, 2008).

Inicialmente, surge uma condensação de células mesenquimatosas indiferenciadas, altamente vascularizada, nas regiões onde irão surgir os futuros ossos (Fawcett e Jensch, 2002). Sob a influência de fatores genéticos e epigenéticos, estas células começam a sintetizar uma matriz orgânica, bastante laxa, contendo numerosos vasos sanguíneos, sendo possível observar o aparecimento dos primeiros fibroblastos e células osteoprogenitoras. Estas, diferenciam-se rapidamente em células com formato cilíndrico típico dos osteoblastos e começam a formar espículas de matriz osteóide que, posteriormente, mineraliza. Assim, numerosos centros de ossificação vão-se organizando, desenvolvem-se e, finalmente, fundem-se. A confluência dos vários centros de ossificação têm como resultado o desenvolvimento de uma estrutura entrelaçada de trabéculas ósseas que se anastomosam assemelhando-se a uma esponja – tecido ósseo esponjoso ou esponjosa primária (Gonçalves e Bairos, 2006; Kierszenbaum, 2008). As trabéculas ósseas estão envolvidas em perióstio e apresentam entre si amplas cavidades ocupadas por tecido conjuntivo laxo e tecido hematopoiético em desenvolvimento.

Pelo facto da componente orgânica, as fibras de colagénio, das trabéculas ósseas recém-formadas estarem orientadas de forma aleatória, o tecido ósseo é descrito como um tecido ósseo primário ou entrelaçado, com características de imaturidade (Noble, 2003).

Algumas das regiões de osso esponjoso tornam-se zonas de osso compacto pelo espessamento progressivo das trabéculas que vão delimitando os espaços vasculares (Rodan, 1992; Kierszenbaum, 2008). Estes passarão a constituir, futuramente, os canais centrais dos sistemas de Havers, típicos do tecido ósseo maduro ou lamelar (Gonçalves e Bairos, 2006). Com o aparecimento dos osteoclastos, durante o processo contínuo de remodelação, o tecido ósseo imaturo é gradualmente reabsorvido e substituído por tecido ósseo maduro ou lamelar.

A ossificação endocondral é o principal mecanismo responsável pela formação e crescimento dos ossos longos, bem como das vértebras e das costelas. Nos locais onde serão formados os ossos por ossificação endocondral, é necessário um molde inicial de tecido cartilaginoso (Roberts et al, 2006; Kierszenbaum, 2008). As células mesenquimatosas indiferenciadas iniciam um processo de proliferação, condensação e diferenciação em condroblastos que, sintetizando uma matriz cartilaginosa e evoluindo para condrócitos, formam um modelo de cartilagem hialina, com a forma do futuro osso. Este irá, futuramente, ser substituído por tecido ósseo (Kierszenbaum 2008).

O mecanismo de ossificação endocondral, propriamente dito, começa na superfície da região média do modelo cartilágneo, quando as células adjacentes ao pericôndrio da cartilagem se diferenciam em osteoblastos, passando a sintetizar uma matriz orgânica que posteriormente mineraliza.

Dado que a cartilagem é nutrida por difusão, a presença de tecido mineralizado, localizado perifericamente, vai restringir a passagem de substâncias nutritivas para os condrócitos da região central da cartilagem. Como consequência deste facto, os condrócitos iniciam um processo de maturação e hipertrofia, sintetizam uma matriz rica em colagénio tipo X e iniciam o processo de calcificação da matriz e morte celular programada (apoptose) (Kirsch et al, 2003).

Os condrócitos hipertrofiados passam a segregar o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), que por sua vez induz a formação de vasos sanguíneos a partir do pericôndrio. As células hematopoiéticas e osteoprogenitoras surgem com os vasos sanguíneos recém-formados (Kierszenbaum, 2008). Posteriormente, os vasos sanguíneos penetram na região interna e central da cartilagem, que se encontra num processo de calcificação e degenerescência celular. As cavidades deixadas pelos condrócitos, entre os septos de matriz de cartilagem calcificada são, então, invadidas por capilares e células mesenquimatosas indiferenciadas, que se diferenciam em osteoblastos, dando início à síntese de matriz óssea sobre os septos de cartilagem calcificada. Este processo origina a formação de espículas ósseas constituídas por matriz óssea e por remanescentes de matriz cartilágnea calcificada. Estas estruturas sofrem, depois, um processo de reabsorção e remodelação, dando lugar a trabéculas de tecido ósseo maduro ou lamelar. Deste modo, forma-se um tecido ósseo nos locais onde antes existia tecido cartilágneo, sem que ocorra transformação da cartilagem em osso (Fawcett, 2002; Kierszenbaum, 2008).

Ambos os processos são iniciados em centros de ossificação estrategicamente localizados face ao processo de formação propriamente dito e à resistência a futuras solicitações mecânicas (Posner, 1985).

O fenótipo está dependente de características como a estabilidade mecânica, o suprimento sanguíneo e a tensão de oxigénio, que vão determinar o aparecimento de uma ossificação intramembranosa ou endocondral. Assim, em ambientes com alta tensão de oxigénio desenvolvem-se os osteoblastos (tecido ósseo), os condroblastos (cartilagem) em áreas de baixa tensão de oxigénio e os fibroblastos (fibrose) em áreas de muito baixa tensão de oxigénio.

Independentemente do processo de ossificação, o tecido resultante é sempre do tipo primário ou imaturo, formando uma rede de trabéculas ósseas contendo uma matriz pouca organizada e irregular, contrariamente ao osso maduro de estrutura lamelar organizada, característico do adulto.

Devido ao facto de apresentar uma estrutura anárquica, com fibras de colagénio aleatoriamente orientadas, o tecido ósseo imaturo é também designado por osso fibroso ou entrelaçado. Este tecido ósseo pode ser encontrado quer nas primeiras fases do desenvolvimento embrionário, quer ser formado localmente como uma resposta urgente a danos/agressões infligidos ao tecido ósseo. O tecido ósseo imaturo não sofre qualquer tipo de reorganização estrutural sendo, após cumprir a sua função provisória, gradualmente reabsorvido e substituído por tecido ósseo lamelar (Posner, 1985).

A designação de tecido ósseo lamelar, vulgarmente conhecido como osso maduro, advém da constituição muito ordenada das suas camadas dispostas de forma paralela ou concêntrica. As fibras de colagénio, extremamente organizadas, constituintes de cada camada, são paralelas entre si, mas estão dispostas segundo uma orientação diferente, formando muitas vezes um ângulo reto em relação às fibras das camadas adjacentes. Esta organização faz com que camadas contíguas possam parecer bastante distintas, designando-se por lamelas.

Depois de uma fase de crescimento, os ossos de um indivíduo adulto e saudável, adquirem uma estrutura lamelar definitiva, que garante a resistência mecânica que os caracteriza. No entanto, em situações que exijam uma rápida formação de tecido ósseo *de-novo*, observa-se, novamente, o aparecimento de áreas de tecido ósseo imaturo como acontece na reparação de uma fratura ou na doença de Paget (Turner, 1998). Com efeito, nunca se verifica o aparecimento de tecido ósseo lamelar como matriz óssea inicial.

2.1. Dinâmica e remodelação do tecido ósseo

O tecido ósseo é uma estrutura plástica altamente dinâmica que, durante toda a vida do organismo, está em permanente remodelação de modo a manter as propriedades mecânicas e metabólicas adaptadas aos diferentes estímulos a que está sujeito. A remodelação óssea representa a mais notável resposta do tecido ósseo, tendo atrás de si uma complexa maquinaria celular que, por sua vez, está sujeita à ação de inúmeros fatores de regulação. Além disso, a remodelação óssea é um dos grandes princípios da fisiologia óssea como resposta a solicitações mecânicas (Parfitt, 1995).

Este processo de remodelação não resulta apenas da atividade concertada de osteoclastos e osteoblastos com conseqüente reabsorção ou formação de osso. De facto, este fenómeno pressupõe uma completa coordenação e integração de atividades celulares, controladas pela interação de estímulos mecânicos, hormonas sistémicas, citocinas, prostaglandinas e fatores de crescimento produzidos localmente. Estes últimos, sintetizados, maioritariamente, pelas próprias células ósseas ou pelas células do microambiente envolvente, são libertados sequencialmente à medida que a remodelação vai ocorrendo e atuam de uma forma autócrina ou parácrina, sendo provável que medeiem, pelo menos parcialmente, os efeitos dos estímulos mecânicos e hormonais (Roberts et al, 2006; Sims, 2008).

De sublinhar ainda que o mecanismo de remodelação óssea é um processo altamente localizado. O processo de remodelação que ocorre numa determinada área não tem ligação cronológica direta com a remodelação observada em qualquer outra área. Este facto leva a admitir que a remodelação óssea está sobretudo sob controlo de fatores locais, gerados no microambiente de cada unidade ou área específica de remodelação.

Como já foi referido, a remodelação óssea inclui uma fase de reabsorção osteoclástica logo seguida por uma etapa de formação osteoblástica. Este processo intimamente associado no tempo e no espaço constitui entidades anatómicas temporárias que Frost (2001) denominou por “basic metabolizing units”, um termo que ele próprio reformulou mais tarde para “basic multicellular units”, abreviado por sua vez para BMUs.

As BMUs são estruturas tridimensionais formando no tecido cortical verdadeiros túneis/cones de reabsorção que serão prontamente mas lentamente preenchidos por novo osso conhecidos como cuttings/filling cones. Nas trabéculas do tecido ósseo esponjoso, os locais em reabsorção apresentam-se como escavações ou lacunas (lacunas de Howship). O conjunto de células responsáveis por estas atividades multidisciplinares é, também, coletivamente designado por BMU e reúne uma equipa de células osteoclásticas e uma de células osteoblásticas. Destas unidades fazem também parte outras populações celulares, consideradas por vezes como células não BMU, que incluem células mesenquimatosas e células do tecido conjuntivo, muitas delas pertencentes ao sistema imunitário, sistema hematopoiético, bem como um elemento vascular especializado para o efeito (Parfitt 1995; Doblare e Garcia, 2002).

Cada *Remodeling Project* começa com o reconhecimento de uma área alvo definindo uma região onde o osso necessita de ser substituído. Frost denominou esta etapa (que assinala e define o local de nascimento de uma nova BMU) como fase de ativação, sendo mais recentemente redefinida como a conversão duma superfície óssea de um estado quiescente para um estado ativo. Este processo requer uma alteração de comportamento das células de revestimento ósseo (*lining cells*), bem como o recrutamento e migração de células da linha osteoclástica para o local, e o reforço dos mecanismos de osteoclastogénese. Este “acontecimento” envolve a digestão da fina membrana de endóstio por enzimas produzidas pelas células de revestimento, conduzindo a uma fácil exposição da matriz óssea mineralizada. A superfície de matriz óssea desnudada e exposta atrai os pré-osteoclastos presentes da circulação sanguínea contribuindo, também, para a sua maturação e ativação. Todo este processo é acompanhado por mecanismos de neoangiogénese.

A remodelação óssea consiste num processo cíclico mediante o qual é eliminada uma área de tecido ósseo que será substituída por outra, com pouca ou nenhuma alteração da massa óssea. Deste modo, o processo de remodelação óssea compreende uma série ordenada de eventos que vão converter uma superfície óssea em repouso numa zona em remodelação, seguindo uma sequência imutável de ativação – reabsorção – reversão – formação (Parfitt, 1995; Roberts et al, 2006).

A fase de ativação compreende o reconhecimento de uma área precisa da superfície óssea que se encontra num estado quiescente e a sua ativação para o processo de remodelação, bem como o recrutamento dos precursores mononucleados dos osteoclastos. Na superfície óssea da zona que vai sofrer este processo verifica-se, logo no início da fase de ativação uma retração/afastamento das células de revestimento ósseo e a digestão enzimática da delgada camada de osteóide adjacente, conduzindo a uma mais fácil exposição da matriz mineralizada para um mais fácil acesso dos osteoclastos (Telser, 2007). O início desta fase de ativação parece ser da responsabilidade de citocinas pró inflamatórias produzidas pelos osteócitos em “sofrimento” ou em apoptose, localizados na área que irá ser sujeita a remodelação (Roberts, 1992; Parfitt, 1995).

Na fase de reabsorção os osteoclastos “cavam”, no osso cortical, cavidades cilíndricas, designadas por cones de reabsorção (*cutting cones*), com cerca de 200 µm, determinando o diâmetro dos futuros sistemas de Havers. No osso esponjoso, os osteoclastos “cavam” lacunas de contornos muito irregulares, com cerca de 50 µm de profundidade, denominadas por lacunas de Howship (Fawcett, 1988).

No local de reabsorção, aparecem a determinada altura células mononucleares com características de macrofágos e de pré-osteoblastos responsáveis pelo aparecimento de uma linha cimentante pobre em colagénio que define o limite ou fronteira entre osso pré-existente e o novo osso. Esta linha assinala também uma reversão da fase de reabsorção para o início do processo de reparação, caracterizando uma fase de inversão. Será nesta fase de reversão que ocorre o *coupling* entre osteoclastos e osteoblastos, verificando-se uma complexa comunicação bi-direcional que vai inibir a atividade dos osteoclastos e promover a dos osteoblastos.

As linhas de reversão são marcas indeléveis na estrutura óssea traduzindo a intensa e constante remodelação que caracteriza este tecido. De facto são um sinal do seu passado dinâmico que o presente não deixa apagar (Figuras 1.1 e 1.2).

Finalmente, inicia-se o preenchimento da cavidade de reabsorção, observando-se a chegada de muitas células da linha osteoblástica. O processo de proliferação e de diferenciação osteoblástica que caracteriza esta fase surge como resposta a fatores libertados da matriz óssea, durante a fase anterior, de reabsorção, estando incluídos entre eles, o TGF-β, IGF, BMPs, PDGF e FGF (Kwan et al, 2004; Deng et al, 2008; Gardner, 2007).

Esta fase de formação consiste, pois, na síntese de matriz osteóide e na sua posterior mineralização, tendo como resultado final a reconstrução da lacuna óssea de reabsorção ou de um cone de reabsorção (*cutting/filling cones*) com novo osso.

A fase de reabsorção óssea é bem mais rápida do que a de formação, pelo que a quantidade de tecido ósseo reabsorvido num período de três semanas leva aproximadamente três meses para ser novamente formada (Lemair et al, 2004).

O terminus da sequência de remodelação parece ser também, tal como o seu início, da responsabilidade dos osteócitos. Foi já demonstrado que os osteócitos presentes na matriz óssea recém sintetizada e mineralizada estão envolvidos num processo de regulação que determina a diferenciação dos osteoblastos secretores em células de revestimento ósseo, pondo fim ao ciclo de remodelação (Rho et al, 1998).

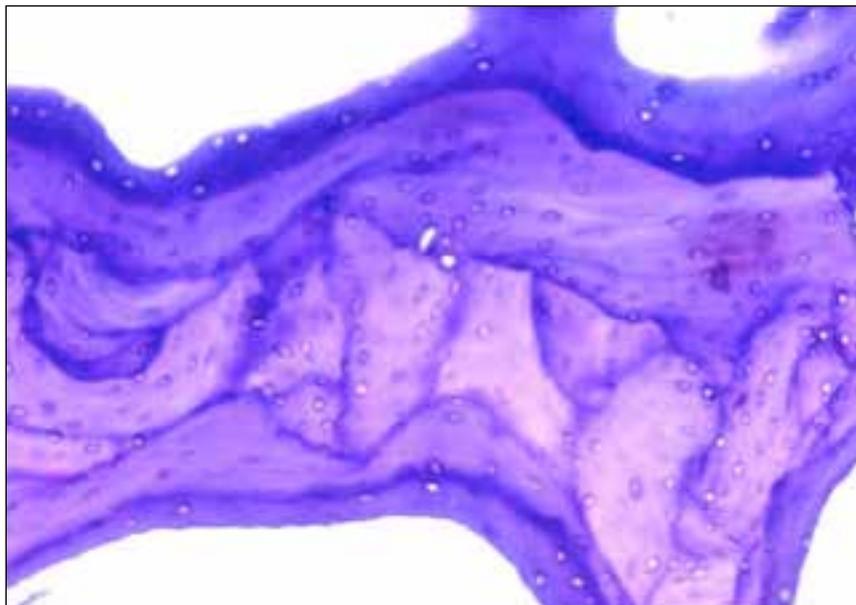


Figura 1.1 - Linhas de reversão traduzindo uma intensa remodelação óssea visível ao nível do tecido ósseo esponjoso.

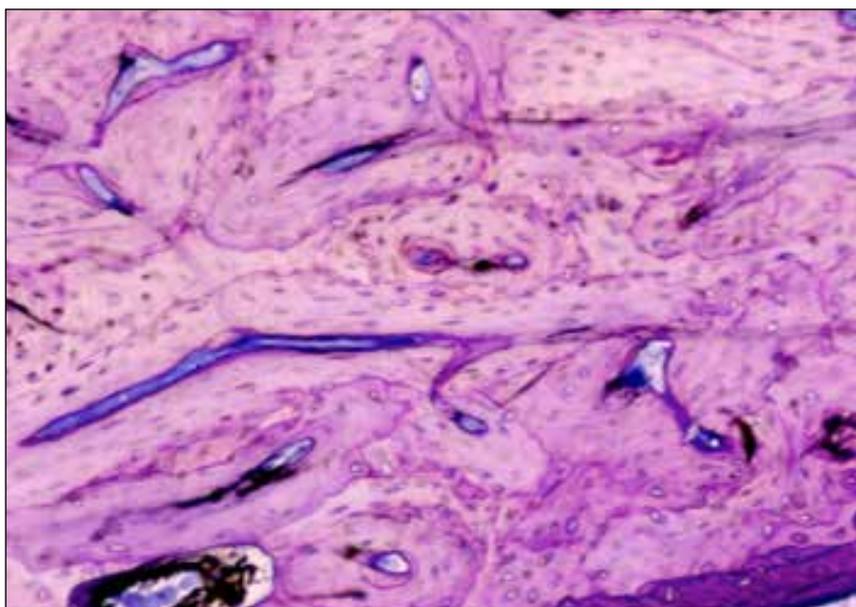


Figura 1.2 - Linhas de reversão traduzindo uma intensa remodelação óssea visível ao nível do tecido ósseo cortical.

A reabsorção e a formação são fenómenos que estão intimamente acoplados, visto que o início da primeira estimula a atividade reparadora da segunda, de modo a que a reabsorção de uma certa quantidade de tecido ósseo seja substituída pela mesma quantidade de novo osso. A evidência desta interligação levou, nos últimos tempos, à procura de um fator específico que controlasse estas duas atividades, e que seria a chave fundamental do processo de remodelação óssea.

Graças a esta renovação contínua, o organismo assegura uma formação óssea contínua com o objetivo final de manutenção das funções esqueléticas e metabólicas. Ao mesmo tempo, este processo de remodelação permite ao osso alterar a sua arquitetura interna, proporciona-lhe a plasticidade necessária para se adaptar a novas condições mecânicas.

De facto, o processo de remodelação óssea parece orientar-se fundamentalmente para um objetivo mecânico, englobando não só uma adaptação e otimização da estrutura óssea às solicitações mecânicas, como também a remoção de áreas danificadas. No entanto, a descoberta da importância da homeostasia dos níveis séricos de cálcio veio mudar um pouco os conceitos de remodelação, passando a ser considerada um importante mecanismo de gestão do “banco de cálcio” ósseo. Assim, o objetivo da remodelação parece incluir, pois, duas perspetivas diferentes: uma perspetiva mecânica dirigida para a reparação e adaptação da estrutura óssea ao meio e uma perspetiva metabólica, relacionada com a homeostasia do cálcio plasmático. A perspetiva mecânica será realçada uma vez que apresenta uma importância fulcral na adaptação e reparação da estrutura óssea em resposta a traumas.

Uma íntima relação entre a forma e a função foi, desde há muito, reconhecida na arquitetura óssea. De facto, ao longo da vida, o tecido ósseo possui uma grande capacidade de adaptação aos estímulos mecânicos associados à atividade fisiológica diária. Solicitações mecânicas como as decorrentes da ação da gravidade ou da atividade muscular, constituem exemplos de estímulos (estáticos e dinâmicos) fundamentais à preservação da massa óssea.

Uma descrição minuciosa da inter-relação entre a estrutura e a função do tecido ósseo, foi pela primeira vez formalmente estabelecida nos finais do século XIX pelo anatomista Julio Wolff, sendo a partir daí conhecida como lei de Wolff. Wolff afirmava que os elementos trabeculares do esqueleto não foram concebidos apenas para realizar uma função específica de suporte, mas também para responder às forças a que estão sujeitos, alterando constantemente a sua constituição estrutural, durante todo o tempo de vida do indivíduo (Frost, 2001). De acordo com esta lei, as características geométricas dos ossos e a distribuição dos seus componentes microestruturais são determinadas pela magnitude e direção das tensões a que estão submetidas. Assim, as trabéculas ósseas encontram-se preferencialmente alinhadas segundo a direção das tensões máximas aplicadas, o que origina uma distribuição anisotrópica da resistência e rigidez do osso, ou seja, estas propriedades variam com a direção considerada. Cada osso constitui, então, uma estrutura tridimensional otimizada e economicamente muito eficaz, para melhor resistir aos esforços mecânicos aplicados.

Apesar do paradigma “a forma está à priori relacionada com a função” levantar atualmente alguma reserva, continua a aceitar-se uma relação dinâmica entre a estrutura do tecido ósseo e o meio envolvente. Neste sentido, Wolff, Frost e Seeman são concordantes ao considerar que “the structure of bone determines the loads it tolerates. The reverse also applies - the load imposed on bone determines its structure”.

De um modo geral, pode afirmar-se que o tecido ósseo é um material duro e particularmente resistente à compressão axial, possuindo ainda um certo grau de flexibilidade e capacidade de absorção de choques (tenacidade). Com efeito, sendo essencialmente constituída por cristais de hidroxiapatite e fibras de colagénio, a matriz óssea combina, num só, as propriedades de ambos os materiais. Isto é, a dureza e rigidez do componente mineral e a elasticidade e flexibilidade das fibras colagénicas. A elasticidade do material significa que este readquire a sua forma inicial, quando cessa a força aplicada. Ao contrário, a plasticidade traduz-se por uma deformação permanente. Quando a extensão da deformação ultrapassa determinado limite, ocorre a rotura/fratura do material.

Por outro lado, o tecido ósseo, tal como quaisquer outros materiais, pode sofrer e acumular danos estruturais por fadiga (as microfissuras e danos causadas pelo uso continuado acabam por produzir fadiga). Mas, ao contrário deles, o tecido ósseo possui a capacidade de detetar e localizar a extensão dos danos, bem como mecanismos eficientes para os remover, restaurando o estado inicial, ou seja, possui uma aptidão intrínseca de autorreparação. Esta constante capacidade de resposta do tecido ósseo é conseguida essencialmente através dos processos de remodelação.

A aplicação de estímulos mecânicos tem uma profunda influência no metabolismo ósseo, podendo desencadear processos de modelação ou remodelação. Os mecanismos de modelação acompanham geralmente os processos de crescimento e de hipertrofia do sistema musculoesquelético, modificando estrategicamente

o tamanho e a forma das estruturas ósseas. A modelação óssea consiste na formação de tecido ósseo (onde é necessário), sem que tenha ocorrido qualquer reabsorção prévia e representa não só o resultado do blueprint genético do indivíduo, como também uma resposta adaptativa ao microambiente. Assim sendo, associa fatores genéticos a fatores epigenéticos. Esta adaptação gradual da estrutura à carga pode ainda ser considerada como um processo de prevenção (antecipada) de danos.

Por sua vez, a remodelação implica, a reconstrução de uma área óssea compreendendo sempre um processo de reabsorção antes de qualquer etapa de formação.

Pode afirmar-se, pois, que a modelação (construção) está mais relacionada com a prevenção dos danos enquanto a remodelação (reconstrução) está mais ligada com a sua reparação. A modelação e remodelação óssea minimizam o stress, alterando a estrutura óssea, para evitar a ocorrência de situações de fraturas ósseas.

Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre formação e reabsorção ósseas. No entanto, se os estímulos mecânicos forem muito reduzidos (desuso), a reabsorção óssea supera a formação, causando perdas de massa óssea que podem ser bastante significativas, conduzindo à atrofia óssea de desuso ou à *espongialização óssea*.

Se, ao invés, os estímulos mecânicos forem intensos e frequentes, o tecido ósseo é habitualmente reforçado pela deposição de novo tecido e aumento da massa óssea (modelação, lei de Wolff). No entanto, sob condições de excesso de carga pode sofrer e acumular danos estruturais (fadiga), que acabam por estimular também a remodelação. Convém realçar aqui que os estímulos mecânicos fisiológicos possuem intensidade e frequência suficientes para originarem danos por fadiga no tecido ósseo.

A Figura 1.3 pretende fazer uma síntese das considerações referidas. Em condições fisiológicas existe, no tecido ósseo, uma íntima relação e integração entre estímulos mecânicos e respostas celulares, visando uma constante adaptação ou reparação da microestrutura óssea.

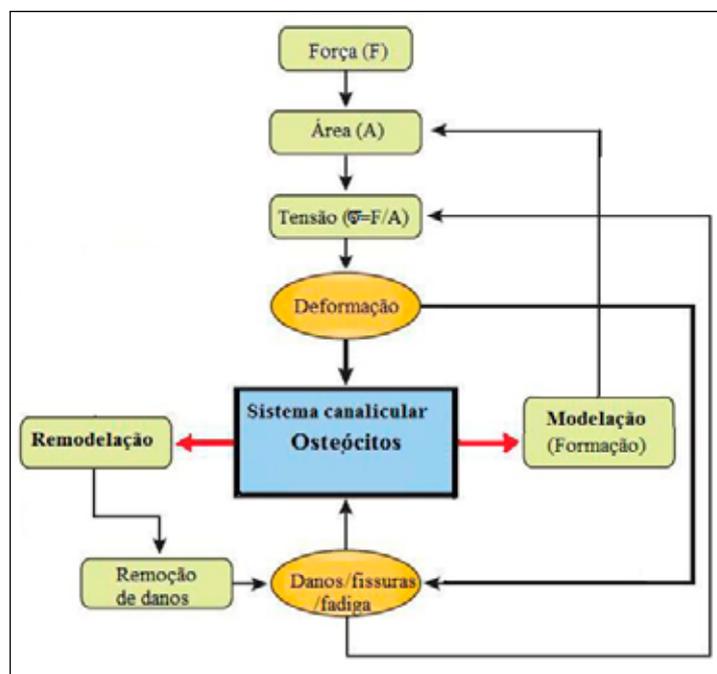


Figura 1.3 - Modelo biomecânico dos processos de (re)modelação. A aplicação de uma força por unidade de área (tensão) causa a deformação da matriz óssea. Esta deformação é transmitida aos osteócitos que desencadeiam processos de modelação (causando um aumento da massa óssea e da área de aplicação da força), ou remodelação (substituição do tecido ósseo para adaptação funcional ou para remoção dos danos). Adaptado de Bonewald e Johnson, 2008.

Os processos de remodelação são a tradução funcional destas respostas celulares, sendo os osteócitos os principais “guardiões” do tecido ósseo. Porém, o desgaste causado pelo uso ou “abuso” continuado pode produzir situações de fadiga e danos mais sérios, que enfraquecem o tecido ósseo. A apoptose dos osteócitos provocada por estas circunstâncias pode desencadear uma atividade de remodelação tal que, associada aos danos pré-existentes, cria um aumento de porosidade que, embora transitória, pode agravar mais esta situação levando à rutura do material.

Assim, os mecanismos de remodelação óssea permitem não só a constante adaptação funcional e otimização das estruturas ósseas, como ajudam a remover e reparar áreas de tecido danificado. Nesta perspetiva, pode considerar-se o processo de reabsorção como uma forma, altamente especializada e controlada, de autoimunidade visando substituir uma área de tecido ósseo estrutural ou funcionalmente comprometida ou danificada.

Esta permanente adaptação óssea representa uma constante resposta e interligação deste tecido ao meio, de forma a otimizar o seu desempenho funcional, visando sempre uma maior eficácia sob condições de carga. De referir, ainda, que a modelação e remodelação óssea permitem o reforço da resistência do osso às cargas mecânicas, sem prejuízo da sua mobilidade (o que é conseguido sem que ocorra aumento da massa óssea).

A principal vantagem conferida pela remodelação óssea, em termos de evolução, parece ser a manutenção de um esqueleto substancialmente mais leve. Os benefícios mais óbvios de um esqueleto leve, têm a ver com uma maior eficácia em termos de velocidade, resiliência e energia, conferindo importantes capacidades de sobrevivência. Outra importante vantagem conferida pela remodelação é a maior flexibilidade, menor rigidez e maior tenacidade (maior capacidade de absorção e armazenamento de energia sem fraturar) da estrutura óssea.

Existem algumas vantagens e algumas desvantagens entre rigidez e resistência (conferidas por um maior grau de mineralização) e a tenacidade e capacidade de absorção de energia (associadas a mais baixos teores de mineralização). Com efeito, aumentos relativamente pequenos no conteúdo mineral resultam em grandes aumentos de resistência, mas também em grandes reduções na tenacidade. O equilíbrio ideal entre rigidez e resistência ao choque pode ser muito difícil de estabelecer para qualquer osso em particular, mas os extremos são certamente indesejáveis e situações a evitar.

Importa acentuar, ainda, que as forças aplicadas são fundamentais para assegurar a vitalidade das células ósseas. Como estas células se encontram imobilizadas no seio de uma matriz mineralizada, o transporte de nutrientes e oxigénio é feito através de uma rede de canaliculos e não por difusão. São as forças mecânicas que, ao originarem deformações na matriz, causam a deslocação destes fluidos.

Assim, a sobrevivência dos osteócitos no interior da matriz óssea depende da capacidade de deformação desta matriz, como resposta aos estímulos mecânicos. Com efeito, os osteócitos necessitam da existência de um fluxo constante e com um certo nível de pressão hidrostática no sistema lacuno-canalicular. Esta interação, entre o movimento do fluido e os osteócitos, constitui um estímulo poderoso e imprescindível à manutenção da sua atividade celular, desencadeando também mecanismos que aumentam a resistência mecânica do osso e inibem e/ou previnem a perda da massa óssea.

Na verdade parece poder afirmar-se que num tecido ósseo, em condições normais existe um ténue estado de equilíbrio entre rigidez e resistência versus tenacidade e flexibilidade e, ainda, entre nutrição fisiológica dos osteócitos versus danos por fadiga.

Em síntese, a manutenção de um esqueleto leve tem conferido manifestas vantagens mas, por outro lado, implica também que os estímulos mecânicos, mesmo os fisiológicos, provoquem deformações que acabam por ser relativamente elevadas, necessitando de uma permanente remodelação. Assim, pode afirmar-se que os mecanismos de remodelação óssea são necessários não apenas para o normal funcionamento e constante capacidade de adaptação do tecido ósseo, como também para prevenir os microdanos acumulados por fadiga.

3. Origem e evolução da distração osteogénica

A história da Distração Osteogénica está intimamente ligada aos métodos ancestrais de reposicionamento e estabilização das fraturas ósseas.

A tentativa de reparação das fraturas ósseas parece existir mesmo antes do aparecimento da história, como sugerem os fósseis de ossos fraturados em que a união aconteceu com um bom alinhamento. É provável que, em alguma fase da própria História da humanidade, o Homem primitivo tenha criado um tala muito rudimentar e que a partir daí tenha verificado o efeito do *nulla curatio*, isto é, aplicando por instinto o repouso e o movimento precoce controlado (Peltier, 1993).

Muitas e diferentes técnicas têm sido usadas desde há vários séculos na tentativa de modificar o crescimento ósseo, quer em quantidade quer em direção.

As provas documentais sobre práticas ortopédicas de reparação de fraturas ósseas no Antigo Egito procedem de variadas formas como corpos mumificados, pinturas e hieróglifos. No entanto, a fonte mais evidente é o papiro de Edwin Smith, descoberto em 1862 e cuja autoria é atribuída a Imhotep (2655-2600 a.C.), polímato e considerado o primeiro médico da história antiga (Osler, 2004).

Na Grécia, evolui a herança dos Egípcios e nasce a abordagem científica da medicina e a documentação escrita e detalhada da sua história. Hipócrates de Cós (460-380? a.C.), considerado o pai da medicina e autor das dezenas de tratados que compõe o *Corpus Hippocraticum*, descreve pela primeira vez os princípios biomecânicos da manipulação óssea e os efeitos das forças da tração e contra-tração no tratamento das fraturas ósseas (Peltier, 1990). No tratado sobre as fraturas, Hipócrates descreve um aparelho externo composto por dois anéis de couro unidos por quatro varas elásticas de cornizo que quando dobradas provocavam uma tensão controlada sobre os fragmentos ósseos.

Todos os desenvolvimentos subsequentes verificados ao longo dos séculos foram relativos ao controlo da tração, à fixação óssea e às técnicas de osteotomia (Paterson, 1990; Crenshaw, 1992; Murray et al, 1996; Wiedemann, 1996).

A primeira tentativa, que se conhece de tração contínua de uma fratura de um osso longo foi descrita nos trabalhos de Chauliac no Séc. XIV (Peltier, 1968; 1990; 1993).

Em 1826, Barton realizou a primeira divisão cirúrgica terapêutica de um osso (Barton, 1827) e a partir da metade do séc. XIX vários foram os avanços sobre a fixação óssea externa (Samchukov et al, 1998; 2001).

A primeira publicação científica sobre a utilização da distração osteogénica para o alongamento ósseo de um membro foi feita em 1904 por Codivilla (1905). O autor descreve o alongamento de um fémur curto e a correção de deformidades dos membros inferiores através da realização de uma osteotomia oblíqua e aplicação de forças de tração na área afetada pela deformidade. O procedimento envolvia a imobilização, com gesso, da perna afetada, que era fixada sobre um suporte por ele idealizado. Posteriormente seccionava o gesso na zona da osteotomia, ficando a porção proximal fixa ao suporte e a porção distal fixada a um pino inserido no calcâneo. O alongamento era feito pela tração esquelética através do pino trans-calcaneano, com várias ativações até conseguir o resultado desejado. As forças utilizadas eram pesadas e aplicadas de forma abrupta. Apesar da aparência primitiva do aparelho e da óbvia “crueldade” do método, Codivilla deu o primeiro grande contributo para a distração óssea moderna e tentou, à luz dos conhecimentos científicos de então, interpretar o fenómeno da distração e organizá-lo como um método para poder ser utilizado por outros ortopedistas. Na descrição da técnica, sugeriu que as forças fossem aplicadas diretamente sobre o osso com magnitude bem mensurada e constante, que fosse considerada a resistência dos tecidos moles, e que, após um período de “repouso”, os membros poderiam ser alongados “sem que as suas ações fisiológicas fossem alteradas”. Esta descrição parece ser a primeira referência ao período de consolidação da técnica moderna da distração.

Em 1911, o francês Lambret estabeleceu alguns princípios da distração e transfixação ao utilizar um aparelho composto por parafusos transfixantes no tratamento de fraturas dos osso longos (Paterson, 1990; Wiedemann, 1996).

Nos anos seguintes, diversos autores publicaram casos de alongamento ósseo utilizando a técnica descrita por Codivilla, mas introduzindo pequenas variações que foram registadas e publicadas.

Freiberg em 1912, utilizou um picador de gelo esterilizado que, colocado através do osso calcâneo, permitia exercer tração sobre o osso através de uma corda. Se o alongamento obtido não fosse suficiente, realizava novas trações sem anestesia (Paterson, 1990; Peltier, 1993).

Nessa década, o americano Magnuson descreve 14 casos clínicos nos quais realizou uma osteotomia em forma de “Z” na tibia com várias perfurações e, pela primeira vez, foi destacado o grande potencial biológico do perióstio e endóstio. Através de uma tração brusca dos fragmentos ósseos, com pesos, mantinha-os separados com cunhas de madeira e fixava-os com parafusos de marfim que mais tarde reabsorviam. Este processo durava cerca de trinta minutos, durante os quais os pacientes chegavam a entrar em choque, acabando mesmo, alguns por morrer. Apesar dos procedimentos bastante cruentos, mesmo para a época, Magnuson demonstrou ser possível alongar de uma só vez 50 a 70 milímetros de osso com alguma resistência mecânica (Magnuson, 1908; Kuntscher, 1990; Kenwright, 1993; Wiedemann, 1996).

Fasset, em 1913, aplicou um método de alongamento baseado numa distração de 30 milímetros num único passo; depois, no espaço distração enxertava pequenos fragmentos de osso. Os resultados obtidos no alongamento do fémur não foram, porém, muito animadores (Wiedemann, 1996).

Três anos mais tarde, Taylor descreve uma nova técnica baseada nos seus dez anos de experiência clínica com pacientes de traumatologia ortopédica. O seu método incluía a realização de uma osteotomia em forma de “Z”, que era depois estabilizada com gesso. Posteriormente, cortava o gesso ao nível da osteotomia e separava os dois fragmentos durante 10 dias, interpondo blocos de marfim à medida que o espaço era criado. Devido às grandes complicações que surgiram, principalmente as relacionadas com a infeção, acabava por amputar a parte distal do osso longo dos membros inferiores (Peltier, 1968; Frankel e Burstein, 1970; Frankel et al, 1988).

Nos anos 20 do século XX, Vittorio Putti, discípulo de Codivilla, desenhou um aparelho formado por duas hastes e uma barra conectora, para realizar o alongamento dos fragmentos ósseos de ossos longos fraturados e que permitia o controlo das forças de tração exercidas. O princípio era promissor, mas devido à

instabilidade da fixação, esta técnica não teve muitos seguidores na comunidade médica de então (Paterson, 1990; Putti, 1990).

Seguiram-se várias outras tentativas de distração osteogénica sobre ossos longos, que foram publicadas quer na Europa quer na América do Norte, como Abbott (1927) que descreve uma técnica pioneira de alongamento aplicada ao perónio. Esta técnica, bastante difundida nos EUA na época, utilizava um dispositivo com hastes colocadas nos extremos proximal e distal da tíbia, unidas por barras conectoras roscadas. De seguida, era realizada uma osteotomia em forma de “U” e induzia-se o alongamento brusco e único de 1 ou 2 centímetros. Este autor sugeria um período de espera, determinado pelo desaparecimento da inflamação, até se iniciar o alongamento (Samchukov, 1998). Anos mais tarde, esta técnica foi modificada por Carrell, cuja técnica envolvia uma osteotomia mais conservadora, preservando o perióstio e introduzindo uma terceira haste para controlar os desvios angulares dos fragmentos (Paterson, 1990; Eldridge e Bell, 1991).

Nos anos 30, introduziram-se mais modificações e avanços na técnica de distração óssea, com o aparecimento de vários resultados clínicos que relatavam as determinantes do êxito ou fracasso e as complicações mais frequentes. Estas complicações incluíam problemas de origem óssea, como consolidações retardadas, não-uniões, deformidades e fratura aquando a retirada dos dispositivos e problemas associados ao sobre-estiramento dos tecidos moles, como paralisias nervosas e contraturas articulares (Panjaba et al, 1985; 1989).

O período compreendido entre 1950 e 1980, foi marcado pelo abandono da técnica de distração osteogénica na ortopedia, devido principalmente à elevada incidência de complicações relacionadas com a técnica e que incluíam, entre outras, infeção, necrose do tecido cutâneo, edema, osteomielite, lesões nervosas, desvio angular das superfícies distraçadas e falha de neoformação óssea na zona de distração (Karp et al, 1990).

Desde o início da sua utilização até à década de 80 do século XX, a literatura disponibilizada mostra que a progressão da técnica e as modificações introduzidas até aí, centravam-se essencialmente no aspeto mecânico do alongamento ósseo e menos nos aspetos biológicos.

O grande avanço na técnica de distração osteogénica, considerado por muitos autores como um marco histórico que serviu como ponto de viragem para a sua utilização em definitivo, foi da responsabilidade de Gavriil Ilizarov que, através dos seus numerosos estudos experimentais e clínicos, aplicou com sucesso, e durante 35 anos, a distração óssea aos ossos endocondrais das extremidades superiores e inferiores (Swennen et al, 2001).

Apesar dos trabalhos de Ilizarov terem sido apresentados formalmente ao mundo ocidental só em 1987, as suas atividades clínicas e de trabalho experimental iniciaram-se no início da década de 50 do séc. XX (Ilizarov, 1988a; 1988b).

Em 1951, este ortopedista Russo a trabalhar na região de Kurgan, Sibéria ocidental, desenvolveu uma técnica cirúrgica e um dispositivo médico para reparação de fraturas complexas e não-uniões ósseas (Golyakhovsky, 1988; Aronson, 1989a). Parece que a sua grande motivação e dedicação à distração osteogénica, se deveu à necessidade de tratar os milhares de soldados russos feridos na segunda grande guerra o que constituiu um verdadeiro flagelo para a sociedade russa de então. Grande parte deles padecia de osteomielite e outras complicações de fraturas provocadas pelo armamento de guerra. Com poucos meios e municiado de ferramentas quase primitivas, ele construiu um aparelho para fixação óssea externa que consistia em dois anéis metálicos unidos por três ou quatro varetas roscadas. Cada segmento ósseo era fixado aos anéis através de duas varetas metálicas inseridas no osso, para posterior consolidação. Após ter recebido a patente oficial soviética, tornou-se no primeiro fixador esquelético externo com fios, sob tensão. Com este dispositivo, Ilizarov, tratou e devolveu à normalidade milhares de soldados russos.

Nos anos seguintes relatou os seu resultados impressionantes, mas foi ignorado pelos principais ortopedistas de Moscovo bem como pelo ministério da saúde soviético.

Mais tarde desenvolveu, pela primeira vez, uma técnica de osteotomia subperiosteal (corticotomia) para os ossos longos, seguida de uma separação lenta, progressiva e com força controlada, que assim preservava o suprimento sanguíneo medular e subperiosteal, permitindo o alongamento ósseo sem necessitar de enxertos no espaço criado pelo alongamento.

Também estabeleceu um único protocolo de distração para alongamento dos membros inferiores, válido ainda nos dias de hoje, que indicava cinco a sete dias de período de latência, seguido de um período de distração de um milímetro por dia, através de uma a quatro ativações (Ilizarov, 1989a; 1989b; Atar et al, 1992).

Golyakhovsky (1988) que apelidou Ilizarov como o “Mágico de Kurgan” referiu que este, após anos de resultados clínicos, fez as seguintes observações:

- a) a osteogénese preenche de forma espontânea o espaço criado pela distração;
- b) o osso neoformado remodela-se rapidamente para se adaptar à estrutura óssea nativa;
- c) o potencial osteogénico é uma característica dos ossos maduros do esqueleto;
- d) a maior preservação da medula óssea com a corticotomia é o procedimento ideal para o alongamento e correção óssea.

A tensão mecânica, considerada como um dos sinais chave da morfogénese durante o crescimento e desenvolvimento do esqueleto humano (Vecsei, 1997), foi utilizada por Ilizarov como o fundamento principal da técnica de distração osteogénica e, com base na sua experiência clínica e de investigação, formulou dois princípios biológicos, ainda hoje designados como os “Princípios de Ilizarov”. Estes postulam o seguinte:

- 1.º Existe um Efeito da Tensão-Stress na génese e crescimento dos tecidos.
- 2.º Há uma forte influência do suporte sanguíneo e carga mecânica sobre a forma dos ossos e articulações.

O primeiro princípio reclama que a tração gradual e contínua gera o estímulo externo necessário para o início e manutenção da regeneração e crescimento ativo dos tecidos vivos. Clinicamente, após a distração osteogénica, o novo osso formado remodela-se rapidamente, para se conformar à estrutura óssea existente.

O segundo princípio, invoca que a forma e robustez dos ossos e articulações está dependente da interação entre a carga mecânica e o suprimento sanguíneo. Se o suporte sanguíneo for insuficiente para permitir ao osso desenvolver-se de forma a poder suportar as cargas fisiológicas a que está sujeito, este vai atrofiar e degenerar. Pelo contrário, se o aporte sanguíneo for adequado, vai permitir que o osso sofra mudanças hipertróficas compensatórias nos casos de maior exigência mecânica.

No início da década de 60 do séc. XX, Ilizarov reportou os seus primeiros trabalhos de alongamento até 25 cm dos membros inferiores, mas a sua visibilidade foi mais notória em 1967 quando tratou com sucesso a tibia fraturada de um famoso atleta soviético de salto em altura, que já tinha sido submetido, sem sucesso, a 14 intervenções cirúrgicas pelos ortopedistas de Moscovo. Após 25 anos de trabalho intensivo sobre a distração, foi, por fim, devidamente reconhecido e agraciado pelo governo soviético com a construção de uma grande unidade hospitalar com centro de pesquisa em Kurgan. O seu reconhecimento internacional surgiu a partir de 1980, quando os ortopedistas europeus e norte-americanos começaram a utilizar os seus princípios. Relatórios datados entre 1983 e 1994, estimam que Ilizarov tratou mais de 15.000 doentes no seu hospital e que pelo menos outros 300.000 doentes em todo mundo foram tratados com a sua técnica (Aronson e Shen, 1994; Aronson et al, 2001).

Numa das suas primeiras publicações (Ilizarov e Soybelman, 1969), descreve o uso da técnica na correção de defeitos de continuidade dos ossos longos em 21 doentes. Em todos eles, realizou a osteotomia numa das extremidades, perto do defeito, e, após colocação do aparelho de fixação, alongava uma das extremidades até contactar a do lado oposto. A distração era feita de forma gradual, rodando os parafusos do aparelho 4 a 6 vezes por dia, correspondendo a uma velocidade de 1 a 1,5 milímetros por dia, até os fragmentos estarem em

contacto. Os alongamentos referidos foram de 4 a 19 cm e em nenhum dos casos utilizou enxertos ósseos, diminuindo assim o tempo de imobilização com tala de gesso.

Em 1987, enquanto orador principal da “Annual Scientific Program of the Alumni Association - Hospital for Joint Diseases Orthopaedic Institute” em Nova York, Ilizarov brilhou ao apresentar pessoalmente, e pela primeira vez, a sua técnica à comunidade médica do mundo ocidental (Ilizarov, 1988b). Nesse palco internacional afirma que a sua técnica “proporciona uma cirurgia menos traumática em vez de operações complicadas, com menores procedimentos e diminuição dos períodos de tratamento, reduzindo a incapacidade dos doentes e possibilitando o tratamentos de casos até então considerados incuráveis”. Em 1989 publica os resultados dos seus trabalhos experimentais e clínicos e descreve o princípio da “Lei de tensão-stress: tecidos submetidos a tração lenta e constante tornam-se metabolicamente ativados, um fenómeno caracterizado pela estimulação das funções celulares bio-sintéticas e proliferativas”(Ilizarov, 1989a; 1989b).

Na parte I (Ilizarov, 1989a), sugere quatro fatores necessários para alcançar uma adequada quantidade e qualidade de osso neoformado:

- I. Estabilidade da fixação dos fragmentos ósseos.
- II. Grau de dano causado na medula óssea, nos vasos sanguíneos e periósteeo, durante a osteotomia.
- III. Velocidade da distração.
- IV. Ritmo ou frequência da distração.

O primeiro estudo experimental realizado foi direcionado para a influência da fixação e da integridade da medula óssea no processo de distração osteogénica. O cão foi o modelo experimental animal escolhido. Dos 480 cães utilizados, dividiu-os em grupos e em todos os grupos seguiu o mesmo protocolo: período de latência de 5 a 7 dias, seguido de um alongamento de 0,5 mm por dia, dividido em ativações de 0,125 mm a cada 6 horas, e período de consolidação entre 3 a 6 semanas, após o qual retirava os aparelhos. Ilizarov sacrificou os animais em diferentes tempos, desde o tempo zero até aos seis meses, para estudo histológico. Histologicamente, verificou que a atividade osteogénica era menor no grupo com maior mobilidade nas extremidades ósseas. Nos grupos com maior solidez na fixação, existia menor tecido conjuntivo indiferenciado, menor número de zonas com cartilagem e maior número de áreas com tecido ósseo regenerado (contendo trabéculado osteóide). Aos 14 dias observou, na zona central da distração, uma película osteogénica onde se estaria a formar o trabéculado osteóide. Denominou esta zona de “zona de crescimento” pelas semelhanças com a placa epifisária.

Os resultados destes estudos demonstraram que uma insuficiente fixação levava à não-união óssea ou a uma pseudo-artrose e que quanto maior é a rigidez da fixação, mais rápida é a osteogénese e maior é a quantidade de osso presente na zona de distração.

No segundo estudo experimental (Ilizarov, 1989b), realizado em 38 cães, avaliou a importância da orientação da distração e tentou verificar se os ossos longos poderiam ser alargados em vez de alongados. Este estudo permitiu-lhe, mais tarde, avaliar os efeitos da lesão da medula óssea no processo de regeneração a ocorrer no interior da distração. O protocolo seguido foi o mesmo do primeiro estudo e a conclusão mais relevante foi que a preservação da medula óssea promove uma osteogénese mais ativa.

Ilizarov também estudou o fenómeno de distração a nível ultra-estrutural, utilizando o microscópio electrónico de varrimento, e a nível bioquímico. Nos estudos consequentes, reforçou a ideia de que a distração efetuada com uma fixação rígida apropriada, preservação do periósteeo e do suporte sanguíneo, favorecia o aparecimento da zona de crescimento dentro da área de regeneração.

Ultra-estruturalmente verificou que, no alongamento sob influência do mecanismo de tensão-stress, surgem os primeiros fibroblastos que formam fibras de colagénio dispostas por camadas bem ordenadas e orientadas paralelamente ao vetor da tensão, onde as células osteoprogenitoras se diferenciam em osteoblastos formando a matriz osteóide que depois se mineraliza. Também constatou que as células presentes no local

da distração apresentavam elevada atividade bioquímica, com hiperplasia do retículo endoplasmático, do citoplasma e núcleo e aumento do número de mitocôndrias e ribossomas.

Histoquimicamente, verificou que no processo de osteogénese por distração há aumento do nível de fosfatase alcalina, ácido láctico e ácido pirúvico durante o período de consolidação.

Nos seus estudos, Ilizarov chegou a abordar outras possibilidades terapêuticas do efeito tensão-stress, como o tratamento de defeitos de continuidade óssea sem necessidade de enxerto (técnica de distração bifocal) e o tratamento de “mandíbulas hipoplásticas”. No entanto, nesta abordagem não foi o pioneiro, uma vez que surge depois da publicação de Snyder sobre o alongamento mandibular (Snyder et al, 1973; Miao et al, 1997).

Posteriormente, Wagner descreveu outra técnica que teve numerosos seguidores europeus e norte-americanos da área da traumatologia humana (Kenwright e White, 1993). O autor defendia uma osteotomia diafisária do fémur, seguida de uma separação de 5 cm dos segmentos ósseos. Colocava um fixador externo com parafusos roscados e alongava o osso, ao ritmo de 1,5 mm, duas vezes por dia. Depois de obter o alongamento desejado, fazia uma nova cirurgia para enxertar osso esponjoso no espaço inter-fragmentário e substituíam o dispositivo por uma placa de osteossíntese, para estabilizar os fragmentos. O paciente era instruído para não suportar qualquer peso, e só passados alguns meses é que removiam cirurgicamente a placa e era permitido ao paciente apoiar-se sobre a extremidade (Wagner, 1978; Paterson, 1990; Cech e Tre, 1993; Kollar et al, 1994; Wiedemann, 1996).

Uma modificação da técnica descrita por Wagner foi definida por Wassertein em 1988. A diferença residia no tipo de osso utilizado para o enxerto e no tipo de fixador. Wassertein utilizou osso cortical no espaço inter-fragmentário e fixou os segmentos com um fixador circular (Paterson, 1990). Os métodos de Wagner e Wassertein são denominados métodos “não biológicos” que, de forma diferente ao que era proposto pelo método “biológico” de Ilizarov, o alongamento ósseo não dependia da resposta do organismo ou do potencial osteo-indutor do osso, mas sim da inserção de osso externo (Cech e Tre, 1993). Estes métodos foram depois abandonados, devido às numerosas complicações observadas, entre as quais, infeções dos tecidos moles, novas fraturas e não-uniões (Guarniero e Barros Junior, 1990; Paley, 1990).

Existe uma grande quantidade de publicações sobre a distração osteogénica na ortopedia, principalmente nos anos imediatamente posteriores às primeiras publicações de Ilizarov. Depois de Wagner e Wassertein, surgiu uma escola de pensamento diferente que, tal como Ilizarov, defendia a ideia de que o organismo possuía um enorme potencial de regeneração (Stanitski et al, 1996).

Frankel (1988) resumiu os procedimentos de Ilizarov, referindo as indicações e vantagens da técnica, ilustrando com três casos clínicos. Enfatizou a resposta dos tecidos moles ao alongamento ósseo e referiu que os primeiros 10% de alongamento ósseo apenas estiram os tecidos moles e só depois ocorre a histogénese. Reportou o aumento do suporte sanguíneo em 160% a 330% durante a distração como sendo a alteração metabólica mais importante.

Em 1989, Aronson e colaboradores realizaram um estudo onde comparavam o comportamento de dois fixadores externos na distração de tíbias de cães. O trabalho foi relevante no estudo dos fixadores, mas os resultados mais interessantes, para o processo de distração, foram obtidos a partir dos estudos histológicos e radiográficos, que permitiram concluir que o processo de osteogénese ocorria principalmente pela via intramembranosa, divergindo parcialmente das conclusões de Ilizarov cujos resultados demonstraram uma ossificação mista (Aronson et al, 1988; 1989a; 1989b).

Paley (1990) realizou estudos clínicos com pacientes que apresentavam pseudo-artrose ou não-união óssea da tíbia. Verificou que quando submetidos à distração, o fluxo sanguíneo aumentava para o dobro e os testes com o radioisótopo Tecnécio (Tc) demonstraram um aumento da captação de 11,8 vezes, indicando um provável efeito

osteogénico nas não-uniões atroficas dos pacientes. Juntamente com os seus colaboradores utilizou os princípios de Ilizarov em mais de 1300 pacientes com condições ortopédicas de vária ordem, mas destacaram um grupo de 25 pacientes com pseudo-artrose da tibia com defeito superior a um centímetro, cuja particularidade da patologia era de difícil tratamento. Através da distração osteogénica eles conseguiram a união óssea na totalidade desses pacientes. Concluíram que desde que haja a possibilidade para regenerar novo osso, é possível uma recessão e desbridamento mais agressivo do osso necrosado e infectado sem a preocupação de reconstruir o defeito criado.

A utilização da técnica de distração para corrigir deformidades congénitas foi, pela primeira vez, realizada por Seitz para aumentar a extremidade anterior do úmero, seguindo o protocolo de Ilizarov. Tal como fizera Aronson, utilizou um fixador não circular com apenas um arame ancorado em pequenos parafusos, tornando-o mais fácil de utilizar principalmente em ortopedia pediátrica (Seitz, 1989).

Delloye e colaboradores (1990) realizaram um estudo sobre o alongamento das extremidades anteriores de 13 cães. Nos vinte alongamentos realizados, 11 foram com corticotomias e 9 com osteotomias completas, rompendo com uma das regras de Ilizarov sobre a preservação da vascularização medular, mas mantendo as restantes no que concerne à fixação rígida, taxa e frequência da distração e período de latência. Os resultados histológicos e radiográficos demonstraram que os processos de reparação dos espaços criados pela distração eram semelhantes aos que ocorrem na cicatrização de uma fratura. Apesar de terem detetado algumas áreas de cartilagem, nos primeiros dois meses de consolidação, que atribuíram à provável instabilidade de alguns segmentos, verificaram que a ossificação era essencialmente intramembranosa. O resultado mais surpreendente deste estudo prende-se com o facto de não ter havido diferenças no processo de cicatrização, durante e depois da distração, entre a corticotomia e a osteotomia. Os investigadores sugerem que a medula óssea foi revascularizada pelo fluxo sanguíneo centrípeto, proveniente do perióstio e, em menor escala, pela reorganização das artérias medulares (Delloye et al, 1990). Este estudo conclui, contradizendo Ilizarov, que a preservação da artéria medular intacta no início da distração não é um requisito essencial para se obter a adequada neoformação óssea.

Também recorrendo a estudos experimentais, Alonso e Regazzoni (1991) concluíram que o osso formado após a osteotomia não é de tão boa qualidade como o formado após a corticotomia. As mesmas conclusões tiraram Brutscher e mais tarde Frierson e colaboradores num estudo realizado em tibias de 15 cães adultos (Brutscher et al, 1993; Frierson et al, 1994). Nos estudos de Frierson, os animais foram separados segundo o tipo de secção óssea em três grupos: o grupo I com corticotomia feita pelo método de Ilizarov; o grupo II com corticotomia modificada e; o grupo III com osteotomia. Exceptuando o tipo de secção óssea, os três grupos seguiram o mesmo protocolo: 7 dias de período de latência, com alongamento de 1 mm por dia, dividido em quatro ativações, durante 26 dias. Os autores verificaram através do estudo radiográfico, histológico e de densitometria, que o aparecimento do calo ósseo ocorreu duas a três semanas mais cedo nos grupos I e II do que no grupo III. Alguns animais do grupo III apresentavam, às dez semanas, zonas radiotransparentes que indicavam a presença de pseudo-artrose ou não-união óssea. Pela histologia, verificaram também a evidente ossificação intramembranosa nos grupos I e II e maior quantidade de zonas de fibrocartilagem no grupo III.

Calhoun e colaboradores realizaram mais tarde um estudo experimental em cães que veio demonstrar que os fixadores híbridos utilizados clinicamente por Aronson e Seitz, apresentavam rigidez e estabilidade suficientes para realizar adequadamente a distração (Calhoun et al, 1992).

Sidor (1992) publicou os seus estudos efetuados sobre o alongamento do úmero pela técnica de Ilizarov em 7 doentes. Verificou que o alongamento médio obtido foi de 9,8 cm e, entre outras considerações, concluiu que o método era bastante promissor para o tratamento de defeitos ósseos dos membros superiores. No entanto, verificou que a ativação no início da distração deveria ser mais agressiva, pois o rácio de 1 mm/dia pode conduzir a uniões prematuras, principalmente em doentes jovens.

Waanders e Herzemberg, num artigo publicado em 1992, discutiram pela primeira vez o efeito da rotação e angulação óssea durante a distração. Verificaram que, através de equações simples, é possível controlar de forma eficaz a rotação e angulação produzida simultaneamente com o fixador externo de Ilizarov (Waanders e Herzemberg, 1992; Waanders et al, 1998).

Schickendantz e colaboradores desenvolveram em 1992, um modelo para estudar a rigidez dos ossos alongados pela distração osteogénica (Schickendantz et al, 1992; Sferra et al, 1995). Executaram corticotomias em tíbias de um dos membros de 5 cães adultos e aplicaram a distração osteogénica durante 21 dias a um ritmo de 0,33 mm a cada 8 horas. Depois do controlo radiográfico demonstrar a consolidação óssea, os animais foram sacrificados e cada um dos ossos foi comparado com a tíbia do membro que não sofreu distração. Os autores concluíram que os ossos que exibiam a completa regeneração eram igualmente fortes, quando comparados com os respetivos controlos não intervencionados.

Schwartzman e Schwartzman (1992) publicaram um artigo de revisão sobre os diferentes métodos usados para realizar a corticotomia durante a distração osteogénica, discutindo vários aspetos técnicos e apontando as vantagens e desvantagens de cada. Concluíram que o melhor método é aquele que maior área de superfície óssea abrange assim, durante a corticotomia transversal, o desenho da incisão deve ser oblíquo e não perpendicular ao osso. No mesmo estudo verificaram que o processo de regeneração óssea era mais rápido no segmento próximo da epífise do que da diáfise e que o período ótimo de latência era de 7 a 10 dias, tal como propusera Ilizarov (1990).

Dahl fez um estudo retrospectivo sobre a incidência das complicações durante a distração osteogénica em 110 doentes. O autor concluiu que quanto maior era a experiência do cirurgião menor era o aparecimento das complicações (Dahl, 1994). Obteve uma incidência de 10%, tal como Grant e colaboradores (1992), mas mais elevada daquela obtida por Ilizarov (Ilizarov, 1988).

A partir da restante década de 90 do séc. XX, vários estudos foram realizados sobre a distração osteogénica, tentando compreender o método, melhorá-lo nas suas diferentes fases, estudar ultraestruturalmente o mecanismo de regeneração óssea e estudar as propriedades mecânicas do osso neoformado (Maffulli et al, 1992; Lee et al, 1993; Lepola et al, 1993; Aronson e Shen, 1994; Aronson e Harp, 1994; Aronson, 1994; Brunner et al, 1994; Catagni et al, 1994; Ladizesky et al, 1994; Richardson et al, 1994; Zimolo et al, 1995; Windhager, 1995; Murray et al, 1996; Kassis et al, 1996; Li et al, 1997; Moorcroft et al, 1997; Ueng et al, 1998; Li et al, 1999; Windhagen et al, 1999; Adolphson et al, 2000; Bundgaard e Christensen, 2000; Cordey et al, 2000; Li et al, 2002; Ogrodnik et al, 2001; Fenge t al, 2008; Ding et al, 2009; Lv et al, 2009; Salgado et al, 2009; Kreisner et al, 2010; Rolim et al, 2013; Sunay et al, 2013; Ando et al, 2014; Wang et al, 2014).

4. Distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial

4.1. Origem e evolução

A distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial surge e evolui a partir das técnicas originais de tração dento-facial, das técnicas de osteotomia crânio-facial e dos métodos de fixação esquelética (Yen, 1997; Cope et al, 1999; Cope e Samchukov, 2000; Cohen et al, 2002; Hönig et al, 2002; Dzhorov e Dzhorova, 2003; Guimarães-ferreira, 2004; Tóth et al, 2006; Clayman et al, 2007; Wahl et al, 2007; Vissink e Baat, 2008; Ylikontiola et al, 2012; Saman et al, 2013). Mais tarde, as modificações e avanços dessas técnicas, em conjunto com as numerosas experiências realizadas nos ossos longos, levaram ao aparecimento da distração osteogénica moderna aplicada à região maxilo-facial (Samchukov et al, 1998).

Fauchard, em 1728, descreve pela primeira vez a aplicação de forças de tração e compressão com fins terapêuticos sobre o esqueleto crânio-facial, quando desenvolve o primeiro expansor palatino composto por uma placa metálica presa aos dentes superiores e exercendo força sobre o maxilar superior (Fauchard P, 1746; Steiner, 1933; Weinberger, 1916; 1950).

Durante os séculos VIII e XIX vários clínicos tentaram utilizar as forças de expansão sobre o palato, mas sempre com o objetivo de mover exclusivamente os dentes, como Wescott em 1859, Angell em 1860 e Goddard em 1893 (karp et al, 1990). Outros foram um pouco mais além, tentando corrigir deformidades esqueléticas, como Kingsley que, em 1866, desenvolveu um aparelho extra-oral para corrigir a pró-alveolia maxilar e Potpeschenigg que desenvolveu a primeira máscara facial com mentoneira para corrigir a prognatia mandibular (Weinberger, 1916; Cope et al, 1999; Maull, 1999; Samchukov et al, 2001) .

Em 1927, Rosenthal fez a primeira distração óssea mandibular com a ajuda de um aparelho fixo aos dentes antero-inferiores, através de arames, que depois de uma osteotomia era ativado durante 30 dias (Sykes, 2009).

Outras tentativas mais ou menos conseguidas foram sendo realizadas por vários cirurgiões até meados dos anos 50 do século XX (Kazanjan, 1941; Crawford, 1948; Trauner, 1957; Liou, 1998; Satoh et al, 2014), sem que, no entanto, a técnica tivesse ganho grande popularidade e fosse vista como uma verdadeira alternativa à osteotomia sagital da mandíbula. Tal como sucedeu na ortopedia, a falta de popularidade imediata da técnica, deveu-se ao aparecimento de vários casos de insucesso e problemas relacionados com a falta de controlo sobre a manipulação dos segmentos ósseos e com a utilização de dispositivos inadequados.

A primeira cirurgia ortognática para corrigir deformidades crânio-faciais, foi realizada por Hullihen, em 1849, na região anterior do maxilar inferior para corrigir uma deformidade dento-esquelética de classe III (Hullihen, 1849; Cope et al, 1999).

A cirurgia ortognática para avanço mandibular foi pela primeira vez reportada no início do século XX por Blair e consistiu numa osteotomia bilateral do ramo ascendente (Blair, 1907; Morrill et al, 1974; Cope et al, 1999).

Ainda na primeira metade do século XX, vários tipos de cirurgia foram realizadas para aumentar e avançar a mandíbula nas deformidades dento-esqueléticas de classe II (Badbock, 1909; Pickerill, 1912; Limberg, 1928; Converse, 1952; Hawkinson, 1968).

Por serem osteotomias com alguma complexidade na técnica e realizadas sem recorrer à fixação óssea, apresentavam grande instabilidade e elevada incidência de recidiva, pelo que estavam limitadas a movimentos de pouca amplitude.

A aplicação de fixação esquelética no esqueleto crânio-facial, foi pela primeira vez efetuada por Haynes, que utilizou uma barra fixa presa por vários parafusos bilaterais para reduzir uma fratura mandibular num paciente (Haynes, 1939; Gateño et al, 2000). Mais tarde, em 1943, Stader desenvolveu o primeiro fixador com possibilidade de angulação dos fragmentos mandibulares a partir de um fixador originalmente criado por Converse e Mowlen (Mowlem, 1941; Converse e Waknitz, 1942; Waldron et al, 1943). As vantagens inerentes à fixação levaram à sua utilização em praticamente todas as intervenções de cirurgia ortognática na mandíbula (Rachmiel et al, 1995; Longaker e Siebert, 1996; Samchukov et al, 2001).

O primeiro trabalho experimental sobre a aplicação dos princípios de Ilizarov na distração osteogénica da mandíbula foi realizado por Snyder e colaboradores (1973). Os autores fizeram uma recessão unilateral de 15 milímetros da mandíbula de um cão, que incluiu mucosa e dentes, estabilizada por uma barra metálica presa aos dentes. Dez semanas mais tarde, após a cicatrização, fizeram uma nova osteotomia na mandíbula encurtada e colocaram um distrator extra-oral. Após 7 dias de latência, o dispositivo foi ativado com uma velocidade de 1 mm/dia. A frequência da distração não foi mencionada, mas o alongamento foi feito durante 14 dias até ao restabelecimento da oclusão e correção do defeito de 15 milímetros. A organização cortical e medular da zona de distração deu-se após 6 semanas de consolidação. Os autores não reportaram quaisquer complicações e garantiram, clínica e radiograficamente, a robustez da mandíbula intervencionada.

Utilizando o mesmo protocolo de distração proposto por Snyder, uns anos mais tarde, Michiel e Miotti (1977) demonstraram a viabilidade do alongamento mandibular, após osteotomia bilateral do corpo da mandíbula de dois cães e colocação de um distrator preso aos dentes mandibulares. Não há referência ao período de latência. A distração foi feita com a ativação única de 0,5 mm/dia. Num dos animais, a distração foi feita durante 10 dias e no outro durante 30 dias. Foi assim conseguido um aumento de 5 mm e 15 mm respetivamente. Terminada a fase de ativação, estabeleceram um período de consolidação de 40 dias, após o qual os animais foram sacrificados e as suas mandíbulas removidas para estudo clínico e histológico, que revelou o osso neoformado disposto de forma paralela ao vetor de distração.

O primeiro grande estudo experimental sobre a distração osteogénica mandibular foi realizado em 1982 por Panikarovski e colaboradores (1982). Os autores avaliaram histologicamente a dinâmica da formação de novo osso em 41 cães adultos e observaram uma área fibrosa na região central do espaço da distração com fibras de colagénio e capilares orientados de forma paralela à direção da distração. O trabéculado do novo osso tinha uma orientação longitudinal, que partia dos segmentos mandibulares seccionados e acompanhava o interstício fibroso. Os resultados deste estudo demonstraram que o mecanismo de formação óssea era bastante similar ao que ocorria no alongamento dos ossos longos (Silant'eva et al, 2012).

Karp e colaboradores (1990; 1992) foram os primeiros a conduzir um estudo de alongamento mandibular utilizando a corticotomia em vez da osteotomia. Utilizaram seis cães com 5 meses de idade nos quais realizaram

uma corticotomia, após colocação de um distrator extra-oral no corpo da mandíbula de cada animal. Após um período de latência de 10 dias, iniciaram o alongamento à razão de 1 mm/dia, durante 20 dias. A frequência não foi mencionada e o período de consolidação foi de 8 semanas. A avaliação foi feita através de radiografias obtidas a cada 10 dias, desde o início da corticotomia até ao sacrifício dos animais, através de modelos de gesso, de cortes histológicos, das medidas antropométricas e por microrradiografia. Clínica e radiograficamente verificaram que o novo osso apresentava uma aparência normal e semelhante aos segmentos mandibulares. As medidas lineares efetuadas demonstraram o aumento desejado do comprimento e também um significativo aumento da altura e espessura óssea do novo osso que se estendia para além da zona da distração. Os autores justificaram esta ocorrência com a grande remodelação óssea produzida pela distração, que acabava por não se limitar apenas ao espaço criado. A avaliação histológica demonstrou uma grande formação óssea com o mesmo padrão histológico descrito para os ossos longos (Ilizarov, 1989a; Aronson, 1989; 1990). Os autores identificaram, no espaço da distração, 4 zonas distintas: (1) uma zona central fibrosa; (2) uma zona de formação de novo osso; (3) uma zona de remodelação óssea; (4) uma zona de osso maduro.

Estes estudos iniciais providenciaram as bases científicas para a aplicação clínica da osteogénese por distração ao esqueleto crânio-facial. A partir da publicação destes estudos, vários grupos de investigadores tentaram clarificar os processos biológicos que ocorrem durante o fenómeno da distração, bem como os fatores que o influenciavam.

Em 1989, McCarthy e colaboradores (1990) foram os primeiros a aplicar clinicamente a técnica de distração osteogénica no esqueleto crânio-facial. Aplicaram um distrator extra-oral em quatro crianças com anomalias mandibulares congénitas, como a Microsomia Hemifacial e a Síndrome de Nager. A técnica utilizava um distrator ósseo extra-oral fixado por parafusos e a cirurgia consistia numa osteotomia mandibular completa na região do ângulo mandibular. O protocolo incluía um período de latência de 7 dias, com alongamento de 1 mm/dia, dividido em duas ativações diárias de 0,5 mm, durante 18 a 24 dias, a que se seguiu um período de consolidação de 8 a 10 semanas com os fixadores extra-orais. Os resultados foram brilhantes e serviram de catalisador para estudos clínicos e experimentais efetuados por McCarthy em anos posteriores (McCarthy et al, 1992; 1994; 1995; 1998; 1999; 2001; 2002; 2003).

Um ano mais tarde, em 1990, Guerrero aplicou pela primeira vez um distrator intra-oral para a correção de deformidades mandibulares. O dispositivo consistia num aparelho do tipo Hyrax modificado, cimentado aos primeiros pré-molares e molares inferiores, com o qual realizou a abertura da sutura sinfisária, após osteotomia, alongando transversalmente a mandíbula de 11 pacientes com deficiência transversal mandibular (Guerrero et al, 1990; 1995; 1997; 1999; Lopez et al, 2011; Karun et al, 2013).

A partir dos trabalhos de McCarthy e Guerrero, que demonstraram as potencialidades da distração osteogénica no alongamento e alargamento da mandíbula humana, foi enorme o interesse dos cirurgiões maxilo-faciais e ortodontistas na procura das potencialidades da distração crânio-mandibular no tratamento das deformidades dento-faciais (Habal, 1994; Havlik e Bartlett, 1994; Moore et al, 1994; Weil et al, 1997; Block et al, 1995; Yen, 1997; Yen et al, 2001; Jacobsen et al, 2009; Singh et al, 2009; Genecov et al, 2009; Bouchard et al, 2009; Gürsoy et al, 2009; Sadiq et al, 2010; Choi et al, 2010; Figueroa et al, 2010; Broome et al, 2010; Meling et al, 2011; Marañés et al, 2011; Kuroda et al, 2011; Aizenbud et al, 2011; Kolstad et al, 2011; Rachmiel et al, 2012; Lim et al, 2012; Al-Mahdi et al, 2013; Hong e Bezuhly, 2013; Choi et al, 2014; Yamaguchi et al, 2014).

Molina e Ortiz-Monasterio (1995) foram os primeiros a usar dispositivos bidirecionais na distração osteogénica mandibular, na tentativa de produzir movimentos mais complexos, produzindo melhores resultados no tratamento. Para tal, criaram duas zonas de distração que permitissem realizar o alongamento em simultâneo: uma horizontal - situada no ramo ascendente e outra vertical - a nível do corpo mandibular. Apesar deste avanço na técnica, verificou-se que, devido à anatomia da mandíbula, em forma de V com um ângulo agudo a separar o

ramo ascendente do corpo mandibular, era necessário desenvolver outros dispositivos que permitissem pequenos ajustes angulares para corrigir deformidades mandibulares severas de forma tridimensional, independentemente do alongamento do corpo e ramo ascendente. Esta condição, imposta pelas dificuldades na obtenção de um alongamento mandibular com uma boa relação inter-maxilar, levou a que muitos clínicos/investigadores desenvolvessem dispositivos multidirecionais que permitissem a manipulação dos segmentos ósseos em múltiplos planos do espaço (Klein e Howaldt, 1995 e 1996; Sawaki et al, 1996 e 1997; McCarthy et al, 1998; Williams et al, 1998; Shvyrkov et al, 1999; Labbé et al, 2005; Hibi e Ueda, 2006; Zhou et al, 2008; Zhang et al, 2009).

Apesar das vantagens biomecânicas dos distratores extra-orais, problemas como a instabilidade dos parafusos de fixação, elevado risco de lesão de estruturas nervosas, marcas cicatriciais, risco de infeção dos tecidos moles e impacto estético e psico-social provocado pelo dispositivo que levava à frequente não aceitação por parte dos pacientes, foram desenvolvidos os dispositivos internos ou intra-orais (Wangerin et al, 1997; Braumann et al, 1997; Guerrero et al, 1999; Carls et al, 1998; Chung et al, 2010; Andrade et al, 2011).

O desenvolvimento inicial dos distratores intra-orais mandibulares não foi mais do que miniaturização dos dispositivos externos já existentes e/ou adaptações de dispositivos ortodônticos de disjunção maxilar como o Hyrax (McCarthy et al, 1995; Bell e Guerrero, 2007).

Os dispositivos intra-orais contribuíram de forma significativa para a maior difusão da técnica de distração osteogénica, principalmente na resolução das deformidades mandibulares menores, que pelas desvantagens apresentadas nos dispositivos externos, essencialmente nos aspetos psicossocial e no aparecimento de cicatrizes no tecido cutâneo, faziam com que o cirurgião, ortodontista e paciente optassem pelas técnicas cirúrgicas clássicas como a Osteotomia Sagital Bilateral.

Atualmente a investigação está direcionada para o melhoramento da funcionalidade dos dispositivos intra-orais, principalmente nos seguintes aspetos:

- Desenho e arquitectura para os tornar mais reduzidos e fáceis de colocar em diferentes localizações da mandíbula (corpo, ramo e dentes).
- Desenvolvimento de distratores universais adaptáveis a qualquer localização do esqueleto crânio-facial.
- Desenvolvimento de tecnologia para ser incorporada nos dispositivos, tornando-os mais robotizados e menos mecânicos (Diner et al, 1997 ; Basa et al. 2000; Ploder, 2002; Rubio-Bueno et al, 2002; Wang et al, 2002; Herford, 2004; Ayoub et al, 2005; Labbé et al, 2005; Rubio-Bueno et al, 2005; Hibi, 2006; Li et al, 2006; Spagnoli e Gollehon, 2006; Gonzalez-Garcia et al, 2008; Muraki et al, 2008; Spagnoli, 2008; Zhou et al, 2008; Zhang et al, 2009).

Chung e colaboradores (2010) apresentaram uma proposta para usar um motor eléctrico num dispositivo de distração para produzir um alongamento progressivo e contínuo e, desta forma, reduzir as tensões envolvidas e aumentar a atividade osteogénica.

Em 2013, Vale, Amaral, Caramelo e Veiga, investigadores da Universidade de Coimbra desenvolveram e patentearam um distrator intra-oral, mandibular, dento-ancorado, autónomo e programável (patente nº 20121000038753) com o nome de PATD (Programmable and Autonomous Tissue Distractor Device) (SANTIAGO et al, 2013).

O PATD é um dispositivo intra-oral que é ancorado preferencialmente no 1º molar e no 1º pré-molar inferiores, com o objetivo de realizar a distração osteogénica da mandíbula paralelamente ao plano oclusal de um modo automático e autónomo. O PATD é formado pelas hastes de ancoragem e corpo de distração, que inclui o encapsulamento, os motores, a eletrónica de controlo que permite a distração progressiva e automática, a eletrónica de comunicação que permite uma programação personalizável do dispositivo e a fonte de alimentação para o funcionamento do dispositivo.

Uma das hastes de ancoragem é fixa enquanto a outra é ajustável e movimentada pelos motores, de forma a garantir dois graus de liberdade para permitir que a distração seja efetuada no plano oclusal, mas podendo ser multidirecional à medida que o ajuste mandibular o exigir.

O PATD, além de permitir a distração contínua e progressiva através da motorização do dispositivo, permite uma boa ancoragem, favorecendo a estabilidade e a sua ativação pode ser realizada em ambulatório.

É um dispositivo programável por comunicação sem fios, logo personalizável caso-a-caso, e que pode ser facilmente ajustado no decorrer da distração. Esta capacidade de ajuste caso-a-caso pode, posteriormente, ser documentada numa base de dados, usando-se essa informação para se conseguir elaborar um protocolo de distração mais eficiente. O tempo de latência, a taxa e frequência de distração continuam indefinidas, podendo um registo electrónico de todas as distrações efetuadas com o PATD ajudar a fixar esses valores com base no grau de sucesso dos casos registados.

Este novo dispositivo difere completamente de todos os utilizados atualmente na prática clínica. Os dispositivos mais utilizados são puramente mecânicos e desprovidos de todas as vantagens que só a eletrónica fornece, como a automação e monitorização do procedimento. A maioria desses dispositivos faz a sua ancoragem diretamente no osso da mandíbula, contrariamente ao PATD que é dento-ancorado, permitindo que o procedimento cirúrgico seja muito menos invasivo, sem sequelas cicatriciais, e que a colocação seja mais prática e menos traumática para o doente, evitando uma segunda intervenção cirúrgica para a remoção do distrator (Vale et al, 2013; Amaral, Vale et al, 2014).

4.2. Interesse e indicações

O interesse e utilização da osteogénese por distração na ortodontia e cirurgia maxilo-facial cresceu de forma significativa nos últimos anos devido à enorme potencialidade desta técnica no tratamento das deformidades dento-faciais. O seu aparecimento tardio, em relação à ortopedia, pode ser explicado, em grande parte, devido às características anatómicas da região crânio-facial que dificultam a aplicação dos dispositivos de distração. Com efeito, a morfologia dos ossos do maciço facial é mais complexa, as cicatrizes são menos toleráveis do que noutras partes do corpo e as técnicas clássicas da cirurgia maxilo-facial, ainda que pouco precisas, permitiam a resolução de grande parte das deformações severas da face.

Atualmente a estética facial tornou-se num dos principais objetivos do tratamento ortodôntico e ortognático, juntamente com a oclusão normal e estabilidade do tratamento. Assim, conscientes dessa realidade e sabendo que mudanças, ainda que ligeiras, do esqueleto crânio-facial podem provocar alterações significativas e irreversíveis na estrutura facial, ortodontistas e cirurgiões maxilo-faciais têm procurado incorporar técnicas de distração, que permitem aumentar a qualidade e previsibilidade do tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático com menores riscos e sequelas para os seus pacientes.

O sucesso da técnica na reabilitação morfo-funcional dos ossos da face, a excelente relação risco-benefício, a melhoria das condições sócio-económicas das sociedades ocidentais, o acesso fácil à informação e o desenvolvimento tecnológico e científico, são alguns dos fatores que permitiram que a distração osteogénica deixasse de estar reservada exclusivamente para a traumatologia e tratamento de síndromes crânio-faciais e permitisse a sua rápida extensão ao tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático de situações clínicas menos severas, mas mais prevalentes.

Segundo Joseph Murray (2004), prémio Nobel de medicina em 1990, o desenvolvimento da cirurgia moderna pode ser dividido em quatro grandes épocas, que correspondem ao ressurgimento sucessivo da

recessão (remoção dos tecidos danificados), da reconstrução (uso de retalhos), da transplantação (substituição de uma peça anatómica) e, por fim, da regeneração (reparação induzida). Assim, a introdução da distração osteogénica na área dento-facial de forma generalizada nos últimos anos representa um avanço notável a incluir no último período descrito por Murray.

A natureza regenerativa da distração osteogénica fundamenta a maioria dos seus interesses. O alongamento gradual e controlado que permite a regeneração e reparação tecidual não ocorre apenas no esqueleto ósseo, mas também se verifica nos tecidos moles associados, como músculos, tecido celular subcutâneo e pele. Esta característica é de excepcional importância no tratamento das deformidades dento-esqueléticas que exigem avanço mandibular e determinante na escolha desta técnica, em detrimento das técnicas clássicas de cirurgia ortognática, reduzindo também de forma drástica a possibilidade de recidiva causada pelas fortes tensões dos tecidos moles circundantes (Labbé et al, 2005; Van Sickels, 2007; Cope et al, 1999; McCarthy, 1999; Tessier et al, 1999).

Também em relação às técnicas clássicas de cirurgia ortognática, que na sua maioria são realizadas já na idade adulta do paciente, após o termo de crescimento, a distração osteogénica permite iniciar o tratamento das deformidades dento-esqueléticas em praticamente todas as idades, beneficiando quer das forças funcionais existentes no interior do complexo crânio-facial quer da possibilidade de realização simultânea do tratamento ortodôntico.

Uma outra vantagem da técnica é reduzir o número, complexidade e tempo de internamento das intervenções cirúrgicas a realizar, melhorando a relação custo-benefício tão desejada pelos pacientes, clínicos e unidades hospitalares.

As indicações para a aplicação da distração osteogénica crânio-facial em crianças e adultos, incluem falhas do desenvolvimento dento-esquelético e defeitos crânio-faciais de origem congénita, pós-traumática ou após recessão de tumores (Dean e Alamillos, 1999; Cope et al, 1999; McCarthy, 1999; Swennen et al, 2001; Bell e Gerrero, 2006; Chopra et al, 2007; Van Sickels, 2007).

Swennen e colaboradores (2001), conduziram uma revisão sistemática que envolveu 828 pacientes submetidos a distração osteogénica e verificaram que desses: 579 pacientes foram submetidos a distração osteogénica por apresentarem patologias associadas ao maxilar inferior; 129 apresentavam patologia associada ao maxilar superior; 24 realizaram distração simultânea do maxilar superior e inferior; 96 foram submetidos a distração osteogénica do andar médio da face e/ou do crânio.

Num estudo retrospectivo realizado na Universidade de Aarhus, Noruega, entre 1998 e 2009, Norholt e colaboradores (2010), verificaram que os 131 pacientes submetidos a distração osteogénica para alongamento mandibular apresentavam a seguinte distribuição no diagnóstico:

- a) 30% Artrite juvenil idiopática;
- b) 23% Sequela traumática;
- c) 16% Hipoplasia mandibular idiopática;
- d) 13% Microsomia hemifacial;
- e) 4% Sequela de infeção;
- f) 7% Artrose da articulação temporomandibular (ATM);
- g) 7% Outros (fenda lábio-palatina; Síndrome de Treacher-Collins).

Ao nível de Sociedades/Organizações Científicas, a primeira a pronunciar-se oficialmente sobre as indicações e interesse da distração osteogénica aplicada às estruturas crânio-faciais foi a Associação Americana

de Cirurgias Orais e Maxilo-faciais (AAOMS) em julho de 2003. Na pronúncia sobre a técnica, foi referido que esta deveria ser utilizada nas situações onde poderia ser mais efetiva e eficiente do que as restantes modalidades de tratamento, dando os seguintes exemplos:

- i. Quando se verificar uma deficiência severa dos maxilares e o tratamento precoce esteja indicado. Por exemplo, uma criança com síndrome de Pierre Robin cuja gravidade implica a traqueostomia. Neste caso, o avanço mandibular por distração osteogénica é a única opção de tratamento viável.
- ii. Quando se verificar uma retrognatia mandibular severa que necessite um avanço superior a 10 mm. A acção da ortopedia dento-facial para modificar o crescimento raramente produz avanços mandibulares superiores a 5 mm e a cirurgia ortognática convencional para avanço mandibular superior a 8-10 mm torna-se menos previsível e com elevada probabilidade de recidiva.
- iii. Quando se pretende aumentar o ramo ascendente da mandíbula.
- iv. Quando se verifica uma micrognatia transversal da mandíbula.

De acordo com a AAOMS, a distração osteogénica apresenta melhores resultados no alongamento transversal da mandíbula do que a cirurgia ortognática convencional.

Ow e Cheung (2008; 2009) realizaram uma meta-análise sobre a aplicação da distração osteogénica mandibular no tratamento da Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SOSA) e no tratamento de classes II por hipoplasia mandibular não sindrómica. Nos 178 artigos analisados, encontraram referências a 1185 pacientes submetidos a distração osteogénica para alongamento mandibular: 539 submetidos a distração unilateral e 646 submetidos a distração osteogénica bilateral. Concluíram que em 50,1% dos casos a distração osteogénica foi eficaz no tratamento da assimetria facial e retrognatia mandibular; em 91,3% dos casos evitou a realização de traqueostomias em recém-nascidos e crianças com alterações respiratórias graves e; em 97% das crianças e 100% dos adultos melhorou os sintomas de OSA.

Para uma melhor sistematização, podemos agrupar topograficamente as principais indicações da distração osteogénica:

- a) Andar inferior da face - distração osteogénica mandibular.
 - a.1. Microsomia Hemifacial - A distração unilateral do ramo ascendente, ângulo mandibular ou parte posterior do corpo mandibular para o tratamento da microsomia hemifacial representa cerca de 35% da utilização da técnica de distração osteogénica (Swennen et al, 2001; Diner et al, 1996 e 1997; Huang et al, 1999; Polley e Figueroa 1997; Franco et al, 2010).
 - a.2. Defeitos segmentares do corpo mandibular por trauma ou entidade tumoral.
 - a.3. Síndrome de Classe II por insuficiência mandibular de posição (retrognatia) ou dimensão (braquignatia).
 - a.4. Micrognatia adquirida por trauma e anquilose da articulação temporomandibular.

Distração transversal da mandíbula, pela sutura média sinfisária, para corrigir discrepâncias transversais mandibulares.
 - a.5. Distração vertical alveolar para correção do plano oclusal e deficiências de posição e dimensão das cristas alveolares com o objetivo de reabilitação com implantes dentários.
 - a.6. Alongamento mandibular na SOSA (Cohen et al, 1995; Mommaerts et al, 1998; Brevi et al, 2011).
 - a.7. Microsomia crânio-facial (Codivilla, 1905; Chin et al, 1996; Cohen et al, 1995; Roth et al, 1997).

- a.8. Síndrome de Treacher-Collins (Moore et al, 1994; Kocabalkan et al, 1995; McCormick et al, 1995; Molina e Ortiz-Monasterio, 1995; Pensler et al, 1995; Diner et al, 1997; Carls et al, 1998;).
- a.9. Micrognatias congénitas (Havlik e Bartlett, 1994; Rachmiel et al, 1995; Hollier et al, 1999 e 2006; Juenger et al, 1999).
- a.10. Síndrome de Nager (Williams et al, 1999; Steinbacher et al, 2005; Gursoy et al, 2008).
- a.11. Síndrome de Pierre Robin (Fritz e Sidman, 2004; Genecov et al, 2009; Iatrou et al, 2010;).
- a.12. Síndrome de Goldenhar (Stucki-McCormick et al, 1999; Lima et al, 2007).
- a.13. Defeitos estruturais por reabsorção condilar (Stucki-McCormick et al, 1999).

- b) Andar médio da face e distração crânio-facial.
 - b.1. Fendas oro-faciais.
 - b.1.1. Fenda lábio-palatina unilateral e bilateral (Molina et al, 1998; Ahn et al, 1999; Ko et al, 2004).
 - b.1.2. Fendas indefinidas (Polley e Figueroa, 1995 e 1997; Molina, 2004; Gasparini et al, 2012).
 - b.1.3. Fenda palatina unilateral (Ko et al, 1999; Figueroa et al, 1999; Ko et al, 2012).
 - b.2. Defeitos alveolares (Liao et al, 2009; Behnia et al, 2013; Mitsukawa et al, 2013).
 - b.3. Displasia naso-maxilar (Molina et al, 1998; Versnel et al, 2009).
 - b.4. Retrognatismo maxilar nas síndromes de classe III esqueléticas (Molina et al, 1998; Bertelè et al, 2005; Meazzini et al, 2005; George et al, 2007; Kuroda et al, 2011; Nolte et al, 2012; Papadaki et al, 2012; Doucet et al, 2013; Gao et al, 2014).
 - b.5. Avanço maxilar nas crânio-sinostoses (Ko et al, 1999).
 - b.6. Síndrome oral-acral (Dogliotti et al, 1998).
 - b.7. Distração zigomática (Cho et al, 2001; McCarthy e Hoppe, 2002; Eley et al, 2009; Ugurlu et al, 2012; Capote-Moreno et al, 2013).
 - b.8. Crânio-sinostoses (Chin et al, 1997; Watanabe et al, 2012).
 - b.8.1. Síndrome de Crouzon (Kuroda et al, 2011; Lee et al, 2012; Reitsma et al, 2013).
 - b.8.2. Síndrome de Apert (Cai et al, 2010; Reitsma et al, 2013).
 - b.8.3. Síndrome de Pfeiffer (Taylor et al, 2012).
 - b.8.4. Sinostose uni ou bi-coronal (Morota et al, 2012; Rieger et al, 2014).
 - b.8.5. Sinostose sagital (Goldstein et al, 2013).
 - b.8.6. Síndrome Carpenter (Medra et al, 2012).

5. Princípio da distração osteogénica

Pelo exposto anteriormente, pode-se definir a distração osteogénica como uma técnica cirúrgica que permite o alongamento ósseo através de um processo biológico de formação de novo osso entre duas superfícies ósseas vascularizadas, que foram seccionadas cirurgicamente e separadas gradualmente e de forma controlada por um dispositivo mecânico chamado distrator (doVale et al, 2013b; doVale et al, 2014).

A tensão mecânica provocada pela separação das superfícies ósseas, induz a formação de diversos tecidos para além de osso, como mucosa, pele, músculo, tendão, cartilagem, vasos sanguíneos e nervos periféricos (Cope et al, 1999; Ilizarov, 1989a, 1989b).

Dependendo da localização da aplicação da força de tração, a distração osteogénica pode ser classificada em dois tipos básicos:

- I. Calotaxis: método utilizado no esqueleto crânio-facial e que consiste na distensão gradual de um calo ósseo formado ao redor de uma linha de fratura ou osteotomia, mantendo a regeneração e atividade de crescimento dos tecidos adjacentes, duros e moles (Meyer et al, 1999 e 2001; Oliveira et al, 2006).
- II. Distração fiseal: que consiste na separação da epífise da diáfise de um osso longo, através das técnicas de epifisiólise e condrodiatasis.

A epifisiólise provoca a disrupção da cartilagem de crescimento e, habitualmente, uma distração, à velocidade de 1,5 a 3 mm por dia, induz a fratura da cartilagem através da zona hipertrófica criada ao fim de 3 a 9 dias de distração. Esta separação gradual das estruturas origina a formação de osso regenerado no espaço entre a epífise e a metáfise. A formação do novo osso tem origem simultaneamente por via endocondral e intramembranosa (Stallings et al, 1998; Welch et al, 1998). É uma técnica aplicada exclusivamente na ortopedia e que, apesar de simples e sem necessidade de osteotomia, origina frequentemente artrites sépticas e lesão das estruturas articulares (Monticelli et al, 1981; De Pablos e Cañadell, 1990; Maffulli, 1996; Cheng et al, 2002).

A condrodiatasis utiliza uma menor velocidade de alongamento, 0,5 mm a cada 12 horas, em períodos de atividade da cartilagem de crescimento, estimulando a atividade celular e assim aumentando a sua capacidade osteogénica. Desta forma, é obtido um maior crescimento longitudinal do osso sem produzir fratura. É também uma técnica utilizada exclusivamente na ortopedia.

A osteogénese por distração de um calo ósseo, envolve clinicamente, cinco períodos sequenciais com diferentes cronologias (Figura 1.4) (Gantous et al, 1994; Basa et al, 2000; Samcukov et al, 2001; Hayden et al, 2012):

- 1) Ato cirúrgico: consiste numa osteotomia sub-periosteia ou numa corticotomia com o objetivo de seccionar o osso e dividi-lo em segmentos. Habitualmente é feita uma fratura dita “em ramo verde”, com a ajuda de um osteótomo, na tentativa de preservar o periosteio e assim manter o devido fluxo sanguíneo, contribuindo para o sucesso do tratamento.
- 2) Período de latência: durante o qual se inicia o fenómeno de cicatrização óssea que permite a formação de novo osso no seio da zona osteotomizada, tal qual se tratasse de um processo natural de reparação de uma fratura. Esta região é chamada de calo ósseo.
- 3) Período de distração: durante o qual os segmentos ósseos são separados de forma gradual e progressiva através da aplicação de uma força de tensão, levando ao estiramento do calo ósseo. Esta operação mecânica é realizada com a ajuda de um aparelho e o espaço criado será preenchido por osso neoformado. Trata-se essencialmente de uma estimulação do tipo mecânico-biológico que induz a formação de novo tecido ósseo (Mullender et al, 2004; Klein-Nulend et al, 2005; Pedersen e Swartz, 2005). Durante este período, o ritmo e a velocidade do alongamento são aspetos relevantes a considerar, pois deles vai depender a quantidade e qualidade do osso neoformado (doVale et al, 2014).
- 4) Período de consolidação: que se inicia quando foi alcançado a quantidade de alongamento desejada e cessou a aplicação da força de tensão. Durante este período ocorre a mineralização e corticalização do osso então formado e o dispositivo permanece colocado sem ativação para manter a estabilidade dos fragmentos seccionados e do novo osso.
- 5) Período de remodelação: é o ultimo estágio de todo o processo e é aquele que inicia logo após a remoção do dispositivo. Neste período, o osso já está sujeito às cargas funcionais e apresenta o total restabelecimento das zonas medular e cortical com remodelação Haversiana (Murray et al, 1996; Ichimura e Hasegawa, 2009)

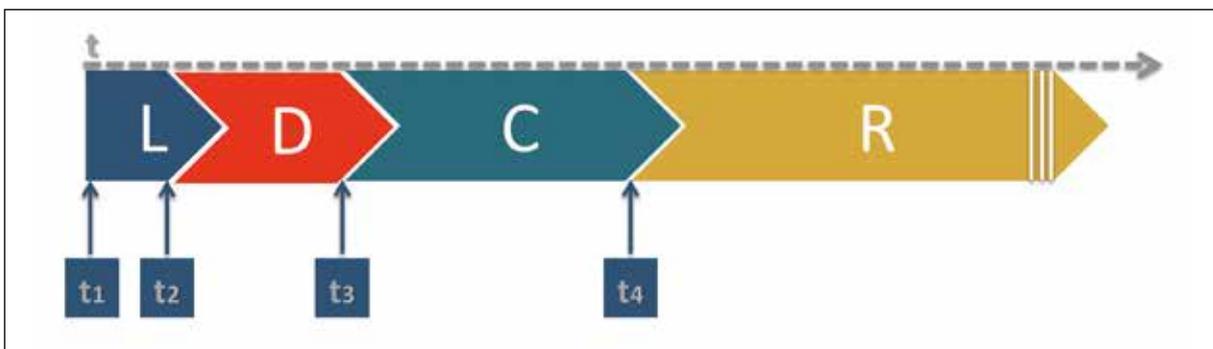


Figura 1.4 - Cronologia das diferentes fases da distração osteogénica.

t1 = Osteotomia e colocação do distrator.

L = Período de latência (0 a 7 dias).

t2 = Fim do período de latência e início da distração.

D = Período de distração (alguns dias).

t3 = Fim do período de distração e início do período de consolidação.

C = Período de consolidação (algumas semanas).

t4 = Fim do período de consolidação e remoção do distrator.

R = Período de remodelação (alguns meses).

Dependendo do número de segmentos ósseo a manipular, podemos distinguir vários tipos de distração (Figura 1.5) (Samchukov et al, 2001; Wang et al, 2002). A distração do tipo monofocal envolve a separação do osso em dois segmentos, através de um único sitio de osteotomia. É largamente utilizada para efetuar o alongamento dos membros inferiores em ortopedia e para corrigir deformidades crânio-faciais (Spagnoli et al, 2006), tais como nos casos de alongamento sagital e transversal da mandíbula (Guerrero et al, 1995), na expansão do sistema sutural circum-maxilar e craniano (Imola e Tatum, 2002), no avanço do terço médio da face (Chin e Toth, 1996; 1997) e no alongamento mandibular nas microsomias hemifaciais (McCarthy, 1992).

As distrações bi-, tri- e quadrifocal são utilizadas para corrigir defeitos ósseos de origem diversa, como defeitos após remoção de tumores ósseos, infecções crônicas, traumatismos graves e outros, através da movimentação de um (bifocal) (Costantino et al, 1990; Jonsson e Siemssen, 1998; Rubio-Bueno et al, 2002; 2005; Idelsohn et al, 2004; Hibi e Ueda, 2006; Gonzales-Garcia et al, 2008; Muraki et al, 2008), dois (trifocal) (Li et al, 2006; Zhang, 2009) ou três (quadrifocal) (Labbé, 2005) segmentos ósseos viáveis, chamados de “discos de transporte”, ao longo do defeito. Apesar da distração multifocal apresentar muitas vantagens em relação aos enxertos ósseos, é uma técnica complexa que apresenta várias dificuldades como sejam: a seleção do dispositivo a utilizar para cada situação clínica, que obriga na maioria dos casos a desenvolver dispositivos individualizados; a seleção do local mais apropriado para realizar a osteotomia e; a própria condição de saúde geral do paciente (Suhr e Kreusch, 2004).

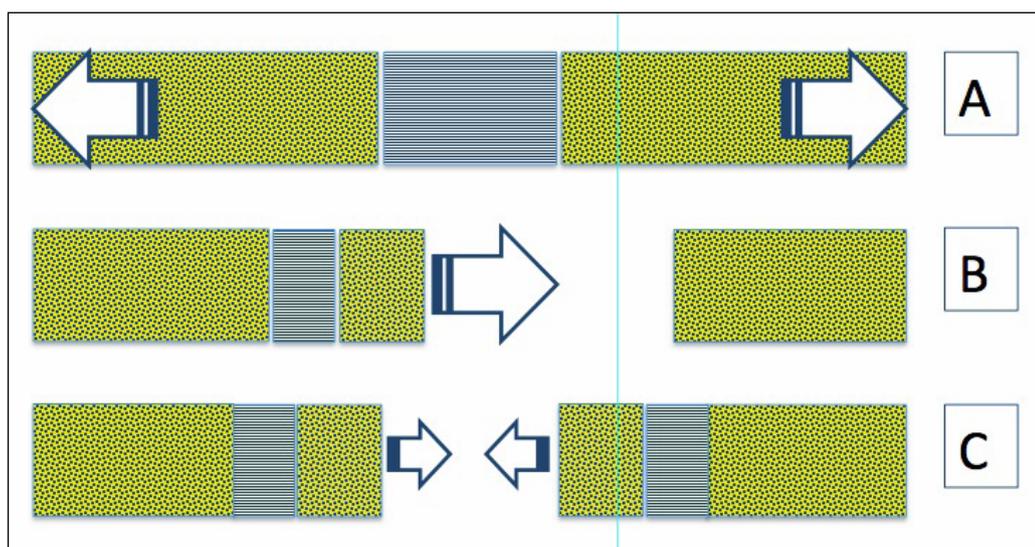


Figura 1.5 - Esquema dos diferentes tipos de distração.

- A = Monofocal. Alongamento unilateral ou bilateral.
- B = Bifocal. Transporte para preencher um defeito ósseo.
- C = Trifocal. Transporte bilateral para preencher um defeito ósseo.

6. Dispositivos de distração osteogénica.

O projeto para o desenvolvimento de um distrator crânio-facial considera sempre três partes distintas:

- a) O corpo do distrator, que fornece a rigidez mecânica, força e suporte para os restantes componentes;
- b) O mecanismo de ativação da distração, que transforma a energia em movimento para deslocar os dois segmentos ósseos;
- c) O componente de ativação que transfere a energia externa ao mecanismo de ativação.

Existe uma grande variedade de distratores, que podem ser classificados de acordo com os seguintes critérios (Figura 1.6):

a. Relação topográfica com os tecidos cutâneos:

Os distratores podem ser internos ou externos.

Os distratores internos, são colocados no interior da cavidade oral e por isso também são chamados de intra-orais.

Pela pouca disponibilidade de espaço intra-oral, têm de ser de reduzidas dimensões, o que pode comprometer a rigidez e estabilidade desejadas durante a distração. Também o difícil acesso à cavidade oral, limita a sua localização e conseqüentemente o seu campo de ação.

São utilizados geralmente para avanços mandibulares até 12 mm, no tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático no síndrome de classe II e nas microssomias hemifaciais.

As vantagens destes dispositivos prendem-se essencialmente com o conforto psico-social do paciente, pois não estão visíveis, com a ausência de sequelas cicatriciais, com o ato cirúrgico menos agressivo para a sua colocação e remoção e com o menor risco de infeção, pois estão protegidos pelo meio intra-oral (Chin e Toth, 1996; Ayoub et al, 2001; Rubio-Bueno et al, 2002; Wang et al, 2002; Herford, 2004; Idelsohn et al, 2004; Rubio-Bueno et al, 2005; Hibi, 2006; Zhou et al, 2006; Gonzalez-Garcia et al, 2008; Primrose, 2005; Muraki et al, 2008; Spagnoli, 2008; Zhou et al, 2008; Elsalanty et al, 2009; Zhang et al, 2009).

Os distratores externos ou extra-orais, são caracterizados pelo facto de todo o mecanismo se situar fora do organismo e por estarem ligados ao osso por hastes que atravessam os tecidos moles.

Foram os primeiros a serem desenvolvidos, uma vez que não mais se tratavam de adaptações dos distratores usados na ortopedia.

Atualmente são ainda utilizados em grandes reconstruções ósseas do maciço facial e síndromes crânio-faciais severos, pois permitem alongamentos superiores a 12 mm e transporte de osso de grandes dimensões.

As principais desvantagens estão associadas ao fator psico-social do paciente, pela visibilidade do dispositivo, a sequelas cicatríciais, ao maior risco de infecção, que pode comprometer a estabilidade e continuidade do tratamento, e ao maior risco de lesão dos órgãos dentários e estruturas nervosas. Outra desvantagem, está associada à resistência ao movimento dos tecidos moles, causando uma forte tensão sobre as hastes do distrator, comprometendo a estabilidade desejada (Costantino et al, 1990; Gantous et al, 1994; Costantino et al, 1995; Block et al, 1996; Klein, 1997; Sawaki et al, 1997; Jonsson e Siemssen, 1998; Shvyrkov et al, 1999; Hurmerinta e Hukki, 2001; Labbé et al, 2005; Li et al, 2006; Ortakoglu et al, 2007).

b. Tipo de ancoragem:

Dependendo do tipo de tecidos duros ao qual o corpo do dispositivo se fixa para conferir resistência ao movimento, podemos dividir os dispositivos em: distratores fixados ao osso (ósteo-ancorados); fixados aos dentes (dento-ancorados) e; fixados simultaneamente aos dentes e osso (híbridos).

Os distratores ósteo-ancorados podem ser fixados ao osso por parafusos corticais, trans-corticais e por mini-implantes, que devido à capacidade de osteointegração permitem maior estabilidade e resistência (Mommaerts, 1998).

Os distratores dento-ancorados são cimentados aos dentes e são exclusivamente intra-orais. Apesar de apresentarem significativas vantagens, como o pouco impacto psico-social no paciente, as reduzidas dimensões, ausência de risco de infecção, menos invasivo e sem necessidade de intervenção cirúrgica na colocação e remoção, menor morbidade e maior estabilidade na ancoragem, estão pouco estudados para serem utilizados nas deformidades dento-esqueléticas sagitais, estando praticamente confinados ao tratamento de insuficiências transversais dos maxilares (Michieli and Miotti, 1977; Guerrero et al, 1997; Dessner et al, 1999; Conley e Legan, 2003; Conley e Krug, 2006).

c. Vetor de distração

O vetor de distração está relacionado com a orientação da formação do novo osso. Assim, os distratores podem ser unidirecionais, bidirecionais e multidireccionais.

Os distratores unidirecionais proporcionam um alongamento em linha recta, na vertical ou horizontal. São os mais utilizados nas deformidades com envolvimento apenas do ramo ascendente mandibular ou do corpo mandibular, pois não permitem tratar tridimensionalmente deformidades mais severas que envolvam simultaneamente o ramo, o corpo e o ângulo da mandíbula (Costantino et al, 1990; Gantous et al, 1994; Block et al, 1996; Ayoub et al, 2001; Rubio-Bueno et al, 2002; Wang et al, 2002; Herford, 2004; Idelsohn et al, 2004; Rubio-Bueno et al, 2005; Sacco e Chepeha, 2007; Gonzalez-Garcia et al, 2008; Muraki et al, 2008; Spagnoli, 2008; Elsalanty et al, 2009; Bilbao-Alonso et al, 2013).

Os distratores bidirecionais possuem dois vectores de distração que são ativados independentemente. Tecnicamente não são mais do que dois distratores unidos, permitindo ao clínico maior liberdade no movimento desejado e a capacidade de realizar angulações ósseas, indispensáveis no tratamento de algumas deformidades. Alguns destes dispositivos permitem alterar o vetor durante o alongamento criando trajetórias bastante complexas (Seldin et al, 1999; Basa et al, 2000; Herford, 2004; Yeshwant et al, 2005).

Os distratores multidirecionais permitem realizar um movimento transversal (rotação ou translação) numa terceira direção, isto é, seguindo uma trajetória não confinada apenas a um plano.

São utilizados em reconstruções bastante complexas do esqueleto crânio-facial. A principal desvantagem destes dispositivos é a própria complexidade da manipulação, que faz com que o clínico esteja diariamente a alterar o protocolo. Assim a qualidade e forma do osso neoformado está muito dependente da experiência do clínico. Os pacientes tratados com estes dispositivos habitualmente ficam hospitalizados durante todo o processo ativo da distração (McCarthy et al, 1998; Williams et al, 1998; Shvyrkov et al, 1999). Dentro dos multidirecionais, existe um sub-tipo denominado de multidirecional curvo, que são distratores igualmente complexos e normalmente tri-focais. São utilizados para deslocar fragmentos ósseos de grandes dimensões mas com trajetórias simples e curvas, aumentando a estabilidade (Chieffi et al, 2001; Schendel, 2011; Shang et al, 2012).

d. Mecanismo de ativação:

Os distratores podem ser divididos quanto à forma como recebem a energia externa através do componente de ativação. Esta pode emergir na mucosa (transmucoso) ou na pele (transcutâneo) nos distratores internos (Rubio-Bueno et al, 2002; Spagnoli, 2008) ou estar unido ao corpo do distrator nos dispositivos externos (Jonsson e Siemssen, 1998; Shvyrkov et al, 1999).

Assim, os distratores podem ser manuais, cuja ativação é feita por uma pequena chave de parafusos inserida no componente de ativação (Costantino et al, 1990; Annino et al, 1994; Gantous et al, 1994; Block, 1996; Sawaki et al, 1997; Elsalanty et al, 2009) ou automáticos.

Nos últimos anos, surgiram alguns trabalhos experimentais onde eram propostas soluções para automatizar os distratores através de variados mecanismos de actuação como motores eléctricos, ligas metálicas com memória de forma e bombas hidráulicas (Schmelzeisen et al, 1996; Ploder et al, 1999; Maull, 1999; Zheng et al, 2008; Mofid et al, 2001; Mofid et al, 2003; Idelsohn et al, 2004; Zhou et al, 2006; Ayoub et al, 2005; Chung et al, 2010; Goldwasser et al, 2012).

Apesar dos vários estudos que surgiram recentemente (Tabela 1.1), ainda não estão disponíveis distratores eléctricos intra-orais para serem utilizados na prática clínica, devido essencialmente a dois fatores:

- Necessidade do dispositivo ser de reduzidas dimensões, o que vai dificultar a incorporação da tecnologia no dispositivo.
- Necessidade de uma fonte energética, bateria, que possa alimentar todo o dispositivo durante o tratamento e resistir ao ambiente intra-oral.

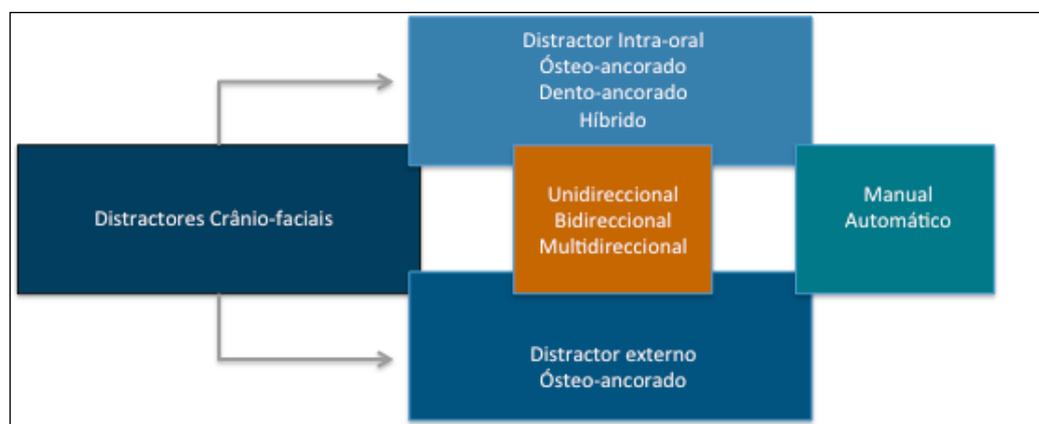


Figura 1.6 - Esquema dos diferentes tipos de distratores.

Tabela 1.1- Trabalhos experimentais com distratores automáticos.

Autores	Tipo	Modelo de experimental	Ritmo	Distração total
Schmelzeisen et al, 1996	Motor (bateria a lítio)	Porco (n=3)	6 min	12 mm
Ploder et al, 1999	Motor (bateria a lítio)	Ovelha (n=8)	60-120 min	11,23 mm
Zheng et al, 2008	Motor (bateria a lítio)	Coelho (n=5)	8 min	11 mm
Mofid et al, 2003	Ligas metálicas com memória (níquel-titânio)	Coelho (n=20)	Contínuo	12 mm
Idelsohn et al, 2004	Ligas metálicas com memória (níquel-titânio)	Coelho (n=6)	Contínuo	9 mm
Zhou et al, 2006	Ligas metálicas com memória (níquel-titânio)	Coelho (n=20) & Cães (n=10)	Contínuo	9 mm
Wiltfang et al, 2001	Bomba Hidráulica	Porcos (n=10)	Contínuo	15 mm
Ayoub et al, 2005	Bomba Hidráulica	Ovelhas (n=11) & um humano adulto	144 min	15 mm

e. O PATD

O PATD (Programmable and Autonomous Tissue Distractor Device) (SANTIAGO et al, 2013) foi desenvolvido pelo autor e por um grupo de investigadores de diferentes áreas (Engenharia Física, Engenharia Mecânica-Robótica e Engenharia Biomédica) afectos à Universidade de Coimbra (do Vale et al, 2013b; Vale et al, 2013).

Trata-se de um dispositivo intra-oral, que é ancorado nos 1º molar e 1º pré-molar inferiores, com o objetivo de realizar a distração sagital da mandíbula paralelamente ao plano oclusal de um modo automático e autónomo. Compreende as hastes de ancoragem e o corpo de distração, o qual inclui o encapsulamento, os motores, a eletrónica de controlo que permite a distração progressiva e automática, a eletrónica de comunicação que permite uma programação personalizável do dispositivo e a fonte de alimentação para o funcionamento do dispositivo.

Uma das hastes de ancoragem é fixa enquanto a outra é ajustável e acionada pelos motores, de forma a garantir, preferencialmente, dois graus de liberdade (Figura 1.7).

Além de realizar uma distração contínua e progressiva através da motorização do dispositivo, permite que todo o tratamento seja feito em ambulatório.

O PATD, ao dispor de dois graus de liberdade permite o controlo efetivo da direção da distração e, por conseguinte, garante que a distração seja realizada paralelamente ao plano oclusal.

Sendo programável por comunicação sem fios, assegura que o mesmo seja individualizado para diferentes protocolos e facilmente ajustável no decorrer da distração. Esta capacidade de ajuste caso-a-caso pode, posteriormente, ser documentada numa base de dados, e toda essa informação poderá ser processada com o objetivo de estabelecer protocolos de distração mais eficientes.

O tempo de latência, a velocidade e frequência de distração continuam indefinidas, podendo um registo electrónico de todas as distrações efetuadas com o PATD ajudar a fixar esses valores com base no grau de sucesso dos casos registados.

Este novo dispositivo difere completamente de todos utilizados atualmente na prática clínica. Os dispositivos utilizados atualmente são puramente mecânicos e logo desprovidos de todas as vantagens que só a eletrónica fornece, como a automação e monitorização do procedimento. Além de que a maioria dos dispositivos são ancorados diretamente sobre o osso, enquanto que o PATD é aplicado diretamente sobre os dentes, evitando os procedimentos cirúrgicos para a colocação e remoção do dispositivo e consequentemente anulando o risco de infeção.



Figura I.7 - Desenho em SolidWorks® do PATD.

Na Figura I.8 pode-se observar uma representação esquemática das diversas perspectivas do exterior do PATD. A estrutura exterior do distrator tem como função principal o suporte e proteção de toda a eletrônica contida no interior. A peça é composta por duas partes, representadas pelo número (1) e (2). Essas duas partes encaixam uma na outra e têm a capacidade de deslizar alguns milímetros entre si. O número (3) representa o pino onde se encaixa um dos braços de ancoragem e que possibilita o movimento de rotação.

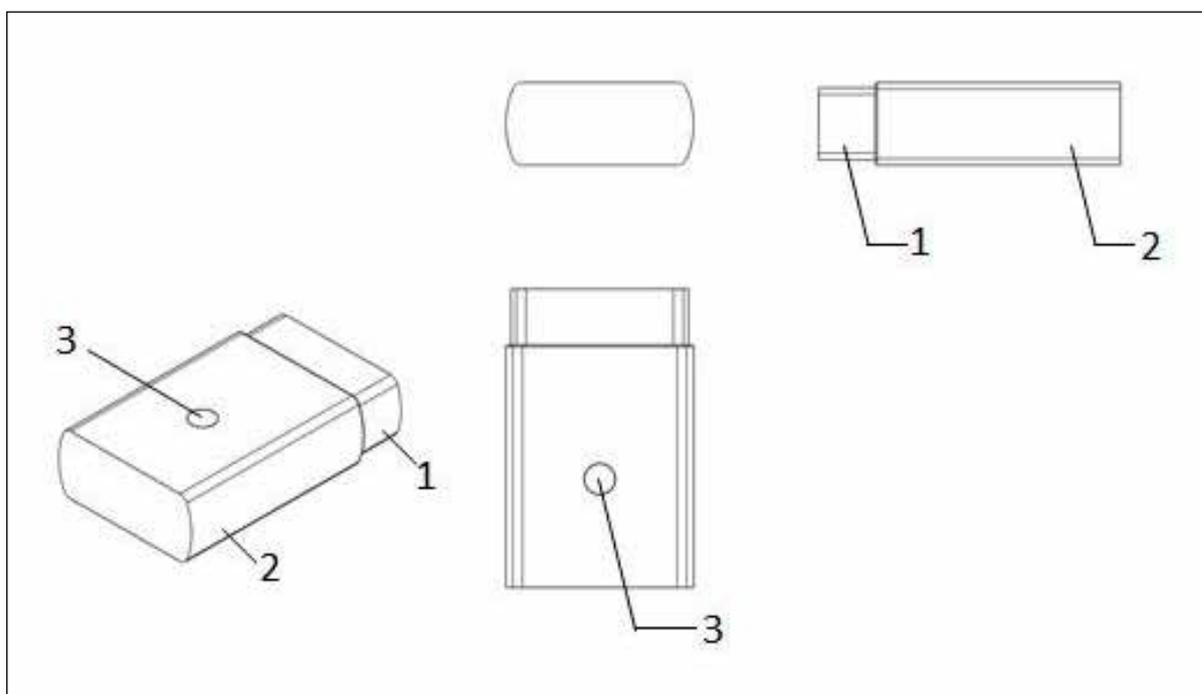


Figura I.8 - Desenho do exterior do PATD.

Na Figura 1.9 encontra-se representado o desenho de um dos lados do interior do PATD. É visível no desenho o pino de ancoragem que possibilita o movimento de rotação (4), os micromotores (5), e podemos ver as duas peças que através da actuação dos micromotores fazem oscilar o pino na direção desejada (6).

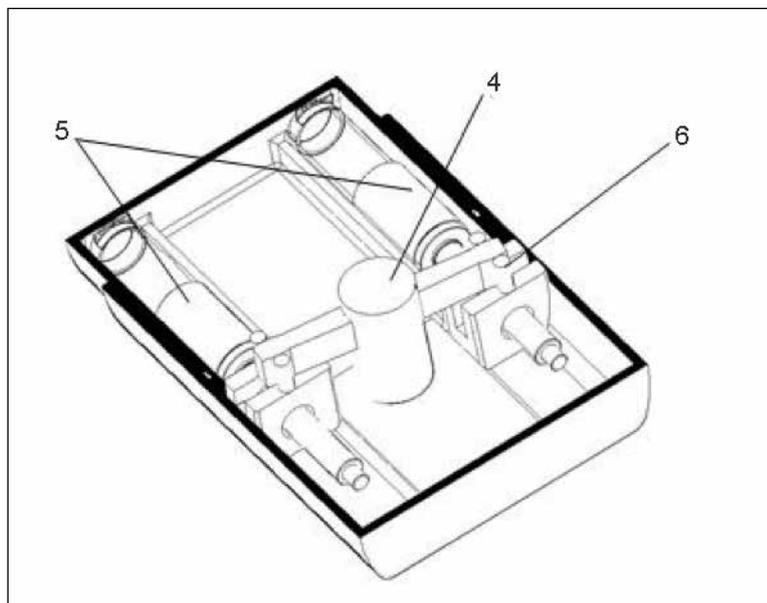


Figura 1.9 - Desenho interior do PATD.

A Figura 1.10 representa outro lado correspondente ao PATD. Nesta perspetiva pode-se visualizar a placa (7) onde se localizarão todos os componentes eletrónicos e a pilha que alimenta todo o dispositivo (8).

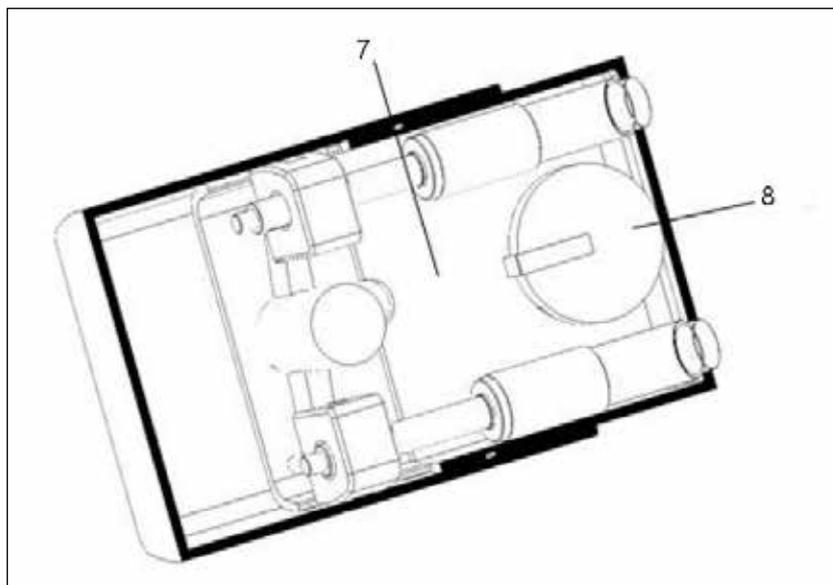


Figura 1.10 - Desenho lateral e interior do PATD.

O principal desafio com que os autores se depararam para o desenvolvimento do PATD, esteve relacionado com a fonte de alimentação energética. A dificuldade na obtenção de uma fonte de energia com grande capacidade de armazenamento, de dimensões reduzidas, que resistisse ao meio intra-oral e que fosse

biocompatível foi notória nos estudos mais relevantes sobre dispositivos intra-orais automatizados, cujos distratores apesar de terem sido testados com sucesso na experimentação animal, se revelaram impossíveis na utilização clínica em humanos (Ploder et al, 1999; Schmelzein et al, 1996; Chung et al, 2010).

Fonte energética do PATD

Na pesquisa de uma nova fonte energética, de dimensões reduzidas que pudesse alimentar os motores eléctricos e toda a eletrónica associada durante o tempo de tratamento com o PATD, Amaral, Vale e colaboradores (2014) escolheram a pilha de zinco-ar, de entre uma série de micro-baterias de alta densidade energética.

As pilhas de zinco-ar são as pilhas primárias disponíveis no mercado com maior densidade energética (Gráfico I.1). Além do mais, fornecem uma descarga com voltagem constante, são seguras, ecológicas e de baixo custo (Linden e Reddy, 2002).

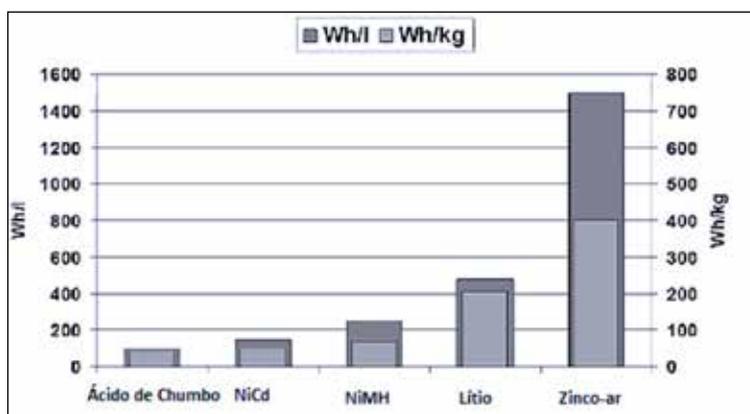


Gráfico I.1 - Densidade energética da pilha por massa e volume em relação a outras pilhas primárias disponíveis no mercado.

Adaptado de (Linden e Reddy, 2002).

A pilha de zinco-ar utiliza o oxigénio contido no ar atmosférico para produzir energia electroquímica. Após a abertura da pilha ao ar, o oxigénio começa a difundir-se para o interior do cátodo, entrando em contacto com o electrólito da pilha, agindo assim, como o seu reagente.

Tendo em conta que o oxigénio se encontra no exterior da célula, a maioria do volume da mesma é preenchido apenas por zinco, sendo, por isso, que as pilhas de zinco-ar apresentam uma densidade enérgica muito elevada. As vantagens e desvantagens de uma pilha de zinco-ar encontram-se descritas na Tabela I.2.

Tabela I.2 - Vantagens e desvantagens das pilhas de zinco-ar. Adaptado de (Linden e Reddy, 2002).

Vantagens	Desvantagens
Altamente densas em termos energéticos	Dependência das condições ambientais: Humidade, temperatura, concentração de oxigénio.
Descarga com voltagem constante	Potência limitada
Tempo de vida longo (selada)	Tempo de vida curto depois de ativadas
Ecológicas	
Baixo custo	

A incorporação de um cátodo fino e eficiente nas actuais pilhas de zinco-ar, só foi possível devido à utilização de uma membrana de Teflon entre o cátodo e o ânodo evitando, deste modo, a perda de água e o fluxo contínuo de oxigénio entre os eléctrodos (Figura 1.11).

A corrente fornecida pelas pilhas é limitada pela concentração de oxigénio disponível e pelo próprio cátodo. A porosidade do cátodo deve estar em equilíbrio com a quantidade de oxigénio que penetra a pilha e com a quantidade de vapor de água que o electrólito perde. Isto significa que, se aumentarmos as entradas de oxigénio do cátodo obtemos uma potência maior e um tempo de vida útil operacional da pilha menor, mas se diminuirmos as entradas de oxigénio, aumentamos o tempo de vida útil da pilha perdendo, no entanto, potência.

A regulação da difusão do oxigénio impõe, também, um limite máximo para a corrente contínua que a pilha é capaz de gerar, pois, a corrente máxima é directamente proporcional ao consumo de oxigénio. O consumo de oxigénio de uma pilha de zinco-ar é de aproximadamente 1 litro de ar por um ampere-hora (Amaral et al, 2003).

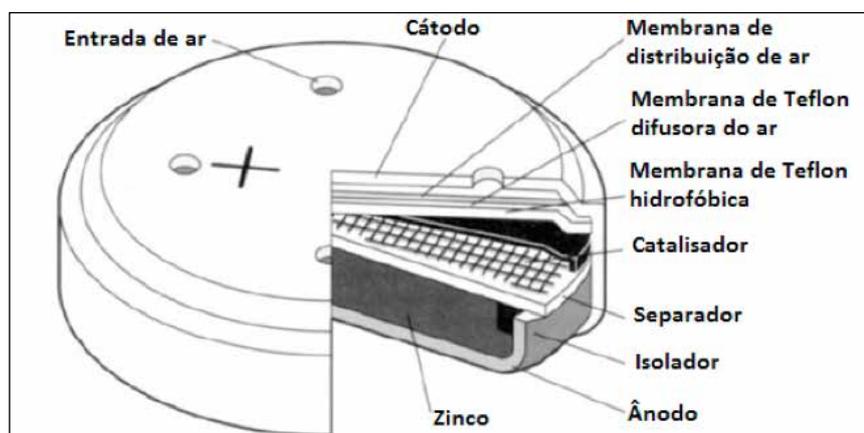


Figura 1.11 - Estrutura de uma pilha de zinco-ar. Adaptado de Amaral (2012).

Os dispositivos médicos e de telecomunicações são as áreas nas quais as pilhas de zinco-ar têm obtido um maior impacto. Estas pilhas são, atualmente, utilizadas como fonte de energia dos aparelhos auditivos e dos estimuladores de crescimento ósseo para reparar fraturas.

As pilhas de zinco-ar possuem algumas limitações quanto ao ambiente em que operam, sendo influenciáveis tanto pela temperatura como pelos níveis de humidade.

A temperatura afecta a voltagem máxima da pilha de zinco-ar. A temperaturas baixas e com uma corrente fixa, a voltagem máxima debitada pela pilha é mais baixa do que quando a pilha se encontra a temperatura ambiente (21°C) ou até em temperaturas mais elevadas. A gama de temperatura ideal para a pilha operar em condições normais encontra-se entre os 10°C e os 40°C. Quando a temperatura se encontra abaixo dos 10°C a pilha apresenta uma potência menor (Malone et al, 2004).

Em termos de níveis de humidade, a pilha perde água do electrólito em dias secos e acumula em dias húmidos. Em casos extremos, tanto a perda como a acumulação de água leva a que a mesma deixe de funcionar antes de ter gasto toda a sua energia. Estas situações podem ser evitadas através do dimensionamento dos poros no cátodo. Um poro, com menor raio, possui uma tolerância maior a variações ambientais, pois a taxa de trocas de vapor de água são reduzidas, resultando num tempo de vida útil mais longo (Chang-Woo-Lee et al, 2006).

Para comprovar que a pilha zinco-ar opera normalmente num ambiente rigoroso como o ambiente intra-oral, Amaral, Vale, Silva, Caramelo e Veiga conduziram um estudo experimental, no qual foi caracterizado o ambiente intra-oral para compreender os testes a efectuar. O ambiente intra-oral pode apresentar condições extremas tendo em consideração o contexto, variando bastante ao longo do dia. Normalmente, a temperatura ronda os 36°C a 37°C, exceptuando os momentos em que ocorre a ingestão de alimentos, sólidos ou líquidos (Amaral et al, 2014).

O nível de humidade da cavidade oral também está dependente da localização. Na porção anterior e vestibular, o nível de humidade relativa é aproximadamente 40% enquanto que na porção junto à oro-faringe a humidade pode atingir os 95% de humidade relativa.

O pH intra-oral localiza-se entre 6,4 a 7, dependendo, entre outros fatores, da quantidade de saliva produzida, que também varia ao longo do dia.

Para avaliar se as pilhas de zinco-ar eram capazes de funcionar num ambiente intra-oral, uma vez que estas podem falhar em ambientes com pouco oxigénio e/ou em com elevados níveis de humidade, os autores desenvolveram uma metodologia experimental de forma a poderem avaliar a viabilidade da utilização desta fonte energética no PATD. Assim, foram realizados três testes distintos:

- a) O primeiro teste teve como objetivo observar a resiliência das pilhas a diferentes níveis de temperatura e humidade. Com base no comportamento teórico da pilha e nas características do ambiente intra-oral, foi avaliado o comportamento da pilha a 37°C e a diferentes níveis de humidade relativa, nomeadamente a 50%, 70% e 90%. Para conduzir esta avaliação foi utilizada uma câmara climática que permitisse regular os níveis de temperatura e humidade (Figura 1.12).



Figura 1.12 - Câmara climática FitoClima 300 (Aralab - Equipamentos de Laboratório e Electromecânica Geral, Lda, Lisboa, Portugal). Adaptado de Amaral (2012).

- b) O segundo teste teve como objetivo comprovar os valores da carga total da pilha, assim como, o valor da taxa de consumo de oxigénio. Para tal, foi monitorizada a descarga total de uma pilha.

Com base no tempo total de funcionamento da pilha, foi calculada a carga gasta pela pilha, tendo em conta a sua carga total. Posteriormente, e com base na reacção química que ocorre na pilha, foi calculada a taxa de consumo de oxigénio. Por fim, de maneira a comprovar o valor da taxa de consumo de oxigénio, a pilha de zinco-ar foi colocada num volume finito conhecido, registando o tempo que a mesma demora a consumir o oxigénio disponível.

- c) Na última experiência, os autores efetuaram um teste prático com uma nova condicionante: a saliva. Foi utilizada saliva artificial, desenvolvida no Laboratório de Tecidos Duros da Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, e desenvolvido um suporte metálico que protegesse a pilha do contacto directo com a saliva sem ocorrer privação de oxigénio (Figura 1.13). Para proteger o suporte metálico de qualquer possibilidade de infiltração de humidade, os autores utilizaram uma membrana porosa de politetrafluoretileno (PTFE) conhecida comercialmente por Teflon® (Dupont®, Wilmington, USA). Esta membrana é extremamente hidrofóbica mas, devido aos microporos nela existentes, permite uma passagem eficaz de gases, nomeadamente, o oxigénio.

Para simular as alterações produzidas pela deglutição no volume salivar existente na cavidade oral, os autores utilizaram um robô IRB2400 (ABB, Zurique, Suíça) para submergir e retirar o suporte com a pilha de zinco-ar em saliva, com movimento vertical e linear e com determinada frequência (Figura 1.14) .

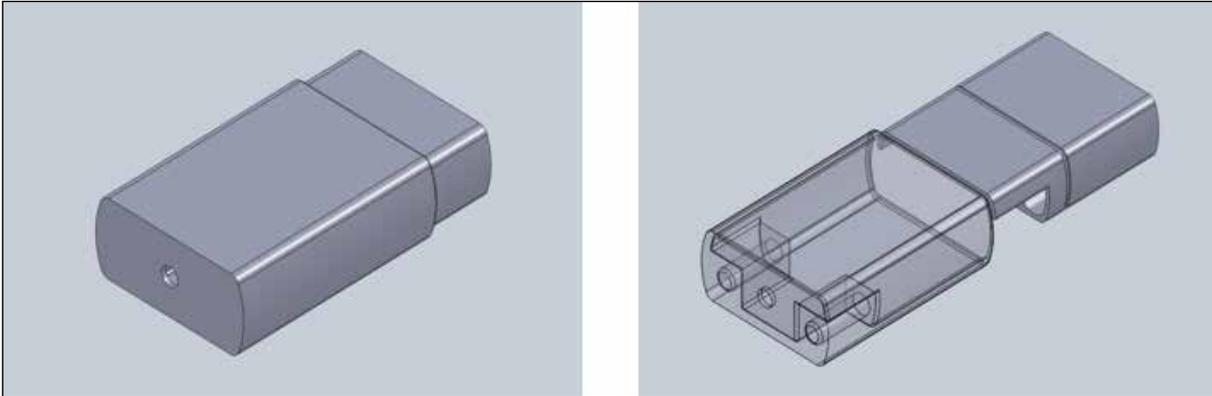


Figura 1.13 - Desenho em SolidWorks® do suporte utilizado para a pilha de zinco-ar.

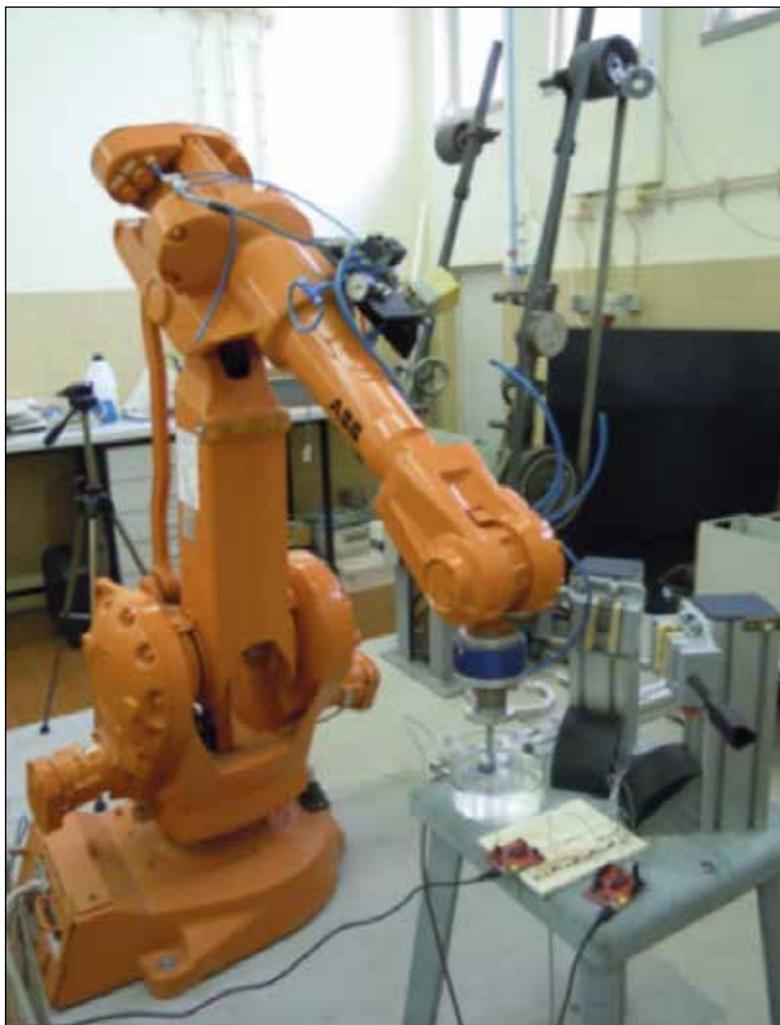


Figura 1.14 - Imagem do setup experimental. Na figura observa-se o robot IRB2400, o circuito teste com os microcontroladores, uma tina com saliva e o suporte acoplado ao braço do robot.

Com base nas experiências realizadas, os autores conseguiram demonstrar a viabilidade da utilização das pilhas zinco-ar como solução energética a utilizar no PATD.

A duração aproximada das pilhas para níveis de humidade relativa de 50%,70% e 90% foi, respetivamente, 92 horas, 95 horas e 67 horas, verificando-se uma diminuição do desempenho das pilhas em ambientes saturados em vapor de água. Os resultados provaram que as pilhas conseguem continuar a operar mesmo em altos níveis de humidade, reduzindo ligeiramente apenas o seu tempo útil de funcionamento (Gráfico I.2, Gráfico I.3 e Gráfico I.4).

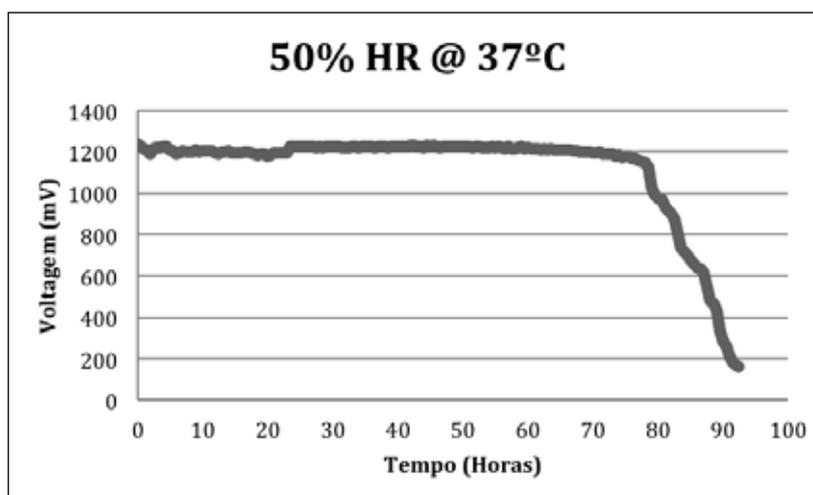


Gráfico I.2 - Queda do potencial em condições de teste a 50% de humidade relativa e 37°C de temperatura.

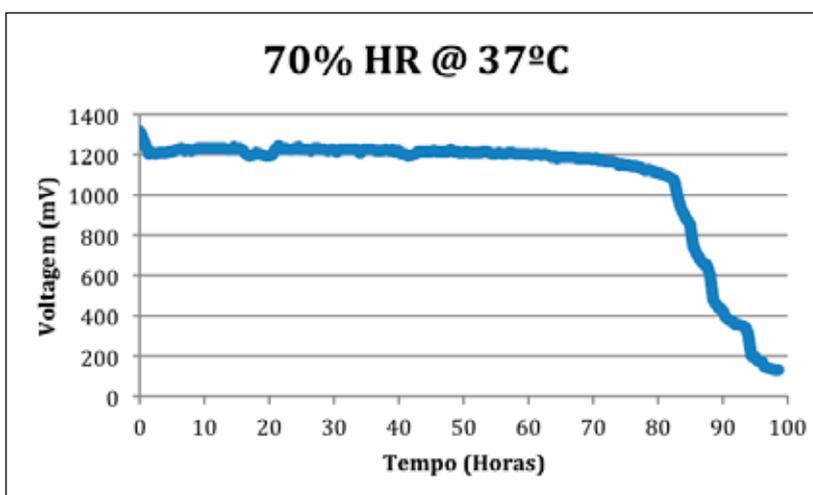


Gráfico I.3 - Queda do potencial em condições de teste a 70% de humidade relativa e 37°C de temperatura.

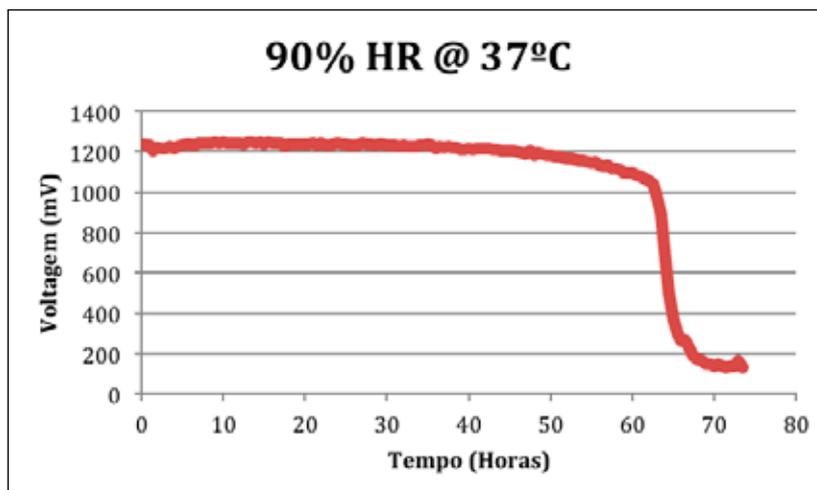


Gráfico 1.4 - Queda do potencial em condições de teste a 90% de humidade relativa e 37°C de temperatura.

Na segunda experiência, o valor teórico obtido foi de 47 minutos de duração para uma pilha dentro de um suporte com o volume livre de 1600 mm³. Para corroborar o resultado obtido, a pilha de zinco-ar foi colocada dentro de um suporte de metal com esse volume e selada hermeticamente com silicone para impedir todas as entradas possíveis de oxigénio. No gráfico 1.5 é possível observar que entre as 0,6 e as 0,8 horas ocorre uma queda gradual do potencial da pilha.

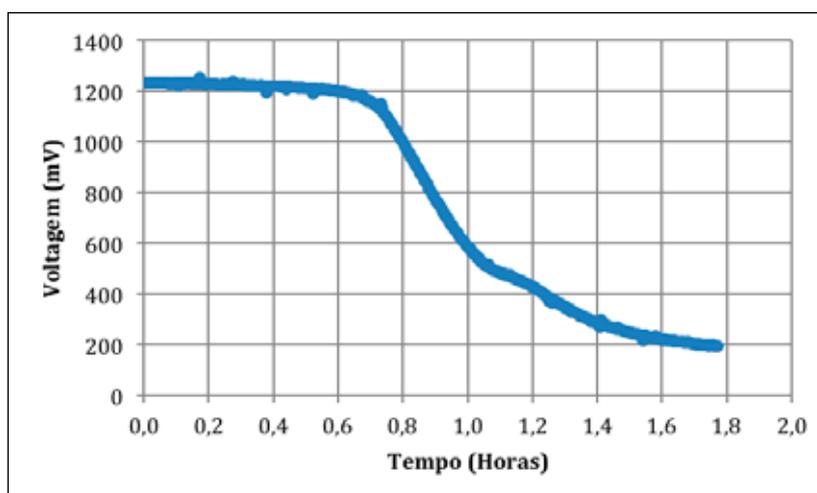


Gráfico 1.5 - Queda do potencial da pilha zinco-ar quando a entrada de oxigénio fica impedida.

No último teste efetuado, os autores procuram comprovar que o potencial energético da pilha apenas decresceu devido à ausência de oxigénio. Para tal, abriram o dispositivo condicionador da pilha, permitindo a entrada de oxigénio e verificaram que o potencial energético ficava completamente restabelecido ao fim de 5 minutos (Gráfico 1.6). Posteriormente, voltaram a fechar o suporte, recobriram com a membrana de PTFE e, através do robô IRB2400, emergiram em saliva com ciclos de 2 minutos com 20 segundos de duração. Tal como nos testes anteriores, também aqui os autores conseguiram validar a solução energética para o PATD (Gráfico 1.7).

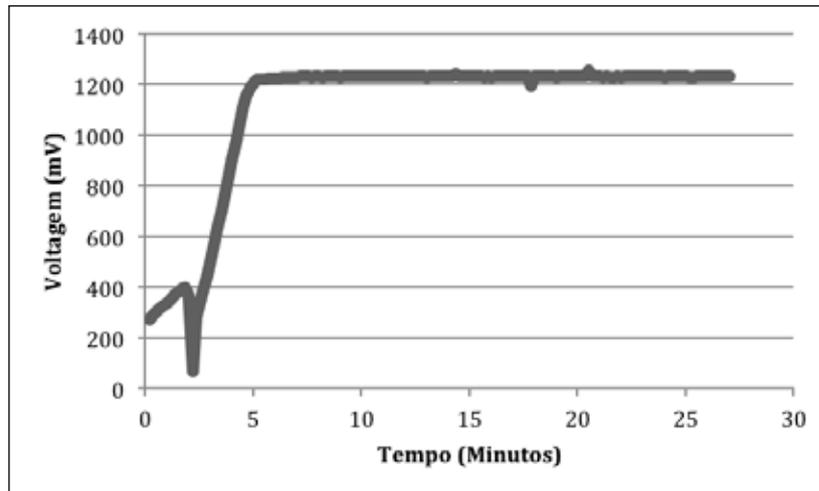


Gráfico 1.6 - Restabelecimento do potencial energético da pilha.

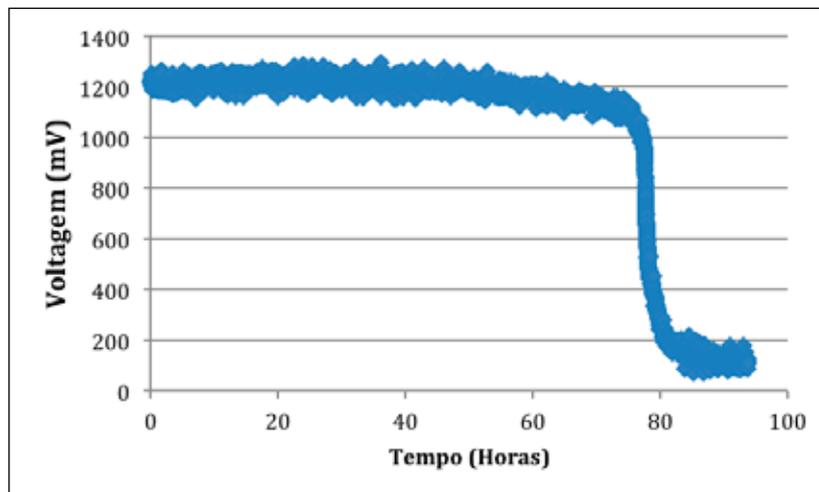


Gráfico 1.7 - Comportamento energético da pilha submersa em saliva, com ciclos de 2 minutos.

7. Revisão da literatura sobre o protocolo da distração osteogénica

Vários estudos demonstraram a existência de fatores biológicos e mecânicos que influenciam de forma decisiva a quantidade e qualidade do novo osso produzido durante a distração osteogénica. Na maioria dos casos, os parâmetros de distração osteogénica mandibular, que permitem estabelecer um protocolo adequado para o tempo de latência, velocidade, ritmo de distração e período de consolidação, foram adotados diretamente da distração osteogénica utilizada na ortopedia (McCarthy et al, 2002).

Pelas diferenças biológicas que existem entre os ossos longos de origem endocondral e os ossos do esqueleto crânio-facial de origem membranosa, os parâmetros mais adequados para a ortopedia poderão não o ser para a distração crânio-facial e mais particularmente para a distração mandibular (Cai et al, 2011). Assim, na procura dos melhores parâmetros para a distração mandibular, a revisão dos resultados obtidos nos vários estudos clínicos (Tabela 1.3) e experimentais é de especial importância para a orientação e recomendação sobre os melhores parâmetros a utilizar na distração osteogénica mandibular. No entanto, na vasta literatura existente sobre a distração osteogénica, poucos são os estudos sobre o protocolo recomendável de distração com capacidade de extrapolação, poder estatístico e precisão no resultado global.

Numa pesquisa efetuada nos últimos dez anos na MEDLINE (Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) que é a maior base de dados especializada em ciências da saúde e que indexa 5582 revistas, com mais de 21 milhões de referências bibliográficas, sobre a distração osteogénica aplicada à região maxilo-facial, apenas estão publicados quatro ensaios clínicos randomizados e controlados (Schortinghuis et al, 2005; Cheung et al, 2006b; Chanchareonsook et al, 2007; Chiapasco et al, 2007) e duas meta-análises (Ow et al, 2008; Cheung e Chua, 2006).

Mofid e colaboradores (2001) conduziram um estudo que envolveu 2476 clínicos (ortodontistas e cirurgiões maxilo-faciais) para recolha de informação sobre a experiência de cada um com a técnica de distração osteogénica. Destes, 148 estavam completamente familiarizados com a técnica e devolveram 274 respostas com dados sobre os seguintes aspetos:

- a) Tipo de patologia onde foi utilizada a distração osteogénica;
- b) Critérios de seleção utilizados na escolha do paciente para distração osteogénica;
- c) Tipo de distrator utilizado;
- d) Tipo de protocolo utilizado;
- e) Tipo de osteotomia realizada;
- f) Evolução do paciente;
- g) Complicações mais frequentes.

Tabela 1.3 - Alguns estudos clínicos mais relevantes sobre distração osteogénica.

Estudo	Pacientes (n.º)	Latência (n.º dias)	Velocidade (mm/dia)	Ritmo (x/24horas)	Consolidação (n.º dias)
Guerrero, 1990	10	0	0,25	1	84
McCarthy et al, 1992	4	7	1	2	56-70
Perrott et al, 1993	1	7	0,33	1	0
Takato et al, 1993	4	14	0,7	2	70-84
Habal, 1994	1	7	1	2	28
Havlik and Bartlett, 1994	1	7	0,5 e 1	2	0
McCarthy, 1994	15	7	1	2	56
Moore et al, 1994	1	5	1	1	42
Guerrero et al, 1995	20	10	2	2	84
Klein and Howaldt, 1995	9	5	1	1	63
Kocabalkan et al, 1995	1	5	2	4	42
Molina and Ortiz-Monasterio, 1995	106	4	2	4	42 -56
Pensler et al, 1995	9	1	2	4	21-49
Rachmiel et al, 1995	3	7	1	1	49
Diner et al, 1996	1	3	1	nd	21
Guyette et al, 1996	2	nd	nd	nd	nd
Klein and Howaldt, 1996	18	5	1	1	49-63
Corcoran et al, 1997	28	7	1	2	28-49
Polley and Figueroa, 1997	2	7	1	1	nd
Wangerin and Gropp, 1997	15	6	1	1	42
Razdolsky et al, 1998	43	3 a 5	1	4	21-49
Van Strijen et al, 2000	14	6	1	1	42
Razdolsky et al, 2000	nd	9	1	nd	28
Swennen et al, 2001	828	5 a 7	1	nd	42 -56
Li et al, 2002	5	7	1	nd	nd
Norholt et al, 2010	131	2 a 7	0,7 a 1,2	nd	30-117

O estudo demonstrou que existem várias possibilidades de aplicação da distração osteogénica nas patologias crânio-faciais, que a prevalência e o tipo de complicações é semelhante entre os diferentes clínicos, bem como outras informações relativas à distração osteogénica. Mas pela variedade encontrada nos parâmetros de período de latência, frequência, ritmo e período de consolidação, não permitiu avaliar criteriosamente a evidência em termos de validade e aplicabilidade clínica dos protocolos de distração para determinar um protocolo ideal único.

Swennen e colaboradores(2001) realizaram um revisão sistemática da literatura, compreendida entre 1996 e 1999, com os seguintes objetivos:

- 1.º Avaliar as indicações clínicas e parâmetros da distração osteogénica através da comparação de diferentes protocolos e resultados obtidos por diferentes autores.
- 2.º Sugerir protocolos ideais de tratamento para a distração osteogénica crânio-facial baseados em investigações clínicas, experimentais e científicas, com vista a providenciar dados mais objetivos para o futuro.

A amostra original era constituída por 288 artigos, dos quais 109 eram clínicos, 99 eram estudos experimentais e 54 tratavam-se de trabalhos científicos (Quadro 1.1).

Por não disponibilizarem dados suficientes, os 54 estudos de base científica foram excluídos e, dos restantes, foram excluídos mais 26: 11 por não fornecerem dados apropriados e 15 por estarem em línguas de difícil tradução (2 em chinês, 12 em russo e 1 em hebreu):

Publicações	N.º
Estudos Clínicos	109
Estudos Experimentais	99
Estudos científicos	54
Sem relevância	11
Linguagem não traduzida	15
Total	288

Quadro 1.1 - Artigos de distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial. MEDLINE 1996 a 1999.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2001).

No total dos 123 artigos clínicos analisados:

- a) 74 estavam relacionados com a distração osteogénica mandibular;
- b) 16 com a distração osteogénica maxilar;
- c) 3 envolviam simultaneamente a distração osteogénica maxilar e mandibular;
- d) 23 estavam relacionados com a distração osteogénica do terço médio da face ou do crânio;
- e) 7 artigos envolviam dois ou mais procedimentos diferentes de distração osteogénica.

Os 74 artigos analisados pelos autores que estavam relacionados com a distração osteogénica mandibular, correspondiam a tratamentos efetuados em 579 pacientes (n=579). Destes:

- a) 74,3% (n=430) foram submetidos a distração osteogénica para alongamento sagital mandibular;
- b) 6,6% (n=38) para alongamento transversal mandibular;
- c) 2,8% (n=16) para reconstrução alveolar;
- d) 16,4% (n=95) foram submetidos a distração osteogénica multifocal.

Os resultados da avaliação dos parâmetros que permitiram definir os protocolos recomendados para a distração osteogénica mandibular (Quadro 1.2), maxilar (Quadro 1.3), bimaxilar (Quadro 1.4), do terço médio da face e distração do crânio (Quadro 1.5) foram os seguintes:

Alongamento sagital mandibular

Dos 430 pacientes, 80,2% apresentavam micrognatia congénita (MC), 10,5% micrognatia adquirida (MA) e 9,3% apresentavam retrognatia mandibular (RM).

Relativamente à idade a que foram submetidos à distração osteogénica: os pacientes com micrognatia congénita foram maioritariamente intervencionados nas faixas etárias dos 2 aos 6 anos e dos 7 aos 12 anos; no grupo com micrognatia adquirida, a intervenção fez-se maioritariamente entre os 7 e os 12 anos de idade e; no grupo com retrognatia mandibular, todos foram submetidos à distração osteogénica entre os 15 e os 20 anos de idade.

Quanto ao tipo de procedimento cirúrgico efetuado para iniciar o processo de distração osteogénica, a distribuição foi a seguinte:

No grupo com MC, em 57,4% dos pacientes foi realizada uma osteotomia completa e nos restantes 42,6% o procedimento escolhido foi a corticotomia.

No grupo de MA, em 56,1% foi realizada uma osteotomia e em 43,9% a corticotomia.

No grupo com RM, todos foram submetidos a uma osteotomia do corpo mandibular.

A velocidade de distração escolhida para a maioria dos pacientes foi de 1 mm por dia.

O ritmo ou frequência da distração, apesar de ser um dado não relatado na maioria dos artigos, variou entre as duas e quatro ativações por dia para uma velocidade de 1 mm/dia, nos grupos de MA e MC, e de duas e três ativações por dia para uma velocidade de 1 mm/dia nos pacientes com retrognatia mandibular.

Relativamente ao período de latência, o intervalo mais comum para todos os grupos foi de 5 a 7 dias.

O período de consolidação de 6 a 8 semanas foi o mais comum para todos os grupos, mas nas faixas etárias dos 7 aos 12 anos e dos 13 aos 16 anos, o período de consolidação mais comum foi de 2 a 3 meses, independentemente do tipo de patologia.

Baseados nos resultados e integrando outros dados, os autores concluíram que o protocolo de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular mais recomendável para todos os grupos é aquele cuja distração é feita a uma velocidade de 1 mm/dia, com período de latência de 5 a 7 dias e período de consolidação de 6 a 8 semanas.

Os autores também concluíram que ambos os procedimentos cirúrgicos (corticotomia e osteotomia) poderiam ser usados nos casos de micrognatia, e que a osteotomia do corpo da mandíbula era o procedimento mais adequado nos casos de retrognatia mandibular.

Alongamento transversal mandibular

Os dados obtidos nos artigos clínicos, permitiram aos autores concluir que:

- a) 51,9% dos pacientes foram submetidos a distração osteogénica depois dos 16 anos de idade;
- b) 33,3% entre os 13 e os 16 anos de idade;
- c) 14,8% com idades inferiores a 13 anos.

Em todos os pacientes foi realizada uma osteotomia mediana, para iniciar o processo de distração osteogénica.

Dos 38 pacientes com dados relativos à velocidade e ritmo de distração:

- a) 12 foram submetidos a uma velocidade de 1 mm/dia, com uma única ativação;
- b) 24 foram submetidos a uma velocidade de 0,75 mm /dia, divididos por três ativações de 0,25 mm;
- c) 2 foram submetidos a uma única ativação, inferior a 0,5 mm/dia.

O período de latência mais comum foi de 5 a 7 dias, e o período de consolidação de 6-8 semanas foi o encontrado em todos os artigos.

Os autores concluíram que o protocolo recomendável seria aquele cuja distração osteogénica fosse efetuada em pacientes com idade superior a 12 anos, com uma osteotomia sinfisária completa, à velocidade de 0,75 ou 1 mm/dia, com 5 a 7 dias de tempo de latência e 6 a 8 semanas de período de consolidação.

Distração mandibular para Reconstrução Alveolar

Dos 16 doentes analisados que foram submetidos a DO vertical para reconstrução alveolar, os autores concluíram que o protocolo de DO mais comum com distratores ósteo-integrados, recomenda uma osteotomia segmentar em pacientes com idades a partir dos 16 anos, com alongamento de 1 mm/dia, com 5 a 7 dias de tempo de latência e 6 a 8 semanas de período de consolidação.

Quando são utilizados implantes na distração, o protocolo mais comum recomenda uma velocidade de 0,5 mm/dia com 4 a 6 meses de consolidação.

Distração mandibular multifocal

O transporte ósseo foi efetuado em 50 pacientes, com a seguinte distribuição:

- 12% foram submetidos a distração osteogénica bi-focal para reconstrução condilar da ATM;
- 88% foram submetidos a distração osteogénica bi ou tri-focal para reconstrução de defeitos mandibulares causados por trauma ou processos tumorais.

Baseados nos resultados obtidos, os autores concluíram ser possível recomendar os seguintes protocolos:

Para a reconstrução da ATM, a utilização de distratores internos ou externos, em pacientes com idades superiores a 16 anos, à velocidade de 1 mm/dia, com 5 a 7 dias de tempo de latência e 5 a 6 semanas de consolidação, é o protocolo mais recomendável.

Para a reconstrução óssea segmentar, o protocolo mais comum é feito com uma osteotomia completa do corpo mandibular em pacientes com mais de 16 anos de idade, à velocidade de 1 mm/dia, com 10-12 dias de latência e 6-8 semanas de período de contenção.

	Cirurgia	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
Alongamento sagital mandibular				
Micrognatia (> 2 anos)	Corticotomia	1	5 a 7	6 a 8
	Osteotomia	1	5 a 7	6 a 8
Retrognatia (> 14 anos)	Osteotomia	1	5 a 7	6 a 8
Alongamento transversal mandibular				
(> 12 anos)	Osteotomia mediana	0,75 a 1	5 a 7	6 a 8
Reconstrução alveolar				
(> 16 anos)	Osteotomia segmentar	1	5 a 7	6 a 8
Distração osteogénica multifocal				
Reconstrução da ATM	Osteotomia	1	5 a 7	5 a 6
(> 16 anos)				
Reconstrução de defeitos (> 16 anos)	Osteotomia corpo	1	10 a 12	6 a 8

Quadro 1.2 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica mandibular.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2001).

Distração maxilar

Os 16 artigos relacionados com a DO maxilar relatam 129 casos clínicos. Destes:

- 122 foram submetidos a alongamento sagital e transversal do maxilar;
- 7 foram submetidos a reconstrução alveolar do maxilar superior.

No avanço maxilar, o protocolo recomendado para crianças até 5 anos de idade, envolve uma osteotomia completa de Lefort I, à velocidade de 1 mm/dia, com 4 a 5 dias de período de latência e 2 a 3 meses de período de contenção.

Em crianças cuja faixa etária se situe entre os 5 e 13 anos de idade, já é recomendada a utilização de máscara facial, para tração contínua, após osteotomia incompleta nos casos de severidade média.

Na distração maxilar transversal, o protocolo recomendado para pacientes com idades superiores a 14 anos, é de distração após osteotomia de Lefort I incompleta à velocidade de 0,33 mm /dia, com 5 a 7 dias de latência e 3 a 6 meses de período de consolidação.

Para a reconstrução alveolar maxilar, o protocolo é semelhante ao recomendado para a reconstrução alveolar mandibular, ou seja, osteotomia segmentar em pacientes com idades a partir dos 16 anos, com alongamento de 1 mm/dia, com 5 a 7 dias de tempo de latência e 6 a 8 semanas de período de consolidação.

Quando são utilizados implantes na distração, o protocolo mais comum recomenda uma velocidade de 0,5 mm/dia com 4 a 6 meses de consolidação.

	Cirurgia	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
Distração sagital maxilar				
(5-13 anos)	Le Fort I incompleta	Máscara facial	4 a 5	8 a 12
	Le Fort I completa	Máscara facial	4 a 5	8 a 12
(13-16 anos)	Le Fort I completa	I	4 a 5	2 a 4
(> 16 anos)	Le Fort I completa	I	4 a 5	2 a 4
Distração transversal maxilar				
(> 14 anos)	Le Fort I incompleta	0,33	5 a 7	8 a 12
Reconstrução alveolar				
	Osteotomia segmentar	0,5 a 1	5 a 7	8 a 24

Quadro 1.3 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica maxilar.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2001).

Distração simultânea maxilo-mandibular

Os artigos analisados pelos autores relativamente à distração osteogénica simultânea maxilo-mandibular relatam 24 casos clínicos, dos quais:

- a) 23 pacientes apresentavam microsomia hemifacial;
- b) 1 paciente apresentava Síndrome de Treacher-Collins.

O protocolo recomendado envolve a utilização da máscara facial após osteotomia Lefort I incompleta, em simultâneo com a distração osteogénica mandibular à velocidade de 1 mm/dia, com 5 dias de período de latência e 2 meses de consolidação.

	Cirurgia	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
(> 12 anos)				
	Corticotomia Ramo	I	5	8
	Le Fort I			
	Osteotomia Ramo	I	5	8
	Le Fort			

Quadro 1.4 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica simultânea da mandíbula e maxilar.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2001).

Distração do andar médio da face e/ou do crânio

Por último, os 23 artigos relacionados com a distração osteogénica do terço médio da face e/ou do crânio correspondem a 96 pacientes. Apesar de nem todos fornecerem dados sobre a maioria dos parâmetros, os resultados permitiram concluir que:

Até aos 4 anos de idade a osteotomia em monobloco seguida de distração osteogénica da face (à velocidade de 1 mm/dia; 5 a 7 dias de latência e 2 a 3 meses de contenção) é o procedimento mais indicado essencialmente quando estão presentes problemas respiratórios graves e severa exoftalmia.

A partir dos 4 anos de idade, a distração média da face está indicada para pacientes que tinham sido intervencionados previamente com a técnica clássica de Lefort III.

	Cirurgia	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
(< 4 anos)				
	Monobloco	I	5 a 7	8 a 12
(> 4 anos)				
	Le Fort III	I	5 a 7	8 a 12
	Monobloco	I	5 a7	8 a 12

Quadro 1.5 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica andar médio da face e/ou crânio.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2001)

Shaw e colaboradores analisaram 88 publicações sobre a distração osteogénica no período compreendido entre 1996 e 2000. Quase todas as publicações tratavam-se de avaliações retrospectivas de períodos curtos, sem controlo e com grande heterogeneidade de casos clínicos, não permitindo assim, aos autores, obterem informação suficiente que pudesse servir de evidência para futuros tratamentos de distração osteogénica (Shaw et al, 2001; Shaw et al, 2002). Por esse facto, os autores propuseram um modelo alternativo de pesquisa, que consistia em analisar os casos de distração osteogénica com vista a um estudo prospetivo, dando origem a projeto europeu chamado *Eurocran Distraction Study* (EDS).

O EDS foi concebido como um estudo clínico constituído por duas parte:

Parte I - consistia no levantamento de informação relacionada com a prática de distração osteogénica através de um inquérito disponibilizado na World Wide Web dirigido a vários ortodontistas e cirurgiões europeus.

Parte II - consistia no registo prospetivo de pacientes tratados com distração osteogénica em 14 centros clínicos europeus.

Um dos estudos registados no EDS foi desenhado por Nada e colaboradores (2010), que procuraram obter informação relevante e detalhada de vários ortodontistas e cirurgiões sobre o uso da técnica de (EDS), como o protocolo de tratamento mais utilizado, em pacientes com diagnósticos diferentes e previamente selecionados.

Para a realização do trabalho, os autores criaram uma base de dados acessível aos clínicos, com os elementos de diagnóstico (exame fotográfico intra e extra-oral; fotografias dos modelos de estudo; ortopantomografia e telerradiografia da face com análise cefalométrica) de quatro pacientes com diferentes condições:

Caso I - Microsomia hemifacial (hipoplasia manibular unilateral).

Caso II - Classe II esquelética (hipoplasia mandibular bilateral severa).

Caso III - Retrognatia maxilar (fenda lábio-palatina).

Caso IV - Deficiência bimaxilar e facial (síndrome de Crouzon).

Para o estudo, foram contactados 180 centros registados no Eurocleft (www.eurocran.org).

Para cada paciente, os entrevistados foram convidados a preencher um questionário, onde basicamente era perguntado aos clínicos se consideravam ou não cada um dos pacientes apresentados como elegíveis para o tratamento de distração osteogénica.

Se a resposta fosse afirmativa, as restantes perguntas estavam relacionadas com a técnica preferido, tipo de distrator e tipo de protocolo.

No caso do clínico não considerar o paciente para distração osteogénica, as perguntas seguintes prendiam-se com as razões para a não utilização da técnica.

Os questionários estiveram disponíveis de janeiro de 2007 até junho de 2013 e todos os questionários foram depois devidamente tratados por métodos estatísticos.

A maioria dos clínicos inquiridos (80% a 90%) consideraram os casos I, II e IV elegíveis para tratamento com distração osteogénica, enquanto apenas 31% consideraram o caso III como elegível.

Os resultados obtidos quanto ao protocolo ideal (Quadro 1.6) demonstraram existir falta de consenso em vários aspetos.

Dos cinco parâmetros de tratamento (idade ideal; período de latência; velocidade da distração; ritmo de distração; período de consolidação), apenas dois tiveram um elevado grau de concordância: o período de latência de 3 a 7 dias e a velocidade de distração de 1 mm/dia.

	Microsomia hemifacial	Retrognatia mandibular	Fenda Lábio-palatina	Síndrome de Crouzon
Idade Ideal (anos)				
0-7	17%	11%	0%	15%
7-14	65%	50%	37%	48%
15+	18%	39%	63%	38%
Latência (dias)				
0-3	13%	12%	12%	8%
3-7	87%	82%	81%	85%
7+	0%	6%	7%	7%
Velocidade (mm/dia)				
0,5	8%	13%	14%	10%
1	92%	87%	81%	90%
1+	0%	0%	5%	0%
Consolidação (semanas)				
0-6	9%	25%	9%	7%
6-9	56%	50%	33%	32%
10+	35%	25%	58%	61%

Quadro 1.6 - Concordância nos protocolos de tratamento para a distração osteogénica.

Adaptado de Nada e colaboradores (2010)

De igual forma ao que sucedeu com a investigação sobre a distração osteogénica na ortopedia, também a distração osteogénica no esqueleto crânio-facial beneficiou do enorme contributo da experimentação animal.

Desde a primeira experimentação animal conduzida por Snyder e colaboradores (1973), muitos foram os trabalhos de investigação em experimentação animal que municiaram informação preciosa para ser possível estabelecer um adequado protocolo de tratamento à distração osteogénica hodierna.

De acordo com Siegel e Mooney (1990), a escolha do modelo animal apropriado depende do tipo de hipóteses a testar.

Os modelos animais utilizados na distração crânio-facial variam desde pequenos animais, como o rato, até animais de grande porte como o porco; mas todos têm em comum a similaridade na resposta do osso primitivo e tecidos moles com os humanos.

Apesar das semelhanças anatómicas do modelo animal com o humano ser um fator a considerar em qualquer investigação de experimentação animal onde se pretenda, de alguma forma, extrapolar os resultados, é na proximidade fisiológica e nas semelhanças do comportamento mecânico do osso animal que residem os principais critérios de escolha do modelo animal para estudos de distração osteogénica (Siegel e Mooney, 1990).

O macaco Rhesus pode ser um modelo animal apropriado para a distração osteogénica crânio-facial pois os seus maxilares apresentam forma e dimensões que permitem utilizar os mesmos aparelhos que nos humanos (Cheung et al, 2003). Mas a mandíbula do porco e do cão também são uma boa alternativa para a distração osteogénica mandibular.

Parece ser consensual que os modelos animais de grande porte são os mais adequados, devido às grandes estruturas crânio-faciais que, por um lado permitem a utilização dos mesmos dispositivos utilizados nos humanos e por outro, permitem grandes movimentos com a mesma magnitude que os provocados no esqueleto crânio-facial dos humanos. Além disso, em alguns animais de grande porte a anatomia e fisiologia são bastante semelhantes ao humano, são animais de fácil manuseamento e relativamente pouco dispendiosos (Kaban et al, 2003; Stalmans et al, 2003).

As vantagens do cão como modelo animal incluem um seio maxilar largo, um esplanocróquio comparável ao dos humanos, uma maxila hipoplásica semelhante à existente nos pacientes de Classe III e/ou à existente nos pacientes com fenda lábio-palatina, uma mandíbula suficientemente grande para a colocação de dispositivos ortodônticos utilizados em humanos e são animais de fácil manuseamento e aprendizagem (Stalmans et al, 2003).

As ovelhas são frequentemente utilizadas devido ao seu grande porte (Lewinson et al, 2001;2003).

Pequenos animais como o rato, murganho e o hamster são bastantes utilizados nos estudos ultra-estruturais devido à facilidade da obtenção, de manuseamento e baixo custo, permitindo utilizar um grande número, aumentando assim o poder estatístico (Rowe et al, 1998).

Swennen e colaboradores (2002) realizaram uma extensa revisão bibliográfica, recolhendo todos os artigos científicos de experimentação animal relacionados com a aplicação da distração osteogénica ao esqueleto crânio-facial.

A pesquisa foi feita na PUBMED entre 1996 e 2000. Os autores pretenderam obter informação a cerca dos diferentes modelos animais usados em distração osteogénica crânio-facial pelos vários grupos de investigação e; tentar definir os parâmetros biológicos mais utilizados para cada modelo animal, com base nos resultados obtidos nos diferentes artigos científicos.

Num total de 120 artigos científicos:

- a) 71,7% estavam relacionados com a distração osteogénica mandibular;
- b) 8,3% estavam relacionados com a distração osteogénica maxilar;
- c) 7,5% estavam relacionados com a distração osteogénica médio-facial;
- d) 13,3% estavam relacionados com a distração osteogénica craniana.

Modelo animal Avanço terço médio da face	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
Cão	I	7	6 a 6
Porco	I	5 a 7	6

Quadro I.7 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica mandibular para diferentes modelos animais.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2002).

Modelo animal Alongamento mandibular	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
Rato	0,5	5	4
Coelho	I	3 a 5	4
Cão	I	7	5 a 6
Ovelha	I	5 a 7	-
Porco	I	5 a 7	6
Primata	I	5 a 7	6 a 8

Quadro I.8 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica maxilar para diferentes modelos animais.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2002).

Para os diferentes modelos, os autores estabeleceram um protocolo mais adequado para o alongamento mandibular (Quadro I.7), para o avanço maxilar (Quadro I.8) e para o avanço do terço médio da face (Quadro I.9).

Modelo animal Avanço maxilar	Velocidade (mm/dia)	Latência (n.º dias)	Consolidação (n.º semanas)
Cão	1	7	6 a 8
Primata	1	7	-

Quadro 1.9 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica do andar médio da face para diferentes modelos animais.

Adaptado de Swennen e colaboradores (2002).

Também com o objetivo de proporcionar informação sobre os parâmetros ideais de distração osteogénica crânio-facial a utilizar nos estudos de experimentação animal, Djasin e colaboradores (2007) publicaram uma revisão sistemática, com recurso à MEDLINE entre 1 de janeiro de 1973 e 1 de janeiro de 2007.

A principal conclusão do estudo de revisão, foi que apesar dos estudos experimentais utilizarem grupos de reduzido número de modelos animais, principalmente aqueles que utilizaram animais de grande porte, foi possível determinar os seguintes parâmetros ideais para a distração osteogénica em experimentação animal:

- a) Velocidade de 1mm/dia;
- b) Período de latência variável;
- c) Ritmo de distração contínuo;
- d) 6 a 8 semanas de período de consolidação.

Especificando os parâmetros para cada modelo animal, os autores recomendam os seguintes protocolos para a distração osteogénica crânio-facial:

- a) Modelo animal cão: velocidade de 0,5 a 1 mm/dia, com frequência de uma a duas ativações, seguido de 30 a 90 dias de consolidação. Não obtiveram dados que permitissem recomendar o período de latência mais indicado;
- b) Modelo animal gato: velocidade de 1 mm/dia, seguido de 28 a 56 dias de período de consolidação. Não obtiveram dados que permitissem recomendar o período de latência e a frequência de ativação mais indicados;
- c) Modelo animal porco: sem período de latência, à velocidade de 1 mm/dia, com frequência contínua, seguida de 14 a 56 dias de período de consolidação;
- d) Modelo animal rato: 5 dias de período de latência, à velocidade de 0,2 a 0,6 mm/dia, com frequência de duas ativações, seguido de 16 a 42 dias de período de consolidação;
- e) Modelo animal macaco Rhesus: período de consolidação de 84 a 90 dias. Não obtiveram dados que permitissem recomendar o protocolo mais indicado para a velocidade, frequência e período de latência;
- f) Modelo animal ovelha: sem período de latência, à velocidade de 1 mm/dia, seguido de 90 dias de período de consolidação. Não obtiveram dados que permitissem recomendar a frequência de ativação mais indicada.

Dentro dos estudos em experimentação animal mais relevantes sobre o alongamento mandibular, referenciados na MEDLINE entre 1973 e 2013, os modelos animais mais utilizados foram o cão (Quadro 1.10), o rato (Quadro 1.11), o porco (Quadro 1.12), a ovelha (Quadro 1.13), o coelho (Quadro 1.14) e o macaco (Quadro 1.15).

Os trabalhos experimentais que utilizaram dispositivos de distração semelhantes aos utilizados no Homem, foram feitos principalmente no cão e macaco e apesar de vários estudos diferenciarem os animais adultos dos

animais em crescimento, conscientes de que estes apresentam maior capacidade de regeneração e remodelação óssea, não foi possível estabelecer diferentes protocolos para animais adultos e animais em crescimento ativo.

A partir destes estudos não foi possível definir o período de latência ideal para a maioria dos modelos. A maioria dos artigos que definem um período preciso, não são suportados por estudos estatísticos e outros alcançam os mesmos resultados estatísticos com diferentes períodos experimentados. Por exemplo, estudos feitos por Tavakoli e colaboradores (1998), Thurmuller e colaboradores (2002) e Glowacki e colaboradores (2004) chegaram às mesmas conclusões de que processos de distração osteogénica com um período de latência de 0 dias apresentavam os mesmos resultados que iguais processos de distração osteogénica mas com um período de 4 dias.

A velocidade de distração parece ser o parâmetro mais consensual na maioria dos estudos e parece ser independente do modelo animal utilizado.

Tal como já preconizava Ilizarov (1998), a velocidade de distração ideal é de 1 mm/dia, excepto em alguns trabalhos que utilizaram ratos, nos quais o valor mais consensual situava-se entre 0,2 e 0,6 mm/dia (Mehrra et al, 1999; Liu et al, 2005, Okafuji et al, 2006).

Quanto ao ritmo de distração, não foi possível arranjar um verdadeiro consenso pelas mesmas razões que impedem o consenso do período de latência. Há estudos suportados com estatística que apresentam melhores resultados quando o ritmo de distração é superior a uma ativação por dia (Wiltfang et al, 2001; Kessler et al, 2002), outros onde não existem quaisquer diferenças, levando aos seus autores a defenderem apenas uma ativação por dia pela maior simplicidade de protocolo (Al Ruhaimi, 2001).

O período de consolidação também não foi consensual na análise dos artigos científicos, mas verifica-se um tendência a períodos mais longos em animais de maior porte, pois estes também foram sujeitos a alongamentos mandibulares de maior magnitude.

Quanto ao estabelecimento de um protocolo específico para cada animal, o maior consenso entre os autores foi estabelecido para o cão, com a seguinte recomendação:

- a) Período de latência de 5 a 8 dias;
- b) Velocidade de distração de 1 a 1,5 mm/dia;
- c) Frequência com 1 a 4 ativações por dia;
- d) Período de consolidação de 4 a 16 semanas.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Cão	Snyder et al, 1973	Block et al, 1993	Cho et al, 1999
	Michieli e Minoti, 1976	McCormick et al, 1995	Bavitz et al, 2000
	Ilizarov et al, 1977	Sawaki et al, 1996	Oda et al, 2000
	Karp et al, 1990	Sawaki et al, 1997	Cope e Samchukov, 2000
	Costantino et al, 1990	Miao et al, 1997	Liou et al, 2000
	Phillips et al, 1992	Hollis et al, 1998	Cope et al, 2001
	Karp et al, 1992	Jonsson e Siemssen, 1998	Hollier et al, 2006
	Block et al, 1993	Makarov et al, 1998	Hasse et al, 2005
	Annino et al, 1994	Williams et al, 1998	Baiomy et al, 2012
	Gantous et al, 1994	Liou et al, 1998	Xie et al, 2012
	Ganey et al, 1994	Oda et al, 1999	Shang et al, 2012
	McCarthy et al, 1995	Cope et al, 1999	Liu et al, 2012
	Block et al, 1993	Oda et al, 1999	Isomura et al, 2013

Quadro I.10 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o cão como modelo animal.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Rato	Rowe et al, 1998	Paccione et al, 2001	Williams et al, 2005
	Rowe et al, 1999	King et al, 2003	Shibazaki et al, 2005
	Mehrara et al, 1999	Liu et al, 2005	Okafuji et al, 2006
	Steinbrech et al, 2000	Shin et al, 2005	Deshpande et al, 2013

Quadro I.11 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o rato como modelo animal.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Porco	Shmelzeisen et al, 1996	Niederhagen et al, 2000	Kaban et al, 2003
	Braumann et al, 1996	Troulis et al, 2000	Perrott et al, 2003
	Braumann et al, 1997	Kessler et al, 2000	Glowacki et al, 2004
	Lucas et al, 1998	Wiltfang et al, 2001	Zimmermann et al, 2005
	Troulis et al, 1999	Castano et al, 2001	Goldwaser et al, 2013
	Seldin et al, 1999	Kessler et al, 2002	

Quadro I.12 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o porco como modelo animal.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Ovelha	Karaharju-suvanto et al, 1990	Hu et al, 2001	Van der Meulen et al, 2005
	Tavakoli et al, 1998	Zou et al, 2001	Dinu et al, 2011
	Ploder et al, 1999	Marucci et al, 2002	Kilic et al, 2011
	Farhadieh et al, 2000	Li et al, 2002	Freddo et al, 2012
	Gaggl et al, 2000	Tang et al, 2004	Aykan et al, 2013

Quadro I.13 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram a ovelha como modelo animal.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Coelho	Komuro et al, 1994	Hagiwara e Bell, 2000	Cheung et al, 2003
	Califano et al, 1994	Al Ruhaimi, 2001	Singare et al, 2006
	Stewart et al, 1998	El-Bialy et al, 2002	Mihmanli et al, 2012
	Meyer et al, 1999	Muhonen et al, 2002	Bou Assi et al, 2013
	Smith et al, 1999	Aida et al, 2003	

Quadro I.14 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o coelho como modelo animal.

Modelo Animal	Estudo Experimental		
Macaco	Bell et al, 1997		
	Bell et al, 1999		
	Lindsay et al, 2000		
	Gonzales et al, 2001		
	Wang et al, 2002		

Quadro I.15 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o macaco como modelo animal.

8. Fatores que influenciam o processo de distração osteogénica

A - Idade

A formação e mineralização óssea nas crianças quando submetidas à distração osteogénica é significativamente mais rápida do que a verificada em adultos (Aronson et al, 1994). Parece que a rápida regeneração óssea nos indivíduos esqueleticamente imaturos está relacionada com a presença de grande quantidade de células mesenquimatosas indiferenciadas e que o relativo déficit de formação óssea verificado com o avanço da idade do indivíduo poderá estar mais relacionado com a diferenciação celular do que com a proliferação (Tonna e Cronkite, 1963).

Aronson e colaboradores (2001) observaram uma diferença significativa entre a rádio-densidade de tíbias de rato fêmea distracionadas, de tal forma que os animais de 4 meses apresentavam 95% de osso mineralizado, enquanto que animais com 24 meses apenas apresentavam 34%.

Chin e Toth (1996; 1997) referem que devido à maior velocidade de regeneração dos pacientes jovens, um tempo de latência muito longo ou uma velocidade de distração muito curta podem originar consolidação prematura. Assim, recomendam um tempo de latência máximo de 5 dias para idades compreendidas entre os 36 meses e os 17 anos.

A questão relacionada com as menores taxas de formação óssea verificada nos indivíduos com maturação esquelética, não significa que a distração osteogénica deixe de ser uma opção bastante atrativa para a reconstrução das deformidades maxilo-faciais em grupos etários mais avançados. Poderá apenas significar que diferentes protocolos terão de ser empregues para diferentes grupos etários

B - Suprimento sanguíneo

O adequado suporte sanguíneo no local da distração é fundamental para um procedimento bem sucedido, pois os estádios iniciais da osteogénese estão fortemente relacionados com a neovascularização sanguínea (Ilizarov, 1988).

Nos processos de distração mal sucedidos, onde foi possível verificar a ausência de um adequado suporte sanguíneo, o espaço criado entre os segmentos ósseos ficou preenchido por tecido fibroso isquémico (Klotch et al, 1995).

Ilizarov (1989a) comparou a osteotomia completa, sem preservação do perióstio com a técnica de corticotomia, com preservação de grande parte do perióstio e endóstio. Concluiu que este último procedimento era o melhor para otimizar a regeneração óssea dos ossos longos.

Outros investigadores sugerem que a preservação da irrigação sanguínea medular não é absolutamente necessária para o sucesso da distração, particularmente na região maxilo-facial, onde o suporte sanguíneo é abundante e proveniente de várias regiões (De Bastiani et al, 1987; Costantino et al, 1990; Delloye et al, 1990; Phillips et al, 1992).

Vários estudos experimentais demonstraram que durante os primeiros dias de distração há uma intensa resposta vascular, com a formação de novos vasos sanguíneos, que progressivamente vai diminuindo à medida que os novos vasos adquirem um padrão de maturidade suficiente para resistir às forças de tensão provocadas pela distração (DeCoster et al, 1999; Rowe et al, 1999).

C - Período de latência

É o período de tempo que ocorre desde a realização da osteotomia até ao início do alongamento dos fragmentos ósseos. Durante este período ocorre a formação do calo ósseo reparador, o suprimento sanguíneo é restaurado e inicia-se a proliferação celular (White e Kenwright, 1991; Samchukov et al, 1998; Welch e Lewis, 1999).

A maioria dos estudos experimentais sugere que o período de latência afecta o sucesso da distração osteogénica e que são necessários 5 a 15 dias de espera antes de se iniciar a distração para ocorrer a desejada osteogénese (De Bastiani et al, 1986; Aldegheri et al, 1989; Ilizarov, 1989 a; Ilizarov, 1989 b; Price e Mann, 1991; White e Kenwright, 1991; Stanitski et al, 1996).

Períodos de latência mais curtos podem levar à diminuição do calo ósseo e à inadequada osteogénese, com aparecimento da não-união fibrosa, e períodos mais longos estão muitas vezes associados a consolidações prematuras (Kojimoto et al, 1988; Ilizarov, 1989b; Aronson e Harp, 1994; Welch e Lewis, 1999).

Para alguns autores, a associação entre alteração na osteogénese e o inadequado período de latência parece estar relacionada com a alteração do fluxo sanguíneo no espaço da distração (Martini e Castaman, 1987; Kojimoto et al, 1988; Ilizarov, 1989b; White e Kenwright, 1991; Komuro et al, 1994).

O período de latência permite que a fase inflamatória aguda do processo de reparação se processe ainda com os segmentos ósseos em contacto e que o início da distração já ocorra na fase de reparação tecidual. A resposta inicial nesta fase é em tudo semelhante à que se verifica no processo normal de cicatrização de uma fratura óssea (Kuryszko et al, 2000; Konofaos et al, 2014).

A idade, qualidade do procedimento cirúrgico e preservação do suprimento sanguíneo regional, estão relacionados com a duração necessária do período de latência (Cho et al, 1999)

A maioria dos estudos sobre o tempo de latência são sobre o processo de distração nos ossos longos e alguns autores, como Troulis (Troulis et al, 2000) e Tavakoli (Tavakoli et al, 1998), estipulam que, devido à boa vascularização do maciço maxilofacial, é possível reduzir o período de latência ou, até mesmo, anulá-lo.

Mofid e colaboradores (2001) publicaram um estudo de revisão de 3278 casos clínicos de distração crânio-facial e observaram que não existiam diferenças significativas de consolidação prematura ou de não-união fibrosa entre os grupos que iniciavam a distração sem período de latência e os que utilizavam.

Numa tentativa de estabelecer um protocolo ótimo de período de latência durante a distração mandibular, vários estudos clínicos foram realizados. Assim, verificou-se que na distração mandibular em humanos, a duração do período de latência com melhores resultados variava entre os 5 dias (Moore et al, 1994; Klein e Howaldt, 1995 e 1996; Kocabalkan et al, 1995; Molina e Ortiz-Monasterio, 1995; Razdolsky et al, 1998),

6 dias (Wangerin e Gropp, 1997), 7 dias (McCarthy et al, 1992 e 1994; Perrot et al, 1993; Habal, 1994; Rachmiel et al, 1995 e 2005; Corcoran et al, 1997; Polley e Figueroa, 1997) e períodos superiores a 9 dias (Takato et al, 1993; Havlik e Bartlett, 1994; Guerrero et al, 1995).

D - Velocidade e frequência de distração

A velocidade de distração é quantidade de alongamento realizada por dia.

Estudos experimentais demonstraram que a neoformação óssea desta diretamente relacionada com a tensão provocada no espaço da distração e, assim, diretamente relacionada com a magnitude do alongamento induzido diariamente (Mehrotra et al, 2012).

Foi demonstrado que a magnitude diária da tensão mecânica pode influenciar o tipo de fenótipo celular que surge no interior do espaço de distração, levando a diferentes preenchimentos do defeito com tecido ósseo, tecido cartilaginoso e/ou tecido fibroso (Li et al, 1997; Meyer et al, 1999; 2001; Maeda et al, 2008).

De forma semelhante ao que sucede com o período de latência, se a velocidade de distração é excessivamente elevada, pode ocorrer uma não-união fibrosa, enquanto que se for demasiado reduzida pode ocorrer uma consolidação prematura da osteotomia produzida (Elkins et al, 1993; Welch et al, 1998; Schickendantz et al, 2012).

Após estudos feitos em tíbias de cães, Gavriil Ilizarov (1989a; 1989b) postulou que a velocidade deve ser de 0,5 a 1,5 mm por dia, com uma velocidade média de 1mm/dia. Estudos experimentais posteriores corroboraram o estipulado por Ilizarov ao demonstrarem que uma velocidade próxima de 1 mm por dia era a ideal para obter uma distração osteogénica bem sucedida e que uma velocidade igual ou inferior a 0,5 mm/dia originava uma união prematura e, pelo contrário, uma velocidade superior a 2 mm/dia predispunha ao aparecimento de uma pseudoartrose (Li et al, 1999; Costantino et al, 1990; Karp et al, 1992; Komuro et al, 1994; Klein e Howaldt, 1996).

Apenas em alguns estudos experimentais, com o rato ou o coelho como modelo animal, é que se verificou que a velocidade de distração óptima situava-se entre 0,2 mm e 0,6 mm por dia (Al Ruhaimi et al, 2001; Cheung et al, 2006; King et al, 2003).

A frequência ou ritmo de distração é o número de ativações que se realiza por dia, para se obter uma determinada velocidade de distração.

Segundo Ilizarov (1989b; 1990) também este parâmetro influencia de forma decisiva a qualidade e quantidade do novo osso formado, afirmando que a atividade osteogénica é maior quando a distração é feita ao ritmo de 0,25 mm quatro vezes ao dia, em comparação à realizada numa única ativação diária de 1mm. Nos seus trabalhos experimentais verificou que uma maior frequência de ativação também diminui os efeitos deletérios sobre a pele, perióstio, músculo, nervos e vasos sanguíneos.

Estudos experimentais em animais feitos com distrações contínuas, também demonstraram aumentar a capacidade regenerativa tecidual durante a distração, com melhor preenchimento de osso neoformado no espaço de distração (Schmelzeisen et al, 1996; Ploder et al, 1999; Ayoub et al, 2001; Wiltfang et al, 2001; Ayoub et al, 2005).

Kessler e colaboradores (2002), num estudo experimental realizado em mandíbula de porco, compararam o efeito do ritmo da distração, contínuo e descontínuo, no tipo de ossificação e na velocidade de regeneração do osso neoformado no espaço da distração. Concluíram que nos animais submetidos a um ritmo contínuo, a ossificação ocorreu essencialmente por via intramembranosa, contrariamente à origem endocondral encontrada no grupo de distração com ritmo descontínuo. Também constataram uma maior velocidade de regeneração óssea no grupo submetido ao ritmo contínuo, que possibilitou reduzir o período de consolidação.

Apesar da importância que assume o parâmetro *ritmo de distração* para alguns autores, parece não existir grande consenso sobre o ritmo ideal para a distração e até sobre a verdadeira relevância deste parâmetro.

Welch e colaboradores (1998), em estudos efetuados em tíbias caprinas, demonstraram que a aplicação de diferentes ritmos de distração não produziu diferenças histomorfométricas significativas sobre o osso regenerado.

Meyer e colaboradores (1999) compararam o efeito da velocidade e frequência da distração na resposta tecidual em mandíbulas de coelhos. Demonstraram que era a magnitude e não a frequência da aplicação da carga mecânica que influenciava a diferenciação celular durante a osteogénese. Os alongamentos diários de 2 e 3 mm afectavam negativamente a diferenciação das células osteoblásticas e a produção de proteínas da matriz extracelular de forma mais evidente do que a frequência da distração, contrariamente ao que postulava Ilizarov. As grandes cargas diárias geradas pelo aumento da velocidade originam uma diferenciação fenotípica fibroblástica e a diminuição da diferenciação osteoblástica com menor expressão da osteocalcina e osteonectina.

Troulis e colaboradores (2000), em estudos experimentais com mandíbulas porcinas, observaram melhores resultados, clínicos e radiológicos, nos casos em que era aplicada uma velocidade de 1 mm por dia, durante 12 dias, comparativamente à aplicação de 2 mm por dia, durante 6 dias ou 4 mm por dia, durante 3 dias.

Outro estudo de alongamento mandibular realizado em ovelhas, apresentou melhores resultados de resistência biomecânica e de densidade óssea com índices de 1 mm/dia, do que com índices de 2,3 e 4 mm/dia. No entanto, o estudo histológico evidenciou, às 4 semanas, a formação de osso em todos os grupos mas com maior desorganização óssea nos grupos com índices mais elevados (Farhadieh et al, 2000).

Nos seus estudos de revisão da literatura, Mofid (2001) encontrou maior número de casos de não-união fibrosa quando era aplicada uma velocidade de 1mm/dia numa só ativação, do que quando era aplicada a mesma velocidade dividida por várias ativações ao longo do dia; mas também encontrou maior número de casos de consolidação prematura quando aplicava uma velocidade de 1mm/dia dividida em quatro ativações do que quando dividida apenas em duas ativações.

Independentemente da minuciosidade do protocolo para a velocidade de alongamento, esta deve ser adaptada também à capacidade de tolerância dos tecidos moles e à idade do paciente.

E - Período de consolidação

Um dos parâmetros menos consensuais observados nos estudos de distração osteogénica, é a determinação da quantidade de tempo ideal para o período que separa o final da fase ativa de distração e a retirada do dispositivo de distração.

Aronson (2001), por exemplo, advoga que o melhor método de determinar o período ideal de consolidação é a utilização de dois dias de consolidação por cada milímetro de distração alcançado. Este método parece não ser o mais apropriado quando se trata de distração de ossos da face, cujas magnitudes de alongamento são bem menores do que as necessárias nos ossos longos, que chegam a alcançar os 50 ou mais milímetros (Smith et al, 1999).

São várias as teorias com base em estudos dos ossos longos que estabelecem os tempos de consolidação em função do alongamento alcançado na distração (índice de distração-consolidação) (Minty et al, 1994; Tsuchiya et al, 1997).

Muitos estudos determinaram a quantidade e qualidade do osso neoformado depois de vários períodos de consolidação. Quase todos indicam que, quanto maior é o tempo de consolidação melhores são os resultados (Cope et al, 2001; 2002; Hasse et al, 2005; Ryoyama et al, 2004; Hu et al, 2001; Zou et al, 2001; Castano et al,

2001; Wiltfang et al, 2001; Zimmermann et al, 2005; Stewart et al, 1998; Paccione et al, 2001; Rowe et al, 1998; Williams et al, 2005; Farhadieh et al, 2000).

Os períodos analisados nas experimentações animais que obtiveram melhores resultados estão entre as duas semanas e os três meses, no entanto poucos referem um período exato como o ideal (Djasim et al, 2007).

Li e colaboradores (2002), num estudo em mandíbulas de cabras, determinou o tempo ideal de 8 semanas de consolidação para que o distrator possa ser retirado e a mandíbula iniciar a sua função normal.

Em estudos com mandíbulas caninas, Smith e colaboradores (1999) e Ryayama e colaboradores (2004) postularam as seis semanas de tempo de consolidação ideal.

Vários estudos clínicos realizados em humanos sobre a distração osteogénica para avanço mandibular, obtiveram melhores resultados com períodos de consolidação compreendidos entre as 3 e 12 semanas (Guerrero, 1990; McCarthy et al, 1992; Perrot et al, 1993; Habal, 1994; Havlike e Bartlett, 1994; McCarthy, 1994; Moore et al, 1994; Guerrero et al, 1995; Klein e Howaldt, 1995; Kocabalkan et al, 1995; Molina e Ortiz-Monasterio, 1995; Pensler et al, 1995; Guyette et al, 1996; Corcoran et al, 1997; Polley e Figueroa, 1997; Burstein et al, 2005; Iatrou et al, 2009; Rachmiel et al, 2005; Norholt et al, 2010; Brevi et al, 2011).

Apesar dos bons resultados proporcionados pelo tempo de consolidação adequado, o osso neoformado só apresenta as mesmas características dos fragmentos ósseos que sofreram distração ao final de um ano ou mais (Isaksson et al, 2006).

Existem várias técnicas para estudar a remodelação e consolidação do osso para determinar a altura ideal para remover o distrator, mas nenhuma que, isoladamente, seja completamente exacta e confiável. Há, no entanto, autores que sugerem a combinação dos dados obtidos por mais que uma técnica para se poder tomar a decisão mais racional (Kaban, 2003). Entre as técnicas mais comuns para essa monitorização, encontram a absorciometria de raios Rx, a radiologia convencional e a tomografia computadorizada.

A absorciometria de raios X dupla energia (DEXA-Dual Energy X-ray Absorptiometry) surge como uma grande avanço na medicina na área da radiologia. Consiste na análise da quantidade de cálcio e outros minerais para determinar a massa óssea. Este método utiliza a medição da atenuação de uma energia dupla de RX que passa através do corpo (Saran et al, 2008).

F - Osteotomia

A diferença entre a realização de uma osteotomia ou uma corticotomia radica essencialmente na preservação da vascularização intramedular. Enquanto que a primeira técnica causa disrupção completa dos vasos intramedulares, a segunda conserva-os.

Basicamente, a corticotomia realiza-se com uma abordagem limitada, através da qual se cortam as faces vestibular, média e inferior do corpo mandibular através de uma serra e osteótomo, preservando assim os vasos sanguíneos intramedulares. As faces lingual e superior são fraturadas manualmente (osteoclasia) através da aplicação de forças de torção.

Vários estudos sugerem que a preservação dos vasos sanguíneos intramedulares favorece uma mineralização mais rápida com menor formação óssea de origem endocondral (Tsunokuma et al, 1999; Troulis et al, 1999; Hu et al, 2002; Siddiqui e Owen, 2013).

Como se comentou anteriormente, a formação do hematoma no espaço inter-fragmentário e o rápido restabelecimento do suporte sanguíneo, são fundamentais para a formação do calo ósseo reparador que vai ser alongado. No entanto, apesar de parecer lógico que a preservação da vascularização intramedular seja um requisito fundamental para a futura formação do calo ósseo, esta ideia tem sido contestada por diversos

autores (DeBastiani et al, 1987; Kojimoto et al, 1988; Ilizarov, 1989b; Delloye et al, 1990; Paley, 1990; Aronson y Shen, 1994; Frierson et al, 1994; Eralp et al, 2004).

Da mesma forma que se questiona a importância, ou não, da preservação da vascularização intramedular, também o papel do periosteio e endosteio tem sido objecto de estudo.

O periosteio reveste a superfície externa de todos os ossos excepto nas superfícies articulares. É um tecido diferenciado, organizado em duas camadas: a camada interna é rica em células osteoblásticas e pré-osteoblásticas e; a camada externa é rica em fibras de colagénio e vasos sanguíneos que penetram nos canalículos intraósseos.

O endosteio é uma fina camada de tecido conjuntivo que recobre a camada medular dos ossos longos, os canais de Volkmann e Havers do osso compacto e os espaços medulares do osso esponjoso.

As células mesenquimatosas indiferenciadas (MSCs- Mesenchymal Stem Cells) que contêm no seu interior têm potencial osteogénico e hematopoiético (Bostrom et al, 2000).

Alguns autores como Ilizarov (1989a), Delloye e colaboradores (1990), Kojimoto e colaboradores (1988) ou Frierson e colaboradores (1994) afirmam que a preservação do periosteio e endosteio é fundamental para a formação do calo ósseo e restante processo de osteogénese e, por isso, a corticotomia sub-periostica é o procedimento cirúrgico recomendado na osteogénese por distração.

A maior ou menor importância da preservação do periosteio em relação à preservação da vascularização intramedular, tem dividido alguns autores: Frierson e Kojimoto afirmam que o papel do periosteio é mais importante (Frierson et al, 1994; Kojimoto et al, 1988) e; os estudos de Costantino (Costantino et al, 1990) e de Cuvilliez (1998) demonstraram que após secção total da artéria centro-medular por osteotomia, a circulação ficava restabelecida após uma semana de imobilização.

Também a superioridade do periosteio em relação ao endosteio na interferência da osteogénese foi estudada. A eliminação do endosteio não afecta de forma tão marcada todo o processo de osteogénese como acontece quando o periosteio não é preservado (Mosheiff et al, 1996; Narang et al, 1996).

Assim, para alguns autores, se houver preservação do periosteio e se nem a artéria intramedular nem o endosteio são determinantes para a osteogénese, não é imperativo a realização da corticotomia, podendo a cirurgia ser feita com osteotomia. Com base neste princípio, Costantino realizou todos os seu trabalhos experimentais de distração osteogénica com êxito em mandíbulas caninas (Costantino et al, 1990).

G - Estabilidade do distrator

A boa estabilidade durante todo o processo de distração osteogénica garante a ossificação desejada, tal como acontece na consolidação das fraturas (Ilizarov, 1989a; 1990, 1992; Aronson et al, 1988).

A resistência dos tecidos moles ao movimento e as funções dinâmicas, como a mastigação e deglutição, devem ser devidamente asseguradas pela rigidez e estabilidade do distrator.

Durante a distração osteogénica, a diferenciação das células mesenquimatosas pluripotenciais em células cartilaginosas ou ósseas, depende da vascularização e dos micromovimentos inter-fragmentários, isto é da estabilidade de todo o processo. Segundo Aoki e colaboradores (2010), a presença de um ou outro tecido determina o grau de consolidação óssea. Para a boa consolidação óssea, o desejado é que a origem seja intramembranosa (Ilizarov 1989a; Cope et al, 2001; Kunz et al, 2005).

Klotch e colaboradores (1995), em estudos experimentais, verificaram que na distração mandibular efetuada com fixação estável, o novo osso formava-se diretamente por ossificação intramembranosa, sem qualquer presença de cartilagem. Em contraste, nos casos em que ocorria instabilidade da fixação, verificava-se

a presença de tecido cartilaginoso e uma significativa diminuição de neoformação óssea, para além da presença de pseudo-artrose.

Uma fixação estável melhora a osteogénese através do efeito da pressão-tensão funcional e evita a formação de tecido fibroso e mecanismos repetitivos de rotura capilar com hemorragia, decorrentes das microfraturas (Kenwright e Goodship, 1989; Buckwalter, 1996).

Finalmente, um ritmo adequado associado a uma velocidade adequada com um distrator estável, aumenta a proliferação celular, aumenta a síntese de proteínas e provoca alterações na composição da matriz extracelular, resultando num favorável ambiente microbiológico para a formação de novo osso (Heppenstall, 1980).

Richards e colaboradores (1998), num estudo sobre a influencia da rigidez dos distratores sobre a osteogénese, concluíram que aumentando a rigidez conseguiam diminuir drasticamente a tensão sobre o espaço distracionado e que influenciava mais a arquitetura óssea do que o volume total de osso neoformado.

9. Efeitos sobre os tecidos associados

Apesar de alguns autores terem afirmado que um segmento ósseo pode ser alongado de forma segura o equivalente a 140% do seu tamanho original (Yasui et al, 1991), a aplicação clínica desta afirmação não parece viável em condições reais uma vez que o osso não se encontra isolado, mas sim rodeado por múltiplas estruturas como músculos, tendões, vasos sanguíneos, nervos e articulações (Samchukov et al, 1998).

É espectável que durante o processo de alongamento mandibular os tecidos sofram modificações estruturais que, de forma similar ao que acontece com o osso, vão depender da magnitude do alongamento, velocidade e ritmo de distração (Ilizarov, 1989a; Lee et al, 1993; Ippolito et al, 1994; Simpson et al, 1995; Lindsey et al, 2000; Williams et al, 2001; Makarov et al, 2005).

A - Tecido Nervoso

A ocorrência e a gravidade das potenciais lesões sobre as estrutura nervosas parece estar dependente da quantidade de alongamento produzido pela distração. Ippolito e colaboradores (1994) observaram que se o alongamento produzido correspondesse a apenas 8% do comprimento do nervo, as lesões eram unicamente visíveis através da microscopia eletrónica. As imagens obtidas nos trabalhos destes autores mostraram sinais de fragmentação e depósitos granulares na bainha de mielina. À medida que o alongamento era cada vez maior, as mudanças na estrutura nervosa também eram mais evidentes. Com 20% de alongamento superior ao comprimento do nervo, as alterações já eram visíveis à microscopia óptica, observando-se o espessamento inflamatório da bainha de mielina e a redução do diâmetro do axónio. Também constataram que apesar desta reação, as estruturas nervosas recuperavam a morfologia que apresentavam antes do início da distração.

Também a funcionalidade das estruturas nervosas foi estudada. Mizumoto e colaboradores (1995), num estudo experimental em coelhos, verificaram que a condução do impulso nervoso fica retardada à medida que se produzia o alongamento ósseo. Outro dado relevante desse estudo, foi a constatação de que esse efeito poderia ser contrariado se fosse aumentado o ritmo da distração para a mesma velocidade de alongamento.

Stefko e colaboradores (1993) num estudo de distração osteogénica em vértebras de cabras, não verificaram alterações clínicas ou histológicas a médio prazo das estruturas nervosas circundantes, após um alongamento de 40 milímetros.

A técnica cirúrgica de osteotomia sagital bilateral, frequentemente usada para corrigir o retrognatismo mandibular, apresenta taxas de complicações neurosensoriais pós-cirúrgicas entre os 0% e os 54% (Karas et al, 1990). A injúria provocada pela tração é tanto maior quanto maior for o avanço mandibular e pode resultar quer devido à rutura mecânica dos axónios dentro do feixe nervoso, quer por compressão dos vasa-nervorum. Pelo contrário, a distração osteogénica ao proporcionar um alongamento progressivo parece induzir a um menor dano sobre o nervo alveolar inferior (Fink et al, 2000).

Também diversos autores concluíram nos seus estudos que apesar das pequenas alterações neurosensoriais aparecerem frequentemente logo após o alongamento mandibular, os nervos alveolar inferior e infraorbitário não apresentam quaisquer danos após algumas semanas do pós-operatório (Karas et al, 1990; Fink et al, 2000).

Parece ser consensual o conceito de que os danos nas estruturas nervosas, causados pela distração lenta e progressiva, são baixos e bem tolerados (Milner, 1989; Milner e Wilkins, 1992; Fink, et al, 2000; Hu et al, 2001).

Um aspeto que pode ser também considerado é o tipo de fixação do distrator: dispositivos que evitem a colocação de parafusos intrósseos transcutâneos, como os distratores dento-ancorados, apresentam menor risco de lesão acidental do nervo alveolar inferior.

B - Vascularização

Tal como nas estruturas nervosas, a velocidade, frequência e magnitude do alongamento parecem influenciar o tipo de resposta vascular à distração (Ilizarov, 1989a; Ippolito et al, 1994; Mizumoto et al, 1995).

Ippolito e colaboradores (1994), verificaram que as artérias são mais resistentes ao processo de distração do que as veias. Num alongamento ósseo de 20% do seu comprimento, as artérias apresentavam apenas algumas alterações pontuais, enquanto que as modificações detetadas nas veias foram maiores. Neste estudo, os autores verificaram que até 8% de alongamento, não ocorriam quaisquer mudanças morfológicas dos vasos sanguíneos e; que com 20% de alongamento, as paredes vasculares adelgaçavam, as células endoteliais ficavam mais finas, ocorria perda de proteínas contrácteis e vacuolização intracelular. Com 30% de alongamento, aumentaram o número de vacúolos intracelulares e ocorria degeneração e separação das células endoteliais da membrana basal. As lesões das estruturas venosas originaram edema difuso, consequente da insuficiência venosa e da alteração dos vasos linfáticos. Aos dois meses após a distração, as mudanças estruturais descritas tinham desaparecido e já se observava um tecido vascular normal.

Ilizarov (1989a) demonstrou que à medida que era aumentada a velocidade de distração, diminuía a atividade biossintética das células arteriolares. Por outro lado, quanto maior era o ritmo da distração maior era a dita atividade celular, indicativa do crescimento tecidual.

Quanto maior for o ritmo de alongamento, maior é o número de capilares que se anastomosam entre si, aumentando a atividade angiogénica. A angiogénese inicia-se com a degradação da membrana basal endotelial dos vasos sanguíneos originais e migração das células endoteliais em direção ao estímulo. Estes brotos vasculares sobrem numerosas divisões celulares, formando o lúmen vascular, anastomosam e estendem-se, invadindo e remodelando a matriz que os rodeia (Ganey et al, 1994).

Os estudos, com raios gama, sobre o comportamento do fluxo sanguíneo durante a distração osteogénica, realizados por Aronson (1994) mostraram que há um aumento significativo da vascularização sanguínea não só na região da distração mas também nas zonas de osso circundantes aos segmentos distracionados. Este aumento era maior durante as primeiras duas semanas (cerca de dez vezes mais), diminuindo de intensidade mas mantendo-se ainda elevado (cerca de 5 vezes mais) durante todo o processo de alongamento. Durante a fase de consolidação do calo ósseo de distração, a vascularização diminui ainda mais (cerca de 3 vezes mais), mas mantendo-se igualmente elevada durante aproximadamente 17 semanas.

C - Tecido muscular

Já foi mencionado que o sucesso, a longo prazo, da distração osteogénica também depende da capacidade dos tecidos moles adjacentes em tolerar as forças de distração e adaptarem-se ao aumento do comprimento e volume do osso. À medida que o osso é alongado, os músculos adjacentes também são estirados. Assim, a distração osteogénica altera de forma significativa não só a estrutura e funcionalidade muscular como também as estruturas sobre as quais atuam estes músculos, como é o caso das articulações temporo-mandibulares.

A velocidade, ritmo e magnitude do alongamento também influenciam o tipo de resposta muscular à distração osteogénica. A alteração do tecido muscular é diretamente proporcional à velocidade de distração e inversamente proporcional ao ritmo (Ilizarov, 1989a; Yasui et al, 1991; Lee et al, 1993; Simpson et al, 1995; Lindsey et al, 2000; Makarov et al, 2001; Williams et al, 2001).

Quanto à magnitude do alongamento, parece existir um ponto crítico a partir do qual o risco de complicações aumenta. Apesar de não existir um consenso claro acerca deste valor, este situa-se entre os 20% e os 30% de alongamento (Yasui et al, 1991; Lee et al, 1993; Lindsey et al, 2000; Makarov et al, 2001).

O tecido muscular adapta-se ao alongamento, através da existência simultânea de fenómenos degenerativos e regenerativos das fibras musculares. Enquanto que algumas fibras sofrem necrose e atrofia, outras apresentam fenómenos de miofibrillogénese e aumento do número de sarcómeros e mioblastos que permitem o alongamento muscular (Simpson et al, 1995; Makarov et al, 2001).

Castano e colaboradores (2001) verificaram, através da localização imuno-histoquímica com anticorpos contra antígenos de proliferação celular, que a proliferação dos miócitos do músculo masséter localizado no lado da distração apresentava um aumento de seis vezes da reação positiva dos anticorpos contra antígenos de proliferação celular.

Habitualmente, os feixes musculares paralelos ao eixo da distração apresentam alterações compensatórias reversíveis como a hipertrofia e, aqueles situados num plano espacial diferente, apresentam sinais de atrofia muscular (Fisher et al, 1997).

Van der Muelen e colaboradores (2005), em estudos sobre distração osteogénica mandibular, verificaram que o músculo digástrico sofria uma atrofia transitória no início da distração, mas que ficava completamente regenerado após 48 dias de consolidação. Já o músculo masséter não apresentava qualquer alteração no início da distração e as primeiras alterações, como a atrofia, só eram detetadas após 20 mm de alongamento. A síntese proteica diminuía significativamente durante o período de atrofia do masséter, mas já não foi detetada no músculo digástrico. Como conclusão aos resultados obtidos, os autores sugerem que qualquer músculo afetado pela distração osteogénica feita no mesmo plano, reage e adapta-se através da regeneração compensatória ou hipertrofia. Por outro lado, músculos dispostos em diferentes planos, sofrem frequentemente atrofia e redução da síntese proteica.

A distração osteogénica com baixa velocidade e elevado ritmo, aumenta a preservação das fibras musculares existentes bem como a capacidade regenerativa do músculo (Williams et al, 1999; Makarov et al, 2001).

Histomorfologicamente, as fibras musculares alongadas são caracterizadas por um aspeto polimorfo com focos de necrose, atrofia e esclerose misturadas com outras de aparência normal. A diminuição da função e capacidade de resposta muscular também foram observadas, ocasionalmente, após a distração osteogénica, mas sempre de forma reversível. A adaptação muscular parecer ser feita mais a nível do perimísio, com reorganização do tecido conjuntivo, do que nas fibras musculares. Em estudos experimentais observou-se o aparecimento de fibrose do perimísio com aumento do colagénio do tipo I em volta do endomísio (De Deyne et al, 2000).

D - Articulação Temporomandibular (ATM)

A ATM pode sofrer alterações devidas à distração osteogénica de forma direta, decorrentes da força produzida sobre a mandíbula durante o processo ativo de distração, e indiretamente através das alterações das relações oclusais e esqueléticas, induzidas pelo alongamento mandibular.

McCormick e colaboradores (1995), num estudo experimental de distração sagital em mandíbulas caninas, observaram a presença de maior atividade osteoblástica e osteoclástica na ATM do lado contrário à distração osteogénica, apesar de afirmarem que as alterações produzidas serem mínimas e reversíveis a médio-longo prazo.

Não observaram sinais de necrose avascular, microfraturas ou qualquer processo degenerativo, mas sim sinais de maior atividade proliferativa na camada de tecido conjuntivo e na interface fibrocartilagem-osso.

Nos animais que foram submetidos à distração, a zona de cartilagem ficou mais fina e a estrutura óssea mais densa, do que nos animais do grupo de controlo. Os autores advogam que essas alterações estão diretamente relacionadas com as forças rotacionais a que os côndilos estão sujeitos durante a distração, principalmente nas zonas póstero-lateral e antero-mediana. Através da tomografia axial computadorizada tridimensional, observaram que na distração unilateral, o côndilo do lado da distração assumia uma posição mais posterior e vertical que o do lado contrário e que na distração bilateral ambos aumentavam de diâmetro e altura.

Os efeitos da distração osteogénica sobre a ATM em indivíduos em crescimento também foi estudado por diverso autores (Coprav et al, 1985; Harper et al, 1997; Kusnoto et al, 1999; Hamada et al, 2004; Ko et al, 2004; Gabbay et al, 2006; Shetye et al, 2006). Eles concluíram que apesar de pequenas alterações verificadas, estas eram totalmente reversíveis após o período de consolidação.

Nakay e colaboradores (1998), verificaram que as forças compressivas sobre o côndilo mandibular durante a distração osteogénica estimulava a ossificação endocondral, aumentando o potencial de crescimento condilar.

A velocidade de distração também parece influenciar a resposta da ATM à distração osteogénica. Thurmuller e colaboradores (2002), num estudo experimental no porco, verificaram que o alongamento mandibular de 4 mm/dia provocava alterações inflamatórias e degenerativas no côndilo mandibular e disco articular, que não eram visíveis quando a distração se fazia com uma velocidade de 1 mm/dia.

Outros autores também verificaram que as alterações degenerativas e inflamatórias não ocorriam em velocidades de distração inferiores a 1,5 mm/dia (Zou et al, 2001; Liu et al, 2003).

Outro aspeto importante no efeito da distração sagital sobre os côndilos mandibulares, está relacionado com a localização da zona de fixação dos distratores que vai influenciar o vetor de distração. Assim, quando é paralelo ao plano mandibular e não ao plano oclusal, geram-se forças laterais diretamente proporcionais à quantidade de alongamento mandibular que vão deslocar as porções mesiais e distais dos fragmentos ósseos, tornando imprevisível a morfologia mandibular no final da distração osteogénica (Samchukov et al, 2001; Molina e Ortiz-Monasterio, 1995). Para além de aumentar a distância transversal da porção distal e a distância intercondilar, provoca também uma rotação anti-horária dos côndilos mandibulares e uma rotação horária do fragmento da mandíbula mesial à osteotomia, com conseqüente aumento do ângulo goniaco.

O “torque” induzido aos côndilos pelo deslocamento transversal pode provocar efeitos nefastos e irreversíveis, como degeneração e perda da capacidade de regeneração da camada intermediária ou proliferativa (Stelnicki et al, 2001).

As implicações clínicas também podem ser nefastas, e as mais comuns são:

Mordida aberta anterior (dependendo da localização da osteotomia).

Disfunção da articulação temporomandibular.

Aumento da recidiva, por alteração da posição do côndilo mandibular na fossa glenoideia.

Reabsorção condilar, devido às forças de compressão provocadas quer pela rotação quer pelo aumento da distância intercondilar (Ow et al, 2009).

I0. Processos biológicos da distração osteogénica

A biologia da distração osteogénica aproxima-se bastante da verificada nos processos de reparação de uma fratura óssea. Com efeito, o material regenerado que se forma durante a distração não é mais do que um calo ósseo clássico de fratura que é depois esticado de forma gradual (Loboa et al, 2004).

A libertação dos segmentos ósseos por fratura em “ramo verde” desencadeia uma cascata de respostas biológicas que envolvem a migração, a diferenciação e a proliferação de várias células: células inflamatórias, angioblastos, fibroblastos, condroblastos e osteoblastos. Estas células sintetizam e segregam material extracelular bioativo como o colagénio ou os fatores de crescimento (Karaharju et al, 1990; Richards et al, 1998; Doblare et al, 2004; Loboa et al, 2004).

Tradicionalmente o processo de reparação de uma fratura consiste em seis estádios ou fases (Szachowicz, 1995; Waanders et al, 1998; Dunning, 2002; Dimitriou et al, 2005; Claes e Cunningham, 2009; Buck e Dumanian, 2012):

- I. Impacto
- II. Indução
- III. Inflamação
- IV. Calo mole
- V. Calo duro
- VI. Remodelação

O estádio do impacto inicia-se no momento do stress mecânico sobre o osso e termina quando existe a separação completa e dissipação total da energia sobre o osso. Na fase de indução, indutores como a tensão de oxigénio, proteínas não colagénicas e outros, proporcionam o encetar da modelação celular para se iniciar o processo de reparação (Dimitriou et al, 2005).

No caso da distração osteogénica após a osteotomia, inicia-se o período de latência que se estende até à primeira ativação e durante o qual vai ser formado o calo de reparação. O processo inicia-se com a formação de um hematoma entre e em redor dos segmentos seccionados. O hematoma transforma-se em coágulo sanguíneo e inicia-se um processo de necrose nas margens dos fragmentos ósseos. Nesta fase verifica-se uma grande atividade de proliferação celular e aumento regional de elementos responsáveis pela angiogénese capilar

para restaurar o suprimento sanguíneo. Esta fase inflamatória dura cerca de 1 a 3 dias e o coágulo é substituído por tecido de granulação contendo células inflamatórias, fibroblastos, colagénio e numerosos capilares que se anastomosam com os vasos dos tecidos periféricos. Após aproximadamente uma semana, isto é, no final da fase de latência, o tecido de granulação é progressivamente substituído quer por tecido fibroso quer por tecido cartilaginoso, sendo este último essencialmente localizado adjacente ao periosteio, originando uma entidade macroscópica denominada de calo mole à medida que a circulação é restabelecida inicia-se o processo de diferenciação celular. As células mesenquimatosas proliferam e diferenciam-se originando um novo fenótipo.

Estas células podem originar osteoblastos, condroblastos ou fibroblastos, dependendo das condições mecânicas e biológicas locais, e sintetizam a matriz extra-celular do tecido correspondente ao seu fenótipo. Em condições normais estas células originam osteoblastos e/ou condroblastos, ocorrendo uma ossificação de origem intramembranosa e/ou endocondral. No caso da diferenciação celular originam o aparecimento de maior quantidade de fibroblastos, o espaço da distração fica preenchido por tecido conjuntivo fibroso, criando uma pseudo-artrose.

Na reparação normal de uma fratura, o calo mole é progressivamente substituído por tecido ósseo primário dando origem a uma nova entidade denominada de calo duro. À medida que ocorre invasão vascular há calcificação da matriz cartilaginosa pela deposição de matriz óssea pelos osteoblastos. Este estágio pode durar cerca de 3 a 4 meses sendo seguido pelo período de remodelação, no qual o tecido ósseo primário vai sendo remodelado em tecido ósseo compacto ou lamelar.

Na distração, o processo normal de reparação de uma fratura é interrompido: o calo mole é esticado por forças de tensão e observam-se vários fenómenos de osteogénese, que incluem a proliferação de células progenitoras, aumento do fluxo sanguíneo, proliferação vascular e aumento local dos fatores de crescimento e proteínas de matriz necessárias à formação óssea (Carvalho et al, 2004).

O efeito da tensão origina alterações a nível celular e sub-celular, ativando mecanismos biológicos que incluem o aumento da angiogénese, com consequente aumento da concentração local de oxigénio, e aumento da proliferação dos fibroblastos com intensificação da sua atividade de biossíntese.

Mehrara e colaboradores (1999), demonstraram a presença de diversas citocinas envolvidas na regulação da síntese e remodelação óssea. O fator de crescimento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), sintetizado pelas células inflamatórias, aumenta cerca de duas vezes a sua concentração três dias após a osteotomia e mantém-se elevado até ao período de consolidação. O mesmo acontece com as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs), com o fator de crescimento da insulina (IGFs), e o fator de crescimento dos fibroblastos (FGFs).

Não são apenas as citocinas que estão envolvidas na proliferação e diferenciação das células ósseas que são estimuladas durante o período de distração mas também os genes associados à angiogénese.

A resposta celular às forças mecânicas depende do tipo celular, estágio de diferenciação, magnitude e tipo de carga a que é sujeita (Richard et al, 1998; Meyer et al. 1999; 2001; Lobo et al, 2004).

Kanno e colaboradores (2005) através da colheita de periosteio de mandíbulas humanas, demonstraram que a força de tensão induz a expressão do fator de transcrição de osteoblastos RUNX2, sugerindo a diferenciação das células do periosteio em células da linha osteoblástica.

O efeito da tensão altera a forma dos fibroblastos, ficando os seus filamentos intermediários com uma aparência hipertrófica. Assim a síntese das fibras de colagénio faz-se de forma paralela ao vetor de distração.

Entre o terceiro e o sétimo dia da distração, os capilares à medida que se desenvolvem invadem o tecido fibroso não só em direção ao centro do espaço de distração mas também comunicando com o canal medular dos segmentos ósseos proximais. Na segunda semana inicia-se a formação de tecido ósseo trabeculado. Os osteoblastos iniciam a deposição de osteóide ao longo das fibras de colagénio, fazendo com que as trabéculas se tornem mais largas pela aposição circunferencial e contínua de osteóide, ocorrendo todo o processo de ossificação de uma forma centrípeta. Desta forma é possível identificar uma zona específica no espaço de

distração - zona fibrosa- onde se verifica o efeito máximo da força de tensão. Radiograficamente observa-se uma zona pouco mineralizada e radiotransparente, localizada no centro do espaço de distração. Esta zona é formada por fibras de colagénio altamente organizadas, paralelas e orientadas longitudinalmente, identificando-se os fibroblastos hipertrofiados e células mesenquimatosas indiferenciadas presentes na matriz. A presença de tecido fibroso e cartilagem no interior da zona fibrosa sugere que durante a distração osteogénica ambos os processos de ossificação desempenham um papel importante.

Ao longo de todo o processo de alongamento e à medida que as trabéculas ósseas se formam em direção ao centro da distração, a zona fibrosa impede a sua união, favorecendo a manutenção de toda a dinâmica de regeneração e fazendo com que essas trabéculas funcionem como verdadeiras zonas de crescimento. Esta dinâmica cessa quando o dispositivo deixa de ser ativado e a zona fibrosa desaparece, permitindo a união completa dos segmentos ósseos.

Durante o período de consolidação ocorre a restante mineralização e ossificação de todo o espaço distracionado.

A ossificação intramembranosa verifica-se predominantemente junto aos segmentos seccionados e próximo das zonas envolvidas por perióstio; enquanto no centro da distração pode aparecer uma ossificação essencialmente de origem endocondral.

À medida que o tempo passa, as duas frentes de ossificação dirigem-se para o centro da zona de distração, sendo possível a observação, ao fim de uma semana, do alinhamento das fibras de colagénio com o vetor de distração (Li et al, 1997).

Sato e colaboradores (1998) sugerem que a tensão mecânica mantém e prolonga o processo de regeneração óssea através da manutenção do estado proliferativo das células osteoprogenitoras na zona de distração. Apesar do principal processo de ossificação observado durante a distração osteogénica ser predominantemente intramembranosa, podem-se observar áreas de cartilagem sugestivas de um processo de ossificação endocondral. Apesar de pouco descrito, um terceiro tipo de ossificação pode ocorrer, sendo descrito como transcondróide. Nestes casos, os condrócitos encontram-se envolvidos numa matriz mineralizada, ocorrendo uma transformação direta em tecido ósseo sem se verificar as etapas clássicas de ossificação endocondral. As áreas de tecido ósseo trabecular adjacentes aos segmentos iniciam o seu processo de remodelação.

O período de remodelação, inicia-se quando o osso fica sujeito às forças funcionais da sua normal atividade, permitindo a remodelação do tecido ósseo primário.

Efeito da carga mecânica na diferenciação celular

Tal com já referido, a fase inicial da distração observada em experimentação animal é caracterizada pela formação de um calo cartilaginoso muito semelhante ao que ocorre na reparação de uma fratura.

À medida que a distração se processa, há estimulação para a formação de novo osso diretamente por ossificação intramembranosa e numa fase mais tardia, muitos dos condrócitos presentes sintetizam colagénio tipo I específico do tecido ósseo e colagénio tipo II específico de cartilagem (Aronson et al, 1989; Yasui et al, 1997; Li et al, 2000).

Pode-se especular que a tensão-stress inibe diretamente a diferenciação dos condrócitos para a sua fase de hipertrofia, ocorrendo desta forma uma transdiferenciação em células osteoblásticas. Esta transdiferenciação do potencial condrogénico para osteogénico pode traduzir a sensibilidade das células pluripotentes às forças de tensão.

É interessante realçar que apesar da formação de cartilagem durante a distração osteogénica ocorrer em muitos modelos animais e não ser dependente do tipo de osso distracionado (longos ou achatados) este fenómeno não é observado no osso alveolar da mandíbula humana (Komuro et al, 1999; Swennen et al, 2002).

Carter e colaboradores (1998) num estudo sobre o padrão de forças aplicadas no espaço de distração e nos segmentos proximais do osso nativo, baseado na análise de elementos finitos, concluíram que a diferenciação das células mesenquimatosas em tecido ósseo, cartilagem ou tecido fibroso depende do binómio tensão-stress, aos quais os tecidos são sujeitos durante a distração.

A formação de tecido ósseo ocorre nas regiões sujeitas a uma pressão hidrostática média e a forças de tensão baixas ou moderadas. A cartilagem forma-se nas regiões da pressão hidrostática com maior compressão. A elevada força de tensão parece ser um estímulo para a formação de tecido fibroso. Este conceito sugere que a estimulação mecânica é responsável pela alteração do fenótipo celular.

O efeito da estimulação mecânica nas células também pode ser estudado comparando a regeneração óssea durante a distração osteogénica, com a regeneração verificada durante a normal (estática) reparação de uma fratura.

Durante a distração osteogénica foi observado um aumento de proteínas morfogénicas do osso (BMPs), fatores angiogénicos, citocinas e fatores de crescimento, envolvidos na proliferação e diferenciação das células osteogénicas, mais marcante do que o observado no processo estático de reparação de uma fratura.

Yukata e colaboradores (2009) observaram um aumento de citocinas e fatores de crescimento no plasma sanguíneo de indivíduos submetidos à distração osteogénica.

A estimulação proporcionada pela técnica de distração osteogénica sobre a osteogénese e demais eventos celulares e moleculares parece contradizer a teoria de que uma fratura submetida a algum tipo de movimento (carga) pode resultar numa não-união ou pseudo-artrose (Ferguson et al, 1999).

Uma força de tensão controlada e gradual, como a aplicada na técnica de distração osteogénica, parece ser responsável pela formação de novo osso e prevenir a formação de uma não-união fibrosa.

Pode-se assim sugerir que a carga mecânica desempenha um papel importante na estimulação osteogénica.

Capítulo II. Estudo Experimental em Modelo Animal

I. Objetivos

Este trabalho experimental foi concebido tendo como objetivos:

1. Avaliação radiográfica, densitométrica, histológica e histomorfométrica do novo osso formado pelo mecanismo de distração osteogénica, com um dispositivo intra-oral e dento-ancorado, no alongamento sagital de mandíbulas caninas.
2. Estudar o efeito de duas frequências diferentes de distração na qualidade e quantidade do osso neoformado durante o processo de distração osteogénica.
3. Avaliar o vetor de distração criado pela disposição espacial dos distratores dento-ancorados e o seu efeito sobre a angulação do corpo mandibular com o ramo ascendente e côndilo mandibular após a osteogénese por distração.
4. Estudar as alterações biomecânicas produzidas pela força de distração.

2. Materiais e Métodos

2.1. Animal de experimentação

Foi desenvolvido um modelo experimental utilizando como animal de laboratório o cão, de acordo com as normas da Direção-Geral de Alimentação e Veterinária com a autorização nº 0420/000/000/2012.

Foram utilizados dez cães (*Canis familiaris*) da raça Beagle de origem pura, nascidos e criados para fins de investigação, certificados pelo *Colegio Oficial de Veterinários da Catalunya – Barcelona*, e adquiridos à *Isoquimen, S.L.* (Barcelona, Espanha).

Todos os animais apresentavam uma identificação através de sistema de *chips* subcutâneos localizados na zona do dorso.

2.2. Manutenção e bem estar animal

A recepção, observação, manutenção, manipulação, cuidados e procedimentos cirúrgicos foram efetuados no Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, em Vila Real, sob supervisão do Investigador Coordenador responsável pelo Bem Estar Animal.

O estado de saúde geral dos animais, à chegada à unidade hospitalar, foi avaliado por veterinários com experiência prévia e qualificação na área de experimentação animal. Excluídas quaisquer patologias agudas ou crónicas, os animais foram mantidos num período de quarentena, com observação diária, durante um intervalo de tempo nunca inferior a duas semanas. Todos os animais permaneceram numa fase de ambientação às novas instalações, aos cuidadores e ao sistema de controlo clínico durante aproximadamente 12 semanas, antes de qualquer intervenção.

No momento da primeira intervenção experimental, os animais tinham cerca de 14 meses de idade e pesos compreendidos entre os 15 e 18 quilogramas (Tabela 2.1).

Os animais foram alojados, aos pares, em estruturas normalizadas e adequadas para a sua espécie, devidamente identificadas quanto ao estudo em questão e ao número de cada animal e com as condições laboratoriais apropriadas de ciclos de luz e temperatura.

A água, facultada aos animais *ad libitum*, teve como origem a rede de abastecimento municipal.

A dieta foi providenciada uma vez por dia, com ração seca de origem comercial (Canine Adult Lamg & Rice, Chicken Advanced Fitness, Hills™) com concentrações de contaminantes controladas e analisadas pelo

fabricante. Após a intervenção cirúrgica e durante os períodos de latência e de alongamento mandibular, a ração foi amolecida em água morna, na proporção de 1 para 3, antes de ser fornecida. No restante período experimental e até à eutanásia (período de consolidação), os animais tiveram à disposição água *ad libitum* e alimentação amolecida, da mesma ração, misturada com água na proporção de 1 para 1.

Como já foi referido, a manutenção dos animais e os protocolos anestésico e cirúrgico foram avaliados e aprovados pela Direção de Serviços de Saúde e Protecção Animal, da Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, respeitando a Portaria n.º 1005/92 de 23 de Outubro, a Portaria n.º 466/95 de 17 de Maio, a Portaria n.º 1131/97 de 7 de Novembro e os regulamentos da Legislação da comunidade europeia para o Bem-Estar Animal e experimentação Animal.

Tabela 2.1 - Tabela de identificação dos animais da amostra.

N.º do animal	N.º de Identificação	Sexo	Data de nascimento	Data da 1.ª intervenção	Peso Inicial
1	93800000507015	Masculino	24/11/2009	15/01/2011	15,2 kg
2	93800000520579		24/11/2009		16,3 kg
3	938000000412485		24/11/2009		15,8 kg
4	938000000499832		09/12/2009		17,1 kg
5	938000000518989		10/12/2009		18,0 kg
6	938000000374475		24/11/2009		15,6 kg
7	938000000373659		24/11/2009		16,5 kg
8	938000000501849		10/12/2009		17,2 kg
9	938000000383528		24/11/2009		16,7 kg
10	93800000090441		24/11/2009		18,1 kg

2.3. Aparelho estomatognático e fórmula dentária do cão

O aparelho estomatognático do cão Beagle apresenta algumas diferenças significativas, relativamente ao homem. A articulação temporomandibular tem um eixo de charneira simples, o que limita os movimentos excursivos.

A dentição do cão adulto (Figura 2.1, Figura 2.2 e Figura 2.3) é composta por quarenta e dois dentes, com a seguinte fórmula dentária:

$$I \left(\begin{array}{c} 3 \\ 3 \end{array} \right) \quad C \left(\begin{array}{c} 1 \\ 1 \end{array} \right) \quad PM \left(\begin{array}{c} 4 \\ 4 \end{array} \right) \quad M \left(\begin{array}{c} 2 \\ 3 \end{array} \right)$$

A anatomia normal num cão adulto mesocéfalo é caracterizada por um articulado incisivo em bisel, no qual os incisivos superiores estão por vestibular em relação aos inferiores. O canino inferior oclui entre o canino superior e o incisivo lateral, a uma distância equidistante dos dois, mas não os tocando. Os pré-molares superiores estão colocados em alternância perfeita com os seus homólogos inferiores (Emily e Penman, 1992).

Os dentes incisivos apresentam coroas trituberculadas com a maior proeminência central; a face vestibular da coroa é convexa em oposição à face lingual côncava e separada do colo por um cingulo em forma de V. Os incisivos superiores são maiores e em oclusão o terceiro incisivo superior situa-se numa posição mais vestibular em relação ao terceiro incisivo inferior.

Os dentes caninos são os mais compridos, cónicos e curvados para distal. A forma dos caninos superiores e inferiores é semelhante, mas a coroa dos inferiores é mais curta e curvada. Entre o último incisivo superior e o canino há um espaço suficiente para alojar o canino inferior, mas em oclusão não se desgastam.

A coroa dos pré-molares é mais comprida do que larga e possui uma cúspide central. As duas raízes, mesial e distal, são mais longas do que a coroa e os pré-molares inferiores tendem a ser mais pequenos do que os superiores. O primeiro pré-molar possui uma única raiz e uma pequena coroa com uma única cúspide pontiaguda. O último pré-molar superior é muito maior do que os restantes e possui uma terceira raiz mais pequena.

O primeiro molar superior é triangular, possui três cúspides, duas vestibulares e uma palatina, sendo a méso-vestibular aquela que apresenta maiores dimensões. A posição das raízes acompanha a das suas cúspides, sendo a palatina aquela que apresenta maiores dimensões. O segundo molar é semelhante ao primeiro, mas de menores dimensões.

O primeiro molar inferior é muito grande, possui uma raiz distal e outra vestibular e os dois terços mesiais da coroa contêm duas cúspides de tipo cortante, enquanto o terço distal é baixo e achatado. A face vestibular da coroa é mais convexa do que a lingual. O segundo molar inferior é semelhante ao primeiro, mas mais pequeno. O terceiro molar inferior é um dente pequeno, cónico, de raiz única e com uma face molariforme (Caramês, 2001).



Figura 2.1 - Dentição definitiva de um dos animais sujeitos ao estudo.

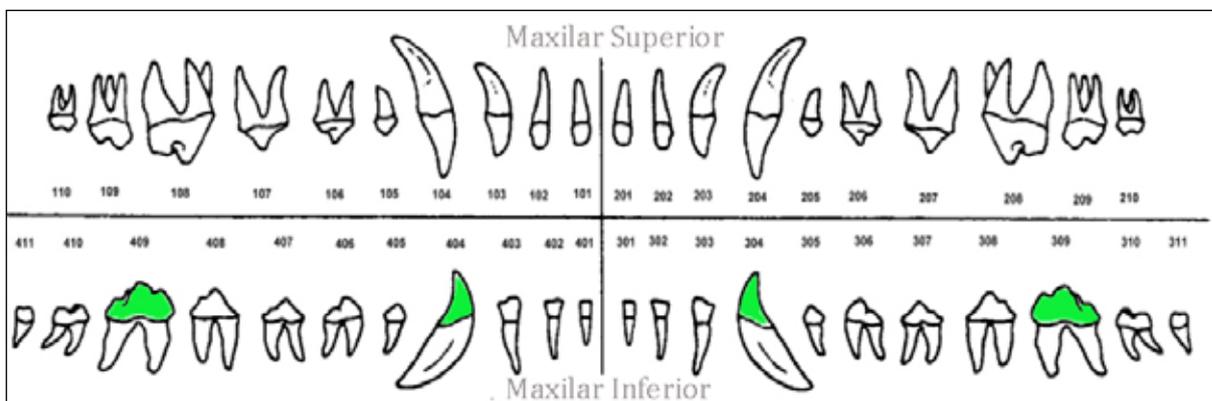


Figura 2.2 - Odontograma da dentição do cão com identificação dos dentes que serviram de ancoragem ao aparelho de distração.

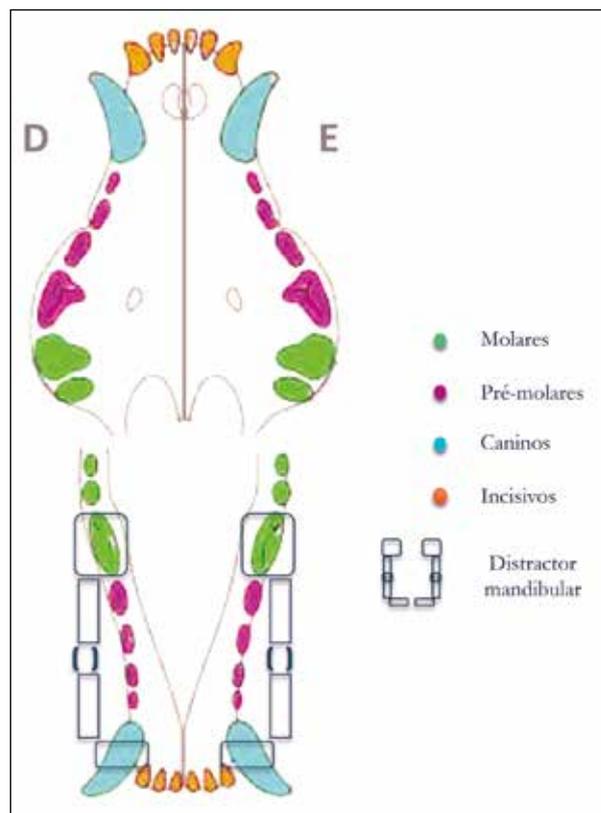


Figura 2.3 - Diagrama da dentição do cão com identificação dos dentes que serviram de ancoragem ao aparelho de distração.

2.4. Definição dos grupos de estudo

Inicialmente a amostra, constituída por dez cães da raça Beagle, foi dividida pela metodologia de randomização em dois grupos: um grupo de controlo, constituído por três animais que não foram sujeitos à distração osteogénica e; um grupo de teste, constituído por sete animais que foram submetidos à distração osteogénica.

Em cada animal do estudo foram consideradas as hemimandíbulas esquerda e direita, ficando o grupo de controlo constituído por seis hemimandíbulas e o grupo de estudo submetido à osteogénese por distração constituído por catorze hemimandíbulas.

Cada animal do grupo de teste foi submetido a dois protocolos diferentes de distração: a hemimandíbula direita foi submetida a uma distração bi-diária de 0,5 mm de 12 em 12 horas e; a hemimandíbula esquerda foi submetida a uma distração diária única de 1 mm.

Assim, para a realização do estudo foram constituídos três grupos (Tabela 2.2 e Figura 2.3) através de uma abordagem que permitiu que os animais de teste fossem sujeitos ao mesmo número de intervenções e de procedimentos até à eutanásia, obtendo assim, uma maior homogeneidade das variáveis de base no início do estudo.

Tabela 2.2 - Síntese do protocolo dos diferentes grupos.

Grupos	Designação do grupo	Hemimandíbulas (n.º)	Procedimento	Dentes de ancoragem	Técnica cirúrgica
Controlo	A	6	Sem intervenção		
Teste	B	7	Distração múltipla	Canino e primeiro molar mandibulares	Osteotomia
	C	7	Distração única	Canino e primeiro molar mandibulares	Osteotomia

2.5. Organização e cronologia do trabalho

Este estudo experimental, desde a primeira intervenção até à eutanásia dos animais, decorreu num período de tempo aproximado de 5 meses(entre Dezembro de 2010 e Maio de 2011), dividido pelas diversas fases de intervenção esquematicamente colocadas no *workflow* (Figura 2.4).

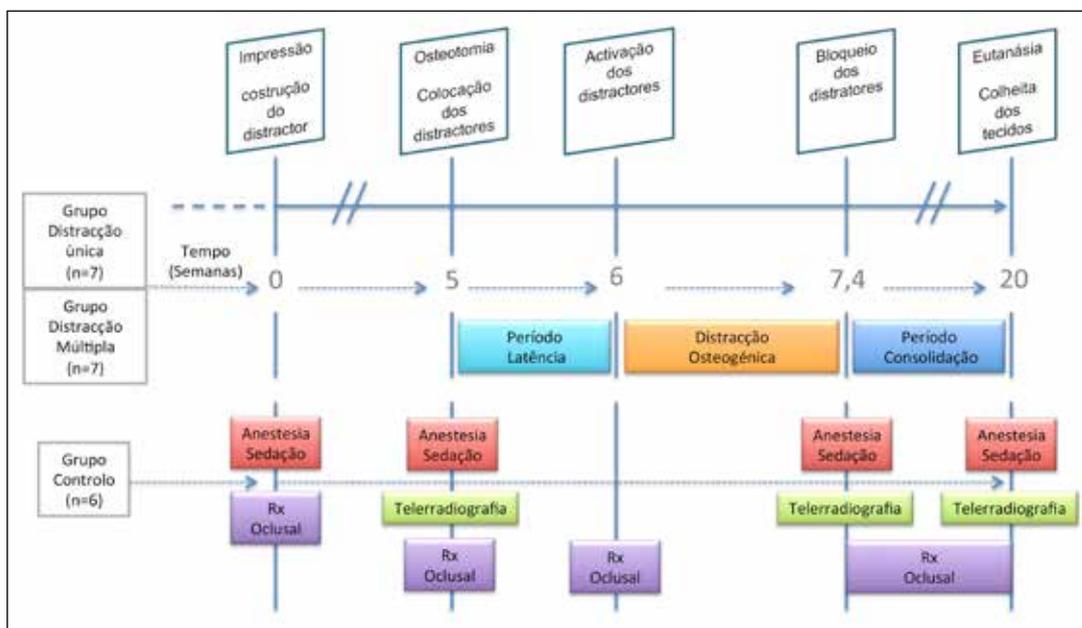


Figura 2.4 - Workflow do estudo experimental em modelo animal.

2.6. Anestesia e sedação

Todos os procedimentos operatórios foram realizados no bloco operatório do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. A equipa multidisciplinar envolvida nas fases do ensaio experimental que requeriam anestesia e sedação dos animais foi constituída por dois médicos dentistas, pelo menos dois médicos veterinários, uma técnica de laboratório, uma auxiliar de acção médica e duas tratadoras de animais. Na fase do estudo experimental em que foi realizada a cirurgia (osteotomia) aos animais, a equipa foi enriquecida com mais um médico dentista e um médico especialista e cirurgia maxilo-facial.

O protocolo anestésico a que os animais foram submetidos é constituído por duas fases. A primeira consistiu numa pré-medicação inicial por via intramuscular (IM) com morfina 2% (0,3 mg/kg, B Braun Medical, Portugal) e dexmedetomidina (0,005 mg/kg, Dexedomitor®, Esteve Farma, Portugal), meia hora antes da intervenção.

A segunda fase do protocolo anestésico, utilizada nos momentos da cirurgia e eutanásia, foi realizada da seguinte forma: imediatamente após a pré-medicação (primeira fase), foi cateterizada a veia cefálica com um cateter (Introcan® -W 22G, B Braun Medical, Portugal) e efetuada a indução anestésica geral com administração endovenosa de diazepam (0,2 mg/kg, Diazepam Labesfal, Portugal) e propofol (2 mg/kg, Propofol Lipuro 2% B Braun Medical, Portugal). Esta perfusão venosa foi mantida com lactato de Ringer (Braun Vet, Portugal) sendo depois efetuada uma intubação com um tubo endotraqueal nº 6 (In Tube®, Intersurgical, Portugal) para a administração de uma mistura de oxigénio a 100% com 1 a 2% de isoflurano (Isoflo®, Esteve Farma, Portugal) de modo a permitir a manutenção anestésica.

No decurso das intervenções operatórias foi realizada uma monitorização contínua da frequência e ritmo cardíaco com eletrocardiograma (ECG), da pressão arterial média pelo método oscilométrico, da ventilação com capnografia e da saturação de oxigénio com oxímetro de pulso portátil. A temperatura corporal foi controlada de 30 em 30 minutos com termómetro digital.

No pós-operatório, todos os animais dos grupos de teste foram medicados com uma dose única subcutânea de meloxicam (0,2 mg/kg, Meloxidyl®, Ceva Santé Animal, França) sem recurso à antibioterapia.

Para a execução das impressões das arcadas dentárias mandibulares e adaptação das bandas ortodónticas, das telerradiografias cefalométricas e controlos radiográficos, foi necessária a sedação dos animais através da administração intramuscular de butorfanol (0,2 mg/kg, Dolorex®, Intervet Schering Plough Animal Health, Portugal) e dexmedetomidina (0,005 mg/kg, Dexedomitor®, Esteve Farma, Portugal).

2.7. Dispositivo de alongamento sagital mandibular

O distrator mandibular foi desenvolvido e confeccionado em laboratório especialmente para ser utilizado neste estudo experimental.

Após a sedação dos animais através da administração intramuscular de butorfanol (0,2 mg/kg, Dolorex®, Intervet Schering Plough Animal Health, Portugal) e dexmedetomidina (0,005 mg/kg, Dexedomitor®, Esteve Farma, Portugal), foram selecionadas e adaptadas bandas ortodónticas (Ormco, Sybron Dental Specialties Inc., USA) aos dentes canino mandibular direito, canino mandibular esquerdo, primeiro molar mandibular direito e primeiro molar mandibular esquerdo. De seguida, foi realizada uma primeira impressão da arcada mandibular de cada animal com pasta densa de silicone de adição (Express™ 2 Putty Soft, 3M ESPE, St. Paul, EUA) que, pela sua dureza, permitiu servir de estrutura/moldeira para a segunda impressão com pasta fluida de silicone de adição (Express™ VPS Light/Regular Body Fast, 3M ESPE, St. Paul, EUA) (Figura 2.5). Posteriormente foi feita uma moldeira individual para cada animal com placas de resina acrílica fotopolimerizável (Triad®, DENTSPLY International Inc., EUA) polimerizadas num dispositivo com lâmpada de halogéneo (Triad® 2000 VLC UNIT, DENTSPLY International Inc., EUA) (Figura 2.6). Com as moldeiras confeccionadas, foram feitas novas impressões da arcada mandibular de cada animal (Figuras 2.7 e 2.8), com os silicões de adição e enviadas ao laboratório de prótese para a construção dos distratores mandibulares em modelos de gesso (Figura 2.9).



Figura 2.5 - Impressão da arcada mandibular para a confecção da moldeira individual.



Figura 2.6 - Fotopolimerizador utilizado na construção das moldeiras individuais.



Figura 2.7 - Impressão da arcada mandibular e bandas ortodônticas para os modelos de trabalho.



Figura 2.8 - Aspeto final da impressão com moldeira individual.



Figura 2.9 - Modelo de trabalho em gesso com as bandas ortodônticas.

O distrator mandibular construído em laboratório (Figura 2.10 a 2.12), utilizado neste estudo, foi do tipo uniplanar e unilateral e consistiu num parafuso de disjunção em aço inoxidável (Variety SP® DENTAURU GmbH & Co., Ispringen, Alemanha) adaptado e soldado às bandas ortodônticas através de duas barras conectoras de 1,2 mm de diâmetro, com solda universal à base de prata e sem cádmio, com 0,1 mm de diâmetro (Produites Dentaires SA, Vevey, Suíça).

Depois de confeccionado, cada aparelho foi imerso num banho ultrassónico, Quantrex® (L&R, Bruxelas, Bélgica), de desinfetante Elusept® (Pierre Fabre, Ramonville, França), durante 15 minutos, embalado, identificado e esterilizado num esterilizador a vapor de água saturada horizontal (Figura 2.13) e enviado ao Hospital Veterinário para testar a boa adaptação a cada hemimandíbula dos animais de teste (Figura 2.14).

O mecanismo do parafuso é do tipo rotação-pressão, permitindo a desmultiplicação do esforço para o alongamento, com uma dilatação máxima de 12 mm. O movimento de rotação de 360° em torno do seu eixo, produz um movimento de translação segundo esse eixo (alongamento sagital) de 0,8 mm. Uma única ativação do parafuso, permite apenas uma rotação de 90° (1/4 de volta), produzindo um alongamento de 0,2 mm, e apresenta um sistema de travão que impede o retorno acidental da ativação (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Propriedades biomecânicas do dispositivo de alongamento.

Corpo do parafuso	Alongamento máximo	Ativação (1/4 de volta)	Diâmetro da barra	Material
9,6 mm	12 mm	0,2 mm	1,2 mm	Aço inoxidável

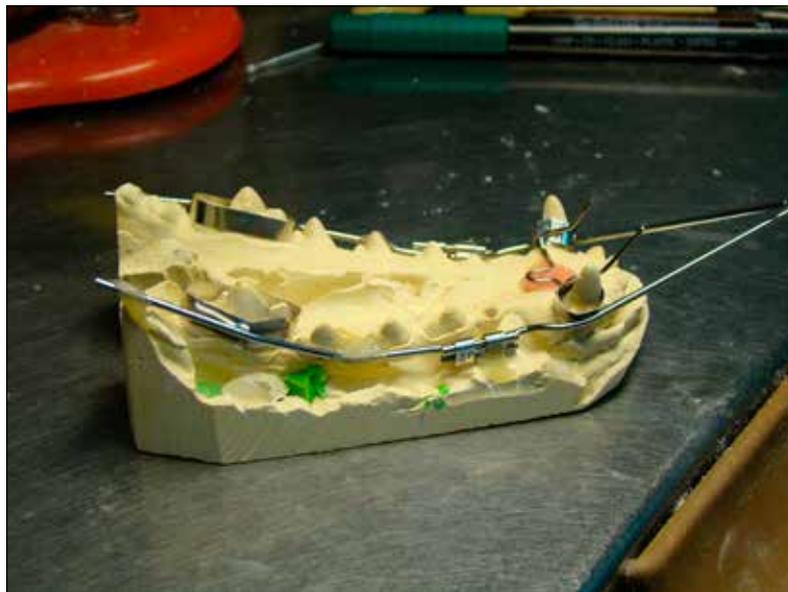


Figura 2.10 - Adaptação do parafuso de disjunção às bandas ortodônticas.



Figura 2.11 - Figura demonstrativa da soldagem.



Figura 2.12 - Aspeto final dos aparelhos construídos para cada hemimandíbula para cada animal do estudo experimental.



Figura 2.13 - Dispositivos embalados e esterilizados.

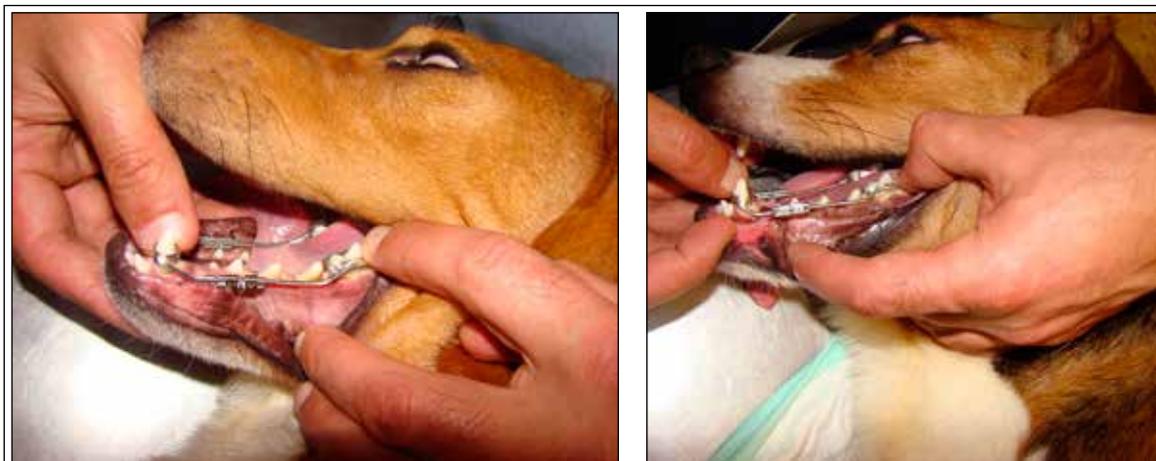


Figura 2.14 - Prova dos distratores para verificar a correta adaptação.

2.8. Protocolo da distração osteogénica

O protocolo desenvolvido para a distração osteogénica compreendeu um total de cinco fases distintas: 1) Fase cirúrgica; 2) Período de latência; 3) Fases de alongamento mandibular (distração); 4) Período de Consolidação; 5) Eutanásia (Figura 2.15). Cada animal sujeito à distração osteogénica integrou os dois grupos de teste: a hemimandíbula direita integrou o Grupo B e a hemimandíbula esquerda integrou o Grupo C. Como já foi referido, esta abordagem permitiu que os animais de teste fossem sujeitos ao mesmo número de intervenções e de procedimentos até à eutanásia, obtendo assim, uma maior homogeneidade das variáveis de base no início do estudo.

Aos animais do grupo de controlo (Grupo A) não foi aplicado qualquer tratamento durante todo o processo experimental, seguindo o seu desenvolvimento natural. As seis hemimandíbulas foram utilizadas como referencia na análise radiográfica, telerradiográfica, densitométrica, histomorfométrica e histológica.

Durante o decorrer do processo experimental de distração osteogénica, os animais de todos os grupos foram submetidos a exames radiográficos e telerradiográficos imediatamente antes do momento da cirurgia, imediatamente após a cirurgia e semanalmente até à eutanásia.

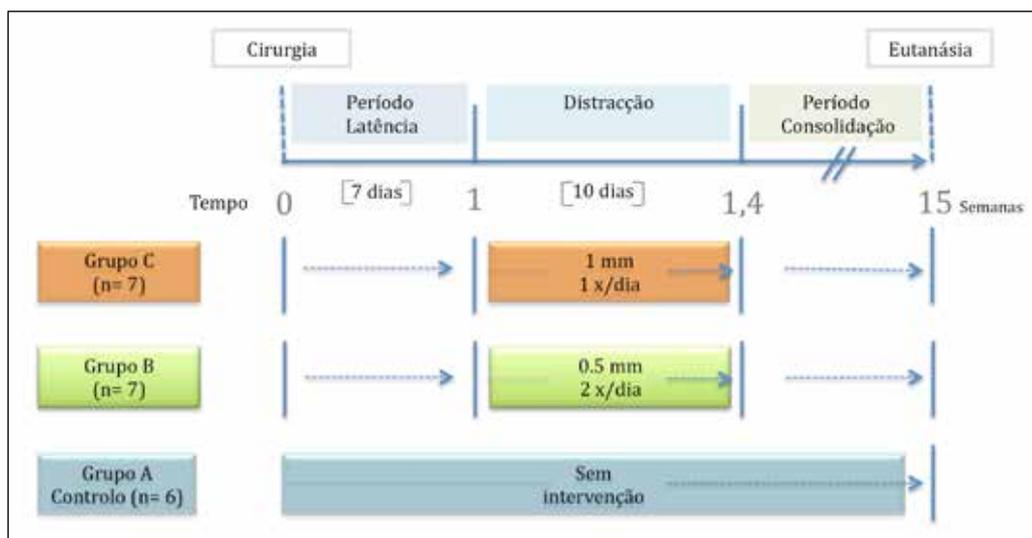


Figura 2.15 - Diagrama cronológico das etapas do protocolo de distração osteogénica.

2.8.1. Cirurgia

Os procedimentos cirúrgicos, após indução anestésica geral, foram efetuados através de técnicas assépticas padronizadas. Todo o instrumental cirúrgico foi esterilizado em autoclave de acordo com o protocolo hospitalar vigente. A preparação da área envolvida na intervenção foi efetuada através da desinfeção peri-oral com solução de iodopovidona (Betadine®, Mundipharma AG, Basileia, Suíça) e inta-oral com digluconato de clorhexidina a 0,1 % e clorobutanol hemi-hidratado a 0,1% (Eludril®, Pierre Fabre, Ramonville, França).

Cada animal foi imobilizado atraumaticamente (Figura 2.16) numa mesa operatória cirúrgica e correctamente posicionados de acordo com o procedimento a efectuar, alternando a posição de decúbito lateral esquerdo ou direito dependendo da hemimandíbula a ser intervencionada (Figura 2.17). Para facilitar o acesso à zona de intervenção, foi colocado um fio de nylon entre as comissuras labiais e preso ao dorso de cada animal.



Figura 2.16 - Colocação de um dos animais na mesa operatória, em decúbito lateral, após indução anestésica geral.

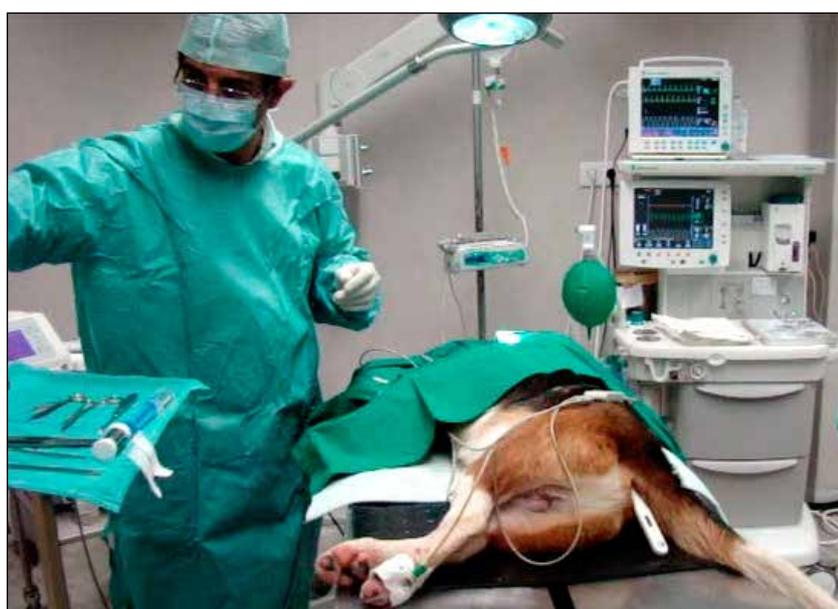


Figura 2.17 - Imagem demonstrativa do início da cirurgia num dos animais do estudo.

Por precaução e para salvaguardar a exata avaliação e distinção radiográfica dos fragmentos ósseos durante o processo de distração e consolidação óssea, foram colocados parafusos cruciformes de 2 mm de diâmetro e 6 mm de comprimento (KLS Martin®, Umkirch, Alemanha), entre o segundo e terceiro pré-molar e entre o quarto pré-molar e o primeiro molar de cada hemimandíbula esquerda (Figura 2.18, Figura 2.19 e Figura 2.20).



Figura 2.18 - Perfuração da mucosa e tábua óssea vestibular para a colocação do parafuso.



Figura 2.19 - Inserção do parafuso com chave manual.

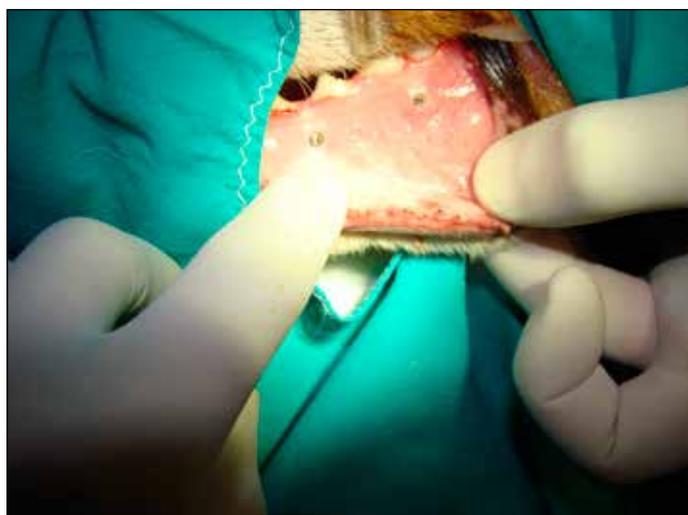


Figura 2.20 - Aspeto final da colocação dos dois parafusos.

Em cada hemimandíbula, foi feita uma incisão vestibular inferior de aproximadamente 3 cm de extensão (Figura 2.21), com uma lâmina de bisturi nº 10 (Aesculap®, B Braun Medical, Portugal). De seguida foi realizado o descolamento sub-periósteo, revelando o bordo alveolar e basilar bem como a face externa vestibular do ramo horizontal da mandíbula correspondente ao local da osteotomia (Figura 2.22). Com serra elétrica de movimento recíproco (Aesculap Power Systems®, B Braun, EUA), foi realizada a osteotomia do bordo basilar, tábua externa e região alveolar entre o terceiro pré-molar mandibular e o quarto pré-molar mandibular (Figura 2.23). Este passo cirúrgico foi efetuado com irrigação permanente de soro fisiológico estéril. De seguida foi introduzido e encravado um osteótomo recto nº 7 (Aesculap®, B Braun Medical, Portugal) no local da osteotomia com recurso a martelo (Aesculap®, B Braun Medical, Portugal) e aplicaram-se movimentos de torsão até se obter a osteotomia da tábua interna, preservando assim quer a continuidade do rolo vâsculo-nervoso alveolar inferior quer todo o recobrimento periósteo e mucoso da face externa lingual da mandíbula (Figura 2.24).

Após verificação da mobilidade óssea, foi efetuada a hemóstase (Figuras 2.25 e 2.26) por electrocoagulação (Valleylab™ Suction Coagulator, Coviden, EUA).

O encerramento dos tecidos moles foi realizado num só plano, através de sutura reabsorvível (Coated Vicryl® 3/0, Ethycon, Edimburg, Reino Unido) com pontos contínuos (Figuras 2.27 e 2.28).

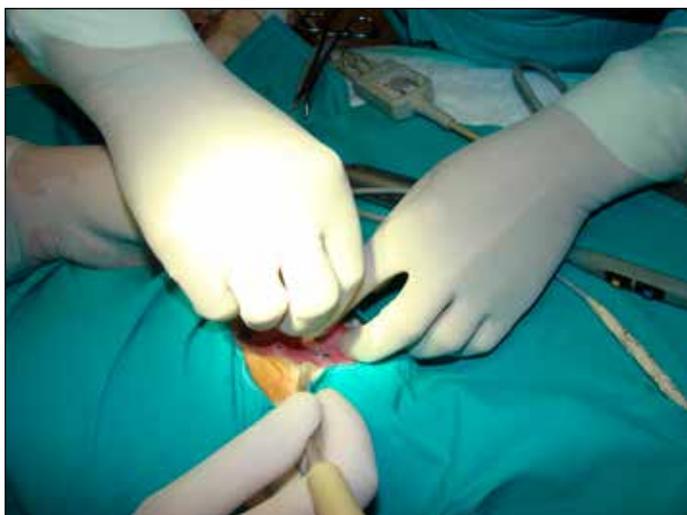


Figura 2.21 - Incisão sagital vestibular inferior.



Figura 2.22 - Descolamento sub-periósteo, revelando o bordo alveolar e basilar bem como a face externa vestibular do ramo horizontal da mandíbula correspondente ao local da osteotomia.



Figura 2.23 - Osteotomia da tábua óssea externa vestibular da com serra elétrica de movimento recíproco.



Figura 2.24 - Movimentos de torção com osteótomo até se obter a osteotomia da tábua interna.

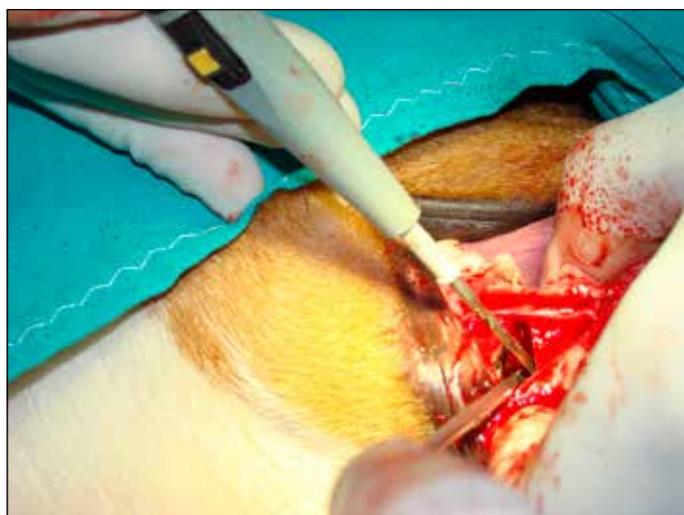


Figura 2.25 - Hemóstase por eletrocoagulação.

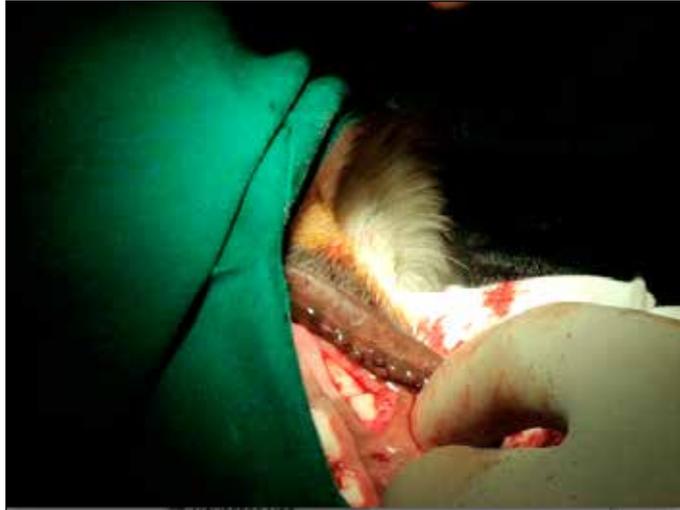


Figura 2.26 - Osteotomia completa, após verificação da mobilidade dos segmentos ósseos seccionados.



Figura 2.27 - Sutura reabsorvível com pontos contínuos.



Figura 2.28 - Aspeto final da intervenção cirúrgica.

2.8.1.1. Colocação dos dispositivos de alongamento mandibular

À medida que terminada a cirurgia em cada animal de estudo, este era transferido imediatamente para outra mesa operatória, ainda sob efeito da anestesia geral, para ser colocado o aparelho de distração na face externa de cada hemimandíbula. De seguida, foram adaptadas e cimentadas as bandas ortodônticas aos dentes canino e primeiro molar com cimento de ionómero de vidro com flúor (Optiband™ Ultra, Ormco Europe, Portugal) polimerizado com um aparelho de eletroluminescência (Demi Ortho™ LED Light curing System, Ormco Europe, Portugal) (Figuras 2. 29 e 2.30).



Figura 2.29 - Polimerização do cimento de ionómero de vidro para cimentação das bandas do distrator.



Figura 2.30 - Imagem demonstrativa do aspeto final da adaptação e cimentação do distrator.

2.8.1.2. Medicação e manipulação pós-operatória

Imediatamente após a cirurgia foi administrado butorfanol tartrato (0,2 mg/kg, s.c., 2 dias) para controlo pós-cirúrgico da dor e uma amoxicilina de longa duração como dose única (1 mg/kg, s.c.). De seguida foram realizadas as radiografias intra-orais e telerradiografias cefalométricas.

O pós-operatório constitui um período importante para otimizar o conforto e o bem-estar dos animais, de maneira a reduzir eficazmente a magnitude das respostas metabólicas à cirurgia. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram transferidos para gaiolas específicas de recuperação até demonstrarem total capacidade de consciência e locomoção. Os animais foram atentamente vigiados durante a recuperação anestésica imediata, em relação à hipotermia e à aspiração de água ou comida. Para tal, foi efetuado um controlo adequado da temperatura, recorrendo a materiais envolventes termoisolantes se necessário, e as gaiolas encontravam-se limpas de qualquer material de forragem que pudesse interferir com as vias respiratórias e isentas de qualquer material que pudesse causar traumatismos no início da recuperação da locomoção.

Após a recuperação anestésica os animais foram transferidos para as respetivas gaiolas padrão, permitindo-se uma locomoção sem restrições.

Foram sujeitos a uma aferição da dor pós-operatória, através de uma monitorização diária de eventuais alterações na ingestão de comida ou água, no peso corporal, nos padrões etológicos típicos da espécie e em relação à presença de sinais clínicos anómalos ou reações adversas. Este cuidado diário foi mantido até ao final de todo o processo experimental.

2.8.2. Período de latência

É o período de tempo que ocorre desde a realização da osteotomia até ao início da ativação do distrator. Durante este período, ocorre a formação do calo ósseo reparador, o suprimento sanguíneo é restaurado e inicia-se a proliferação celular.

Foi adoptado o período de tempo de sete dias, segundo o protocolo apresentado por McCarthy e Colaboradores (1995). Durante este período, os animais foram submetidos a observação clínica diária e desinfeção da cavidade oral, no local da intervenção cirúrgica, com digluconato de clorhexidina a 0,2% (Elugel® , Pierre Fabre, Ramonville, França). No final deste período foram feitas radiografias intra-orais e telerradiografias cefalométricas.

2.8.3. Período de distração

O protocolo experimental nos dois grupos de teste quanto à quantidade de alongamento realizada por dia (velocidade de distração) foi de 1 mm/dia, durante dez dias consecutivos.

Já o protocolo experimental quanto ao número de ativações necessárias para se alcançar a velocidade de 1 mm por dia (ritmo ou frequência de distração) foi diferente nos dois grupos experimentais de teste:

- No Grupo B, constituído por 7 hemimandíbulas direitas, o protocolo utilizado foi de uma ativação de 0,5 mm de 12 em 12 horas.
- No grupo C, constituído por 7 hemimandíbulas esquerdas, o protocolo utilizado foi de uma ativação única e diária de 1 mm.

Para a realização das ativações diária e bi-diária foi utilizada uma chave fornecida pelo fabricante do parafuso de disjunção (Variety SP® DENTAURU GmbH & Co., Ispringen, Alemanha). No Grupo B, em cada uma das fases de ativação, girava-se a chave no sentido anti-horário duas vezes e meia, até o parafuso completar uma rotação de 180°. No Grupo A, na única fase de ativação diária, girava-se a chave no sentido anti-horário, cinco vezes seguidas, até o parafuso completar uma volta de 360°. As características comportamentais do modelo animal, domesticidade e à-vontade com que se sentiam junto das tratadoras e investigador principal, permitiu que as ativações fossem realizadas sem qualquer procedimento de sedação e/ou anestesia. A observação atenta à reação dos animais durante a fase de ativação foi de sublime importância; isto porque a manifestação de um mal estar severo dos animais poderia significar uma incorreta osteotomia ou uma consolidação prematura da fratura.

No final dos dez dias do período de distração, cada grupo de teste deveria, teoricamente, apresentar uma separação entre os fragmentos ósseos mandibulares anterior e posterior de 10 mm. De seguida, cada dispositivo foi devidamente bloqueado (Figura 2.31) com fio de aço inoxidável de 0,3 mm de diâmetro (remanium®, DENTAURUM GmbH & Co. KG, TurnstraBe, Alemanha), reforçado com cimento de ionómero de vidro (Optiband™ Ultra, Ormco Europe, Portugal) polimerizado com um aparelho de eletroluminescência (Demi Ortho™ LED Light curing System, Ormco Europe, Portugal).

2.8.4. Período de consolidação

O protocolo experimental utilizado para este período de tempo que separa a fase ativa da distração osteogénica e a retirada do dispositivo de distração foi de 12 semanas.

Durante este período de tempo, foram realizadas semanalmente radiografias intra-orais e telerradiografias cefalométricas com periodicidade semanal, para controlar todo o processo de distração osteogénica, bem como a monitorização diária de eventuais alterações na ingestão de comida ou água, no peso corporal, nos padrões etológicos típicos da espécie, na adaptação dos distratores e em relação à presença de sinais clínicos anómalos ou reações adversas.



Figura 2.31 - Imagem demonstrativa do aspeto geral do distrator, bloqueado após o período ativo de distração.

2.8.5. Eutanásia e necropsia dos animais

No final do período experimental procedeu-se à eutanásia dos animais, seguindo o protocolo de anestesia geral anteriormente descrito. Durante esta intervenção foi realizado o exame clínico para inspecionar, entre outros aspetos, a integridade do distrator, a rigidez dos segmentos ósseos distracionados e a mobilidade dos dentes de ancoragem. Também foram realizadas as telerradiografias cefalométricas após a anestesia geral e previamente aos procedimentos cirúrgicos.

Durante esta intervenção, foram realizados os procedimentos para a fixação *in vivo* dos tecidos maxilares. Para tal, cada animal foi colocado em posição de decúbito dorsal e realizado o acesso cirúrgico para exposição adequada das carótidas primitivas. De seguida, foram passados dois fios em redor destes vasos sanguíneos, com dois nós cada e espaçados cerca de três centímetros, de forma a colapsar momentaneamente cada vaso, interrompendo a circulação sanguínea (Figura 2.32). Nesse momento, foi injetado, através de um cateter, 120 ml de formaldeído a 10% tamponado (PRS Panreac®, Espanha) em cada carótida (Figura 2.33). Em simultâneo os nós foram desatados permitindo o restabelecimento da circulação sanguínea e facilitando, assim, a difusão do formol em direção cefálica. A perfusão e fixação dos tecidos pôde ser confirmada pelo aparecimento progressivo de um aspeto seco e esbranquiçado das mucosas orais. De imediato, para assegurar a eutanásia por métodos humanitários, injetou-se por via endovenosa uma sobredose de anestésico (Pentotal® sódico, Abbot, Portugal). Todos os animais sofreram paragem cardíaca ao fim de alguns segundos, confirmada pelo monitor do ECG e por auscultação.

Foi realizada uma necropsia para avaliação do impacto sistémico do estudo através da recolha de fragmentos do coração, fígado, rins, gânglios linfáticos e baço para análise histológica de rotina.

A alienação dos cadáveres e dos resíduos procedentes da eutanásia foi providenciada nos termos da legislação em vigor, recorrendo à técnica de incineração.



Figura 2.32 - Exposição das carótidas para preparação do garrote.



Figura 2.33 - Injeção de formaldeído a 10% tamponado em cada carótida para fixação *in vivo* dos tecidos.

2.9. Colheita do material de estudo

Após a eutanásia, as mandíbulas foram retirados *en bloc*, após dissecção meticulosa dos tecidos moles em planos e excisados com uma serra mecanizada refrigerada. De seguida foram separadas as hemimandíbulas de cada animal, após osteotomia da sutura sinfisária (Figuras 2.34 e 2.35) e imersas em formol neutro tamponado e posteriormente transportadas para o laboratório.

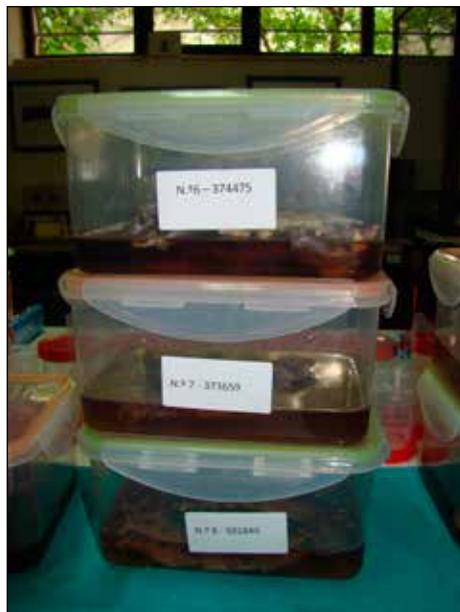


Figura 2.34 - Amostras devidamente acondicionadas e identificadas para transporte.



Figura 2.35 - Hemimandíbula esquerda e hemimandíbula direita do mesmo animal de estudo.

2.10. Processamento histológico

O trabalho laboratorial de processamento histológico foi efetuado no Laboratório de Tecidos Duros da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Todas as amostras foram preparadas para avaliação histológica em material não descalcificado, segundo o protocolo desenvolvido por Karl Donath do Instituto de Patologia da Universidade de Hamburgo, na Alemanha (Donath e Breuner, 1982; Donath, 1995).

O desenvolvimento da técnica de processamento dos tecidos duros foi baseado no sistema Exakt® (Exakt- Apparatebau, GmbH & CO, Norderstedt, Hamburgo, Alemanha) (Figuras 2.36, 2.37 e 2.38), de alta precisão, de acordo com as seguintes etapas sequenciais de preparação laboratorial:

- 2.10.1. Fixação e desidratação;
- 2.10.2. Infiltração e polimerização;
- 2.10.3. Corte inicial da amostra;
- 2.10.4. Montagem da amostra;
- 2.10.5. Polimento inicial da amostra (*facing*);
- 2.10.6. Montagem do *slide* final (*sandwich*);
- 2.10.7. Corte e polimento final da amostra;
- 2.10.8. Coloração.



Figura 2.36 - Sistema Exakt® para processamento histológico de material não descalcificado instalado no Laboratório de Tecidos Duros da FMUC.

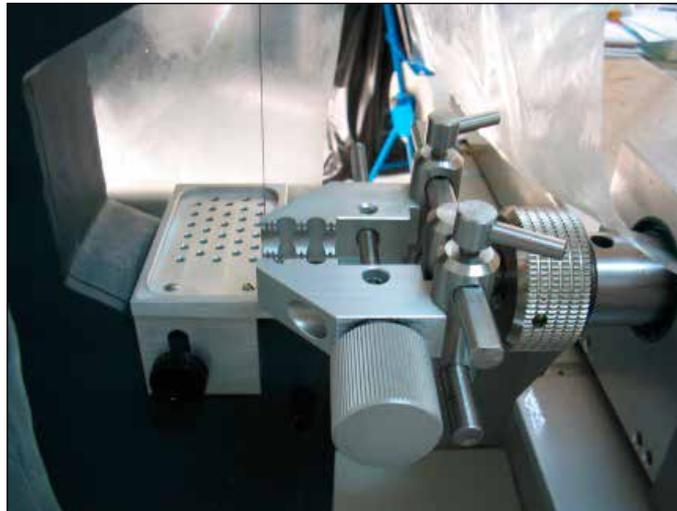


Figura 2.37 - Pormenor da garra do Sistema Exakt®.



Figura 2.38 - Hemimandíbula sujeita a corte no Sistema Exakt®.

2.10.1. Fixação e desidratação.

As amostras individuais (Figura 2.39) foram fixadas através de imersão numa solução de formaldeído a 10% em tampão fosfato (pH 7,4) imediatamente após a colheita e durante um período de 48 horas.

Posteriormente, e após lavagem com água corrente durante 30 minutos, iniciou-se o processo de desidratação através do protocolo preconizado por Karl Donath.

Numa primeira fase realizaram-se passagens numa série crescente de concentrações de etanol (60%, 80%, 96% e duas vezes a 100%), numa unidade de agitação e infiltração (Exakt® 510), com agitação contínua e com duração de 30 dias para cada passo (Figura 2.40).



Figura 2.39 - Imagem ilustrativa de uma das amostras fixadas em formaldeído a 10% em tampão fosfato (pH 7,4).



Figura 2.40 - Unidade de desidratação e infiltração.

2.10.2. Infiltração e polimerização

Nesta etapa, procedeu-se à infiltração, utilizando-se para o efeito a unidade anteriormente mencionada, também com agitação contínua que permitiu reduzir para metade o tempo desta operação. Esta foi realizada a partir de soluções com graduações crescentes de resina de metilmetacrilato (Technovit® 7200 VLC, Kulzer) em etanol (resina/álcool: 30/70%, 50/50%, 70/30%, e duas vezes a 100% de resina). Para que este processo decorresse de forma adequada, foi importante incluir a totalidade das amostras pré-seccionadas no meio infiltrativo e cada passo teve também a duração de 30 dias.

Posteriormente, incluíram-se as amostras na mesma resina de metilmetacrilato (Technovit® 7200 VLC, Kulzer) e foi realizada a fotopolimerização na unidade de polimerização (Exakt® 520), com sistema de arrefecimento e em moldes plásticos.

Primeiro foi efetuada uma polimerização controlada, durante 4 horas, numa fase de luz amarela de baixa intensidade e temperatura inferior a 40° C (Figura 2.41). Depois foi realizado um ciclo de 6 horas com luz azul, para completar a polimerização do acrílico que se encontrava ao nível interno do osso (figura 2.42).

No final foram obtidas as 20 amostras, correspondentes às 20 hemimandíbulas, devidamente incluídas em metilmetacrilato (Figura 2.43).

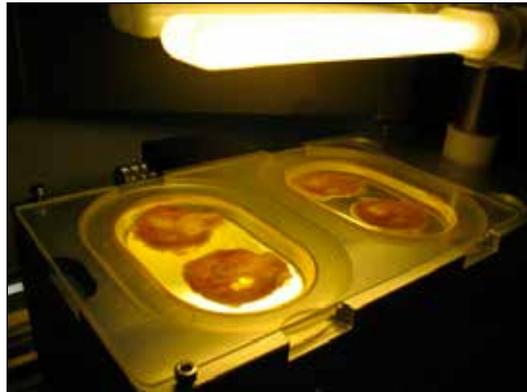


Figura 2.41 - Fotopolimerização da resina em moldes plásticos, com emissão de luz no espectro amarelo.

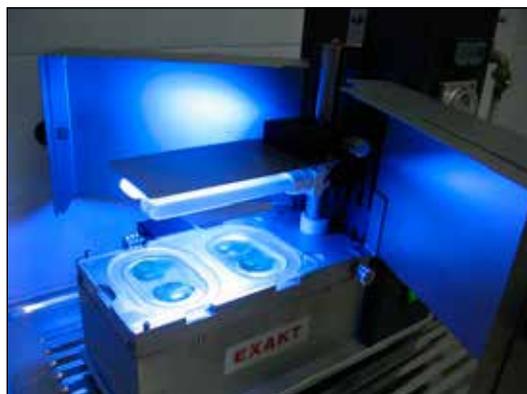


Figura 2.42 - Fotopolimerização da resina em moldes plásticos, com emissão de luz no espectro azul.



Figura 2.43 - Amostras incluídas em blocos de acrílico.

2.10.3. Corte inicial da amostra

As amostras incluídas nos blocos de resina sofreram de seguida um corte, na respetiva unidade do sistema Exakt® (Exakt® 310 CP), consoante a orientação pretendida para subsequente preparação da primeira lâmina acrílica (Figuras 2.44 e 2.45).

Pretende-se com os cortes iniciais reduzir as amostras incluídas no metacrilato a tamanhos aceitáveis nos *slides*, orientar as amostras de forma paralela à possível colagem no *slide* inicial bem como orientar a amostra para o polimento *facing* da amostra.

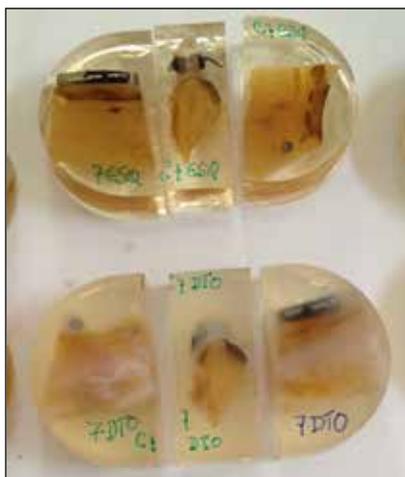


Figura 2.44 - Bloco de resina contendo uma amostra da área mandibular distracionada.



Figura 2.45 - Corte dos blocos para preparação da primeira lâmina.

De cada amostra, foram obtidos três cortes sagitais que envolviam o espaço compreendido entre o terceiro e o quarto pré-molar, com a seguinte correspondência:

- I. Corte sagital vestibular;
- II. Corte sagital médio;
- III. Corte sagital lingual.

2.10.4. Montagem da amostra

Os cortes dos respetivos blocos das amostras iniciais foram, subseqüentemente, preparados e montados numa primeira lâmina acrílica (*slide A*) (50x100x1,5 mm), em prensa com fixação a vácuo, usando outro metilmetacrilato específico para esta função (Technovit® 4000 VLC, Kulzer) (Figura 2.46).



Figura 2.46 - Montagem da primeira lâmina em prensa com vácuo.

2.10.5. Polimento inicial da amostra

Este passo visa a obtenção de superfícies paralelas das áreas de estudo, para execução posterior das técnicas de corte e polimento final (Figura 2.47). Com este polimento inicial pretende-se produzir uma superfície plana da amostra e paralela ao *slide A*. Este procedimento, também denominado de “*facing* da amostra” foi executado na polidora do sistema Exakt® (Exakt® 400 CS), que é formada por um prato giratório e um sistema de vácuo que permite segurar os slides à unidade e funciona com um sistema interno de água corrente e lixas de polimento.



Figura 2.47 - Unidade de polimento inicial.

2.10.6. Montagem do *slide* final

As lâminas finais foram preparadas pela técnica da *sandwich*, em que o lado livre da amostra que contém a área de estudo e oposto ao *slide* A, foi colado a uma segunda lâmina acrílica (*slide* B) (25x75x1,5 mm) com resina fotopolimerizável específica (Technovit® 7210 VLC, Kulzer).

O conjunto foi montado em prensa com vácuo e lâmpada polimerizadora (Figura 2.48).



Figura 2.48 - Prensa fotopolimerizadora para montagem da segunda lâmina pela técnica da *sandwich*.

2.10.7. Corte e polimento final

Esta etapa foi efetuada num sistema de corte de precisão com dispositivo de irrigação (Figura 2.49). Este sistema é constituído por uma unidade de corte de precisão, com regulação de velocidade e dispositivo de irrigação, baseado no princípio de corte por ponto de contacto com serra de banda de 100 µm (Exakt® 310 CP) e por uma polidora de prato rotativo de velocidade regulável com irrigação (Exakt® 400 CS); ambos com fixadores por vácuo dos blocos e lâminas. A unidade de corte dispõe de um sistema de paralelismo, onde se fixam as lâminas, com plataforma móvel e de oscilação em arco pré-fixada e controlada eletronicamente (14°, 28° e 56°), bem como de um ponteiro laser de orientação para assegurar o correto paralelismo de cortes sucessivos e uma adequada espessura.

Os cortes são feitos pela ação de um peso de 50 g aplicado de forma constante à referida plataforma. Por sua vez, a polidora regula a uniformização da espessura final das amostras através de um sensor electrónico (AW 100 Electronic Measuring System). O polimento é executado com a aplicação de pesos, entre os 100 g e os 200 g, na coluna de fixação da amostra, que se move em vaivém em veios de rosca sem fim.

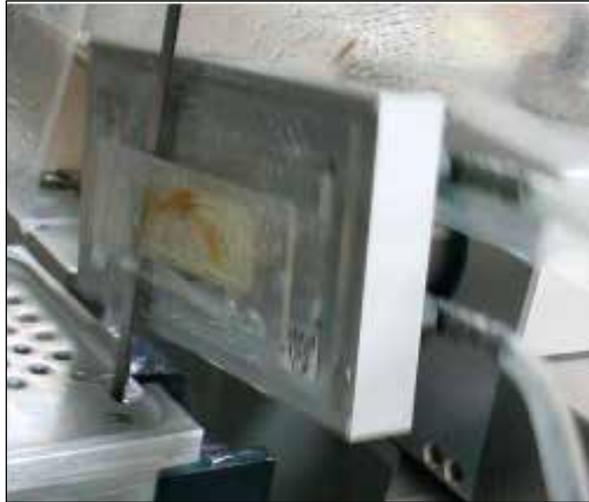


Figura 2.49 - Corte de precisão por ponto de contato da *sandwich* com a serra de banda diamantada.

Nesta etapa cortou-se a *sandwich* com uma espessura fina no lado da amostra mais próximo do *slide B*. A espessura final de 50 μm foi obtida através de polimento calibrado com discos de diamante de granulometria decrescente (800, 1000, 1200, 2500 e 4000; Hermes®, Alemanha) (Figura 2.50). Todas as medições de controle foram realizadas com micrómetro digital (Mitutoyo® 2093, Digimatic Micrometer, Japão) (Figura 2.51).

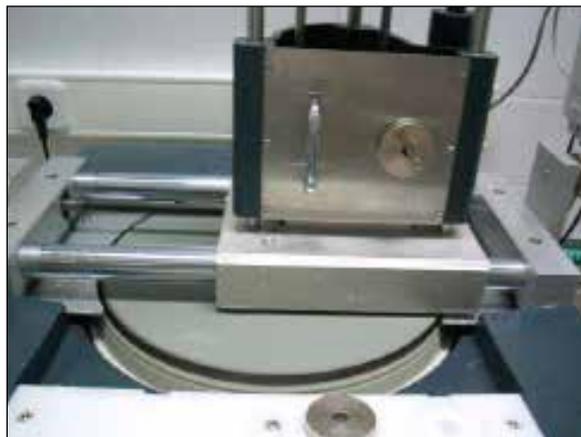


Figura 2.50 - Polimento final da segunda lâmina.



Figura 2.51 - Micrómetro digital para controlo da espessura final da lâmina.

2.10.8. Coloração

Concluiu-se a fase laboratorial efetuando uma técnica de coloração com azul de Toluidina dos tecidos duros representados na lâmina final. Esta técnica, que utiliza um corante básico e cora os componentes ácidos em diversas gradações de azul, permite estabelecer uma distinção entre tecido osteóide e tecido ósseo mineralizado, bem como uma identificação correta da morfologia das células envolvidas no processo de cicatrização óssea.

Devido à sua metacromasia possibilita estabelecer conclusões sobre aposição e reabsorção óssea. Além demais, é uma técnica simples e rápida cuja execução se baseia nos seguintes passos:

- 1º Agitação das amostras em 10% de água oxigenada durante 5 minutos;
- 2º Lavagem com água corrente;
- 3º Secagem com papel;
- 3º Coloração com solução azul de Toluidina durante 20 minutos;
- 4º Nova lavagem com água corrente;
- 5º Cuidadosa secagem final (Figuras 2.52, 2.53 e 2.54).

Em todo o processo foi assegurada uma correta identificação da amostra compreendendo o número do animal, a localização da área distracionada, a designação do estudo e o número de corte.



Figura 2.52 - Aplicação da água oxigenada na técnica de coloração.



Figura 2.53 - Coloração com solução azul de Toluidina.

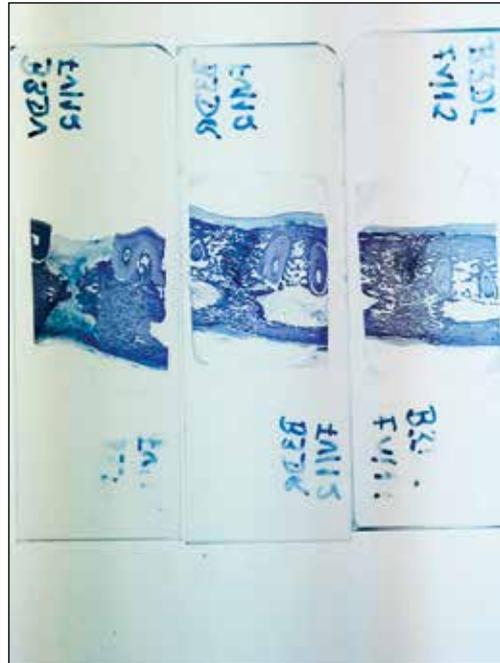


Figura 2.54 - Lâminas finais dos três cortes sagitais de uma das amostras.

2.1.1. Medição clínica

A medição clínica foi efetuada com a um instrumento aprovado para medidas lineares e usado para medir com precisão as dimensões de pequenos objetos (Casillas, 1979) – paquímetro universal (Starret®, SP, Brasil).

Para aferir as alterações sagitais provocadas pela distração, não foram consideradas as espessuras das banda ortodônticas e mediu-se a distância entre a parte média da face mesial da coroa do primeiro molar e a parte média da face distal da coroa do canino mandibular, antes da primeira ativação do distrator e após a eutanásia (Figura 2.55).

Para aferir as alterações transversais, mediu-se a distância entre as faces linguais dos primeiros molares, para o segmento posterior e as faces linguais dos caninos para o segmento anterior, antes da primeira ativação e após a eutanásia.



Figura 2.55 - Medição do alongamento sagital com paquímetro.

2.12. Análise radiográfica intra-oral

Para controlar todo o processo de osteogénese foram realizadas radiografias de incidência oclusal com projeção ortogonal da arcada sobre o filme, de forma a estabelecer a perpendicularidade com as arcadas mandibulares (Updegrave, 1951; Bhakdinaronk e Manson-Hing, 1981), sob condições de sedação com o protocolo atrás descrito.

Foi utilizado, como fonte geradora de raios X, o aparelho portátil Diox-602 (Digimed®, Seul, Coreia do Sul) com capacidade de produzir até 60 Kvp para uma intensidade de corrente de 2 mA (Figura 2.56). A captação das imagens foi feita através de filmes radiográficos oclusais de elevado contraste (Kodak DF-49, Carestream Health®, NY, EUA), com dimensões 5,7 x 7,6 cm. A distância foco-objecto foi de 200 mm e a distância objecto – filme foi de 5 mm (Figura 2.57).

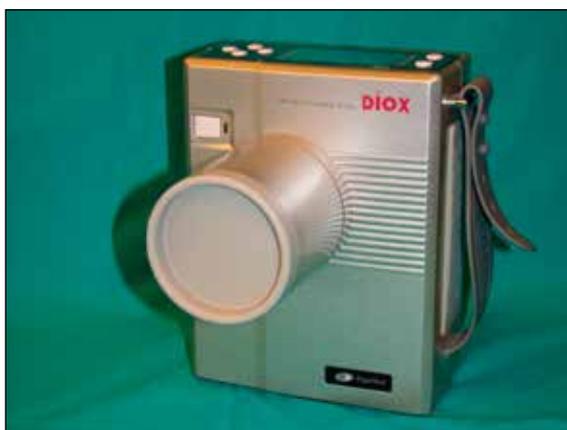


Figura 2.56 - Aparelho de Raios X portátil utilizado.



Figura 2.57- Animal em preparação para o controlo radiográfico.

A conversão das radiografias oclusais em imagens digitais foi feita usando um scanner Astra 2400S HALO, com adaptador de transparências (UMAX® Technologies, Inc. Fremont, EUA) e com o programa de apoio Photoshop CS5® (Adobe Systems Incorporated, San Jose, EUA).

A digitalização foi feita com uma escala de 100 %, para obtenção de medidas exatas, com resolução de 300 DPI e sem recurso a filtros de melhoria de imagem. Este método de digitalização foi escolhido por ser o mais utilizado em trabalhos de investigação ortodôntica (Reddy e Jeffcoat, 1993; Ongkosuwito et al, 2002).

Depois de digitalizadas, as imagens radiográficas foram guardadas em formato JPEG num computador pessoal MacBook Pro® 6.2 (Apple Inc. Cupertino, California, EUA) para posterior análise qualitativa.

As imagens foram observadas individualmente por dois avaliadores, de um modo randomizado, após identificação dos parâmetros em análise (Tabela 2.4).

Os controlos radiográficos foram efetuados essencialmente para verificar a presença de sinais radiológicos de complicações decorrentes da cirurgia ortognática, para controlar a separação dos segmentos distraçados e, finalmente, para estudar todo o processo de regeneração óssea.

Os sinais anómalos encontrados na análise radiográfica foram registados quanto à sua etiologia, de acordo com a nomenclatura descrita por Paley (1990), que apresenta três tipos:

1. Problema: sinais anómalos não resultantes dos procedimentos do protocolo de distração, verificados durante o período de distração e consolidação e que eram resolvidos sem necessidade de qualquer intervenção;
2. Obstáculo: sinais anómalos resultantes dos procedimentos do protocolo de distração, verificados durante o período de distração e consolidação e que necessitavam de intervenção para a sua resolução;
3. Complicação: qualquer complicação local ou sistémica, intra ou perioparatória, ou qualquer outra dificuldade durante os períodos de distração, latência ou consolidação que permaneceriam até ao final do estudo experimental.

Para estudar qualitativamente o processo de regeneração óssea no local da distração pelas radiografias oclusais foi utilizado uma classificação adaptada das técnicas tradicionais de avaliação radiológica (Catagni, 1991; Waker et al, 1991; Hamanishi et al, 1994) e que considera os seguintes parâmetros (Tabela 2.4 e Figura 2.58):

1. Ausência completa de mineralização no espaço de distração;
2. Pequenas áreas de mineralização presentes no espaço de distração;
3. Presença de duas zonas de mineralização originárias dos fragmentos ósseos anterior e posterior;
4. Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior;
5. Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com uma das margens (apical ou coronal) evidenciando a corticalização;
6. Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com as duas margens evidenciando a corticalização.

Tabela 2.4 - Classificação do processo de regeneração de acordo com a análise dos parâmetros observados nas radiografias intra-orais.

Classificação	Características radiográficas
Tipo 1	Ausência completa de mineralização no espaço de distração.
Tipo 2	Pequenas áreas de mineralização presentes no espaço de distração.
Tipo 3	Presença de duas zonas de mineralização originárias dos fragmentos ósseos anterior e posterior.
Tipo 4	Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior.
Tipo 5	Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com uma das margens (apical ou coronal) evidenciando a corticalização.
Tipo 6	Presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com as duas margens evidenciando a corticalização.

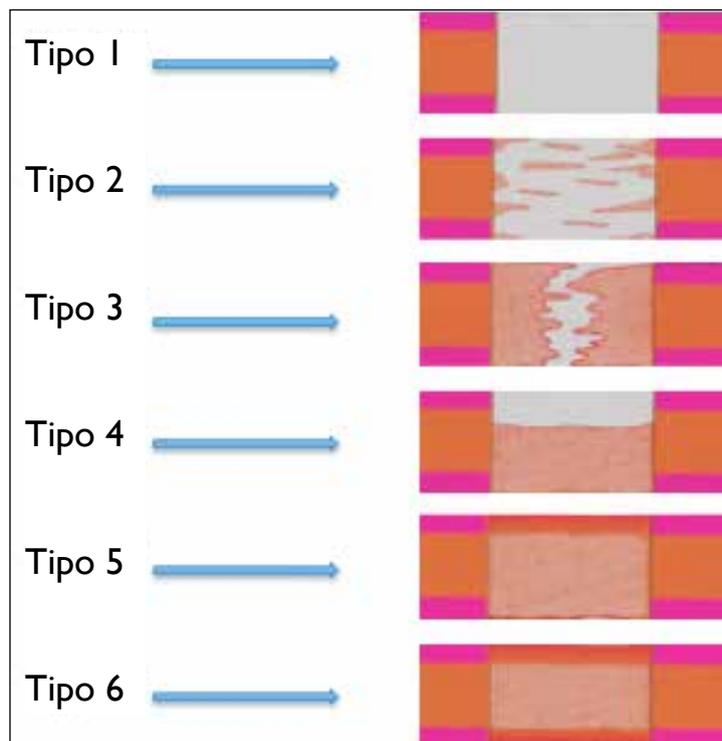


Figura 2.58 - Desenho figurativo do processo de regeneração de acordo com a classificação.
Adaptado e modificado de Cope e Samchukov, 2001.

2.13. Telerradiografia cefalométrica e análise cefalométrica

Para estudar o comportamento dos fragmentos ósseos durante a distração osteogénica, foram obtidas telerradiografias cefalométricas de cada um dos animais, sob condições de sedação com o protocolo atrás descrito, antes da cirurgia, imediatamente após e mensalmente até ao dia da eutanásia.

Cada animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo e direito, dependendo da hemimandíbula a estudar, e para melhor normalizar cada registo, foram colocadas duas fitas de gaze para provocar a separação intermaxilar máxima (Figuras 2.59 e 2.60).

Foi utilizado, como fonte geradora de raios X, o aparelho Philips Optimus, com 65Kv, 20,0 mA e 18,1 ms (Philips Healthcare, Best, Netherlands). Os filmes radiográficos Kodak 8DSI (Carestream Health®, NY, EUA) foram montados em cassetes Kodak 24 x 30 cm, com ecrãs de reforço anterior e posterior (Eastman Kodak Co., NY, EUA).

A conversão das telerradiografias cefalométricas em imagens digitais foi feita usando um scanner FCR PRIMA (FUJIFILM Corporation, Tokio, Japão) e com o programa de apoio Photoshop CS5® (Adobe Systems Incorporated, San Jose, EUA) (Figura 2.61).

A digitalização foi feita com uma escala de 100 %, para obtenção de medidas exatas, com resolução de 300 DPI e sem recurso a filtros de melhoria de imagem (Reddy e Jeffcoat, 1993; Ongkosuwito et al, 2002).

Depois de digitalizadas, as imagens radiográficas foram guardadas em formato JPEG e transferidas para um computador pessoal MacBook Pro® 6.2 (Apple Inc. Cupertino, California, EUA) para posterior análise cefalométrica (Figura 2.62).

As análises cefalométricas das telerradiografias obtidas antes do início da distração osteogénica e após o período de consolidação foram efetuadas pelo método digital directo, através do programa Dolphin Imaging

Software/32 (High Quality Digital Imaging Software for Orthodontics, Orthognahic Surgery, Cosmetics and Medical Imaging, versão 8.0.6.12, da Dolphin Imaging Systems Inc, USA).

No programa cefalométrico foram editados os seguintes pontos cefalométricos:

1. *Côndilo Mandibular Cd* - Ponto situado no centro do côndilo mandibular;
2. *Apófise Angular Aa* - Ponto situado no centro da apófise angular;
3. *Incisivo Inferior li* - Ponto do bordo incisal do incisivo central inferior;
4. *Molar Inferior LM* - Ponto situado na parte média da face mesial do primeiro molar inferior;
5. *Canino Inferior LC* - Ponto situado na parte média da face distal do canino inferior.

Com os pontos cefalométricos editados, foram criadas a variável cefalométrica angular Cd-Aa-li e a variável cefalométrica linear LM-LC e o plano cefalométrico de orientação e referência Cd-Aa não alterável pela experimentação, permitindo assim medir a angulação de cada hemimandíbula e o comprimento mandibular radiográfico, em milímetros, antes e após a distração osteogénica (Figura 2.63).

Os valores obtidos foram posteriormente exportados para uma folha de cálculo Microsoft® Excel® For Mac 2011 (Microsoft Corporation, EUA).



Figura 2.59 - Colocação das fitas de gaze para promover a abertura intermaxilar máxima durante a execução do exame de telerradiografia cefalométrica.



Figura 2.60 - Posicionamento em decúbito lateral para a telerradiografia cefalométrica.



Figura 2.61 - Posto de controlo do aparelho emissor de raios X e leitura digital dos filmes radiográficos.

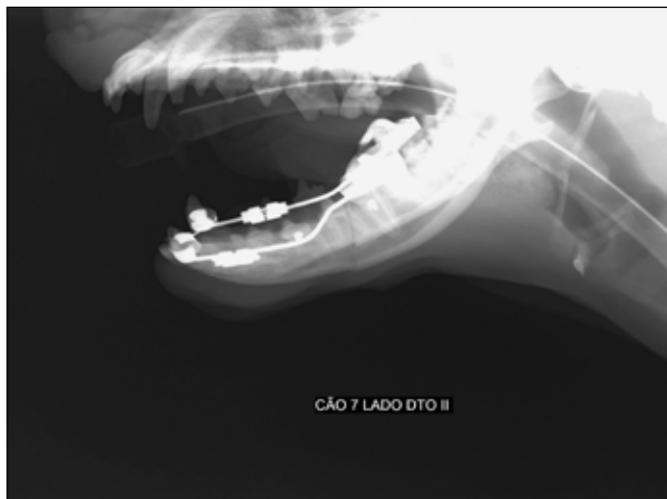


Figura 2.62 - Telerradiografia cefalométrica de um dos animais de estudo.

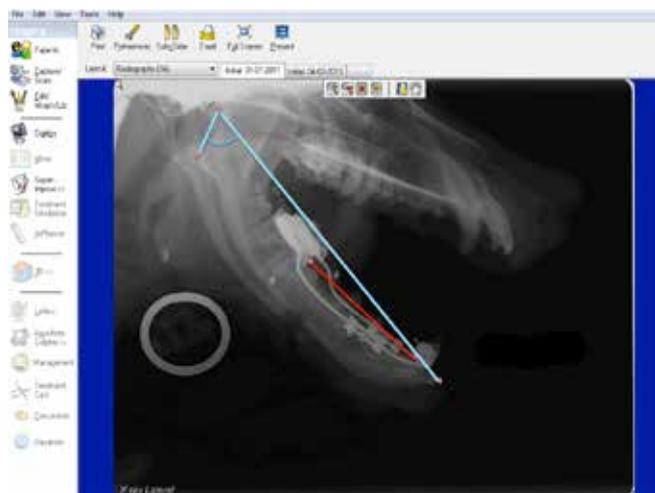


Figura 2.63 - Imagem da análise cefalométrica de um dos animais de estudo evidenciando o plano de referência e as variáveis cefalométricas.

2.14. Análise por Absorciometria de Raio X de Dupla Energia - DEXA

Após a eutanásia e antes do processamento histológico, as amostras foram despidas dos tecidos moles para estudo de absorciometria de raio X de dupla energia (DEXA – Dual X-ray absorptiometry), também designada por densitometria óssea de dupla energia (Queiroz, 1998), no Serviço de Medicina Nuclear do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

O exame de Absorciometria de Raio X de dupla energia foi feito no plano lateral das hemimandíbulas submetidas à distração osteogénica (Grupos B e C) e das hemimandíbulas do grupo de controlo (Grupo A) através do densitómetro Hologic® QDR 4500 (Hologic Inc, Bedford, MA, EUA), com voltagem de duplo pico aos 140 Kv e 100 Kv, com corrente de 2,5 mA e 0,56 mm de tamanho de pixel (Figura 2.64).

Todas as amostras das hemimandíbulas foram posicionadas com a superfície lingual em contacto com a mesa da unidade do densitómetro e todos os exames DEXA foram executados pelo mesmo técnico para eliminar a variabilidade interobservador.

Posteriormente, e seguindo a metodologia de vários autores (Lofman et al, 1997; Ladizesky et al, 1988; Tavakoli et al, 1998; Rauch et al, 2000; Hazra et al, 2008), delimitou-se um retângulo envolvendo a região de interesse (Figura 2.65 e Figura 2.66):

- Nas amostras dos grupos de teste B e C, a região de interesse selecionada foi a que correspondia à zona de incisão e distração osteogénica, entre a face distal do terceiro pré-molar e a face mesial do quarto pré-molar mandibular;
- Nas amostras do grupo de controlo A, a região de interesse selecionada estava compreendida entre a face distal do terceiro pré-molar e a face mesial do quarto pré-molar mandibular.

Após a execução dos exames, foram enviados para análise estatística os seguintes parâmetros:

1. Área scaneada do paralelograma (medida em centímetro quadrado – cm^2);
2. BMC – Conteúdo mineral ósseo (grama como unidade de medida de massa - g);
3. BMD – Densidade mineral óssea (grama por centímetro quadrado – g/cm^2).

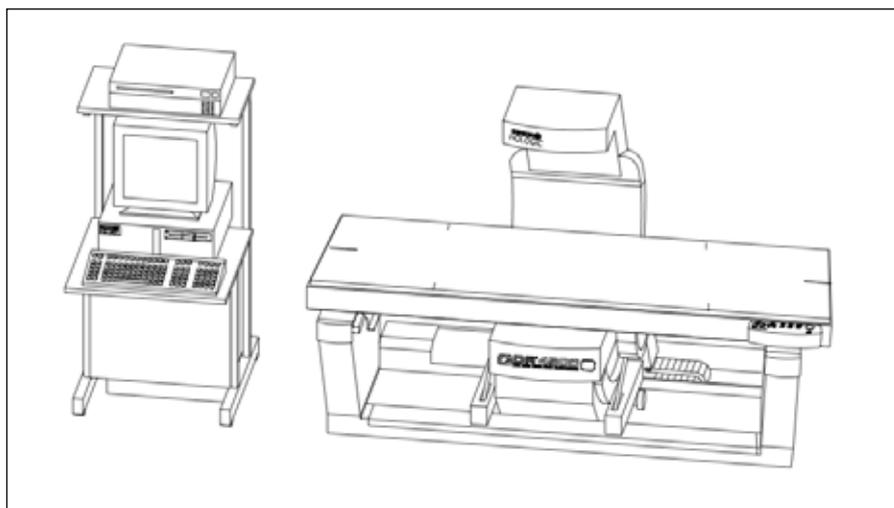


Figura 2.64 - Aparelho de absorciometria de Raio X de dupla energia Hologic® QDR 4500.



Figura 2.65 - DEXA scan de cinco hemimandíbulas com as regiões de interesse delimitadas pelo retângulo sobre a zona da distração.

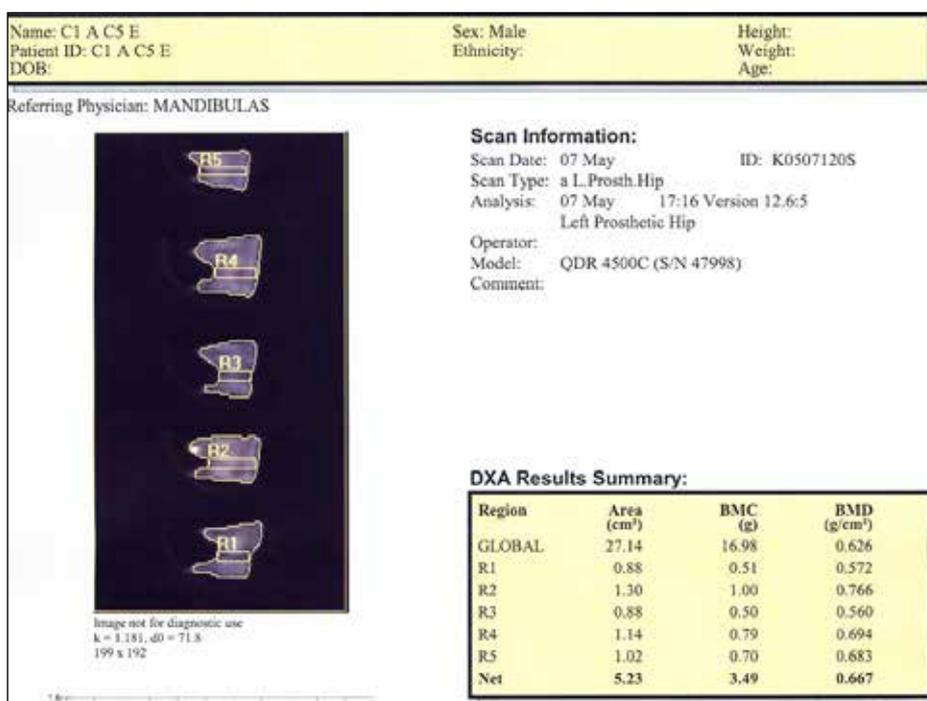


Figura 2.66 - Exemplo dos relatórios DEXA para estudo estatístico.

2.15. Análise histológica qualitativa

A análise qualitativa dos cortes histológicos consistiu na avaliação de todo o processo de regeneração óssea e na deteção da presença ou ausência de tecidos vitais no espaço da distração, incidindo fundamentalmente na observação e registo das suas características histomormológicas e diferenças e similaridades com os perfis morfológicos dos elementos celulares dos grupos de controlo.

As observações das lâminas foram efetuadas com recurso a um microscópio de luz de campo claro (Nikon® Eclipse 600, Tóquio, Japão) e estereomicroscópio (Nikon® SMZ 1500, Tóquio, Japão). Ambos os dispositivos permitem a conexão a equipamento fotográfico convencional (Nikon® FDX-35, com sensor multiponto Nikon® U-III, Tóquio, Japão) e a equipamento fotográfico digital (Nikon® DXM 1200C, Tóquio, Japão), bem como a câmara de vídeo digital (Optronics® DEI 750D CE, Goleta, Califórnia, EUA), com sinal NTSC, ligada a um monitor (Sony® Trinitron, Japão). Os equipamentos estão ligados a computadores PC (Intel® Pentium III e Intel® Core 2 DualCore) com programa de edição fotográfica e análise de imagem (Nikon® ACT-IC, Tóquio, Japão) (Figura 2.67).



Figura 2.67 - Equipamento de microscopia de luz e análise de imagem da Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina de Coimbra.

2.16. Análise histológica quantitativa

A análise quantitativa avaliou índices histomorfométricos para a quantificação da regeneração óssea e foi efetuada utilizando o estereomicroscópio (Nikon® SMZ 1500, Tóquio, Japão) conectado à respetiva câmara de vídeo digital e ligado a um computador PC (Intel®Pentium III). Este sistema óptico foi associado ao software para análise de imagem Bioquant Osteo® 2012 (Bioquant® - Image Analysis Corporation, Nashville, EUA).

Este programa tem a capacidade de distinguir as diferentes afinidades tintoriais dos vários tipos de tecidos histológicos e converter essa informação em quantificação de áreas, reproduções tridimensionais, determinação de densidades e definição de outros parâmetros mais especializados.

A análise histomorfométrica baseou-se na avaliação dos seguintes parâmetros:

1. área total da região de interesse;
2. quantificação da percentagem do tecido ósseo na região de interesse;
3. quantificação da percentagem de novo tecido ósseo na região de interesse.

A quantificação foi determinada em relação à área total da região de interesse (espaço distracionado) obtida em cada amostra e efetuada pelo mesmo operador, que também estabelecia uma verificação da calibração do programa intra-examinador no início de cada sessão de avaliação (Figura 2.68 e Figura 2.69).

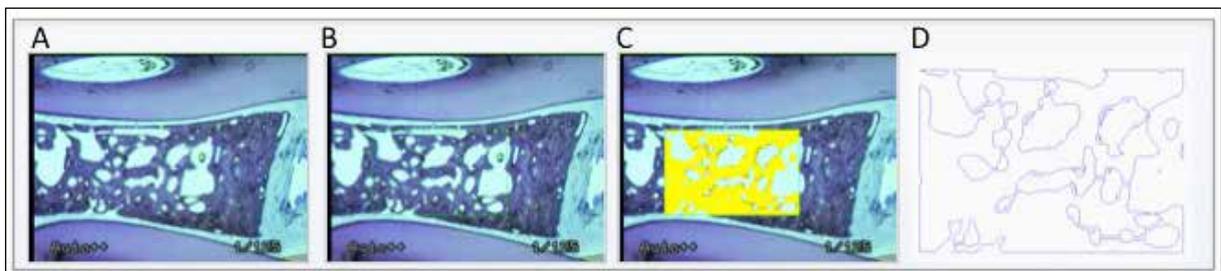


Figura 2.68 - Etapas da histomorfometria: A- Imagem de um corte sagital da área distracionada, obtida com estereomicroscópio acoplado a um software analítico; B- Delimitação da área de estudo a verde; C- Identificação colorimétrica do novo tecido ósseo mineralizado (áreas amarelas); D- Representação da variável histomorfométrica em relação à área do defeito.

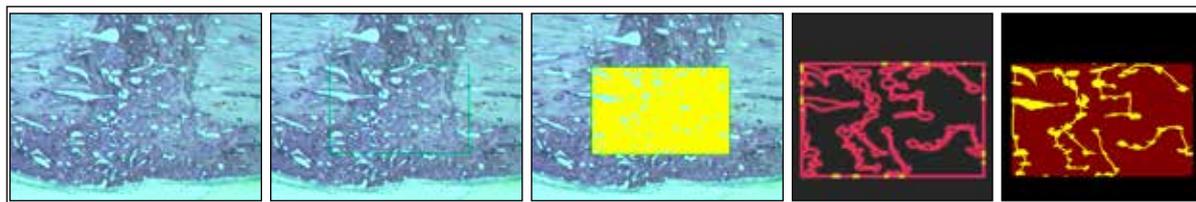


Figura 2.69 - Imagem demonstrativa do estudo histomorfométrico na zona coronal do corte lingual de uma das amostras envolvendo osso nativo e novo tecido ósseo.

Cada imagem dos cortes sagitais vestibular, médio e lingual, de cada uma das amostras dos grupos de estudo, foi observada no estereomicroscópio com uma ampliação de 0,75X. Depois de exportadas para o programa informático de análise de imagem Bioquant Osteo® 2012 (Bioquant® - Image Analysis Corporation, Nashville, EUA), em cada uma dessas imagens de foram delimitadas, na região de interesse, três zonas distintas para estudo histomorfométrico individualizado (Figura 2.70):

1. Zona Coronal - situada na parte superior da área distraçionada, compreendida entre o terceiro e quarto pré-molar;
2. Zona mediana - situada na parte média da área distraçionada, compreendida entre o terceiro e quarto pré-molar;
3. Zona apical - situada na parte inferior da área distraçionada, compreendida entre o terceiro e quarto pré-molar.

No estudo histomorfométrico do grupo de controlo não foi feita a diferenciação das zonas verticais, tendo sido apenas considerada a região de interesse global, compreendida entre o terceiro e quarto pré-molar para cada um dos cortes sagitais.

Em síntese, o estudo histomorfométrico foi realizado em nove zonas distintas, dentro da região de interesse, para cada amostra dos grupos de estudo e em três regiões de interesse para cada amostra do grupo de controlo, perfazendo um total de 144 análises histomorfométricas.

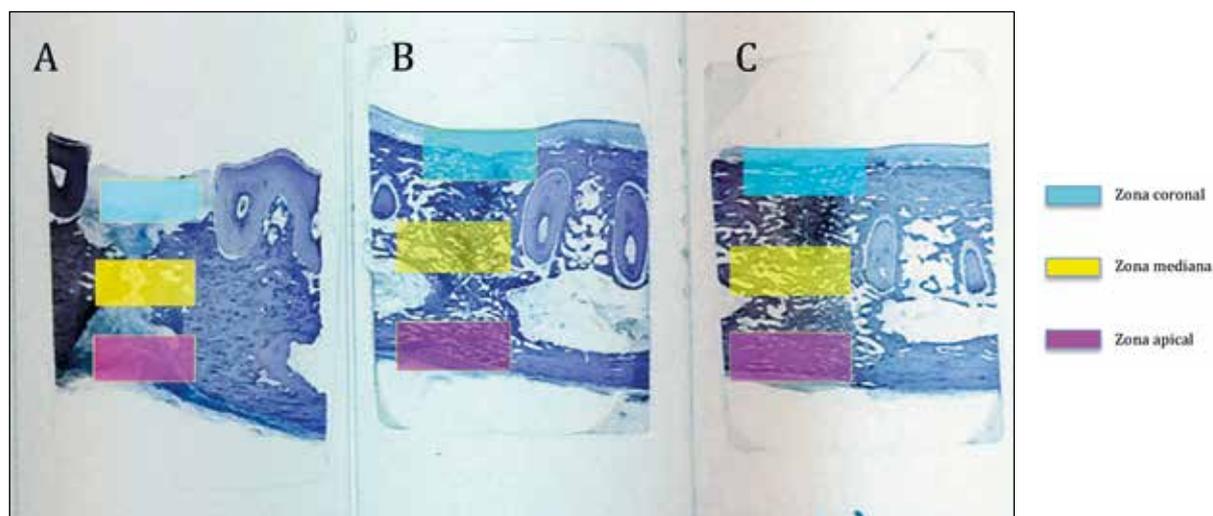


Figura 2.70 - Regiões de interesse apical, mediana e coronal para análise histomorfométrica de uma amostra de grupo de estudo: A - Imagem do corte sagital vestibular; B - Imagem do corte sagital médio; C - Imagem do corte sagital lingual.

2.17. Análise estatística dos dados

A análise estatística foi realizada usando o software package de estatística IBM-SPSS, versão 20 (IBM Corporation, NY, EUA) e o ambiente R-studio, versão 3.01. O nível de significância aplicado foi de 5%.

Realizou-se análise descritiva das variáveis utilizando-se medidas de tendência central e de dispersão apropriadas ao nível de mensuração de cada uma delas (e.g. média e desvio padrão para variáveis quantitativas).

De forma a realizar inferência para a população recorreu-se a estatística univariada, realizando-se testes paramétricos (*t-Student*; ANOVA) ou não paramétricos (*Mann-Whitney U*, *Kruskal-Wallis*) de acordo com a verificação dos pressupostos. A normalidade foi aferida pelos testes de *Kolmogorov-Smirnov* e de *Shapiro-Wilk*. Também foi efetuado um teste de *Levene* sobre o coeficiente de variação, com o intuito de comparar a variação relativa dos dados nos diferentes grupos.

Nos estudo cefalométrico, a primeira abordagem do estudo estatístico foi feita para detectar e calcular os erros sistemáticos e aleatórios inerentes às medições cefalométricas.

Para tal, fez-se a repetição do traçado cefalométrico, pelo método digital directo, de todas as telerradiografias. Esta repetição foi feita cinco semanas após os traçados iniciais e sempre pelo mesmo investigador (o autor).

Para detectar o erro sistemático, foi usado o teste *t de Student* para cada par de registos, com nível de significância de 5% (Huston, 1983).

O erro aleatório foi estudado através da fórmula $Se = \sqrt{\sum d^2 / 2n}$ proposta por Dahlberg (1940).

Também para eliminar os riscos de erro na identificação e mensuração da variável a estudar, foi determinado o coeficiente de correlação de *Pearson (r)* para cada par de registos.

A variação ocorrida durante a distração osteogénica foi avaliada por intermédio de um intervalo de confiança a 95% (IC95%) da diferença da distância linear e da distância angular. Verificou-se, por intermédio de um teste de *Wilcoxon*, se existia diferença entre os dois momentos, antes e após a distração osteogénica.

Para avaliar o comportamento nos diferentes grupos foi efetuado um teste de *Kruskal-Wallis* às diferenças das medidas lineares e uma avaliação descritiva com base nas médias e coeficientes de variação.

3. Resultados

3.1. Evolução do estado de saúde dos animais e observações clínicas

Todos os animais toleraram os procedimentos operatórios sem problemas, recuperaram da anestesia de forma adequada e sobreviveram até ao final do tempo da experiência, permitindo a execução das metodologias e a preparação para a avaliação, em todos eles, dos parâmetros enunciados no capítulo anterior.

Não ocorreram quaisquer situações de infeção, convulsão, alteração respiratória, paralisia, nem outro tipo de patologia em qualquer momento, durante os intervalos do estudo.

Ao longo do período experimental não foram observadas quaisquer situações anómalas com o comportamento dos distratores, como descimentação ou fratura, mantendo a sua estabilidade e rigidez inicial (Figura 3.1)

Apesar da dieta mole administrada durante o processo de distração osteogénica, não se observou qualquer sinal de má nutrição, e desde a cirurgia até ao dia da eutanásia houve um aumento médio de peso de 2,3 kg (Gráfico 3.1).

Nenhum dos animais mostrou agressividade ou emitira vocalizações relacionadas com dor. Destaca-se até o facto de alguns terem adquirido por si mesmo a postura requerida para efetuar a ativação do distrator, sem necessitar de imobilização mecânica.

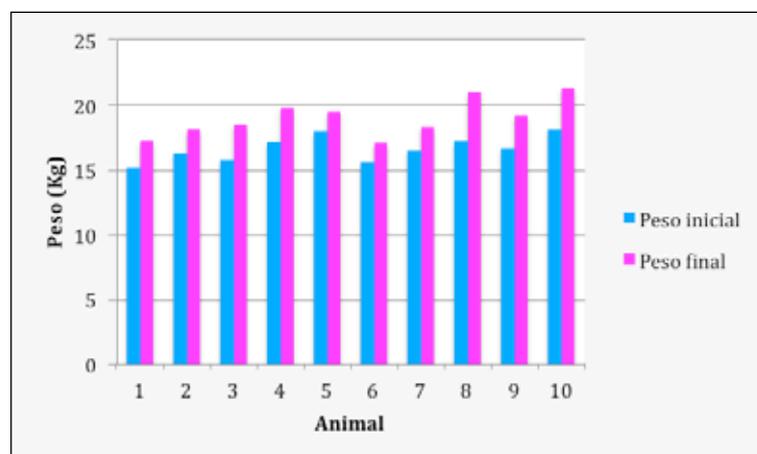


Gráfico 3.1 - Variação do peso entre o início e o fim do período experimental.



Figura 3.1 - Aspeto da zona distracionada de dois animais, sem qualquer sinal inflamatório observado às três semanas após cirurgia.



Figura 3.2 - Aspeto da face lingual da zona distracionada.

3.2. Análise macroscópica

As observações macroscópicas das hemimandíbulas, recolhidas após a disseção da pele e dos tecidos moles, não evidenciaram alterações macroscópicas nem a existência de processos inflamatórios visíveis, para além do espectável e decorrente do ato cirúrgico.

Estes dados foram posteriormente complementados, na necropsia, com biopsias colhidas de diversos órgãos (coração, rins, fígado, baço e gânglios linfáticos) para análise histológica efetuada em microscopia de luz e que não demonstraram também quaisquer alterações anatomopatológicas.

Também na análise macroscópica, a examinação manual das áreas mandibulares regeneradas permitiu verificar a ausência de mobilidade e boa estabilidade às forças de tração e torção exercidas manualmente. Apesar deste método ser subjectivo, é um dos métodos mais utilizados na avaliação clínica dos processos de osteogénese por distração (Fjeld e Steen, 1988; Fischgrund et al, 1994).

3.3. Análise clínica do alongamento mandibular

O alongamento mandibular induzido pela distração provocou um prognatismo mandibular e conseqüente relação intermaxilar de classe III (Figura 3.3 e figura 3.4).

Pela medição clínica efetuada a cada hemimandíbula, com recurso ao paquímetro, entre a parte média da face mesial da coroa do primeiro molar e a parte média da face distal da coroa do canino mandibular, antes da

primeira ativação do distrator (T1) e após a eutanásia (T2), verificou-se um aumento médio de 9,9 milímetros no Grupo B (Gráfico 3.2) e um aumento médio de 9,8 milímetros no Grupo C (Gráfico 3.3).

Apesar do Grupo A não ter sido submetido a qualquer procedimento do protocolo de distração, foi entendido realizar as mesmas mediações com o objetivo primário de aferir se durante o período experimental houve alterações sagitais mandibulares consequentes do desenvolvimento normal dos animais. Neste grupo, o resultado da diferença entre T1 e T2 foi de zero milímetros (Gráfico 3.4).

Pela análise estatística com o teste de Kruskal-Wallis verifica-se um aumento estatisticamente significativo ($Z = -3,3$; $p = 0,001$) entre T1 e T2 quer no grupo B quer no Grupo C. Para a avaliação estatística entre estes dois grupos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney e verificou-se a inexistência de diferenças estatisticamente significativas ($U = 23,500$; $Z = -0,128$; $p = 0,898$).

Na avaliação das medidas transversais anteriores, que representa a distância entre as faces linguais dos caninos mandibulares direito e esquerdo, verificou-se que a distância média de $17 \pm 1,5$ mm permaneceu inalterada em todos os animais, desde o início do protocolo de distração até à eutanásia. O mesmo sucedeu com as medidas transversais posteriores, entre as faces linguais dos primeiros molares mandibulares, onde a distância média de $35,6 \pm 2$ mm permaneceu inalterada.



Figura 3.3 - Relação intermaxilar antes do início do protocolo de distração.



Figura 3.4 - Relação intermaxilar após a distração osteogénica.

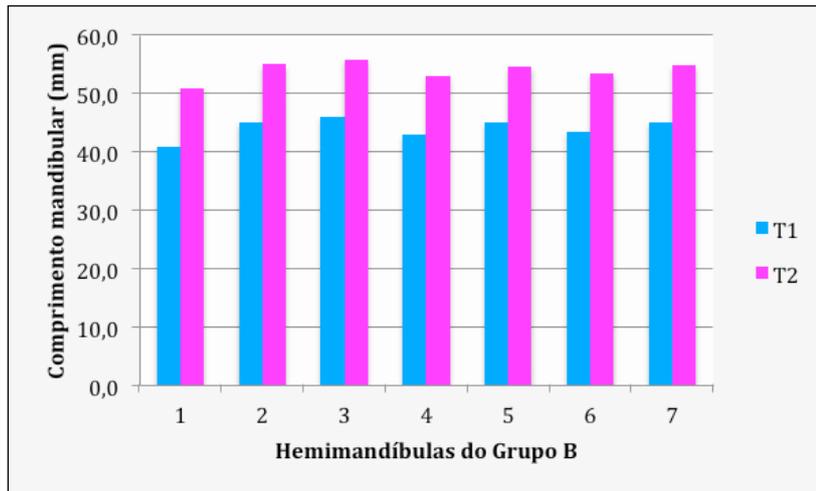


Gráfico 3.2 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo B após distração osteogénica.

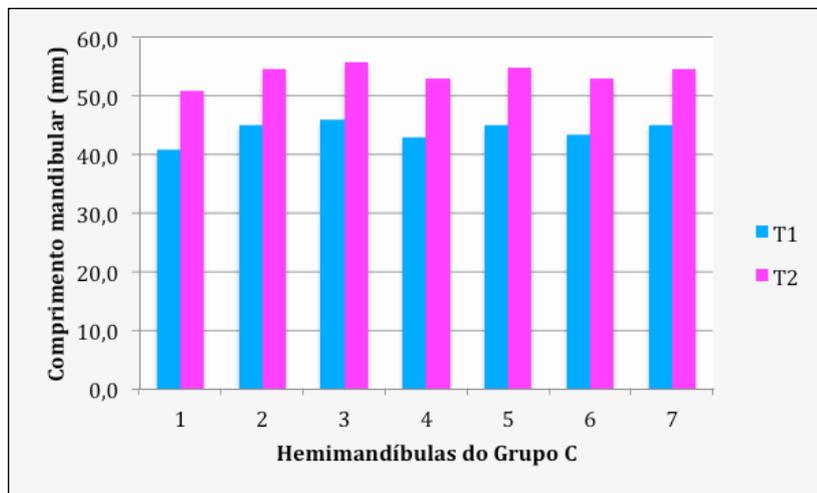


Gráfico 3.3 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo C após distração osteogénica.

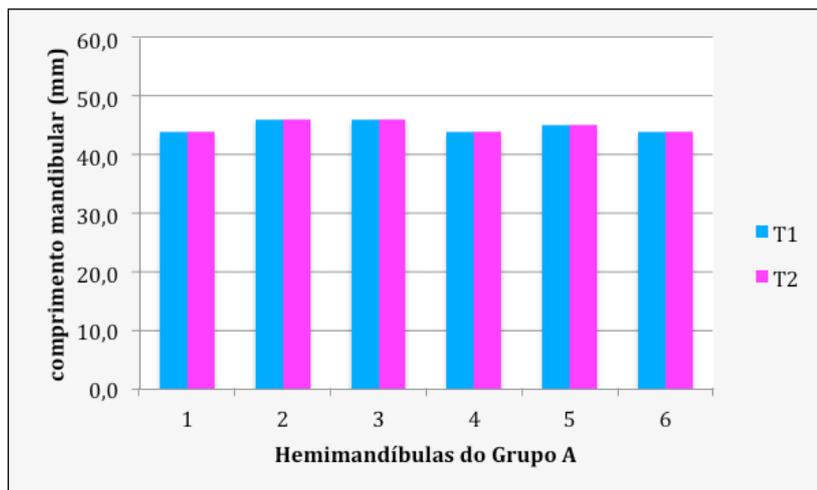


Gráfico 3.4 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo A durante o período do protocolo de distração osteogénica.

3.4. Avaliação radiográfica

Os controlos radiográficos semanais permitiram confirmar a ausência de quaisquer problemas, obstáculos ou complicações nas 14 hemimandíbulas distracionadas.

Pela similaridade de eventos radiográficos observados entre as hemimandíbulas dos dois grupos submetidos à distração, os resultados da avaliação radiográfica efetuada no período de consolidação são apresentados na globalidade, com apontamentos das diferenças observadas (Gráfico 3.5).

3.4.1. Controlo radiográfico pós-cirúrgico

O primeiro controlo radiográfico efetuado logo após a cirurgia, permitiu atestar a correta osteotomia realizada com a serra elétrica, evidenciando a precisão do corte, os bordos regulares dos fragmentos seccionados e a ausência de qualquer injúria nos dentes adjacentes (Figura 3.5).



Figura 3.5 - Radiografia pós-operatória evidenciando a osteotomia.

Como já foi referido no capítulo dos materiais e métodos, no protocolo de distração deste estudo experimental, os dispositivos de distração foram cimentados após o ato cirúrgico. Apesar da mobilidade dos fragmentos mandibulares seccionados, não se verificou qualquer desvio axial resultante da colocação e cimentação dos distratores.

3.4.2. Controlo radiográfico no período de latência

Verificou-se que durante este período os fragmentos mandibulares anterior e posterior à osteotomia mantiveram-se estáveis e sem desvios quer no eixo vertical quer no eixo frontal, com densidades radiográficas semelhantes (Figura 3.6).



Figura 3.6 - Radiografia à primeira semana após a osteotomia (período de latência).

3.4.3. Controlo radiográfico no período de distração

Durante os dez dias de ativação do parafuso do distrator, verificou-se a separação gradual dos segmentos ósseos, pelo deslocamento sagital com sentido pósterio-anterior dos fragmentos mandibulares anteriores à osteotomia (Figura 3.7). O defeito criado de 10 mm apresentava-se radiotranslúcido na totalidade da sua área e os bordos dos fragmentos apresentavam contornos ainda muito bem definidos com contorno regular (Figura 3.8). Apesar de se ter verificado um pequeno desvio médio-lateral em 2 hemimandíbulas e vertical em 1 das 14 hemimandíbulas, os bordos correspondentes mantiveram-se devidamente alinhados.



Figura 3.7 - Radiografia evidenciando a separação dos fragmentos seccionados ao terceiro dia de distração.

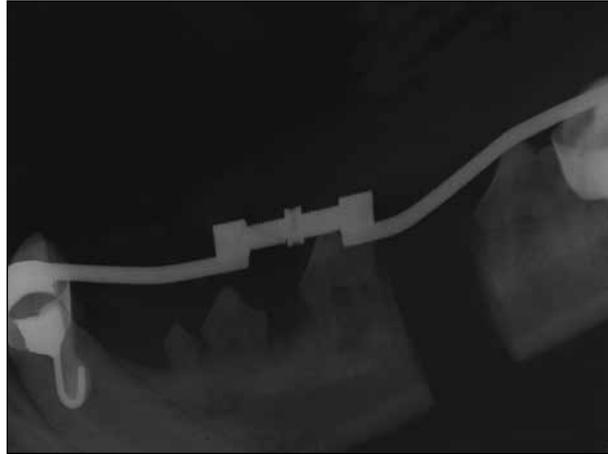


Figura 3.8 - Imagem radiográfica de uma hemimandíbula no final do alongamento mandibular após bloqueio do dispositivo de distração

3.4.4. Controlo radiográfico no período de consolidação

3.4.4.1. Entre zero e duas semanas de consolidação

Neste período experimental verificou-se que em doze hemimandíbulas, o espaço interfragmentário encontrava-se no estágio Tipo 1, isto é, com ausência completa de evidências de mineralização no espaço da distração. Os bordos dos fragmentos eram regulares, delimitando claramente o espaço de distração completamente radiotransparente.

Nas restantes duas hemimandíbulas detetaram-se pequenos focos radiopacos no espaço da distração, correspondendo ao estágio Tipo 2 (pequenas áreas de mineralização presentes no espaço de distração) (Figura 3.9). A aposição óssea verificada provinha essencialmente do bordo anterior do segmento mandibular posterior.



Figura 3.9 - Imagem radiográfica, às duas semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 1 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 2.

3.4.4.2. Entre duas e quatro semanas de consolidação

Durante este período de tempo verificaram-se sinais de mineralização no espaço interfragmentário de todas as hemimandíbulas, com pequenos focos retangulares radiopacos, sugestivos de centros de ossificação, uns mais isolados, outros com marcada continuidade com as margens do defeito, e todos com orientação paralela ao eixo de distração. Também bordos dos segmentos nativos ficaram progressivamente mais irregulares, deixando de ter radiopacidade uniforme (Figura 3.10).

Às quatro semanas de consolidação, treze hemimandíbulas foram consideradas como estando no estágio Tipo 2 e uma já se situava no estágio Tipo 3 (presença de duas zonas de mineralização originárias dos fragmentos ósseos anterior e posterior).



Figura 3.10 - Imagem radiográfica, às quatro semanas do período de consolidação, demonstrativa da transição do estágio Tipo 2 para o estágio Tipo 3.

3.4.4.3. Entre quatro e seis semanas de consolidação

O espaço de tempo decorrido foi caracterizado pelo aumento gradual da mineralização na zona de distração de todas as hemimandíbulas, com duas zonas mais radiopacas com origem nos fragmentos ósseos nativos, mas ainda separadas por uma zona radiotransparente. Verificou-se, assim, que todas as hemimandíbulas estavam no estágio Tipo 3; mas apenas dez apresentavam as zonas de mineralização com as mesmas dimensões dos fragmentos ósseos alongados (Figura 3.11).



Figura 3.11 - Imagem radiográfica, às seis semanas do período de consolidação, com as duas hemimandíbulas no estágio Tipo 3. É visível, na hemimandíbula esquerda, a zona de mineralização com as mesmas dimensões dos segmentos ósseos distraçados anterior e posterior.

3.4.4.4. Entre seis e oito semanas de consolidação

Neste período de tempo, todas as imagens radiográficas demonstraram uma radiopacidade uniforme a ligar os segmentos mandibulares anterior e posterior (Figura 3.12 e Figura 3.13).

Treze hemimandíbulas apresentavam uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior (estádio Tipo 4) e destas, apenas 4 apresentavam as mesmas dimensões do osso nativo.

À oitava semana, apenas uma hemimandíbula demonstrava evidencia radiográfica de corticalização do bordo basilar (estádio Tipo 5).



Figura 3.12 - Imagem radiográfica, às oito semanas do período de consolidação, com a hemimandíbula esquerda no estágio Tipo 4 e a hemimandíbula direita no estágio Tipo 5.



Figura 3.13 - Imagem radiográfica demonstrando em pormenor a radiopacidade característica da mineralização da totalidade do espaço distração sem evidência de corticalização (estádio Tipo 4).

3.4.4.5. Entre oito e dez semanas de consolidação

Até à décima semana, oito hemimandíbulas situavam-se no estágio Tipo 5, ou seja, apresentavam uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com a margem coronal (bordo basilar) evidenciando a corticalização. Cinco tinham permanecido no estágio Tipo 4 e uma já apresentava uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração, unindo os segmentos anterior e posterior, com as duas margens evidenciando a corticalização (estádio Tipo 6) (Figura 3.14).



Figura 3.14 - Imagem radiográfica, às dez semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 6 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 5.

3.4.4.6. Entre dez e doze semanas de consolidação

Nas duas últimas semanas do período de consolidação e que precederam a eutanásia, as imagens radiográficas de todas as hemimandíbulas revelaram o alongamento pósterio-anterior, com as zonas distraçionadas totalmente mineralizadas, evidenciando uma densidade radiográfica típica de um fenómeno de aposição/regeneração óssea orientada paralelamente ao eixo da distração, sem focos, centrais ou periféricos, radiotransparentes e sem desvios axiais dos segmentos ósseos anterior e posterior.

À décima segunda semana, nove hemimandíbulas encontravam-se no estágio Tipo 6, com diferenciação da cortical e cinco no estágio Tipo 5 (Figura 3.15 e Figura 3.16).



Figura 3.15 - Imagem radiográfica, às onze semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 5 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 6.



Figura 3.16 - Imagem radiográfica, às doze semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com as duas hemimandíbulas no estágio Tipo 6, demonstrativas da presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração de cada hemimandíbula, unindo os segmentos anterior e posterior, com as duas margens evidenciando a corticalização.

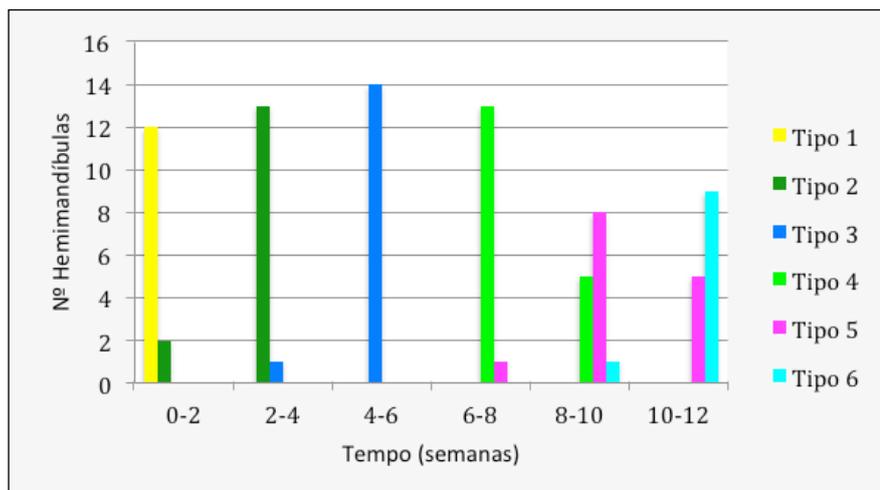


Gráfico 3.5 - Evolução do processo de regeneração óssea na zona distração durante o período de consolidação.

3.5. Avaliação da telerradiografia e análise cefalométrica

As análises cefalométricas das telerradiografias obtidas antes do início da distração osteogénica (T1) e após o período de consolidação (T2) foram efetuadas pelo método digital direto, através do programa Dolphin Imaging Software/32 (High Quality Digital Imaging Software for Orthodontics, Orthognahic Surgery, Cosmetics and Medical Imaging, versão 8.0.6.12, da Dolphin Imaging Systems Inc, USA).

A análise do erro sistemático e aleatório das medições cefalométricas permitiu demonstrar que o erro da variância, estudado por não se ter verificado diferenças significativas entre a média dos dois traçados (erro sistemático), não excedeu os 3% e o coeficiente de correlação entre as medições do traçado inicial e as medições repetidas excedeu sempre o valor de 0,9.

Para as duas variáveis cefalométricas, linear e angular, a variação ocorrida durante o período de tempo do protocolo de distração, foi avaliada por intermédio de um intervalo de confiança a 95% (IC95%). Foi realizado o teste de Wilcoxon, para verificar se existiam, ou não, diferenças das médias entre os dois momentos (T1 e T2).

Para avaliar o comportamento nos diferentes grupos (A, B e C) foi realizado o teste de Kruskal Wallis às diferenças das medições lineares e angulares.

Por fim foi feita uma avaliação descritiva com base nas médias e coeficientes de variação.

Os valores referentes às medições lineares não foram compensados pelo fator médio de ampliação (8%), aplicando-se o mesmo método utilizado por outros autores (Riolo et al, 1974).

3.5.1. Variável cefalométrica linear: *Molar Inferior LM - Canino Inferior LC*

Na tabela 3.1 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes ao estudo cefalométrico da variável LM-LC.

No gráfico 3.6 estão representadas as médias marginais estimadas nos diferentes momentos de avaliação e nos diferentes grupos.

No gráfico 3.7 estão representadas as variações individuais entre T1 e T2.

No grupo de controlo (Grupo A) não houve diferença de médias entre T1 e T2.

Nos grupos de teste B e C foram observados aumentos estatisticamente significativos entre T1 e T2 ($Z = -3,3$; $p = 0,001$). O valor médio do alongamento hemimandibular desde o início do período de distração até ao final do período de consolidação foi de 8,6 mm no grupo B e de 8,7 mm no grupo C.

Comparando os diferentes grupos, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas através do teste de Kruskal-Wallis ($C^2_{KW}(2) = 12,381$; $p = 0,002$). As diferenças foram analisadas com o teste de Mann-Whitney U para todos os pares dos grupos, verificando-se significância estatística entre o grupo A e o grupo B ($U = 0,000$; $Z = -3,160$; $p = 0,002$) e entre o grupo A e o grupo C ($U = 0,000$; $Z = -3,156$; $p = 0,002$). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos B e C ($U = 23,500$; $Z = -0,128$; $p = 0,898$).

Tabela 3.1 - Resultados e estatística descritiva das medidas lineares.

Variável	Grupo A		Grupo B			Grupo C		
	T1	T2	T1	T2	T1-T2	T1	T2	T1-T2
LM-LC (mm)								
média	44,8	44,8	45,1	53,7	8,6	45,1	53,8	8,7
mediana	44,5	44,5	46,0	54,6	8,9	46,0	54,8	8,8
std	1,0	1,0	1,7	2,8	3,5	1,7	2,7	3,2
max	46,0	46,0	47,0	56,0	12,0	47,0	56,0	12,0
min	44,0	44,0	42,0	47,6	1,6	42,0	48,4	2,4
IC95%	(43,8;45,9)	(43,8;45,9)	(43,5;46,6)	(51,2;56,3)	(5,4;11,9)	(43,5;46,6)	(51,3;56,2)	(5,8;11,6)
CV			0,04	0,05	0,41	0,04	0,05	0,37

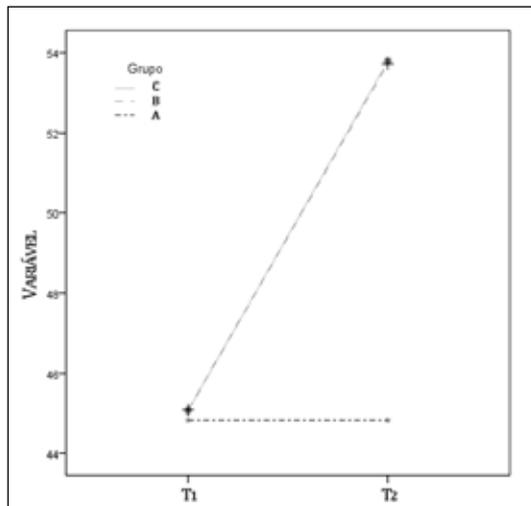


Gráfico 3.6 - Médias marginais das medidas lineares.

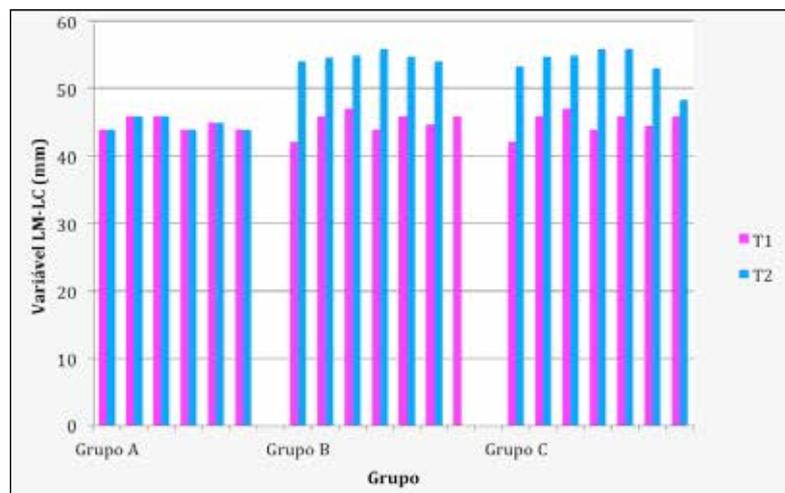


Gráfico 3.7 - Variação do comprimento hemimandibular entre T1 e T2.

3.5.2. Variável cefalométrica angular: Cômilo Mandibular Cd - Apófise Angular Aa - Incisivo Inferior Li

Na tabela 3.2 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes ao estudo cefalométrico da variável Cd-Aa-li.

No gráfico 3.8 estão representadas as médias marginais estimadas nos diferentes momentos de avaliação e nos diferentes grupos.

No gráfico 3.9 estão representadas as variações individuais entre T1 e T2.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($Z = -0,285$; $p = 0,775$) em qualquer um dos grupos, entre os dois momentos de avaliação.

Comparando os diferentes grupos, também não foram encontradas diferenças com significância estatística através do teste de Kruskal-Wallis ($C^2_{KW}(2) = 0,381$; $p = 0,8274$).

Os valores encontrados e a análise estatística revelaram que durante o protocolo de distração não foram produzidos efeitos quer no ângulo goníaco quer na angulação dos segmentos ósseos distraçados.

Tabela 3.2 - Resultados e estatística descritiva das medidas angulares.

Variável	Grupo A		Grupo B			Grupo C		
Cd-Aa-li (°)	T1	T2	T1	T2	T1-T2	T1	T2	T1-T2
média	83,2	83,0	83,4	84,3	0,9	82,7	82,8	0,1
mediana	83,5	83,5	83,0	84,0	2,0	84,0	83,0	0,0
std	1,5	2,1	4,0	4,2	3,6	4,2	1,8	4,4
max	85	85,0	88	92,0	4,0	87	85,0	6,0
min	81	80,0	77	79,0	-5,0	76	79,5	-5,0
IC95%	(81,6;84,7)	(80,8;85,2)	(79,7;87,2)	(80,4;88,2)	(-2,5;4,2)	(78,9;86,6)	(81,1;84,5)	(-4,0;4,1)

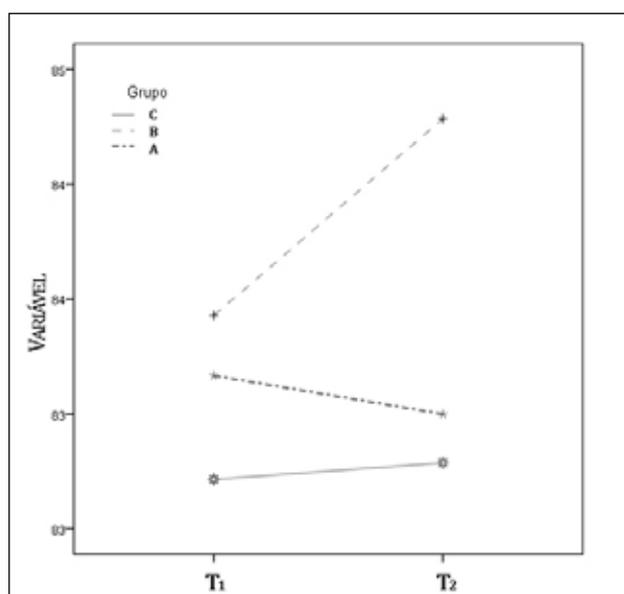


Gráfico 3.8 - Médias marginais das medidas angulares.

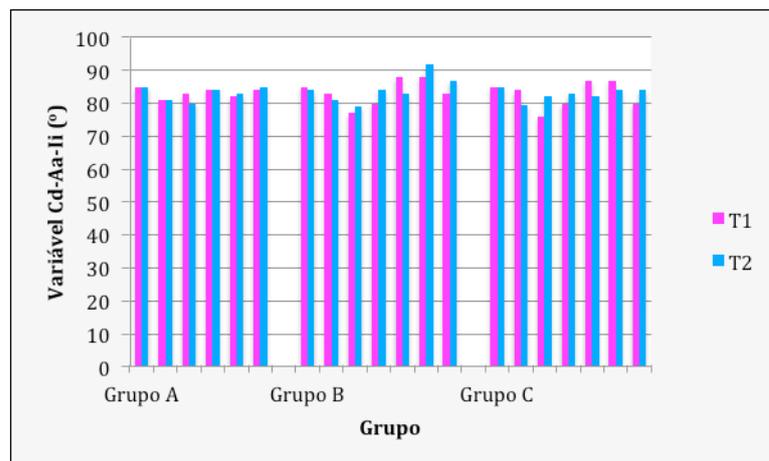


Gráfico 3.9 -Variação plano mandibular entre T1 e T2.

3.6. Avaliação da Absorciometria de Raio X de Dupla Energia - DEXA

O exame de densitometria óssea de dupla energia realizado após a eutanásia permitiu quantificar o BMC e a BMD na zona distracionada das hemimandíbulas do grupo B e C, e na zona correspondente, entre o terceiro e o quarto pré-molar mandibular, das hemimandíbulas do grupo A.

A análise estatística efetuada através do teste de Mann-Whitney, com intervalo de confiança a 95%, evidenciou os bons resultados de BMC e de BMD dos grupos sujeitos à distração osteogénica B e C, quando comparados com o grupo de controlo.

Para verificar qual dos grupos de teste apresentava melhores resultados, avaliou-se a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos através do teste de Kruskal-Wallis. Procedeu-se ainda a uma análise com base na média e no coeficiente de variação do BMC e da BMD e, nos grupos que sofreram distração foi efetuado sobre o coeficiente de variação, um teste de Levene.

3.6.1. Conteúdo mineral ósseo – BMC

Na tabela 3.3 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre o grupo de controlo e o grupo B.

Na tabela 3.4 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre o grupo de controlo e o grupo C.

Na tabela 3.5 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre os grupos de teste B e C.

No gráfico de barras de erros 3.10 estão representadas as médias marginais estimadas para os diferentes grupos.

No gráfico 3.11 estão representadas as variações individuais de cada grupo.

O valor médio de BMC encontrado nas hemimandíbulas do grupo de controlo foi de 0,7483 g, IC95% (0,60; 0,89), e o valor médio encontrado nas hemimandíbulas sujeitas à distração osteogénica foi de 0,6557 g, IC95% (0,55; 0,76). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as medianas das hemimandíbulas do grupo de controlo e as medianas das hemimandíbulas distracionadas ($U = 29,0$; $Z = -1,075$; $p = 0,283$).

Comparando os grupos B e C, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($C^2_{KW}(2) = 1,322; p = 0,516$). No entanto, como a variação dos resultados foi maior no grupo C, verificaram-se diferenças com significância estatística [$F(1,12) = 5,212, p = 0,041$] entre o coeficiente de variação dos grupos B e C.

Tabela 3.3 - Comparação de médias de BMC entre o grupo de controlo e o grupo B.

	Grupo A		Grupo B		U	Z	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)			
BMC (g)	0,7483	18,85	0,6543	15,86	29,0	1,075	0,283
Área (Cm ²)	1,00		1,11				

Tabela 3.4 - Comparação de médias de BMC entre o grupo de controlo e o grupo C.

	Grupo A		Grupo C		U	Z	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)			
BMC (g)	0,7483	18,85	0,6571	35,99	29,0	1,075	0,283
Área (Cm ²)	1,00		1,09				

Tabela 3.5 - Comparação de médias de BMC entre o grupo B e o grupo C.

	Grupo B		Grupo C		$C^2_{KW}(2)$	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)		
BMC (g)	0,6543	15,86	0,6571	35,99	1,322	0,516
Área (Cm ²)	1,11		1,09			

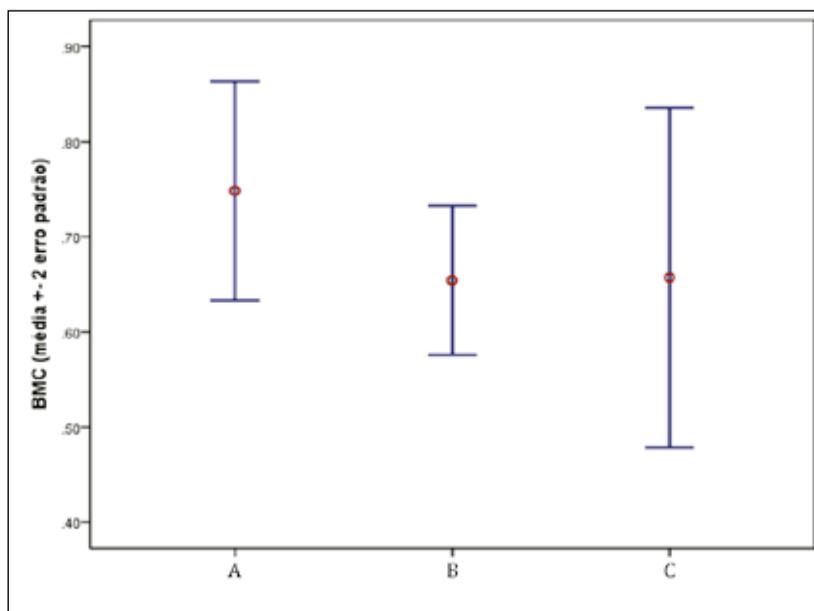


Gráfico 3.10 - Médias marginais de BMC nos diferentes grupos.

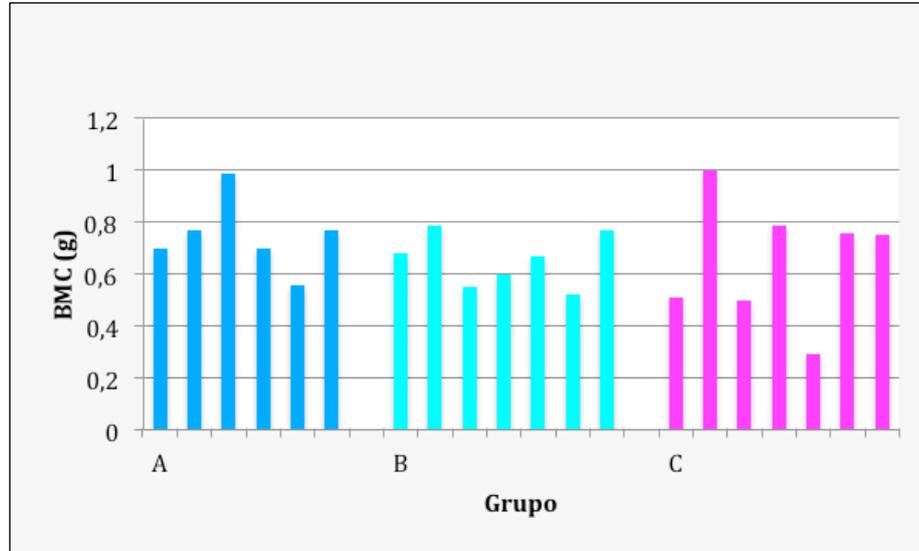


Gráfico 3.11 - Valores individuais de BMC em cada grupo.

3.6.2. Densidade mineral óssea – BMD

Na tabela 3.6 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre o grupo de controlo e o grupo B.

Na tabela 3.7 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre o grupo de controlo e o grupo C.

Na tabela 3.8 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à comparação entre os grupos de teste B e C.

No gráfico de barras de erros 3.12 estão representadas as médias marginais estimadas para os diferentes grupos.

No gráfico 3.13 estão representadas as variações individuais de cada grupo.

O valor médio de BMD encontrado nas hemimandíbulas do grupo de controlo foi de 0,6808 g/cm², IC95% (0,63; 0,73), e o valor médio encontrado nas hemimandíbulas sujeitas à distração osteogénica foi de 0,6354 g/cm², IC95% (0,58; 0,69). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as medianas das hemimandíbulas do grupo de controlo e as medianas das hemimandíbulas distracionadas (U = 30,0; Z = -0,990; p = 0,353).

Comparando os grupos B e C, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($C^2_{\text{KW}}(2) = 0,855$; p = 0,652). No entanto, como a variação dos resultados foi maior no grupo C (CV (%) = 19,07) do que no grupo B (CV (%) = 10,35), verificaram-se diferenças com significância estatística [F (1, 12) = 5,212, p = 0,041] entre o coeficiente de variação dos grupos B e C.

Tabela 3.6 - Comparação de médias de BMD entre o grupo de controlo e o grupo B.

	Grupo A		Grupo B		U	Z	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)			
BMD (g/cm ²)	0,6808	7,07	0,6479	10,35	30,0	0,990	0,353
Área (Cm ²)	1,00		1,11				

Tabela 3.7 - Comparação de médias de BMD entre o grupo de controlo e o grupo C.

	Grupo A		Grupo C		U	Z	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)			
BMD (g/cm ²)	0,6808	7,07	0,6229	19,07	30,0	0,990	0,353
Área (Cm ²)	1,00		1,09				

Tabela 3.8 - Comparação de médias de BMD entre o grupo B e o grupo C.

	Grupo B		Grupo C		C ² _{kw(2)}	P
	Média	CV(%)	Média	CV(%)		
BMD (g/cm ²)	0,6479	10,35	0,6229	19,07	0,855	0,652
Área (Cm ²)	1,11		1,09			

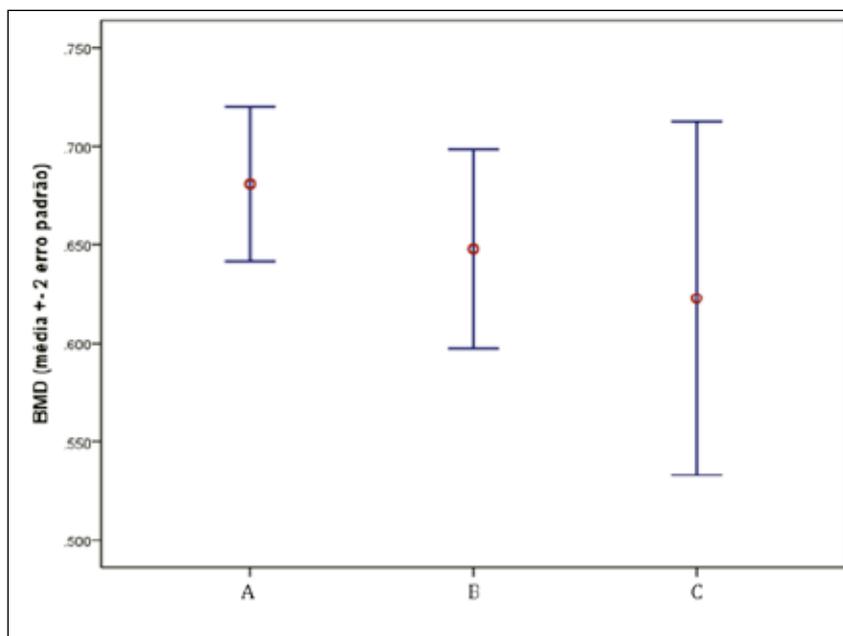


Gráfico 3.12 - Médias marginais de BMD nos diferentes.

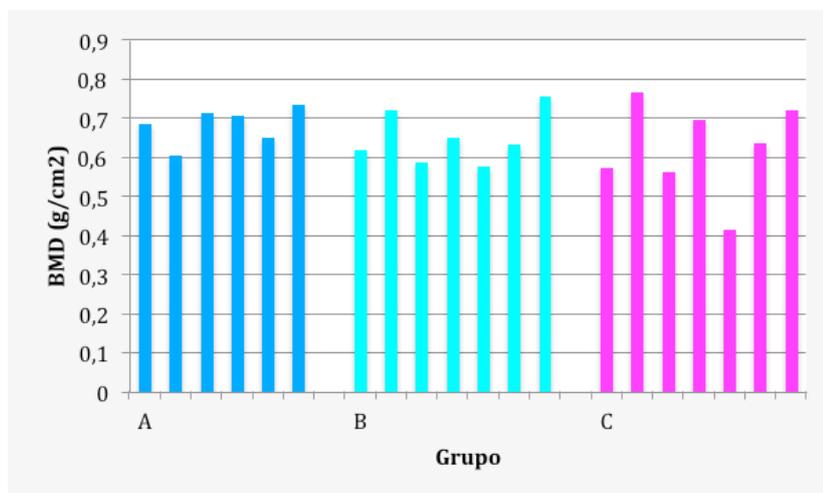


Gráfico 3.13 - Valores individuais de BMD em cada grupo.

3.7. Histomorfometria

Como foi descrito no capítulo de materiais e métodos, cada imagem dos cortes sagitais vestibular, médio e lingual, de cada uma das amostras dos grupos de estudo, foi observada no estereomicroscópio com uma ampliação de 0,75X. Depois de exportadas para o programa informático de análise de imagem Bioquant Osteo® 2012 (Bioquant® - Image Analysis Corporation, Nashville, EUA), em cada uma dessas imagens foram delimitadas, na região de interesse, três zonas distintas para estudo histomorfométrico individualizado:

1. Zona Coronal;
2. Zona mediana;
3. Zona apical.

Os resultados utilizados estatisticamente do estudo histomorfométrico do grupo de controlo, são relativos à região de interesse global, compreendida entre o terceiro e quarto pré-molar para cada um dos cortes sagitais, uma vez que não evidenciaram diferenças relevantes entre os vários níveis de corte.

Os parâmetros avaliados nas 144 análises histomorfométricas, nomeadamente a área ocupada pelo novo osso e pelo osso nativo, foram calculados como valores percentuais em relação à área total.

A análise estatística estabeleceu uma comparação dos parâmetros de avaliação entre os vários grupos experimentais e uma comparação intragrupos entre os diversos cortes e entre as três zonas distintas de cada corte.

O tecido ósseo das hemimandíbulas não submetidas à distração osteogénica funcionaram como controlos negativos, com o intuito de comparação com o novo osso dos grupos de teste reportados na literatura e para validação interna do comportamento fisiológico dos animais do presente estudo.

3.7.1. Preenchimento de tecido ósseo na região de interesse do grupo de controlo

O preenchimento de tecido mineralizado verificado na região de interesse do grupo A, em termos percentuais, foi globalmente de $90,25 \pm 13,18$.

Na tabela 3.9 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de tecidos mineralizados na hemimandíbula esquerda e na hemimandíbula direita do grupo A.

No gráfico 3.14 estão representadas as médias marginais estimadas para cada um dos lados.

A presença de tecidos mineralizados na região de interesse está representada no gráfico 3.15.

Após verificação da violação do pressuposto de normalidade [SW (25) = 0,665; $p < 0,001$ e KS(27) = 0,308; $p < 0,001$], verificou-se que não existiam diferenças estatisticamente significativas ($U = 276,5$; $Z = -1,117$; $p = 0,264$).

Da comparação do coeficiente de variação também se observou a inexistência de diferenças estatisticamente significativas [$F(1,50) = 1,233$; $p = 0,272$] entre as duas hemimandíbulas para o grupo de controlo.

Tabela 3.9 - Percentagem de tecido mineralizado na região de interesse do grupo A.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Lado direito	90,54	10,86	51,98	99,74	12
Lado esquerdo	89,99	15,22	39,44	99,78	16,91

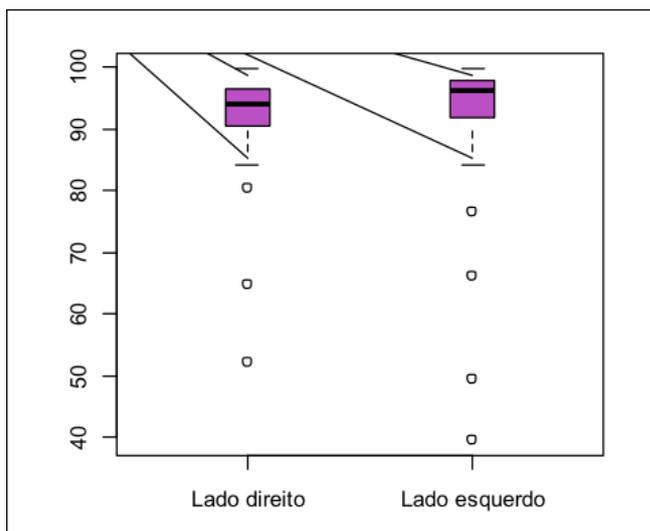


Gráfico 3.14 - Médias marginais (%) estimadas nas duas hemimandíbulas do grupo de controlo.

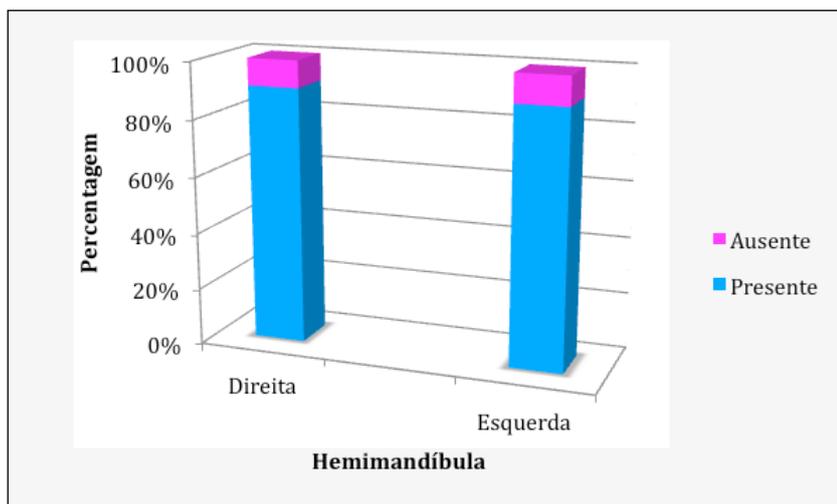


Gráfico 3.15 - Tecido mineralizado na região de interesse.

3.7.2. Preenchimento de novo tecido ósseo na região de interesse dos grupos de teste

3.7.2.1. Análise global e comparação entre os grupos de teste B e C

O preenchimento pelo novo tecido mineralizado verificado na região de interesse do grupo B, em termos percentuais, foi globalmente de $77,47 \pm 23,18$ e no grupo C foi de $75,13 \pm 25,81$.

Na tabela 3.10 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos grupo B e C.

No gráfico 3.16 estão representadas as médias marginais estimadas para cada um dos grupos.

A presença de novo tecido mineralizado na região de interesse de cada grupo está representada no gráfico 3.17.

Após verificação da violação do pressuposto de normalidade [KS (63) = 0,219; $p < 0,001$ e KS (73) = 0,170; $p < 0,001$], verifica-se que não existem diferenças estatisticamente significativas ($U = 2233,5$; $Z = -0,288$; $p = 0,773$) entre os dois grupos de teste.

Da comparação do coeficiente de variação também se observa a inexistência de diferenças estatisticamente significativas [$F (1, 134) = 1,234$; $p = 0,269$] entre os dois grupos.

Tabela 3.10 - Percentagem de novo osso nos grupos B e C.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Grupo B	77,47	23,18	7,91	99,74	29,93
Grupo C	75,13	25,81	0	99,78	34,35

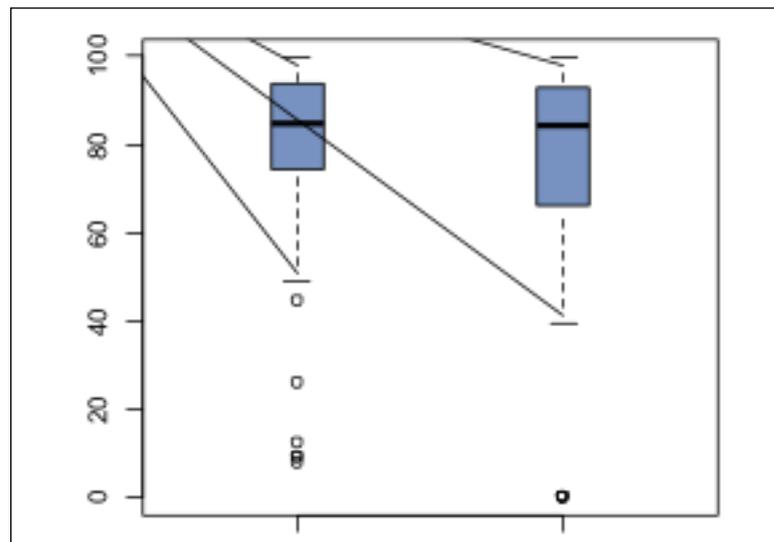


Gráfico 3.16 - Médias marginais (%) estimadas no grupo B e no grupo C.

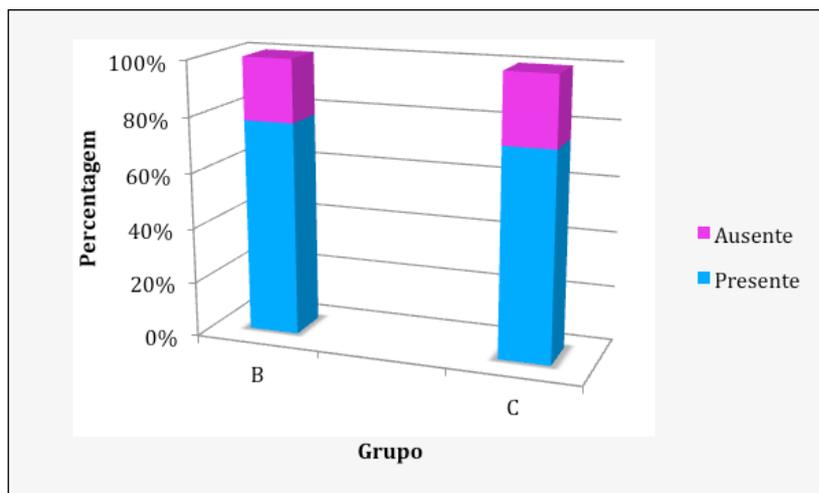


Gráfico 3.17 - Tecido mineralizado na região de interesse dos grupos B e C.

3.7.2.2. Comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual do grupo B

O preenchimento de novo osso verificado na região de interesse do corte sagital vestibular do grupo B, em termos percentuais, foi globalmente de $70,28 \pm 30,59$. No corte médio foi de $78,61 \pm 20,8$ e no corte lingual foi de $84,61 \pm 10,96$.

Na tabela 3.11 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos diferentes cortes do grupo B.

No gráfico 3.18 estão representadas as médias marginais estimadas para cada um dos cortes sagitais.

A presença de novo tecido mineralizado na região de interesse de cada corte do grupo B está representada no gráfico 3.19.

Verificou-se que os resultados melhoravam à medida que a análise era feita de vestibular para lingual, sem que, no entanto, apresentassem significância estatística [$F(2,60) = 2,157; p = 0,125$].

O coeficiente de variação obtido para os cortes médio, vestibular e lingual, foram respetivamente, de 26,46%, 43,53% e 12,96%. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas [$F(1,41) = 7,348; p = 0,010$] no coeficiente de variação observado para o corte médio e o corte vestibular. Também foram observadas diferenças estatisticamente significativas [$F(1,41) = 22,347; p < 0,001$] entre os coeficientes de variação dos cortes lingual e vestibular. Já entre os cortes médio e lingual, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas [$F(1,38) = 3,315; p = 0,077$] nos coeficientes de variação.

Tabela 3.11 - Percentagem de novo osso nos diferentes cortes sagitais do grupo B.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Vestibular	70,28	30,59	7,91	97,48	43,53
Médio	78,61	20,8	9,03	97,41	26,46
Lingual	84,61	10,96	63,38	99,74	12,96

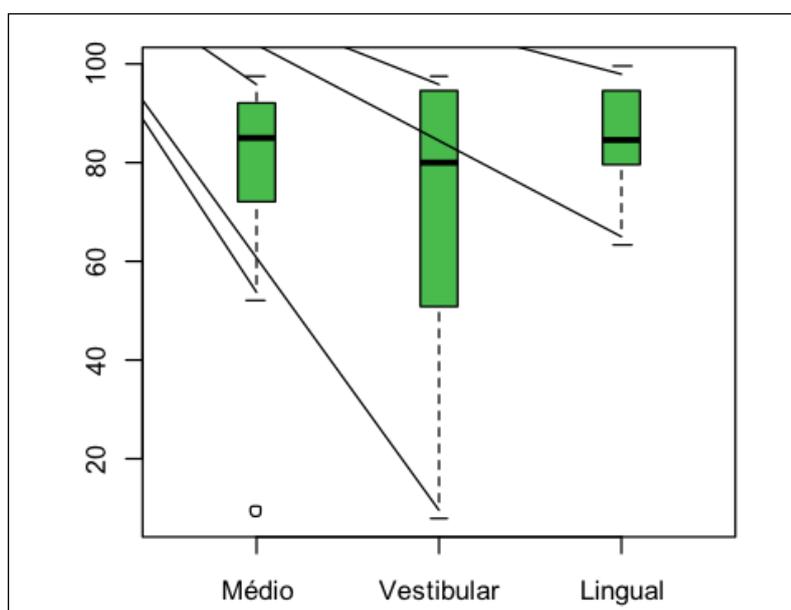


Gráfico 3.18 - Médias marginais (%) estimadas nos diferentes cortes do grupo B.

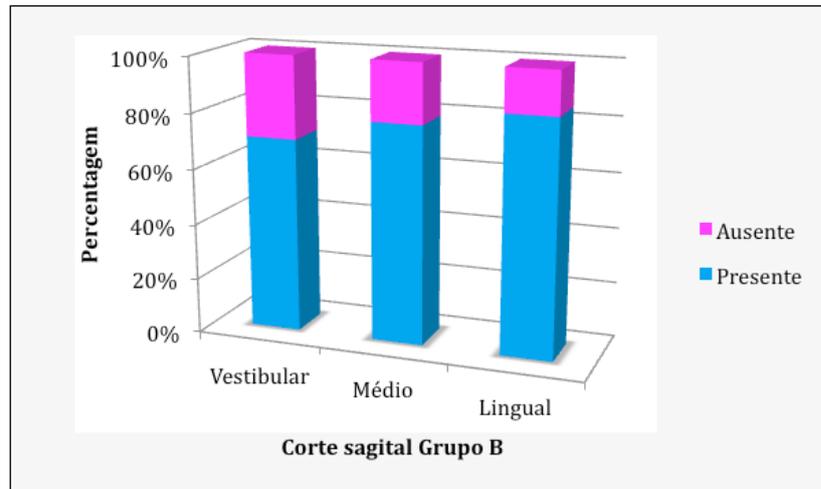


Gráfico 3.19 - Tecido mineralizado nos diferentes cortes do grupo B.

3.7.2.3. Comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual do grupo C

O preenchimento de novo osso verificado na região de interesse do corte sagital vestibular do grupo C, em termos percentuais, foi globalmente de $66,92 \pm 37,31$. No corte médio foi de $78,44 \pm 16,29$ e no corte lingual foi de $78,46 \pm 21,25$.

Na tabela 3.12 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos diferentes cortes do grupo C.

No gráfico 3.20 estão representadas as médias marginais estimadas para cada um dos cortes sagitais.

A presença de novo tecido mineralizado na região de interesse de cada corte do grupo C está representada no gráfico 3.21.

Verificou-se que os resultados melhoravam à medida que a análise era feita de vestibular para lingual, sem que, no entanto, na análise inferencial apresentassem significância estatística [$F(2,70) = 1,513$; $p = 0,227$],

O coeficiente de variação obtido para os cortes médio, vestibular e lingual foram respectivamente de 20,77%, 55,77% e 27,08%. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas [$F(1,44) = 23,328$; $p < 0,001$] no coeficiente de variação observado para o corte médio e o corte vestibular. Também foram observadas diferenças estatisticamente significativas [$F(1,46) = 17,131$; $p < 0,001$] entre os coeficientes de variação dos cortes lingual e vestibular. Já entre os cortes médio e lingual, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas [$F(1,50) = 0,0330$; $p = 0,863$] nos coeficientes de variação.

Tabela 3.12 - Percentagem de novo osso nos diferentes cortes sagitais do grupo C.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Vestibular	66,92	37,32	0	99,59	55,77
Médio	78,44	16,29	45,53	99,78	20,77
Lingual	78,46	21,25	0	98,86	27,08

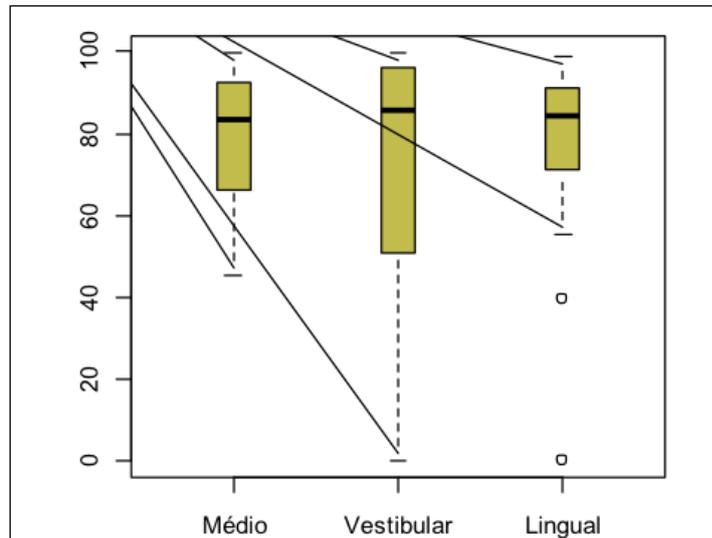


Gráfico 3.20 - Médias marginais (%) estimadas nos diferentes cortes do grupo C.

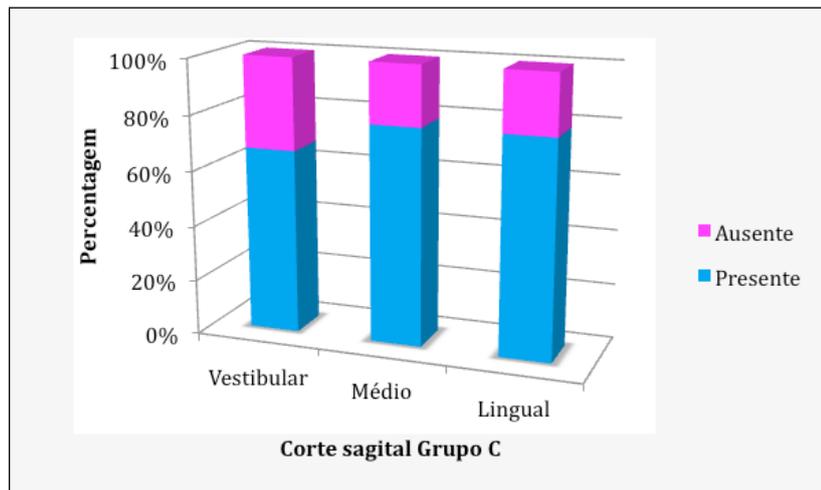


Gráfico 3.21 - Tecido mineralizado nos diferentes cortes do grupo C.

3.7.2.4. Análise global e comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual

Da avaliação global dos três cortes sagitais ficou evidente que, apesar dos valores encontrados relativamente ao preenchimento de novo osso serem diferentes (Tabela 3.13), as análises inferenciais não evidenciaram significância estatística [F (2,133) = 3,298; p = 0,040]. No entanto, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o coeficiente de variação dos cortes médio (23,20%) e vestibular (48,94%) [F (1,87) = 28,222; p < 0,001] e entre o coeficiente de variação dos cortes vestibular e lingual (21,87%) [F (1,89) = 35,702; p < 0,001]. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas [F (1,90) = 1,037; p = 0,311] no coeficiente de variação observado para os cortes médio e lingual.

Na tabela 3.13 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à globalidade dos cortes sagitais.

No gráfico 3.22 estão representadas as médias marginais estimadas para cada um dos cortes.

A presença de novo tecido mineralizado nas regiões de interesse de cada corte está representada no gráfico 3.23.

Tabela 3.13 - Percentagem global de novo osso nos diferentes cortes sagitais.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Vestibular	68,67	33,61	0	99,59	48,94
Médio	78,51	18,21	9,03	99,78	23,2
Lingual	81,08	17,73	0	99,74	21,87

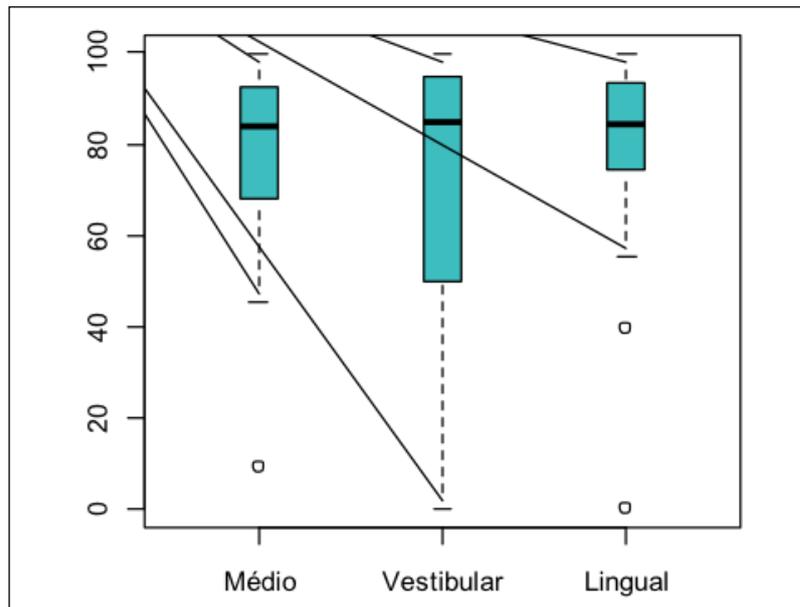


Gráfico 3.22 - Médias marginais (%) estimadas nos cortes sagitais.

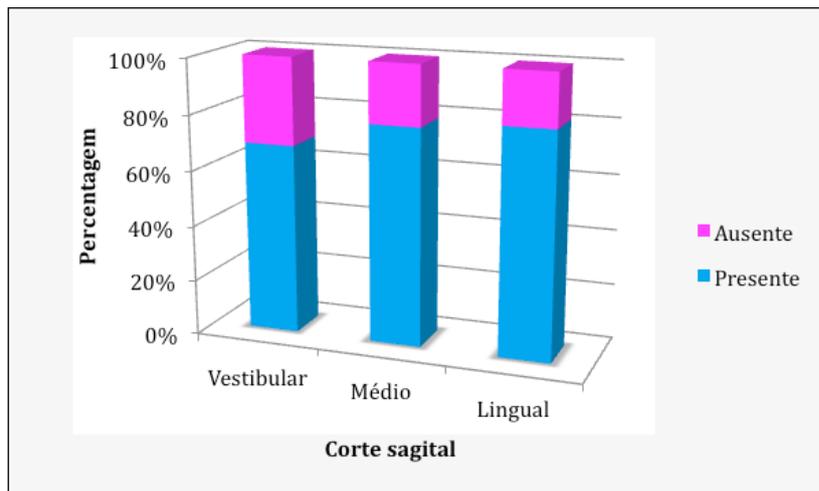


Gráfico 3.23 - Percentagem de novo osso presente na globalidade de cada um dos cortes sagitais da região de interesse das amostras dos grupos de teste.

3.7.2.5. Comparação entre as zonas coronal, mediana e apical do grupo B

O preenchimento com novo osso verificado na zona coronal da região de interesse do grupo B, em termos percentuais, foi globalmente de $74,85 \pm 30,22$. Na zona mediana foi de $73,9 \pm 21,52$ e na zona apical foi de $82,9 \pm 17,25$.

Na tabela 3.14 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos diferentes andares do grupo B.

No gráfico 3.24 estão representadas as médias marginais estimadas para cada uma das zonas.

A presença de novo tecido mineralizado nas diferentes zonas da região distracionada do grupo B está representada no gráfico 3.25.

Verificou-se que os resultados pioravam à medida que a análise era feita de apical para coronal, sem que, no entanto, apresentassem significância estatística [$F(2,60) = 1,000$; $p = 0,374$].

O coeficiente de variação obtido para as zonas, coronal, mediana e apical, foram respetivamente, de 40,38%, 29,13% e 20,80%.

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas [$F(1,38) = 0,471$; $p = 0,497$] no coeficiente de variação observado para a zona coronal e zona mediana.

Não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas [$F(1,42) = 2,992$; $p = 0,091$] no coeficiente de variação observado para a zona apical e zona mediana.

Também não se encontraram diferenças estatisticamente significativas [$F(1,40) = 3,859$; $p = 0,056$] no coeficiente de variação observado entre a zona coronal e zona apical.

Tabela 3.14 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse do grupo B.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Coronal	74,85	30,22	7,91	97,46	40,38
Mediana	73,9	21,52	12,1	96,88	29,13
Apical	82,9	17,25	25,69	99,74	20,8

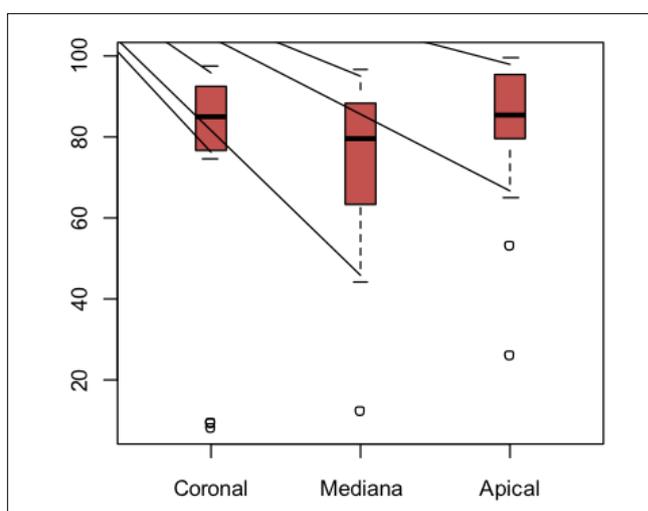


Gráfico 3.24 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse do grupo B.

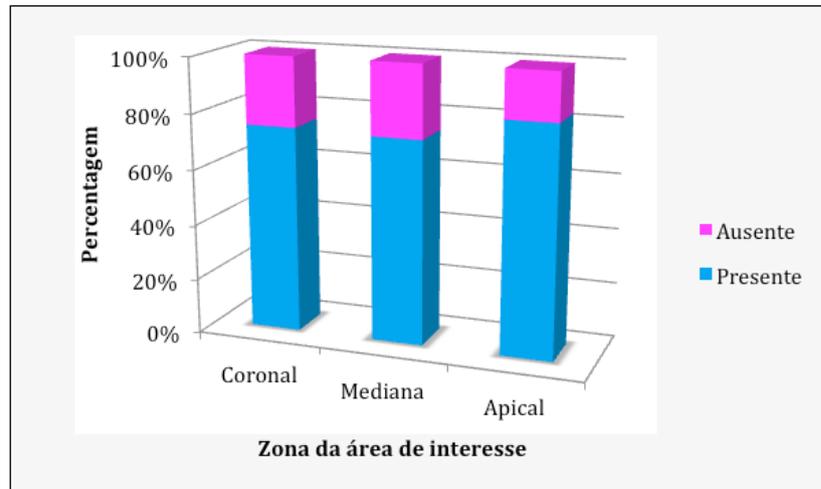


Gráfico 3.25 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse do grupo B.

3.7.2.6. Comparação entre as zonas coronal, mediana e apical do grupo C

O preenchimento com novo osso verificado na zona coronal da região de interesse do grupo C, em termos percentuais, foi globalmente de $74,52 \pm 30,54$. Na zona mediana foi de $72,71 \pm 22,92$ e na zona apical foi de $78,05 \pm 24,2$.

Na tabela 3.15 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos diferentes andares do grupo B.

No gráfico 3.26 estão representadas as médias marginais estimadas para cada uma das zonas.

A presença de novo tecido mineralizado nas diferentes zonas da região distracionada do grupo C está representada no gráfico 3.27.

Verificou-se que os melhores resultados foram obtidos na zona apical, mas, no entanto, a análise inferencial revelou que não existiam diferenças estatisticamente significativas ao comparar as diferentes zonas [$F(2,70) = 0,267$; $p = 0,767$].

O coeficiente de variação obtido para as zonas, coronal, mediana e apical foi respetivamente de 40,99%, 31,52% e 31,01%.

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas no coeficiente de variação observado para a zona coronal e zona mediana [$F(1,46) = 0,440$; $p = 0,510$].

Não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas no coeficiente de variação observado para a zona apical e zona mediana [$F(1,47) = 0,029$; $p = 0,866$].

Também não se encontraram diferenças estatisticamente significativas [$F(1,47) = 0,312$; $p = 0,579$] no coeficiente de variação observado entre a zona coronal e zona apical.

Tabela 3.15 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse do grupo C.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Coronal	74,52	30,54	0	99,78	40,99
Mediana	72,71	22,92	0	99,78	31,52
Apical	78,05	24,2	0	99,78	31,01

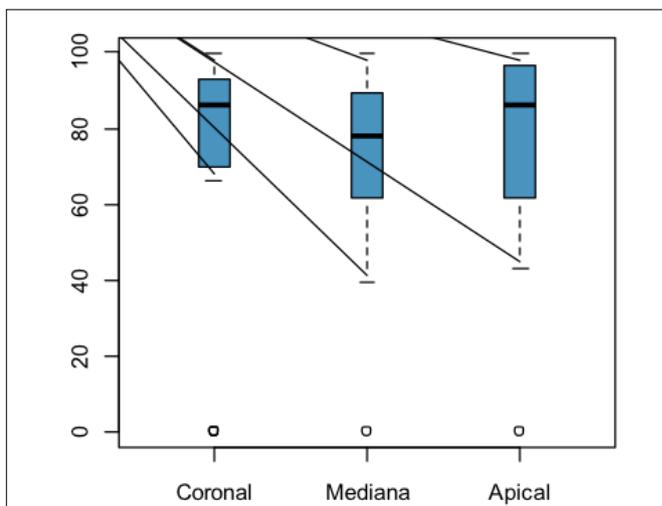


Gráfico 3.26 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse do grupo C.

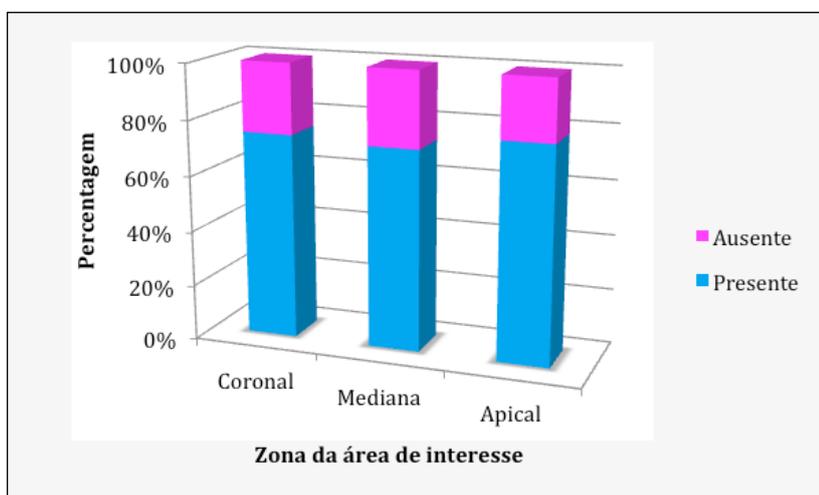


Gráfico 3.27 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse do grupo C.

3.7.2.7. Análise global e comparação das zonas coronal, mediana e apical

O valor total de novo tecido mineralizado presente em cada andar da região de interesse das amostras dos grupos de teste foi de $74,66 \pm 30,04$ na zona coronal, $73,26 \pm 22,03$ na zona mediana e $80,37 \pm 21,08$ na zona apical. Apesar de globalmente região mais próxima do bordo basilar se encontrar com maior percentagem de tecido mineralizado, estatisticamente não foram observadas diferenças significativas [F (2, 133) = 1,099; p = 0,336].

Também na análise ao coeficiente de variação das zonas coronal (40,23%), mediana (30,07%) e apical (26,23%) não se observaram diferenças estatisticamente significativas na comparação das zonas coronal e mediana [F (1,86) = 0,928; p = 0,338], das zonas apical e mediana [F (1,91) = 1,023; p = 0,314] e das zonas coronal e apical [F (1,89) = 1,194; p = 0,077].

Na tabela 3.16 encontram-se os resultados e a estatística descritiva correspondentes à presença de novo osso nos diferentes andares da totalidade da região de interesse das amostras dos grupos de teste.

No gráfico 3.28 estão representadas as médias marginais estimadas para cada uma das zonas.

A presença de novo tecido mineralizado nas diferentes zonas da região distracionada dos grupos de teste está representada no gráfico 3.28.

Tabela 3.16 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse dos grupos de teste.

	média	desvio-padrão	min	máx	C.V.
Coronal	74,66	30,04	0	99,78	40,23
Mediana	73,26	22,03	0	99,78	30,07
Apical	80,37	21,08	0	99,78	26,23

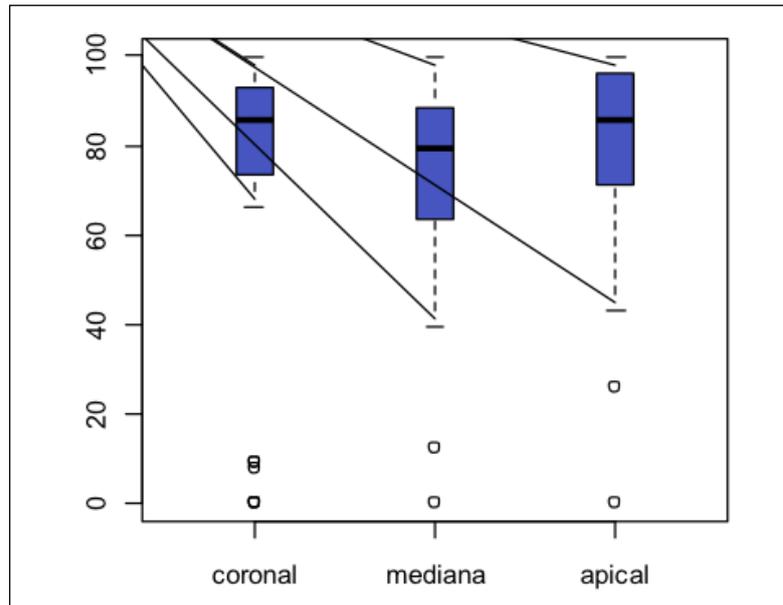


Gráfico 3.28 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse dos grupos de teste.

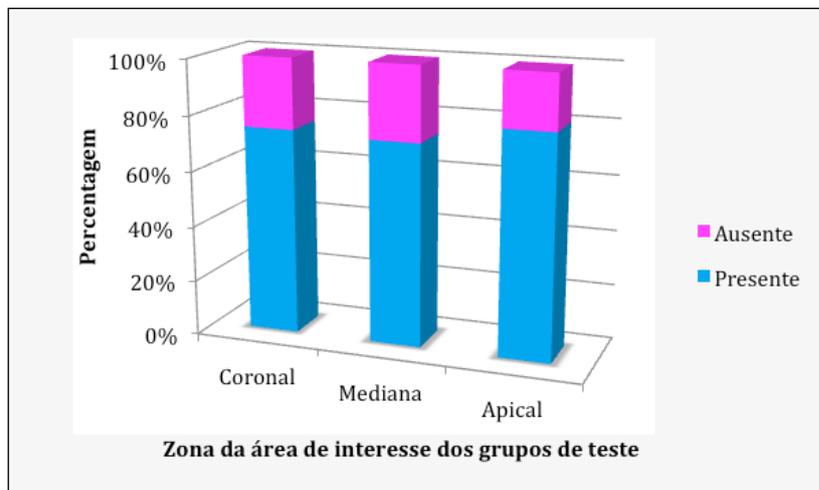


Gráfico 3.29 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse de todas as amostras dos grupos de teste.

3.8. Observação em microscopia de luz

Como o objetivo primário deste estudo visava a avaliação qualitativa e quantitativa do tecido ósseo neoformado durante o processo de distração osteogénica, julgou-se conveniente passar a fase de hemorragia e inflamação, comum a todos os processos de cicatrização, e iniciar os estudos histológicos apenas no final do período experimental. As imagens histológicas apresentadas demonstraram que a metodologia seguida na preparação do material foi bem-sucedida, proporcionando a obtenção de cortes de material bem preservado e de boa qualidade.

Optou-se por documentar este trabalho com numerosas imagens microfotográficas, em vez de uma extensa descrição, acreditando que a imagem nos transmite uma informação mais completa e pormenorizada do que uma vasta exposição, que poderia tornar a leitura de presente trabalho mais fastidiosa.

3.8.1. Grupo Controlo – Grupo A

A partir das secções obtidas do grupo A, pretendeu-se observar a organização histológica típica do tecido ósseo na área correspondente à zona das hemimandíbulas dos grupos de teste que foi submetida à distração osteogénica, permitindo assim comparar os resultados destes grupos com o controlo negativo.

Na observação microscópica dos cortes do grupo controlo foi notória a presença tecido ósseo maduro (Figuras 3.17 e 3.18) constituindo todo o osso mandibular. Porém, pode-se distinguir nitidamente a presença de diferenças quer na sua organização quer na sua localização. Assim, nas regiões corticais é evidente a sua estrutura em tecido ósseo compacto (Figuras 3.18) e em tecido ósseo esponjoso nas regiões intercorticais (Figura 3.17), respetivamente na zona correspondente ao septo interdentário. As trabéculas ósseas que constituem o tecido ósseo esponjoso (Figura 3.19) são formadas por tecido ósseo lamelar de elevada organização estrutural. Estas trabéculas unem-se entre elas, formando um sincício, delimitando espaços intertrabeculares que se encontravam ocupados por tecido fibrovascular. Foram ainda visíveis alguns sinais (Figuras 3.19 e 3.20) de processos de remodelação característicos do tecido ósseo, altamente dinâmico.

De salientar a presença de um aspeto particular na organização estrutural do tecido ósseo na região adjacente ao trajeto do nervo alveolar inferior. Este tecido ósseo (Figura 3.20) apresentava-se altamente compacto, com uma enorme densidade de sistemas de Havers.



Figura 3.17 - Aspeto histológico da região lingual, onde é possível observar a diferente organização do tecido ósseo. É notória a diferente organização do tecido ósseo compacto da região cortical da crista alveolar e bordo basilar, da organização trabecular do tecido ósseo esponjoso do septo interdentário. É ainda visível o espaço correspondente ao trajeto do nervo alveolar inferior. (7,5x no original).

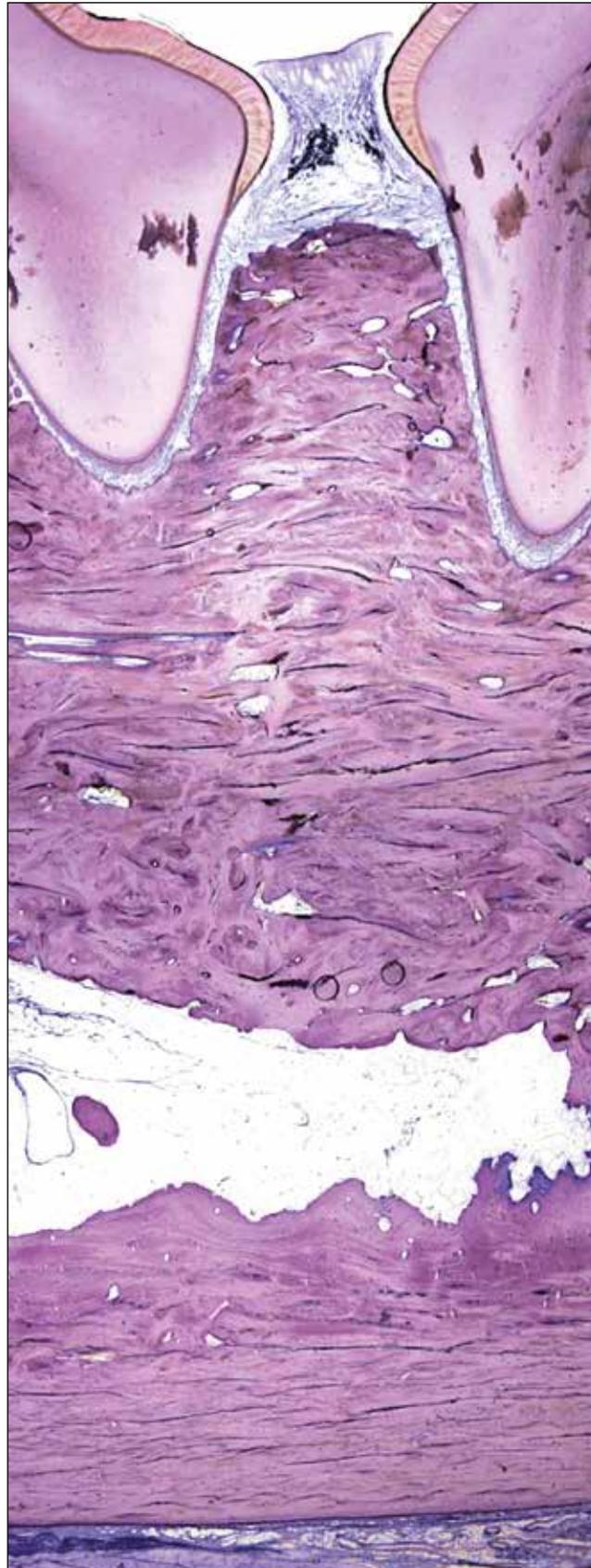


Figura 3.18 - Corte histológico da região cortical vestibular, no sentido corono-apical, pondo em evidência o tecido ósseo compacto que a constitui . De assinalar a presença do espaço correspondente ao canal mandibular. (7,5x no original).

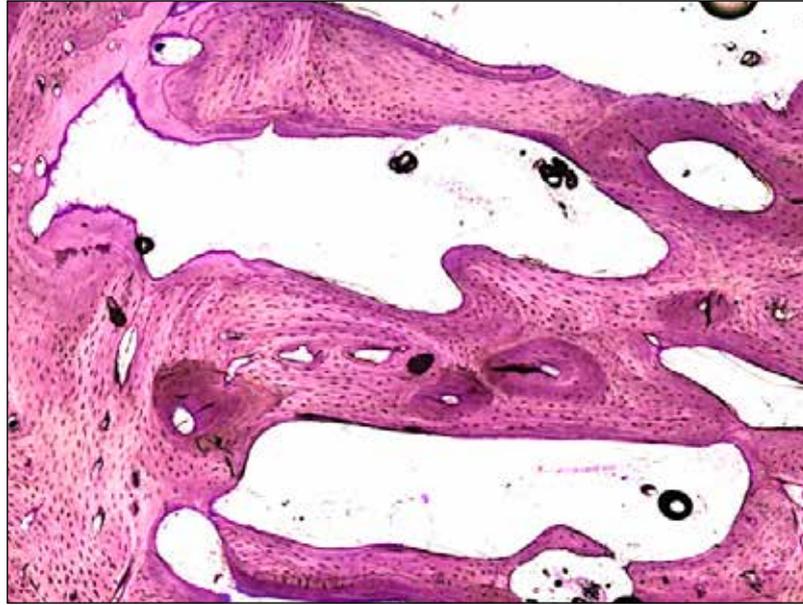


Figura 3.19 - Maior ampliação da imagem anterior demonstrando a interligação das trabéculas ósseas, constituídas por tecido ósseo lamelar. De notar a presença de processos de remodelação com formação de estruturas osteónicas secundárias e terciárias. (40x no original).

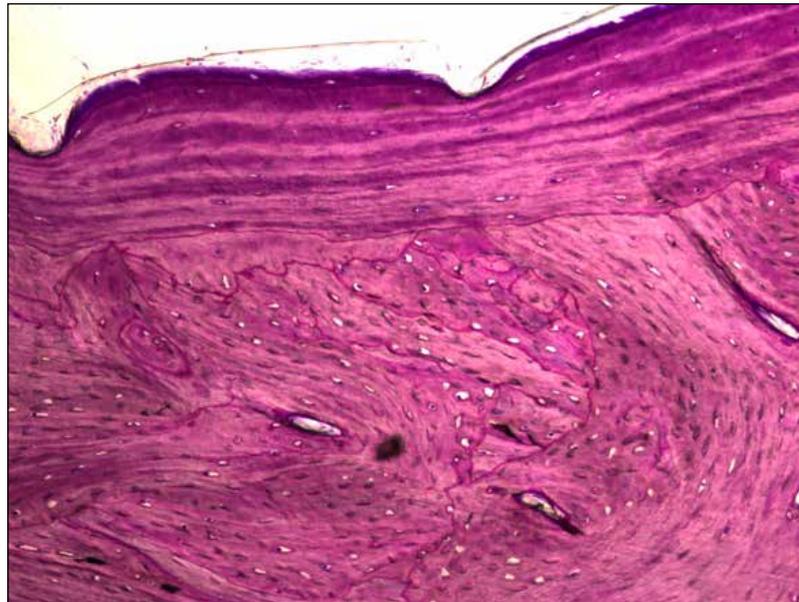


Figura 3.20 - Maior ampliação de uma região da imagem anterior evidenciando o aspeto histológico peculiar das lamelas, em corte longitudinal, que formam o tecido ósseo compacto adjacente ao nervo alveolar inferior. São também visíveis linhas de reversão que indiciam a ocorrência de processos de remodelação no tecido ósseo compacto do bordo basilar da mandíbula. (100x no original).

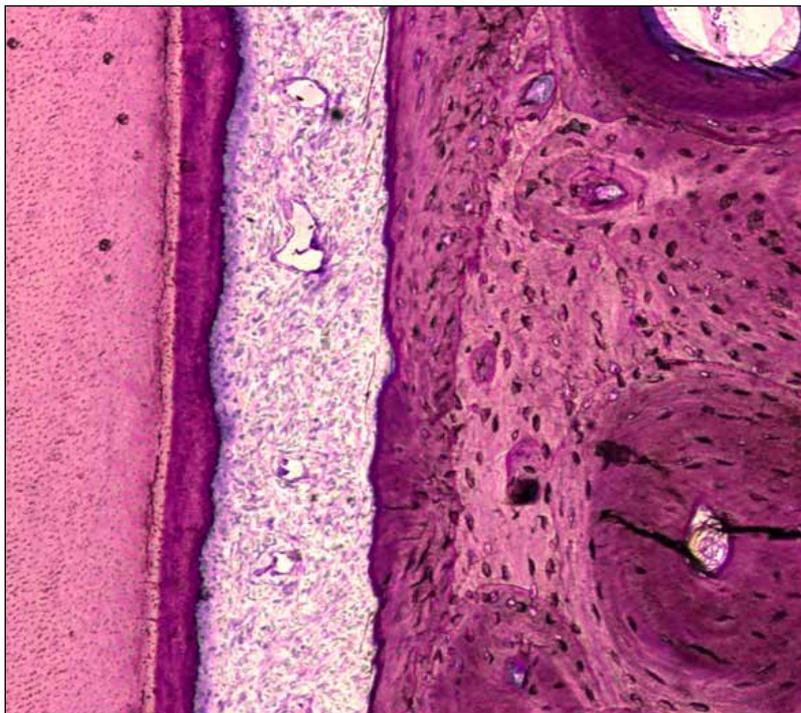


Figura 3.21 - Corte histológico evidenciando a constituição do periodonto de sustentação. É visível a camada de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar propriamente dito. (100x no original).

3.8.2. Grupo submetido à distração múltipla – Grupo B

Após um período de consolidação de 12 semanas foi possível observar na maioria dos cortes, provenientes da hemimandíbula direita, uma união completa entre as duas margens dos segmentos distraçados (Figura 3.22), caracterizada por uma grande densidade de tecido ósseo maioritariamente esponjoso. Com efeito, o espaço de distração encontra-se, na generalidade dos casos, ocupado por uma notável quantidade de trabéculas ósseas que estabelecem íntimas e numerosas ligações entre si (Figura 3.23), mantendo uma orientação paralela às linhas de tensão, ou seja, paralelas à direção da distração. Considerando que a mandíbula é constituída maioritariamente por tecido ósseo esponjoso e que este tipo de tecido tem uma rápida e eficaz capacidade de resposta, não é de estranhar que reaja com grande exuberância.

Verifica-se também, a existência de uma nítida linha de demarcação (Figura 3.24) na interface entre o tecido ósseo original e o tecido ósseo neoformado.

É importante referir, no entanto, algumas especificidades do tecido ósseo formado no espaço de distração. Assim, é de assinalar a considerável espessura das trabéculas presentes nas áreas mais periféricas (Figura 3.25), bem como o seu maior grau de maturação e organização, aproximando-se bastante da arquitetura normal do tecido ósseo esponjoso. À medida que nos deslocamos para o centro do espaço de distração encontramos trabéculas mais finas (Figura 3.26), contendo maior quantidade de tecido ósseo imaturo e apresentando, por vezes, um eixo de matriz cartilaginosa. Este facto traduz a formação e crescimento centrípeto do tecido ósseo a partir dos segmentos marginais do espaço de distração.

As trabéculas ósseas ocupam geralmente uma área bastante maior do que o tecido conjuntivo que as separa (Figuras 3.23 e 3.25), apresentando no final do período experimental nítidos sinais de remodelação traduzidos por inúmeras linhas de reversão (Figura 3.27). Estas trabéculas são também maioritariamente

constituídas por grandes zonas de tecido ósseo lamelar contendo, no entanto, no seu interior algumas áreas de tecido ósseo imaturo (Figuras 3.27 e 3.28). A este respeito, convém referir que o tecido ósseo imaturo não tem uma estrutura organizada, sendo caracterizado pela presença de uma grande densidade de células (osteócitos) dispostas irregularmente e alojadas em lacunas arredondadas.

Para além do espaço de distração, é notória também a presença de áreas de tecido ósseo trabecular de formação recente, numa localização sub-perióstica (Figuras 3.29 e 3.30), ocupando uma extensa área entre a face externa do osso cortical e o perióstio. Este aspeto é particularmente visível no bordo basilar da mandíbula e, sobretudo, nos cortes correspondentes à zona vestibular. De sublinhar ainda que este tecido atinge geralmente a sua maior espessura nas zonas do defeito, correspondendo, provavelmente, ao calo ósseo. Deste modo, convém salientar que a maioria deste tecido ósseo é constituído por uma rede de trabéculas ósseas, por vezes bastante imaturas, resultantes de um processo de ossificação de natureza intramembranosa (Figuras 3.30 e 3.31) certamente relacionado com o trauma cirúrgico. Neste âmbito, não podemos deixar de referir também um certo estímulo osteogénico observado nas apófises alveolares (Figura 3.32) adjacentes à zona de trauma cirúrgico.

Tendo em conta a orientação dos cortes histológicos obtidos de cada hemimandíbula (efetuados a três níveis - vestibular, médio e lingual) é de salientar na superfície vestibular (Figuras 3.33 e 3.34) o aparecimento mais frequente de áreas de matriz cartilaginosa na zona central do espaço de distração. Esta situação poderá resultar, como já foi referido, do facto de o trauma cirúrgico ter sido muito mais agressivo nesta região anatómica. Todavia estas observações representam uma minoria em relação ao total do tecido ósseo neoformado.

Ainda nesta sequência, podemos referir que nos cortes provenientes das corticais linguais (Figura 3.35) raramente observamos a presença de tecido cartilágneo, sendo grande a densidade de tecido ósseo neoformado. Neste contexto é, no entanto, importante realçar que a este nível foi muito menor o traumatismo cirúrgico não tendo sido também lesado o perióstio, tal como se verificou na superfície cortical vestibular. Deste modo, não são de estranhar os bons resultados obtidos nas áreas linguais. No plano vertical corono-apical verifica-se também uma certa heterogeneidade na distribuição do tecido ósseo neoformado. Com efeito, encontra-se uma maior densidade de trabéculas ósseas na porção apical e na zona média do que na região coronal (Figura 3.36). A este processo não será também estranha a ação trófica do rolo vâsculo-nervoso presente no canal mandibular. De facto, verifica-se que a este nível, ou seja, nas áreas ósseas adjacentes ao nervo alveolar inferior, uma diferente organização estrutural do tecido ósseo. Tal como se pode verificar nas figuras 3.37 e 3.38, é visível a existência de uma zona de tecido ósseo constituída por uma grande densidade de sistemas de Havers, aspeto que contrasta de certa forma, com o restante tecido ósseo de natureza trabecular. Este facto foi também observado nos cortes do grupo controlo.

De referir, no entanto, que ainda que se tenha verificado um muito maior número de situações de união completa entre os segmentos distraçados, foram detetados alguns cortes com pequenas zonas sem união (Figura 3.39). Por outro lado, foram também observadas algumas situações em que a zona central do espaço de distração estava ocupada, não por tecido ósseo, mas por tecido cartilágneo (Figura 3.14) muitas vezes em processo de ossificação, ou mesmo por tecido conjuntivo denso.

Em síntese, do conjunto de imagens provenientes dos cortes histológicos realizados após o processo de distração efetuado na hemimandíbula direita pode-se afirmar que, no final do período experimental, o espaço de distração se encontrava preenchido por uma notável quantidade de tecido ósseo formado por uma espessa rede de estruturas trabeculares, estabelecendo um *continuum* entre os dois segmentos do espaço de distração.

O tecido ósseo constituinte das trabéculas apresentava, nesta fase, nítidos sinais de remodelação sendo formado maioritariamente por grandes zonas de tecido ósseo lamelar contendo no entanto, no seu interior, algumas áreas de tecido ósseo imaturo.

Considerando que a grande densidade das trabéculas ósseas neoformadas não apresentava áreas de matriz cartilaginosa no seu interior, é de inferir um predomínio do padrão de ossificação intramembranoso no seu processo de formação. Porém, não pode ser excluído um perfil de ossificação endocondral em alguns dos casos observados nas zonas centrais do espaço de distração, particularmente visível na região vestibular, sendo possível detetar ainda áreas de tecido cartilaginoso.

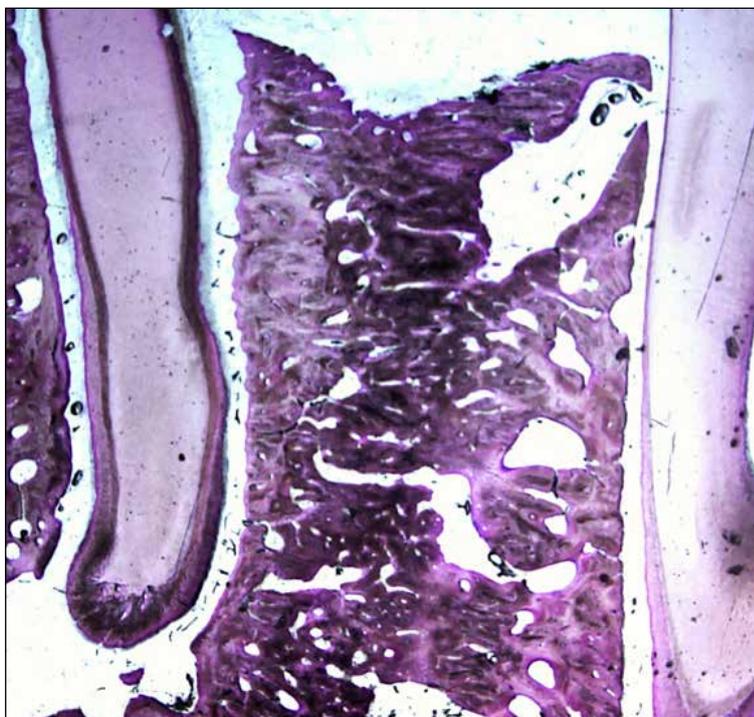


Figura 3.22 - Corte histológico proveniente da hemimandíbula direita mostrando uma união completa entre as margens dos segmentos distraçados formada por uma grande densidade de trabéculas ósseas. É ainda possível observar que a maioria das trabéculas apresenta uma orientação paralela à direção da distração. De notar ainda a sua continuidade com as margens do defeito. (7,5x no original).

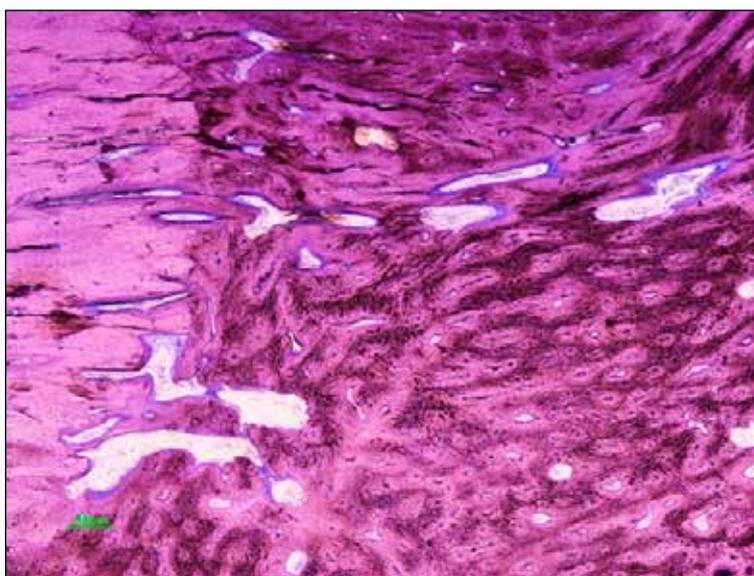


Figura 3.23 - Corte histológico pondo em evidência as diferentes características estruturais do tecido ósseo nativo e a rede de trabéculas ósseas neoformadas. (20x no original).

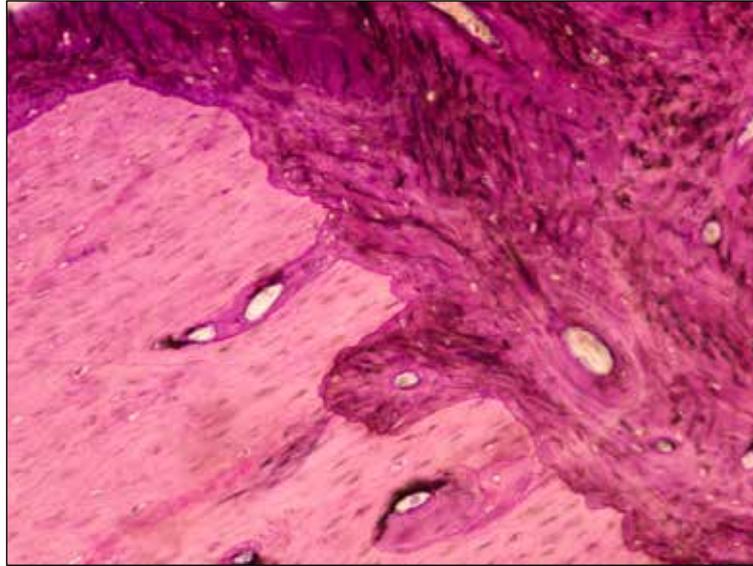


Figura 3.24 - Presença de uma nítida linha de demarcação na interface do tecido ósseo original e o tecido ósseo neoformado no espaço de distração. (200x no original).

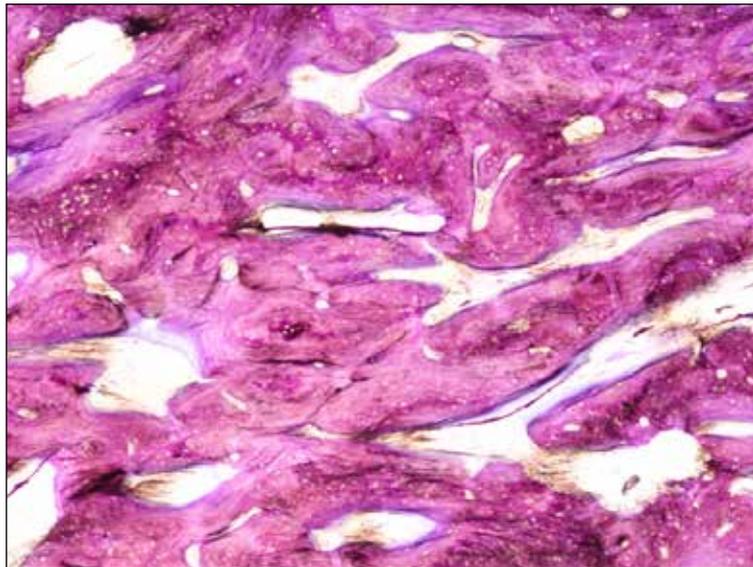


Figura 3.25 - Aspeto histológico das trabéculas ósseas recém-formadas evidenciando na sua constituição a presença de áreas de tecido ósseo imaturo rodeadas por tecido ósseo lamelar e algumas zonas de osteóide. (100x no original).

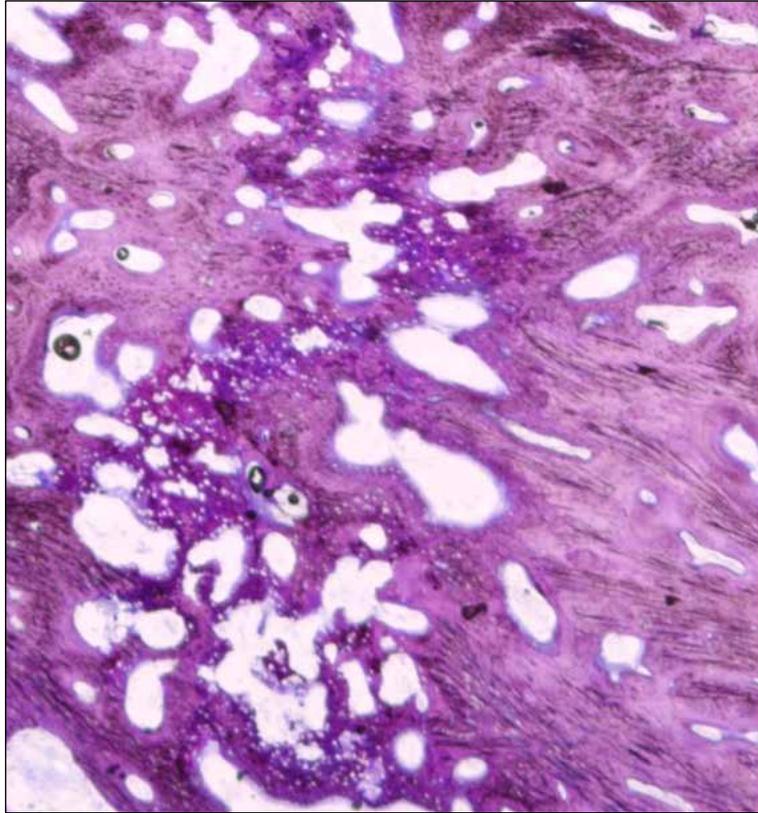


Figura 3.26 - Aspeto histológico de um corte proveniente da superfície vestibular demonstrando a presença de trabéculas ósseas delgadas e, na zona central do espaço de distração, áreas de matriz cartilaginosa. (20x no original).

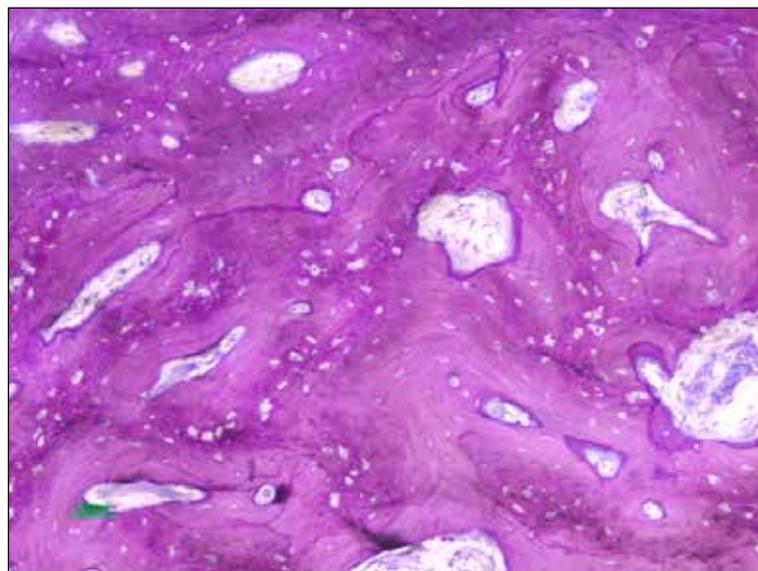


Figura 3.27 - Trabéculas ósseas em processo de remodelação com áreas de tecido ósseo imaturo, de tecido ósseo lamelar e osteóide separadas por linhas de reversão. (100x no original).

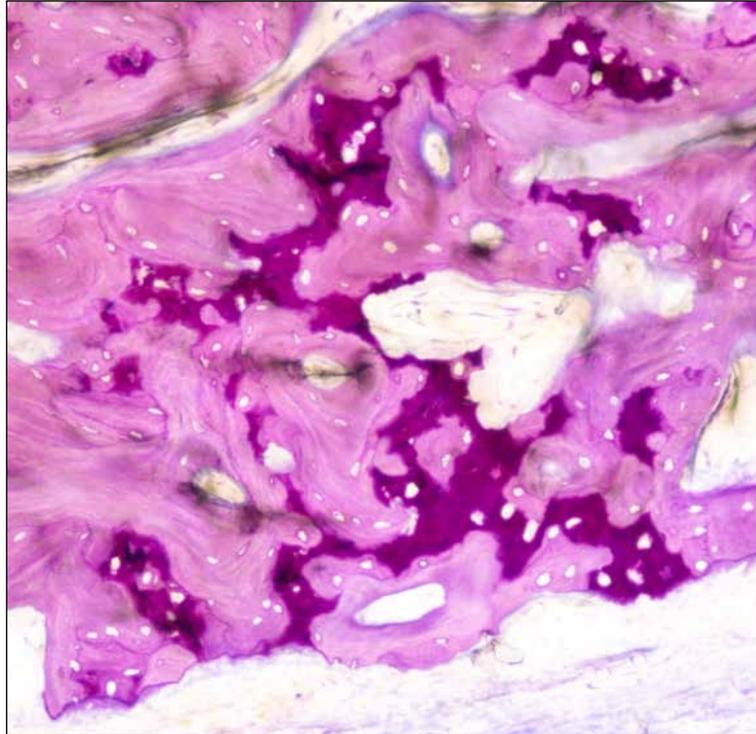


Figura 3.28 - Aspeto das trabéculas ósseas onde se observam grandes áreas de tecido ósseo lamelar contendo no entanto, no seu interior, algumas áreas de tecido ósseo imaturo. (1000x no original).

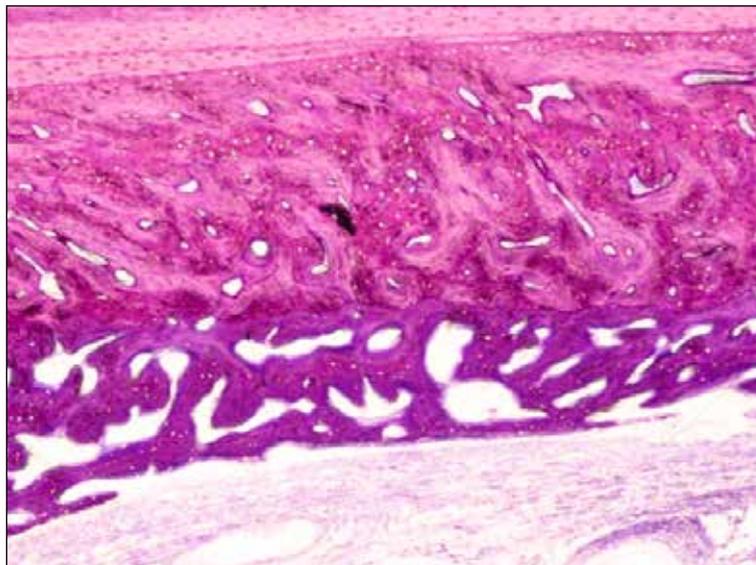


Figura 3.29 - Presença de uma grande densidade de trabéculas ósseas, ocupando uma extensa região entre a face externa do osso cortical e o respetivo perióstio. É também possível observar uma área de tecido ósseo com características de imaturidade, adjacente ao perióstio, e uma outra mais madura, evidenciando já nítidos processos de remodelação, localizada junto ao tecido ósseo cortical. (20x no original).

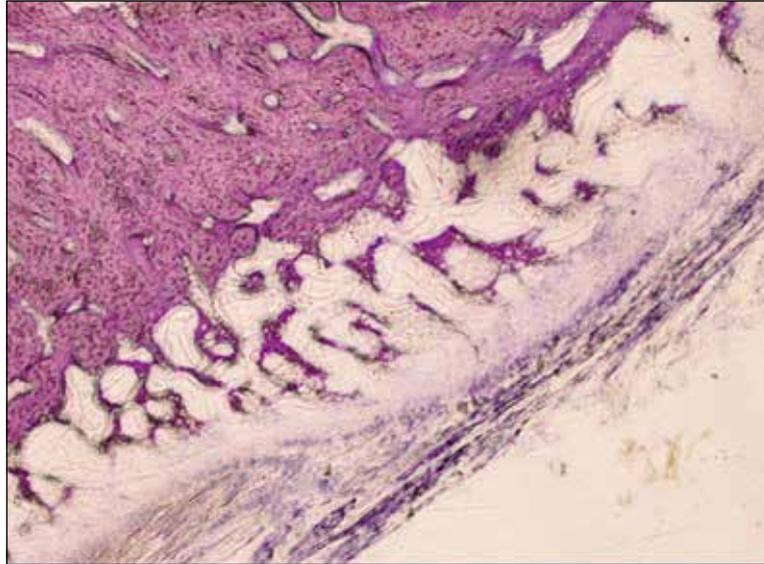


Figura 3.30 - Corte histológico evidenciando a extensa área de tecido ósseo entre a face externa do osso cortical e o periósteeo e um nítido processo de ossificação intramembranosa. (20x no original).

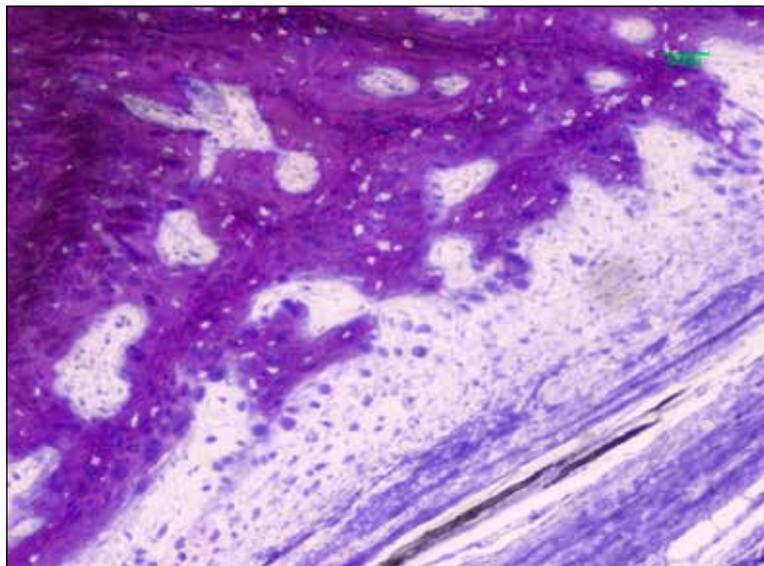


Figura 3.31 - Maior ampliação da imagem anterior demonstrando o processo de ossificação intramembranosa observado na proximidade do periósteeo. (100x no original).

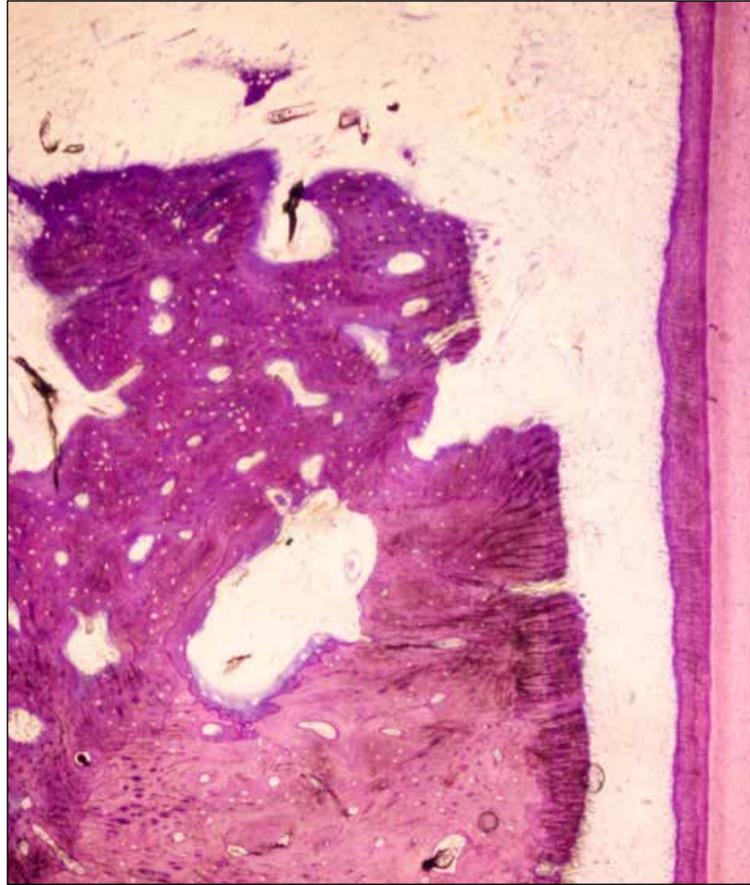


Figura 3.32 - Corte proveniente de uma apófise alveolar de um dos dentes adjacentes à zona cirúrgica demonstrando um certo estímulo osteogênico, certamente, relacionado com o trauma cirúrgico. (20x no original).

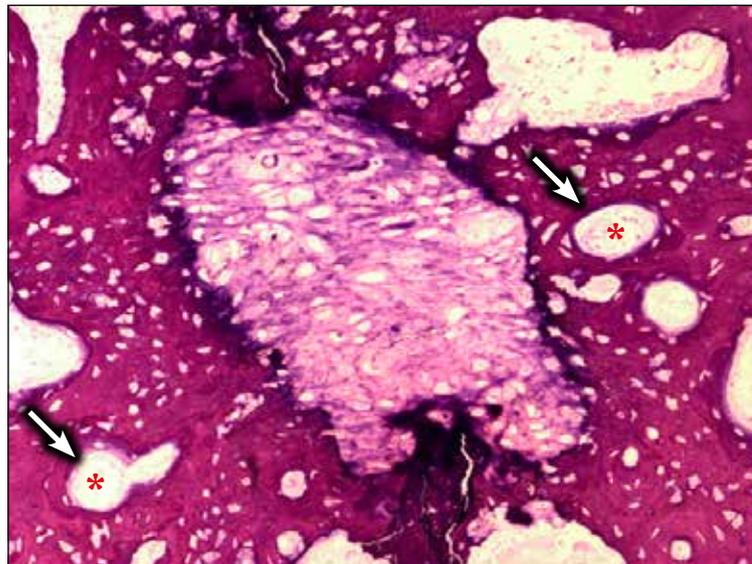


Figura 3.33 - Grande ampliação de uma região central, abaixo do canal alveolar, onde se observa a presença de uma ilha de fibrocartilagem rodeada por tecido ósseo imaturo caracterizado por uma grande densidade e disposição irregular dos osteócitos. São também visíveis estruturas que sugerem o início de processos de remodelação (*).

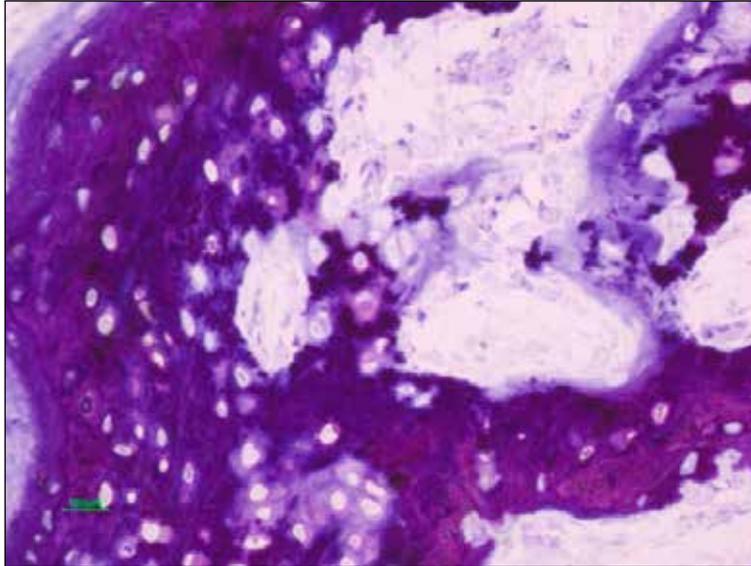


Figura 3.34 - Maior ampliação da imagem anterior mostrando o processo de mineralização de cartilagem, presente em raros casos, no centro do espaço de distração. (200x no original).

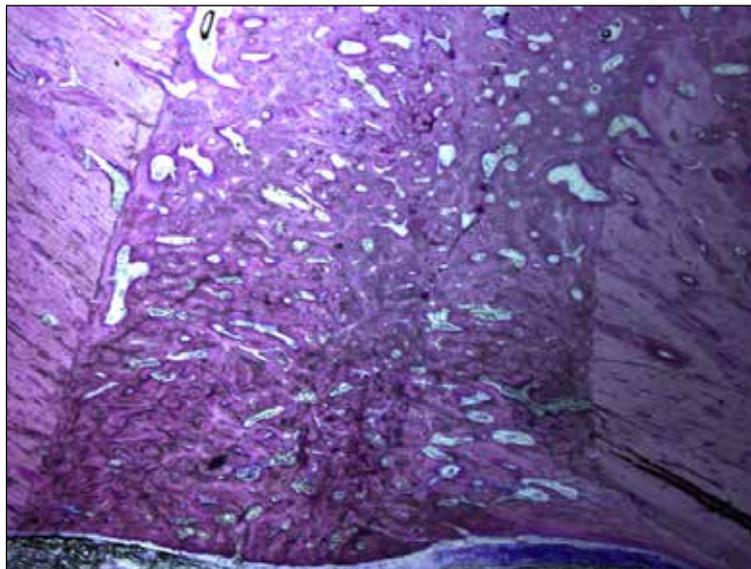


Figura 3.35 - Imagem proveniente da superfície lingual evidenciando a grande densidade de tecido ósseo neoformado no espaço de distração, não sendo identificáveis áreas de matriz cartilaginosa. (7,5x no original).



Figura 3.36 - Corte histológico evidenciando uma certa heterogeneidade na distribuição do tecido ósseo neoformado no espaço de distração. Em relação à região coronal verifica-se uma maior densidade de trabéculas ósseas na porção apical, e sobretudo, na zona média. (7,5x no original).

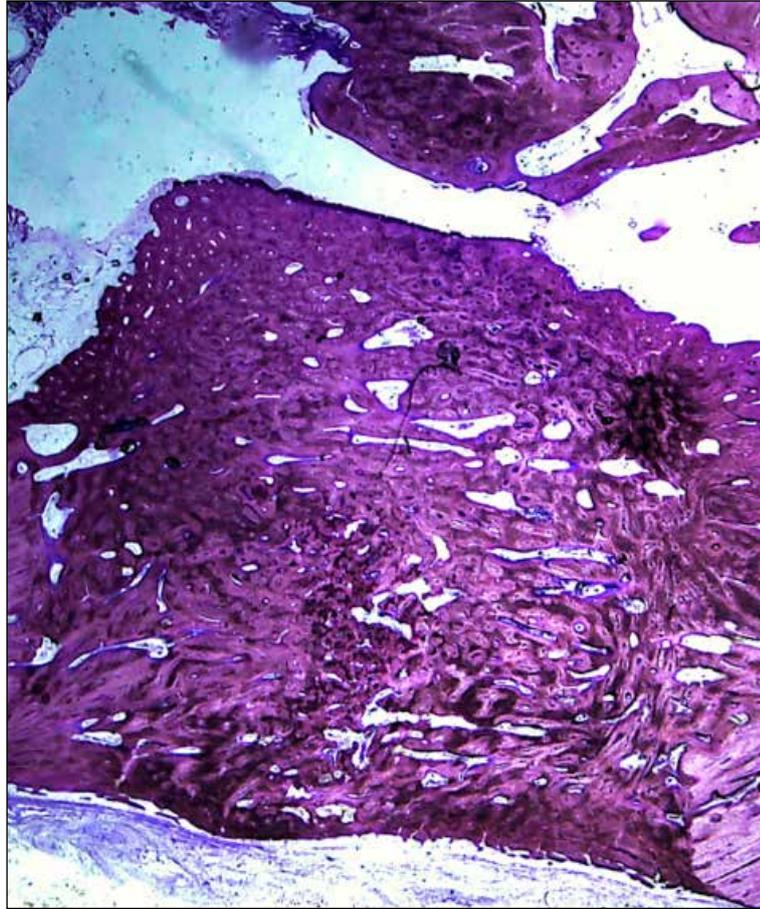


Figura 3.37 - Presença de uma zona de tecido ósseo estruturalmente diferente do restante tecido ósseo neoformado no espaço de distração, constituída por uma grande densidade de sistemas de Havers na parede do canal mandibular. (7,5x no original)..

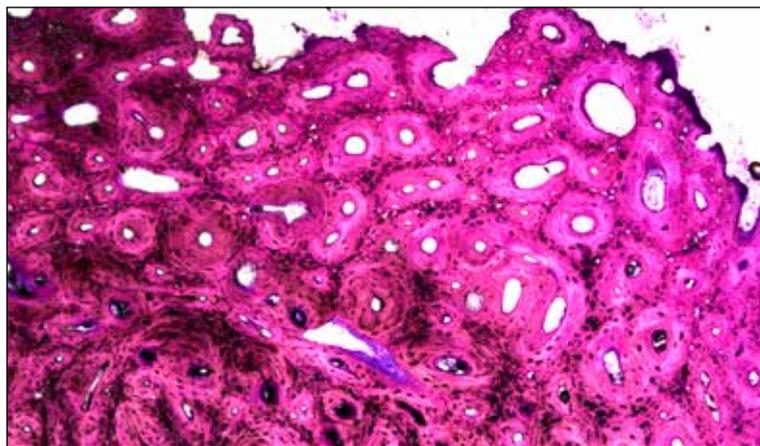


Figura 3.38 - Maior ampliação da imagem anterior onde é notória a densidade de sistemas de Havers. (20x no original).

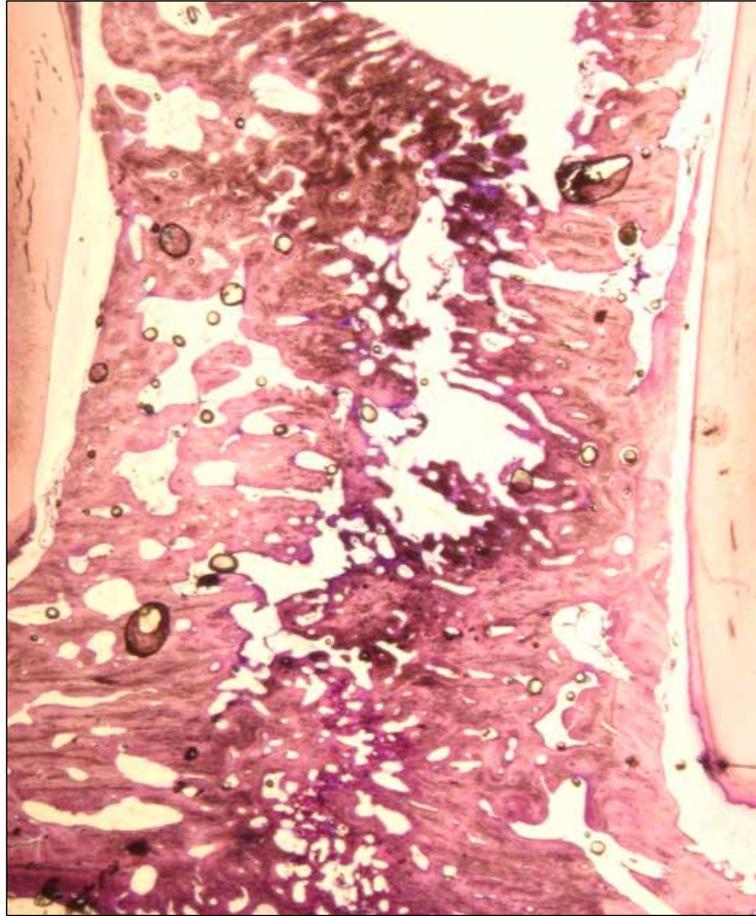


Figura 3.39 - Imagem proveniente de um corte da zona vestibular onde é visível que, apesar da grande quantidade de tecido ósseo neoformado, não houve uma união completa dos segmentos distraçionados em algumas zonas do espaço de distração. (7,5x no original).

3.8.3. Grupo submetido à distração única – Grupo C

Nos cortes histológicos efetuados na hemimandíbula esquerda, após o período de consolidação, foi possível observar a união completa entre as duas superfícies dos segmentos distraçionados na maioria dos cortes histológicos, mas em menor número àqueles observados nas hemimandíbulas do grupo B (Figuras 3.40 e 3.41). Também foi possível observar que o espaço de distração encontra-se, na generalidade dos casos, ocupado por uma notável quantidade de trabéculas ósseas que estabelecem íntimas e numerosas ligações entre si mantendo uma orientação paralela às linhas de tensão, ou seja, paralelas à direção da distração. No entanto, comparado com o grupo B, observou-se um maior número de cortes histológicos com a presença de grandes áreas ocupadas por tecido cartilágneo.

De facto, o espaço de distração é formado por numerosas e delgadas trabéculas ósseas que se anastomosam, formando uma sincício, delimitando um labirinto de cavidades intercomunicantes. Todavia, muitas destas espículas, mantendo maioritariamente uma direção paralela ao vetor de distração, estavam muitas vezes, confinadas às margens do defeito, apresentando-se a região central do espaço de distração (Figuras 3.41 a 3.47), no final do período experimental, frequentemente ocupada por áreas de cartilagem hialina e de fibrocartilagem ou mesmo por tecido fibroso e restos de fibrina. Neste âmbito, foi possível observar com

frequência a ocorrência no tecido cartilágneo de processos de ossificação endocondral (Figuras 3.48 e 3.49) ou mesmo a existência de um tecido muitas vezes considerado como um tecido condróide.

É também de salientar o aparecimento de trabéculas ósseas, constituídas por grandes áreas de tecido com características morfológicas e tintoriais de imaturidade (Figuras 3.48 e 3.50) mostrando, no entanto, a presença de sinais de remodelação (Figuras 3.51 e 3.52). Foi também frequente a observação de um eixo de matriz cartilaginosa (Figura 3.44) localizado na região central de muitas trabéculas ósseas, traduzindo a fase final de um processo de ossificação endocondral.

A formação de muitas das trabéculas ósseas atrás descritas parece representar uma tentativa de preenchimento do defeito criado por distração mas que, num grande número de casos, ficou longe de atingir a sua zona central (Figura 3.45) e, deste modo, uma completa união.

Foi também possível registar, à semelhança do que se verificou na hemimandíbula direita, a presença de uma nítida linha de demarcação (Figura 3.53) entre o tecido ósseo recém-formado e o tecido ósseo nativo. De igual modo, e com uma localização sub-perióstica (Figura 3.54), geralmente adjacente a ambos os segmentos osteotomizados, foi visível a existência de largas áreas de tecido ósseo esponjoso com características de imaturidade, seguramente de origem perióstica, mostrando um nítido processo de ossificação intramembranosa.

Os cortes histológicos provenientes da hemimandíbula esquerda exibiam, tal como à direita, uma certa heterogeneidade na distribuição estrutural do tecido ósseo neoformado tanto no sentido apico-coronal como no sentido vestibulo-lingual. Assim, foi possível detetar, nas imagens analisadas no sentido apico-coronário, algumas diferenças na organização microscópica do tecido ósseo, particularmente nas proximidades da parede do canal mandibular (Figuras 3.56 e 3.57).

É igualmente de salientar na superfície vestibular o aparecimento mais frequente de áreas de matriz cartilaginosa na zona central do espaço de distração, atrás descritas, quando em comparação com os cortes provenientes da região lingual. Aspeto que parece estar particularmente relacionado com o trauma cirúrgico.

Em síntese, do conjunto de imagens provenientes dos cortes histológicos realizados após o processo de distração efetuado na hemimandíbula esquerda pode-se afirmar que, no final do período experimental, o espaço de distração se encontrava, em muitos casos dos casos, preenchido por uma rede de trabéculas ósseas que, no entanto, mostravam com frequência restos de matriz cartilaginosa. Todavia, e em relação ao que se verificou na hemimandíbula direita, é importante salientar/acentuar a existência de um maior número de situações em que não se verificou uma união completa entre os segmentos distraçados bem como a observação mais frequente de um tecido cartilágneo, maioritariamente, fibrocartilagem, muitas vezes em processo de ossificação, ou mesmo de um tecido conjuntivo denso na zona central do espaço de distração.

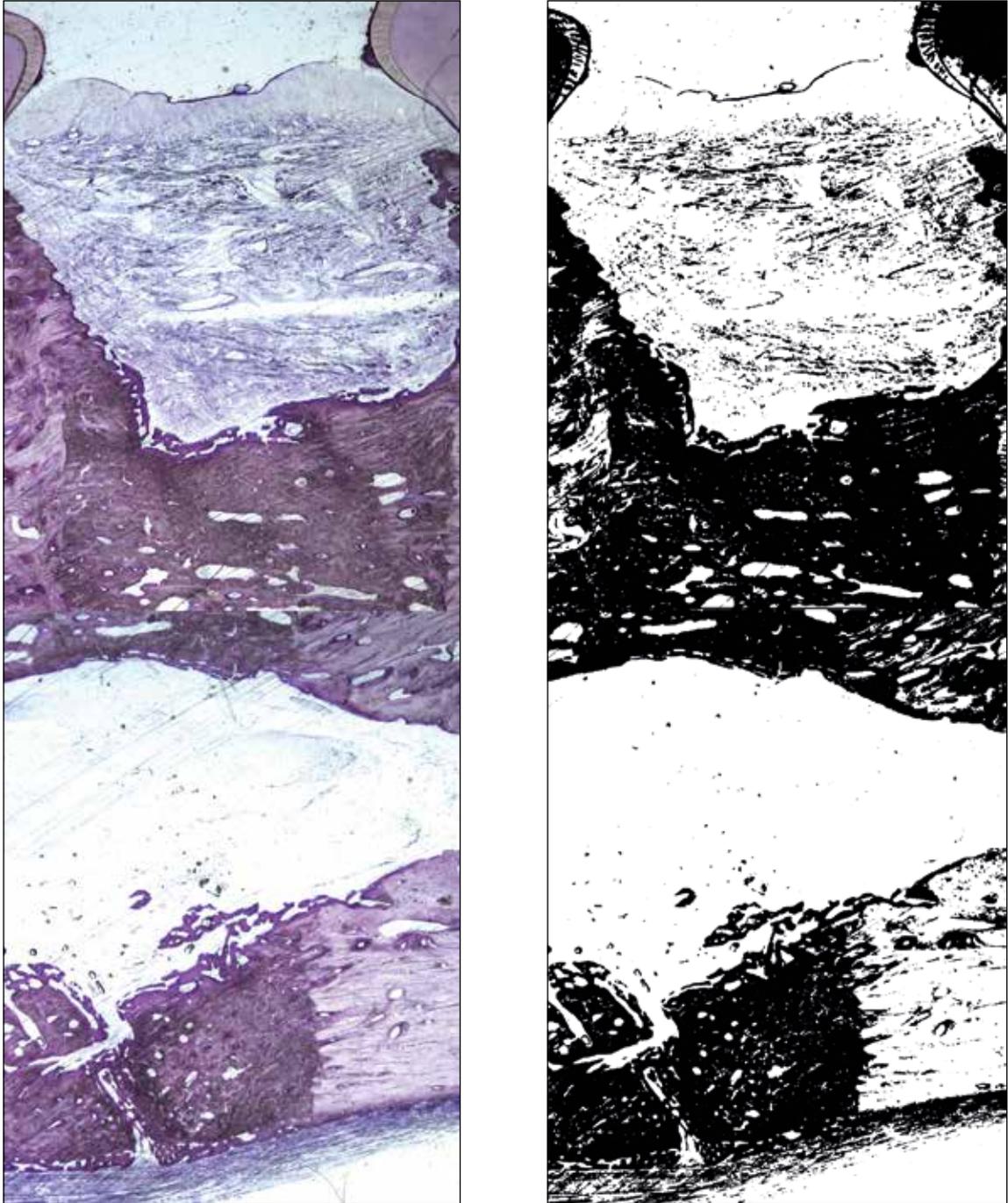


Figura 3.40 - Aspeto do preenchimento da zona média (sentido V-L) do espaço de distração onde é visível a união parcialmente completa, por novo tecido ósseo, dos segmentos osteotomizados. De assinalar a existência de deiscência na região mais cervical e, a preservação do espaço correspondente ao canal alveolar. (7,5x no original).



Figura 3.41 - Aspeto histológico proveniente de uma secção da hemimandíbula esquerda onde se observa uma acentuada formação de trabéculas ósseas, a partir das margens dos segmentos osteotomizados sem, contudo, ocorrer a sua completa união. De facto, é visível na região central do espaço de distração a presença de um tecido fibrocartilaginoso (*). De registar também a presença do nervo alveolar inferior (+). (7,5x no original).

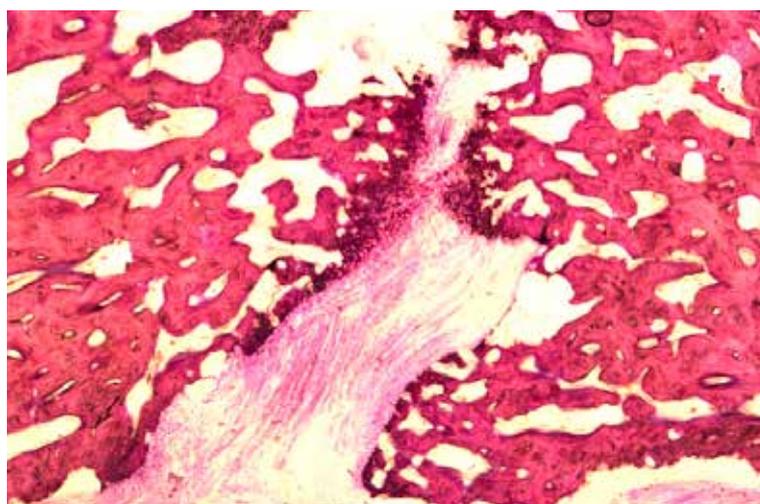


Figura 3.42 - Corte histológico da região central do espaço de distração onde é notório o grande número de trabéculas ósseas recém-formadas em sentido centrípeto, sem ocorrer, contudo, a sua completa união. Região ainda caracterizada pela presença de áreas de fibrocartilagem entre as trabéculas ósseas neoformadas. (20x no original).

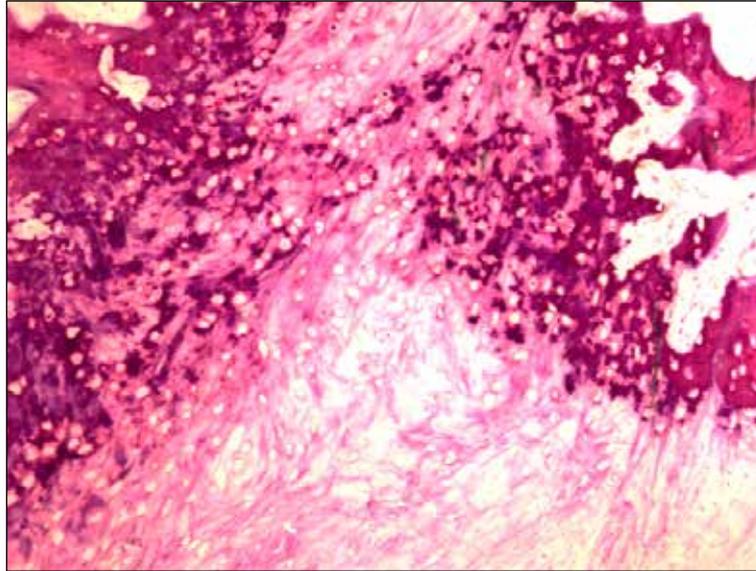


Figura 3.43 - Maior ampliação da imagem anterior pondo em evidência a presença de um tecido fibrocartilaginoso na região central do espaço de distração. (100x no original).

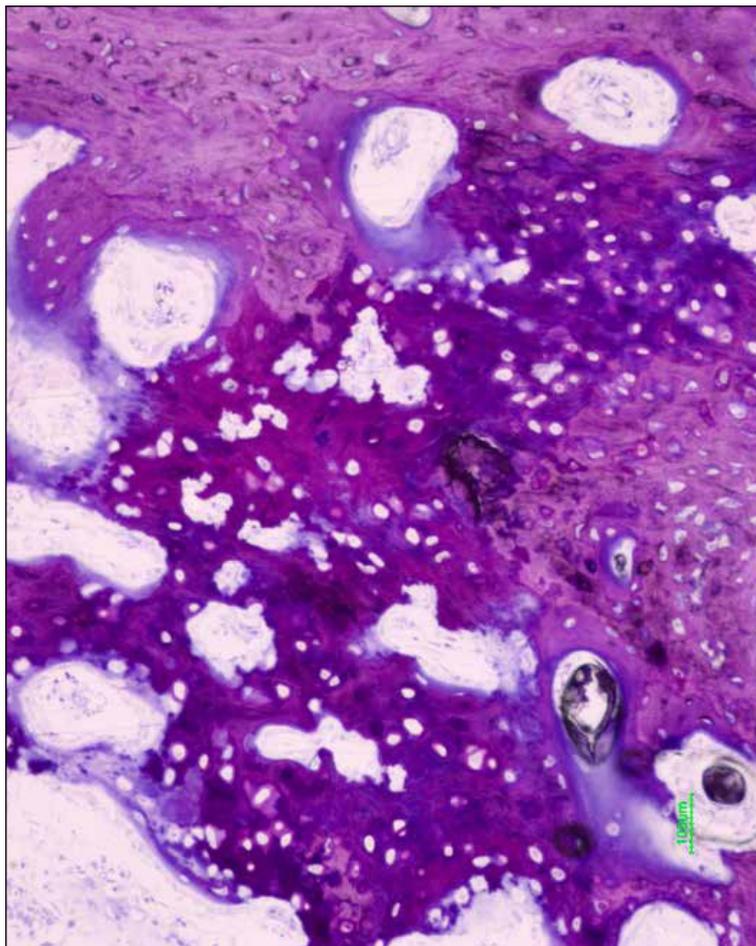


Figura 3.44 - Corte histológico demonstrando a presença de um eixo de matriz cartilaginosa, localizado na região central de muitas trabéculas ósseas, traduzindo a fase final de um processo de ossificação endocondral. É também possível observar a presença de tecido ósseo imaturo e de estruturas que indiciam o início de processos de remodelação. (100x no original).

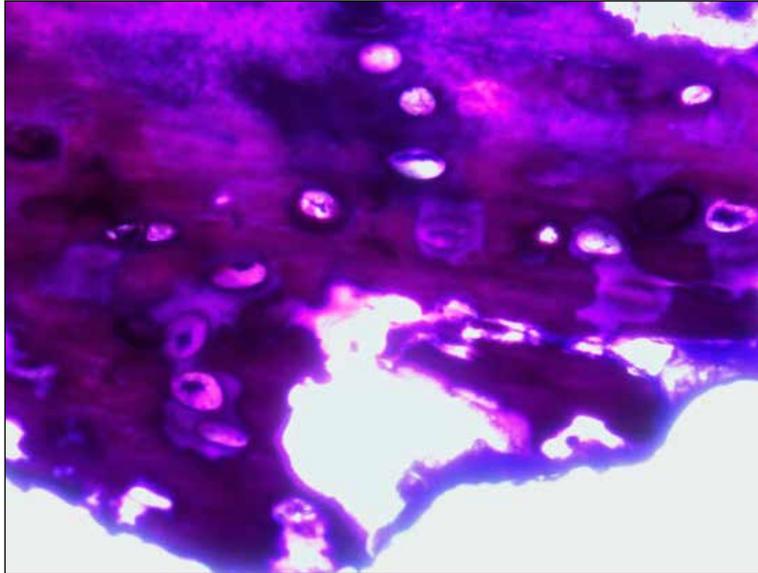


Figura 3.45 - Grande ampliação da região central do espaço de distração, proveniente de uma amostra do lado vestibular, demonstrando a presença de cartilagem hialina. (400x no original).

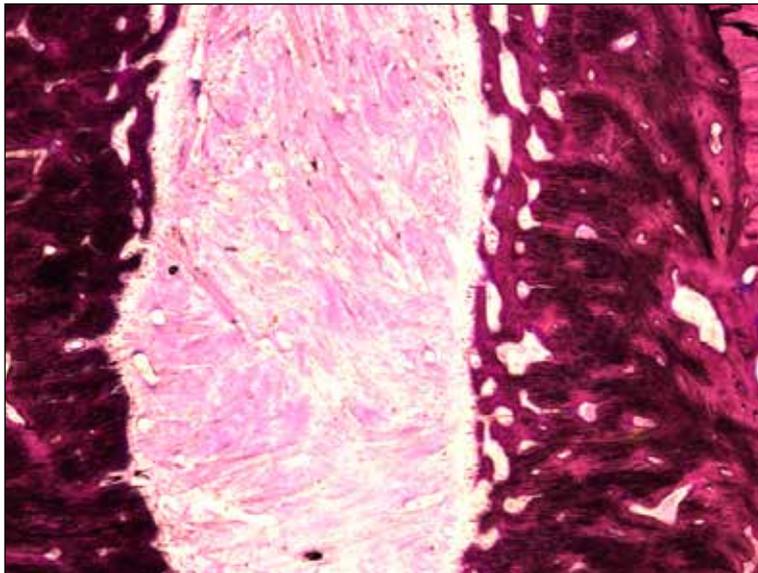


Figura 3.46 - Aspeto da zona central do espaço de distração evidenciando a não união dos segmentos distraçados. É visível a não união entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo nativo, bem como a presença de tecido conjuntivo fibroso na região central. (20x no original).

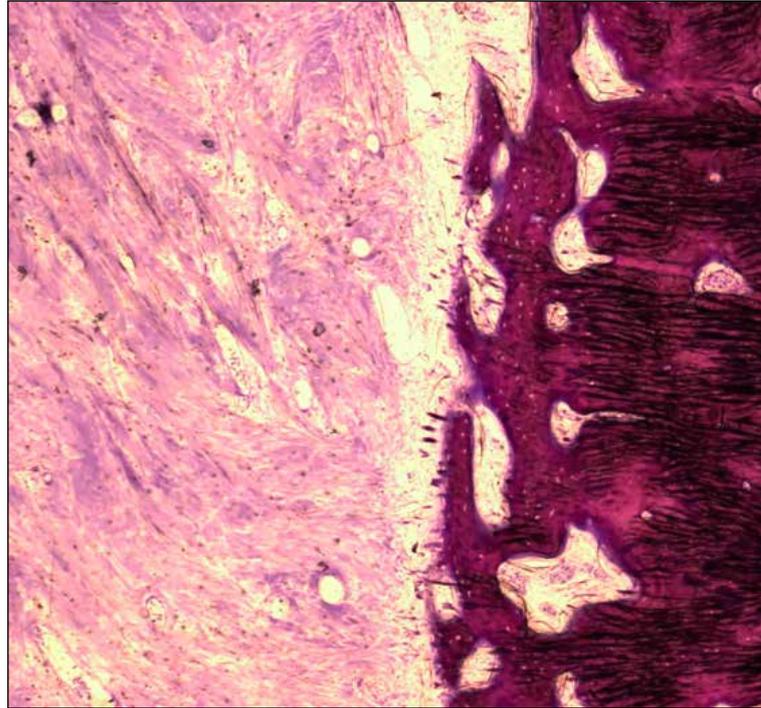


Figura 3.47 - Maior ampliação da imagem anterior onde é notória a ocorrência de um processo de ossificação intramembranoso adjacente às trabéculas ósseas neoformadas. (40x no original).

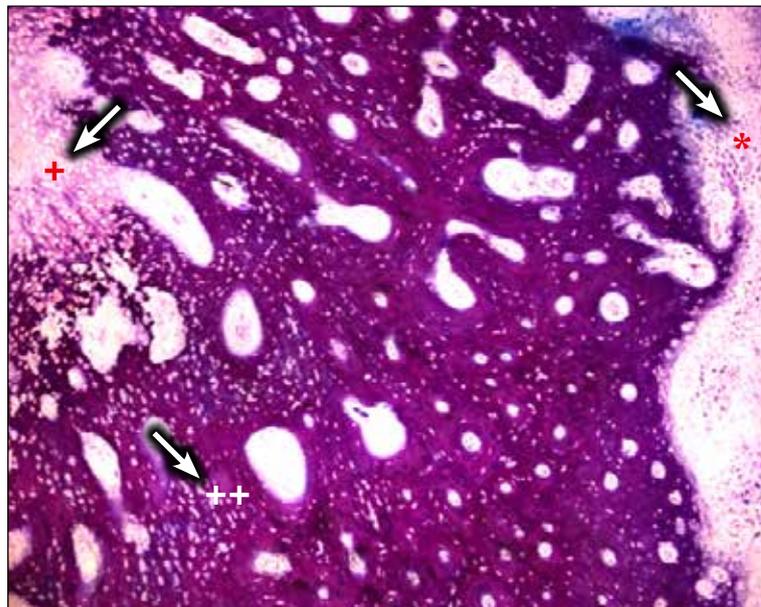


Figura 3.48 - Aspeto histológico que permite observar a coexistência de processos de ossificação intramembranosa (*) e endocondral (+) que concorriam em simultâneo em zonas específicas do espaço de distração. É também notória a imaturidade do tecido ósseo recém-formado, mais evidente na região esquerda da imagem (++). (40x no original).

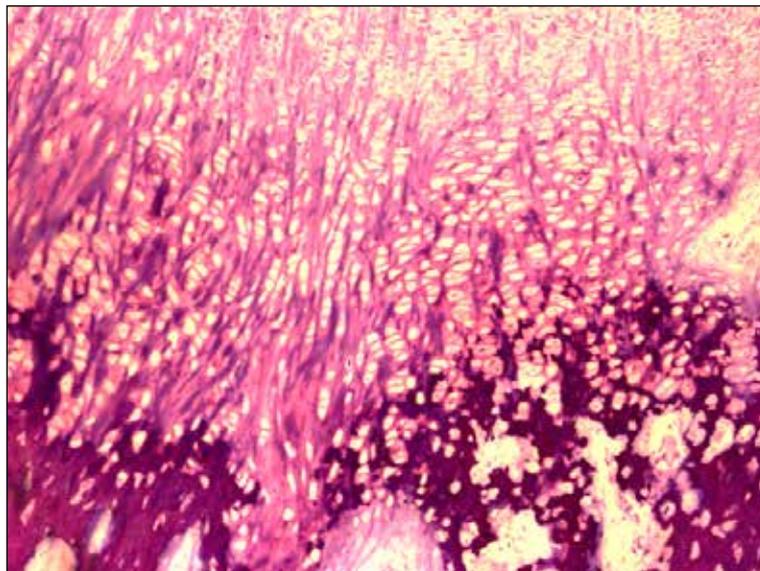


Figura 3.49 - Maior ampliação da zona esquerda representada na imagem anterior evidenciando a ocorrência de um processo de ossificação do tipo endocondral com septos lacunares preenchidos com condrócitos hipertrofiados. (100x no original).

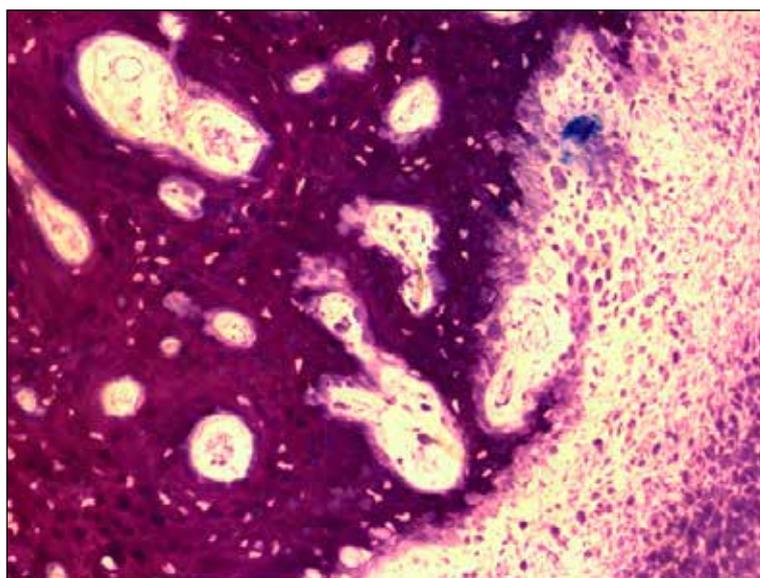


Figura 3.50 - Aspeto histológico de um processo de ossificação do tipo intramembranoso representado na região direita da Figura 3.48. Regista-se um desenvolvimento de tecido ósseo diretamente a partir de tecido conjuntivo ricamente vascularizado. Há uma síntese inicial de feixes condensados de fibras de colagénio que servem de matriz de suporte, e de osteóide, cuja subsequente mineralização resulta na formação de tecido ósseo imaturo. (100x no original).

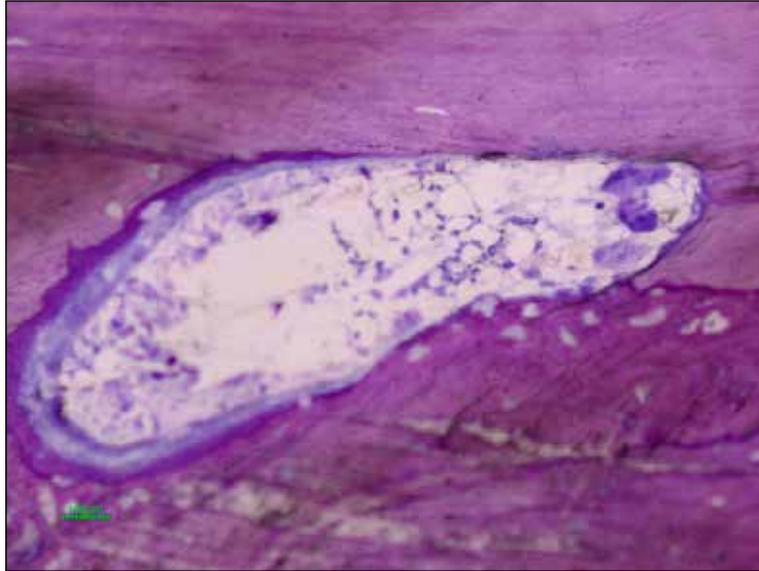


Figura 3.51 - Processo de remodelação óssea. É visível uma frente de reabsorção, com células com perfil osteoclástico e uma frente de deposição com osteoblastos e osteóide. (200x no original).

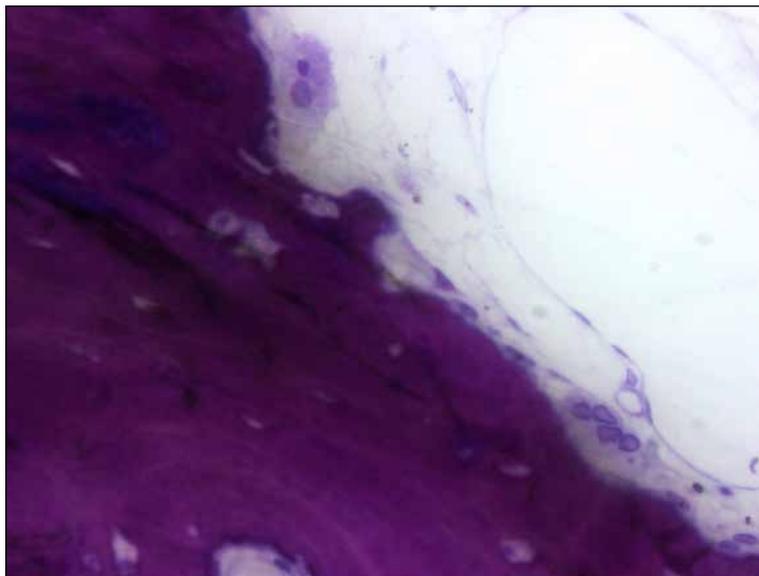


Figura 3.52 - Fenómenos de atividade de reabsorção/remodelação do tecido ósseo sendo identificável a presença de células com um perfil osteoclástico. É interessante notar a sua proximidade às estruturas vasculares. (400x no original).

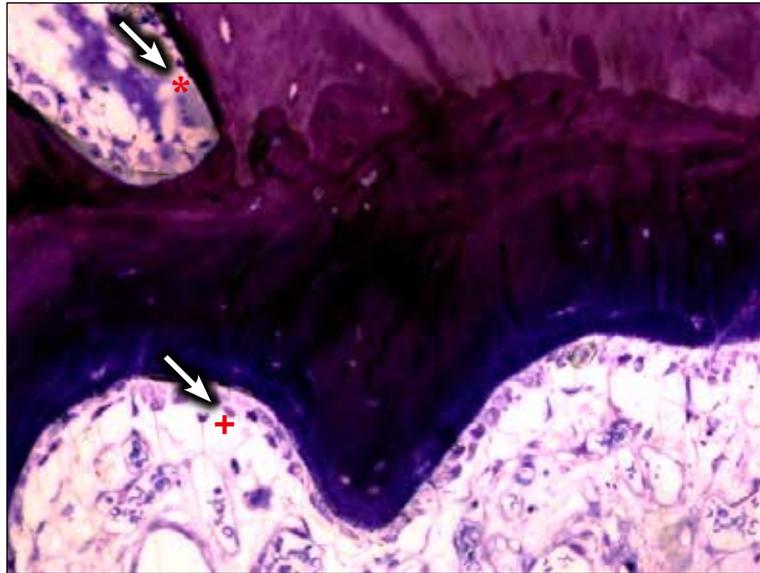


Figura 3.53 - Presença de uma nítida linha de demarcação entre o tecido ósseo recém-formado e o tecido ósseo nativo. É ainda visível um processo de remodelação óssea, identificando células com um perfil morfológico de um osteoclasto (*) e uma fileira de células cúbicas, em paliçada, com perfil osteoblástico (+). De salientar a presença de osteóide e a assinalável densidade de estruturas vasculares. (200x no original).

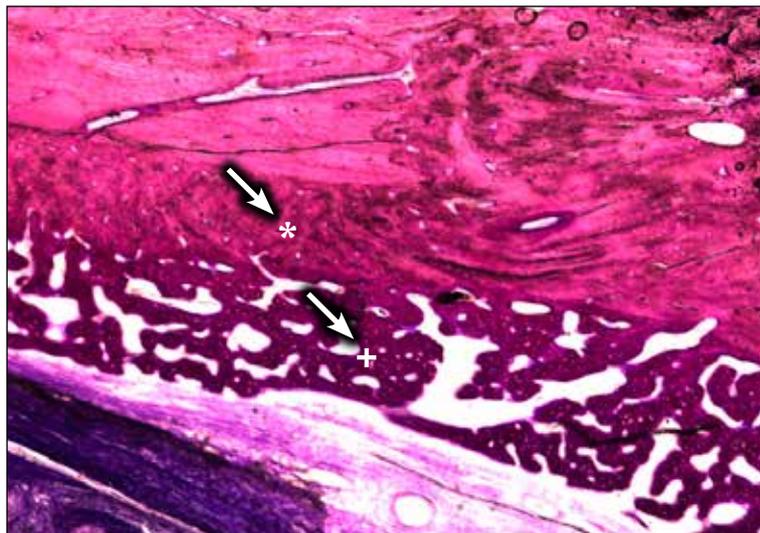


Figura 3.54 - Presença de uma grande densidade de tecido ósseo, ocupando uma extensa área entre a face externa do osso cortical e o respetivo periósteeo. De registar ainda o diferente grau de maturação do tecido ósseo neofomado localizado adjacente ao periósteeo, com trabéculas recém-formadas por tecido ósseo imaturo (+), do que aquele que está adjacente à face externa do osso cortical (*), já com uma estrutura lamelar. (20x no original).

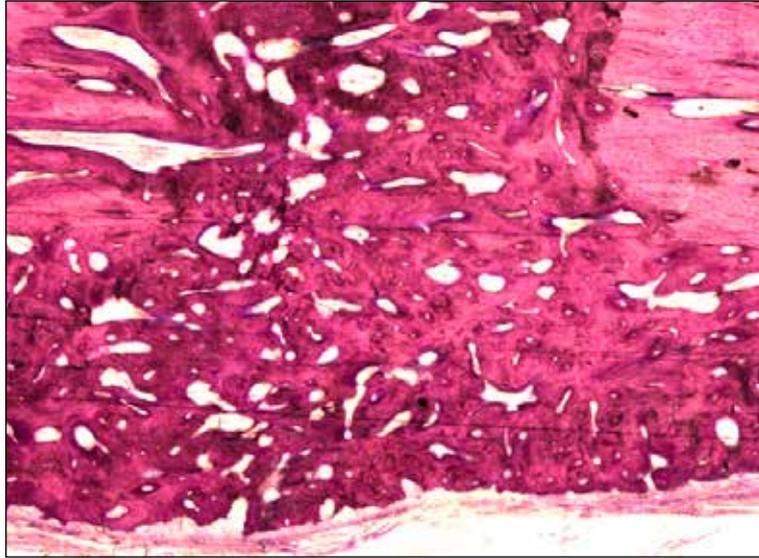


Figura 3.55 - Corte histológico demonstrando a união completa, por novo tecido ósseo, entre as margens dos segmentos osteotomizados. Verifica-se, também, a presença de tecido ósseo neoformado reforçando a área entre o tecido ósseo nativo e o perióstio. (20x no original).

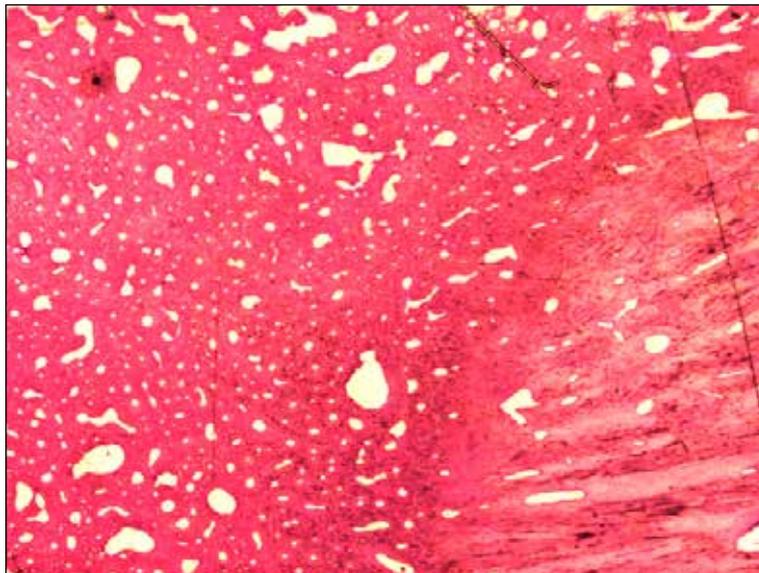


Figura 3.56 - Aspeto histológico de um corte obtido da região média, pondo em evidência as diferenças na organização microscópica do tecido ósseo neoformado, particularmente nas proximidades da parede do canal mandibular. (20x no original).

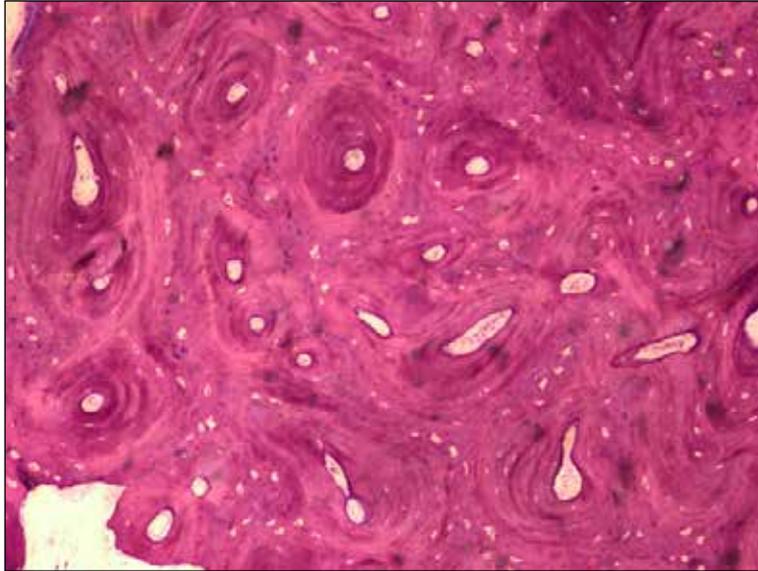


Figura 3.57 - Maior ampliação da imagem anterior evidenciando a enorme densidade de sistemas de Havers, contrastando com a restante organização estrutural do tecido ósseo formado no espaço de distração. (100x no original).

4. Discussão

Vivemos, globalmente, num contexto marcado pelo crescimento significativo dos cuidados de saúde e da preocupação constante com a estética e bem estar. É possível verificar uma forte dinâmica de inovação tecnológica no sector da saúde, apoiada pelo fluxo de informações provenientes dos vários ramos da pesquisa científica.

É nesse enquadramento que se situa este estudo experimental, focado na perspetiva ampla de que o processo de distração osteogénica irá assumir, num futuro próximo, a liderança das opções de tratamento para a recuperação de uma adequada anatomia do esqueleto facial, principalmente em pacientes com deformidades mandibulares, congénitas ou adquiridas.

Constata-se, na realidade, que os avanços na área de investigação sobre distração osteogénica estão estreitamente relacionados com o estabelecimento de melhores protocolos e com o desenvolvimento de novos desenhos de aparelhos distratores.

Assim, o presente trabalho experimental representa um contributo importante, porque inovador, no aprofundar de conhecimentos acerca das potencialidades biológicas do processo de distração com distratores dento-ancorados.

Alicerçado neste trabalho, foi possível a concepção de um novo tipo de distrator, com Patente Internacional registada com o nº WO 2013172726 A1 e premiado com uma bolsa de ignição INOV-C.

Os resultados obtidos demonstraram, na globalidade, que a metodologia utilizada foi adequada e permitiram comprovar o conceito desta nova técnica de alongamento sagital mandibular.

A utilização de modelos de experimentação animal revela-se imprescindível no auxílio da resolução dos dilemas clínicos em patologia humana. Na verdade, os modelos experimentais são os únicos que permitem estabelecer uma análise histológica quantitativa controlada e reprodutível, quer ao nível das características dos defeitos, quer das reações biológicas, sem constrangimentos de recolha de biópsias em blocos de dimensões assinaláveis. Estas características são pré-requisitos imprescindíveis para avaliar a qualidade e extensão dos tecidos neoformados, bem como a eficácia e segurança dos protocolos/tratamentos ensaiados. Qualquer execução de protocolos experimentais deve cumprir os princípios éticos basilares que acautelam o bem-estar animal e, ao mesmo tempo, possibilitem o estabelecimento de uma metodologia científica adequada.

De acordo com Siegel e Mooney (1990), a escolha do modelo animal apropriado para qualquer estudo experimental, depende do tipo de hipóteses a testar.

Os modelos animais utilizados na distração crânio-facial variam desde pequenos animais, como o rato, até animais de grande porte, como o porco; mas todos têm em comum, com o homem, a similaridade na resposta do osso primitivo e tecidos moles.

Apesar das semelhanças anatómicas do modelo animal com o humano ser um fator a considerar em qualquer investigação de experimentação animal onde se pretenda, de alguma forma, extrapolar os resultados, é na proximidade fisiológica e nas semelhanças do comportamento mecânico do osso animal que residem os principais critérios de escolha do modelo animal para estudos de distração osteogénica (Siegel e Mooney, 1990).

O macaco Rhesus pode ser um modelo animal apropriado para a distração osteogénica crânio-facial pois os seus maxilares apresentam forma e dimensões que permitem utilizar os mesmos aparelhos que nos humanos (Cheung et al, 2003). Mas a mandíbula do porco e do cão também são uma boa alternativa para a distração osteogénica mandibular.

Parece ser consensual que os modelos animais de grande porte são os mais adequados para estudos experimentais em distração osteogénica, devido às grandes estruturas crânio-faciais que, por um lado, permitem a utilização dos mesmos dispositivos utilizados nos humanos e, por outro, permitem grandes movimentos com a mesma magnitude que os provocados no esqueleto crânio-facial dos humanos. Além disso, em alguns animais de grande porte, a anatomia e fisiologia são bastante semelhantes ao humano, são animais de fácil manuseamento e relativamente pouco dispendiosos (Kaban et al, 2003; Stalmans et al, 2003).

As vantagens do cão como modelo animal incluem um seio maxilar largo, um esplanocrânio comparável ao dos humanos, uma maxila hipoplásica, semelhante à existente nos pacientes de Classe III e/ou à existente nos pacientes com fenda lábio-palatina, uma mandíbula suficientemente grande, que permite a colocação de dispositivos ortodônticos utilizados em humanos. São animais de fácil manuseamento e aprendizagem (Stalmans et al, 2003).

Um aspeto crítico, em qualquer modelo experimental com o recurso a animais, é a variação da resposta espontânea de cicatrização ao longo da escala filogenética. Qualquer esquema de testes deve considerar que animais mais evoluídos possuem uma menor capacidade de cicatrização espontânea (Hollinger e Kleinschmidt, 1990). Assim, o modelo animal a ser escolhido também deve ser aquele que permita a melhor resposta à técnica/procedimento a ser investigado e, ao mesmo tempo, que possibilite a sua reprodução, de modo que qualquer investigador possa obter resultados semelhantes com o mesmo protocolo experimental, cumprindo os princípios de exatidão e reprodutibilidade essenciais à investigação científica. Outro aspeto importante é o tipo de cicatrização dos animais do modelo experimental, que deverá aproximar-se, o mais possível, da encontrada em humanos, para que os defeitos a provocar sejam muito similares a futuras situações clínicas.

Os animais utilizados neste estudo encontravam-se na idade adulta, ou próximo desta, tal como se verifica na generalidade dos estudos encontrados na literatura e referidos no capítulo da introdução; este aspeto é relevante, uma vez que animais jovens e ainda imaturos têm uma capacidade de resposta regenerativa e de remodelação mais rápida e exuberante, podendo influenciar os resultados obtidos, quando comparados com estudos semelhantes.

Pensa-se, no entanto, que este aspeto pode ser bastante pertinente se se considerar o facto de que, clinicamente, a distração osteogénica é cada vez mais utilizada na população pediátrica. Assim, modelos animais imaturos deverão ser também considerados, em estudos futuros, para comparação dos processos biológicos da distração osteogénica com os modelos animais adultos. Como foi referido na introdução, pode-se considerar que a rápida regeneração óssea nos indivíduos esqueléticamente imaturos está relacionada com a presença

de grande quantidade de células mesenquimatosas indiferenciadas e que o relativo deficit de formação óssea verificado com o avanço da idade do indivíduo poderá estar mais relacionado com a diferenciação celular do que com a proliferação (Tonna e Cronkite, 1963). Para melhor compreender a importância deste aspeto, com um simples exemplo, pode-se, em teoria, afirmar que a velocidade de distração pode ser aumentada em indivíduos em crescimento, devido ao elevado potencial de regeneração do tecido ósseo.

A escolha do sexo dos animais pode ocupar também um papel relevante. É desejável que, para além da uniformização do género, sejam animais do sexo masculino, evitando eventuais interferências dos ciclos hormonais característicos das fêmeas (Thaller et al, 1993).

No âmbito da distração osteogénica para o alongamento sagital mandibular, diferentes espécies animais têm sido utilizadas como modelo de estudo, sendo os mais adequados aqueles de maior porte e de escala filogenética mais evoluída, como o cão, que foi o primeiro modelo experimental a ser utilizado na distração mandibular, por Snyder em 1973 (Snyder et al, 1973).

No nosso estudo experimental, a escolha recaiu sobre o cão de raça Beagle, à semelhança de outros estudos de distração osteogénica (Michieli e Minoti, 1976; Ilizarov et al, 1977; Karp et al, 1990; Costantino et al, 1990; Phillips et al, 1992; Karp et al, 1992; Block et al, 1993; Annino et al, 1994; Gantous et al, 1994; Ganey et al, 1994; McCarthy et al, 1995; Block et al, 1993; McCormick et al, 1995; Sawaki et al, 1996; Sawaki et al, 1997; Miao et al, 1997; Hollis et al, 1998; Jonsson e Siemssen, 1998; Makarov et al, 1998; Williams et al, 1998; Liou et al, 1998; Oda et al, 1999; Cope et al, 1999; Oda et al, 1999; Bavitz et al, 2000; Oda et al, 2000; Cope e Samchukov, 2000; Liou et al, 2000; Cope et al, 2001; Hollier et al, 2006; Hasse et al, 2005; Baiomy et al, 2012; Xie et al, 2012; Shang et al, 2012; Liu et al, 2012; Isomura et al, 2013). A justificação residuiu, para além dos argumentos acima apresentados, na escala anatómica, isto é, na necessidade do defeito criado por distração ter uma dimensão suficiente para que a técnica cirúrgica e o dispositivo mecânico de distração possam ser testados em condições mais próximas da realidade da condição humana.

Swennen e colaboradores (2002), constataam, num estudo de revisão sistemática, que o cão é o animal de experimentação mais apropriado, nos trabalhos experimentais de distração osteogénica combinada com a ortodontia e cirurgia ortognática. No mesmo artigo, referem também que o espaço situado entre o terceiro e quarto pré-molares mandibulares do cão, é a localização mais indicada para a realização da corticotomia/osteotomia. Tal acontece por estar desprovido de contacto oclusal e, assim, sob menor ação das forças de mastigação sobre o dispositivo de distração, aumentando a estabilidade, tão necessária para a adequada neoformação óssea.

O presente estudo experimental, desde a primeira intervenção até à eutanásia dos animais, decorreu num período de tempo aproximado de 5 meses, dividido pelas diversas fases de intervenção, esquematicamente colocadas no *workflow* (Figura 2.4).

Como foi já referido, todos os animais toleraram os procedimentos operatórios sem problemas, recuperaram da anestesia de forma adequada e sobreviveram até ao final do tempo da experiência. Ao longo do período experimental, não foram observadas quaisquer situações anómalas com o comportamento dos distratores, como descimentação ou fratura, que permaneceram com a estabilidade e rigidez inicial. Também não ocorreram quaisquer situações de infeção, convulsão, alteração respiratória, paralisia, nem outro tipo de patologia, em qualquer momento dos intervalos do estudo, e nenhum dos animais mostrou agressividade ou emitira vocalizações relacionadas com dor. Estes aspetos, relacionados com o bem-estar dos animais e com a estabilidade do distrator, podem ser justificados, em parte, pelo protocolo utilizado. A velocidade de distração de 1 mm/dia utilizada nos grupos de teste, revelou-se adequada e o alongamento produzido não foi além dos 20% da dimensão do corpo mandibular, apesar de que 10 mm de alongamento mandibular parecem ser

suficientes para compensar a maioria das deficiências mandibulares observadas no Homem (Mofid et al, 2001; Swennen et al, 2001; Norholt et al, 2010).

Como já foi comentado, elevadas velocidades de distração podem impedir a correta adaptação dos tecidos moles ao alongamento produzido, causando lesões musculares, articulares, nervosas e vasculares (De Bastiani et al, 1986; Ilizarov, 1989a; Simpson et al, 1995; Makarov et al, 2005; Kapadia et al, 2013). De igual forma, grandes alongamentos, superiores a 30% do osso original, podem causar lesões nos tecidos moles e contraturas musculares, causando dor ao paciente (Paley, 1990; Lee et al, 1993; Mizumoto et al, 1995; Makarove et al, 2005).

Atualmente, a distração osteogénica para alongamento sagital mandibular é feita, na maioria dos casos, com aparelhos de distração externos. Nestes casos, o aparelho de distração é ancorado através de vários parafusos fixados percutaneamente ao corpo, ramo e ângulo mandibular. Apesar do tecido epitelial possuir elevada capacidade de adaptação às forças de distração, podem surgir várias complicações, cuja gravidade depende de vários fatores, como: condições dos tecidos moles circundantes; ritmo da distração (repentino ou gradual); estabilidade do distrator e diâmetro dos parafusos de fixação (Yasui et al, 1991; Lee et al, 1993; Lindsey et al, 2000; Makarov et al, 2001).

O alongamento repentino da pele, pode conduzir à isquémia focal e consequente necrose (Simpson et al, 1995; Lindsey et al, 2000; Makarov et al, 2001; Williams et al, 2001).

Também a infeção é uma complicação frequentemente observada na distração osteogénica. Como se encontra referido na literatura, a infeção está associada igualmente aos parafusos de fixação dos dispositivos ósteo-ancorados (Paley, 1990; Dahl et al, 1994; Stanitski et al, 1996; Magyar et al, 1999), pelo que podemos, com alguma propriedade, afirmar que poderá ser nula ou residual quando o processo de distração for efetuado com dispositivos dento-ancorados. As complicações sépticas ocorrem principalmente durante o período ativo de distração. Durante este período, é provocado um alongamento dos tecidos moles envolventes aos parafusos de fixação que, combinados com a alteração do aporte sanguíneo, podem provocar infeção.

Os problemas sépticos que ocorrem durante o período de consolidação são raros e estão habitualmente associados a identificação tardia de uma infeção profunda.

Outras complicações, referidas na literatura, associadas aos distratores externos e ósteo-ancorados, como o trismo e alterações psicossociais, podem ser diminuídas com a utilização de distratores dento-ancorados.

Norholt e colaboradores (2010) referem que, em 10% dos pacientes, é observado trismo durante a ativação do aparelho de distração, quando este é fixado ao ramo ascendente da mandíbula.

Os fatores psicossociais são relevantes no processo terapêutico, uma vez que a distração osteogénica é um tratamento continuado e de longo-termo, que envolve o paciente e a família. Os problemas podem variar desde alterações do sono e dificuldades de interação social, à tensão familiar (Hurmerinta et al, 2004).

Neste estudo, a regeneração dos defeitos ósseos e o comportamento biomecânico da distração osteogénica, foi analisada com recurso a meios imagiológicos (raio x intra-oral, telerradiografia cefalométrica e absorciometria de raio x de dupla energia) e à microscopia de luz, em cortes histológicos de material não descalcificado, com quantificação histomorfométrica e respetivo tratamento estatístico.

Estes métodos de análise permitiram a comparação entre os grupos e a evolução dos resultados ao longo do período experimental.

A metodologia aplicada permitiu, através de análises de índole histológica e histomorfométrica, uma adequada avaliação do processo de regeneração óssea.

Apesar da utilização de radiografias intra-orais padronizadas, como meio auxiliar de avaliação das alterações dos tecidos duros, não podemos descurar as limitações inerentes à técnica e, por isso, precauções metodológicas importantes são justificadas. A radiologia pode ser considerada como uma técnica simples,

acessível e de boa qualidade diagnóstica (Kolbeck et al, 1999; Cheung e Zang, 2003), mas a interpretação de uma imagem radiográfica constitui um exercício complexo e não está, verdadeiramente, isenta de alguma dose de subjetividade, dado que apenas providência uma representação anatômica bidimensional, constituída por estruturas sobrepostas, como tecido ósseo, tecidos moles e superfícies dentárias. Deste modo, opta-se por utilizar as radiografias como um simples meio preditivo e de controlo clínico pós-operatório semanal, e não como método de avaliação quantitativa ou qualitativa.

A avaliação radiográfica durante o período de consolidação, tal como apresentado nos resultados, possibilitou a percepção de um aumento da mineralização na zona de distração, onde se distinguem, na fase inicial, duas zonas mais radiopacas com origem nos fragmentos ósseos nativos, mas ainda separadas por uma zona radiotransparente central. Com o evoluir do período de consolidação, as imagens radiográficas de todas as hemimandíbulas revelaram o alongamento pósterio-anterior conseguido, com as zonas distracionadas totalmente mineralizadas, evidenciando uma densidade radiográfica típica de um fenómeno de aposição/regeneração óssea, orientada paralelamente ao eixo da distração, sem focos, centrais ou periféricos, radiotransparentes e sem desvios axiais dos segmentos ósseos anterior e posterior.

Entre as duas e as quatro semanas do período de consolidação, foi possível observar o início da mineralização do calo de distração, com desvio centrípeto, desde as corticais originais ao centro do calo de distração, em mais de 90% das hemimandíbulas submetidas à distração. Esta observação também foi encontrada por outros autores, apesar da aplicação de protocolos diferentes (Ilizarov, 1989a; Aronson et al, 1990; Delloy et al, 1990; Samchukov et al, 1998; Stallings et al, 1998; Welch e Lewis, 1999). À décima segunda semana, nove hemimandíbulas encontravam-se no estágio Tipo 6, com diferenciação da cortical e cinco no estágio Tipo 5 (Figura 3.15 e Figura 3.16).

Globalmente, a avaliação radiográfica semanal, ao longo do período experimental em ambos os grupos de teste, demonstrou a presença de uma radiopacidade crescente, refletindo a formação óssea gradual e a ocorrência dos processos de mineralização. Estes resultados vão de encontro a outros estudos de investigação (Bell et al, 1997; Liou et al, 1998; Cope et al, 1999; Hasse et al, 2005; Chung et al, 2007).

Assim, e baseados nos dados obtidos, todas estas características radiográficas confirmaram a existência de um processo evolutivo, no sentido de uma regeneração óssea com vista à esperada restituição da arquitetura óssea original, sobretudo no grupo B, sujeito a um ritmo de distração múltipla. Estes dados foram corroborados pela análise histológica que, adiante, será discutida.

A área da mandíbula escolhida para a osteotomia, situada no espaço entre o terceiro e quarto pré-molar, revelou-se bastante importante no êxito deste trabalho, ao permitir a desejada estabilidade do distrator. No final de todo o processo, nenhum dos 14 distratores sofreram descimentação ou fratura, explicando também, em parte, a ausência completa de infeção e o bem-estar dos animais.

Como já foi referido, os distratores extra-orais e ósteo-ancorados apresentam frequentemente problemas de estabilidade devido à movimentação dos parafusos de fixação óssea, podendo originar grandes diferenças entre o alongamento teórico e real (Guerrero et al, 1997; Gonzalez et al, 2001).

São vários os estudos onde se constata que a ativação do distrator foi superior ao alongamento produzido (Yanoff et al, 1992; Bell et al, 1997; Nakamoto et al, 2002; Kunz et al, 2006). Neste estudo, a diferença entre o alongamento do distrator (teórico) e o alongamento da mandíbula (real) foi semelhante, quando medido clinicamente, mas ligeiramente superior a 1 mm, quando medido radiograficamente. Esta diferença, pela sua pouca magnitude, deveu-se provavelmente à distorção radiográfica e dificuldade em reproduzir, de forma exata, a medição direta com o paquímetro nos pontos cefalométricos criados na telerradiografia.

Pela medição clínica verificou-se que as distâncias transversais mantiveram-se inalteradas. Os controlos radiográficos, obtidos imediatamente após a osteotomia, confirmaram essa medição clínica. Assim, apesar da mobilidade dos fragmentos mandibulares seccionados, não se verificou qualquer desvio axial resultante da colocação e cimentação dos distratores. Também ao longo de todo o protocolo, desde o período de latência até à eutanásia, os fragmentos mandibulares anterior e posterior à osteotomia mantiveram-se estáveis e sem desvios quer no eixo vertical quer no eixo frontal.

As dificuldades em controlar os vetores da distração são várias e exaustivamente descritas na literatura (Moore et al, 1994; Pensler et al, 1995; Kunz et al, 2005). Mesmo com uma planificação meticulosa e com a utilização de distratores com mais de um grau de liberdade, pode não ser possível evitar grandes desvios dos segmentos ósseos distracionados, em relação ao plano de tratamento previamente traçado (Molina e Ortiz-Monasterio, 1995; Cope et al, 1999; Cope e Samchukov, 2000; McCarthy et al, 2002; Kunz et al, 2005).

Os distratores usados foram colocados sobre os dentes, permitindo que cada um estivesse paralelo ao seu homólogo contralateral e ambos paralelos ao plano oclusal, e não ao plano inferior da mandíbula. Desta forma, o vetor de distração de ambos os aparelhos fica paralelo ao eixo sagital comum, indo ao encontro do que é advogado em alguns estudos biomecânicos sobre a distração osteogénica (Aronson et al, 1989b; Aronson e Harp, 1994; Cope et al, 2000; Samchukov et al, 2001).

A orientação do vetor de distração é habitualmente influenciada pela colocação do distrator e é um dos parâmetros mais importantes em todo o processo da distração (Cope et al, 1999; Cope e Samchukov, 2000; McCarthy et al, 2002; Kunz et al, 2005). Quando é paralelo ao plano mandibular e não ao plano oclusal, geram-se forças laterais diretamente proporcionais à quantidade de alongamento mandibular, que vão deslocar as porções mesiais e distais dos fragmentos ósseos, tornando imprevisível a morfologia mandibular no final do tratamento (Molina e Ortiz-Monasterio, 1995; Cope et al, 2000; Samchukov et al, 2001). Além do referido, o vetor de distração paralelo ao plano mandibular, e não ao plano oclusal, pode provocar outras consequências, durante o tratamento, como: aumento da distância transversal da porção distal e da distância intercondilar; rotação anti-horária dos côndilos mandibulares; e uma rotação horária do fragmento da mandíbula mesial à osteotomia, com conseqüente aumento do ângulo goníaco. Assim, o torque induzido aos côndilos pelo deslocamento transversal, pode provocar efeitos nefastos e irreversíveis como degeneração e perda da capacidade de regeneração da camada intermediária ou proliferativa (Stelnicki et al, 2001).

As implicações clínicas podem ser nefastas, sendo as mais comuns: a mordida aberta anterior (dependendo da localização da osteotomia); a disfunção da ATM; o aumento da recidiva do tratamento, por alteração da posição do côndilo mandibular na fossa glenóide; e a reabsorção condilar, devido às forças de compressão provocadas quer pela rotação quer pelo aumento da distância intercondilar (Ow e Cheung, 2009).

O estudo da telerradiografia cefalométrica permitiu verificar que, durante o protocolo de distração, não foram produzidos efeitos, quer no ângulo goníaco, quer na angulação dos segmentos ósseos distracionados.

Grande parte dos relatos de danos na ATM são associados, essencialmente, a uma incorreta orientação do vetor de distração (Ahn et al, 1999; Dheeraj et al, 2011).

Segundo os resultados obtidos no nosso estudo, e através da análise das variáveis cefalométricas angulares, podemos afirmar que não se observaram inclinações ou modificações do vetor de distração previsto pois, caso contrário, seriam notórias alterações, quer no ângulo goníaco, quer na angulação dos segmentos ósseos distracionados.

Importa salientar que parece existir uma relação, diretamente proporcional, entre alterações na ATM e a quantidade de alongamento e ritmo da distração, devido à maior carga produzida num curto espaço de tempo. Rodrigues (1999) afirma que a própria anatomia da ATM sugere que mesmo as forças fisiológicas ao

atuarem sobre as superfícies articulares, em determinadas condições, se podem tornar patológicas, superando a capacidade de remodelação fisiológica e dando início a processos de patologia articular.

Num estudo realizado por Thurmuller e colaboradores (2002), no qual foram avaliadas alterações na ATM após distração mandibular, foi descrita uma diminuição na espessura da região medial do disco articular. Observaram igualmente, que quando a velocidade de distração era de 4 mm/dia ocorriam alterações inflamatórias ou degenerativas no cêndilo e disco articular; no entanto, estas alterações não eram evidentes quando a velocidade era reduzida para 1 mm/dia. Por outro lado, Zou e colaboradores (2001), afirmam que uma velocidade de distração de 1 mm/dia conduz a alterações inflamatórias reversíveis na cartilagem do cêndilo, enquanto que processos degenerativos são encontrados quando a velocidade é aumentada para 2 mm/dia.

Tendo em conta a bibliografia recente, e apesar de não ter sido alvo deste estudo, o efeito do processo de distração nos cêndilos, optou-se por uma velocidade de distração de apenas 1 mm/dia (com uma ou duas ativações diárias) com o objetivo também de diminuir possíveis alterações patológicas na ATM.

A opção pela técnica de processamento de tecidos duros não descalcificados revelou-se adequada, pois permitiu a obtenção de imagens histológicas de elevada qualidade, sem distorções morfológicas das estruturas a analisar e, ao mesmo tempo, sem a presença de artefatos relevantes, que limitassem a correta interpretação dos resultados. De facto, esta técnica de processamento, na qual se inclui o sistema Exakt® de alta precisão (Exakt-Apparatebau, GmbH & CO, Norderstedt, Hamburgo, Alemanha) revela-se como a abordagem de referência para o processamento histológico deste tipo de tecidos, superando claramente as desvantagens das técnicas descalcificadas, que implicam alterações volumétricas dos grânulos de fosfato de cálcio, a indução de numerosos artefatos e um arrastamento dos tecidos, devido ao uso do micrótomo convencional com baixa precisão e poder de corte (Matos, 2008). As imagens histológicas apresentadas demonstram que a metodologia seguida na preparação do material foi bem sucedida, proporcionando a obtenção de cortes de material bem preservado e de boa qualidade. Além disso, a coloração com azul de Toluidina possibilitou a obtenção de imagens histológicas adequadas a uma correta avaliação qualitativa e quantitativa, através da uma clara identificação das estruturas em estudo.

A cicatrização dos tecidos constitui uma resposta comum a vários tipos de lesões e visa o restabelecimento da estrutura e da função tecidular face a uma agressão (Takata et al, 1993; Takata, 1994). Este processo desencadeia uma cascata de eventos altamente organizada e modulada por vários mediadores químicos, citocinas e fatores de crescimento, para além de fatores ambientais e locais (Blumenthal et al, 2003).

O mecanismo de cicatrização pode ocorrer por dois processos: regeneração e reparação. O termo regeneração refere-se à reconstituição *ad integrum* dos tecidos danificados, com base na proliferação e completa diferenciação dos elementos tecidulares do parênquima original. Deste modo, o novo tecido possui características morfológicas e propriedades funcionais que não se distinguem do tecido primitivo (Wikesjo et al, 1992, Koo et al, 2005). Por sua vez, o processo de reparação consiste numa reconstrução incompleta, substituindo os tecidos perdidos pela formação de um tecido conjuntivo fibroso que resulta geralmente numa cicatriz. Deste modo, o tecido danificado é substituído por outro, cujas propriedades não são, necessariamente, iguais à do tecido original que sofreu a agressão (Wikesjo et al, 1992, Koo et al, 2005).

Um dado interessante, é que a síntese precoce de uma matriz extracelular, apesar de não promover diretamente a regeneração, é decisiva neste evento, ao assumir um papel proeminente na regulação dos fenómenos necessários para o seu desenvolvimento futuro. A sequência, temporal e espacial, da deposição das macromoléculas extracelulares, está estreitamente coordenada com a síntese de fatores solúveis que, por sua vez, podem despoletar mecanismos de retro-controlo (Clarke, 2008). Os componentes insolúveis da matriz extracelular funcionam como mensageiros para a atividade celular e, ao mesmo tempo, constituem um reservatório de fatores solúveis. Os fatores insolúveis e os mediadores solúveis, via recetores específicos

da membrana celular, induzem respostas que afetam quer a comunicação célula-célula, quer célula-matriz extracelular. Desta forma, uma enorme variedade de moléculas de sinalização intracelular são ativadas, bem como vários mecanismos de transdução que regulam a expressão dos genes e que, por sua vez, levam a respostas celulares como a migração, adesão, diferenciação, alterações do citoesqueleto e síntese proteica. Assim, a matriz extracelular inicial é o palco de interações complexas que têm um papel fulcral na determinação da diferenciação celular, em vias fenotípicas específicas no sentido reparativo ou regenerativo.

Atualmente, considera-se prioritário regenerar e não reparar, reconstruindo não só a forma mas, simultaneamente, restaurar a normal função anatomo-fisiológica da estrutura/órgão lesado.

A resposta regenerativa orgânica, no local onde foi induzido o trauma cirúrgico, envolve a diferenciação e regulação dos tecidos esquelético e conjuntivo, de forma semelhante ao processo que ocorre durante a reparação de uma fratura óssea. Ao mesmo tempo, este processo regenerativo, ou reparador, também apresenta muitos dos mecanismos que se observam durante o crescimento ósseo e a morfogénese (Junqueira, 2008).

A investigação na área de regeneração óssea tem apresentado desenvolvimentos muito promissores, com base na associação de elementos celulares (populações celulares com potencial osteogénico), moduladores biológicos (estímulos osteoindutores e osteopromotores) e matrizes osteocondutoras, ou mesmo biologicamente ativas, que promovam a regeneração óssea (Hoexter, 2002; Frohlich et al, 2008).

Mais recentemente, tem vindo a enfatizar-se, para além da clássica tríade regenerativa, um quarto elemento de reconhecida importância, a estabilidade mecânica, como já foi referido e mais será discutido, em parágrafos posteriores. A estabilidade do micro-ambiente onde se localiza o defeito ósseo a regenerar parece determinante para a resposta biológica dos outros três elementos: células, fatores de crescimento e matrizes. Este aspeto levou Peter Giannoudis e colaboradores (Giannoudis et al, 2007; Giannoudis et al, 2008) a proporem a substituição da tríade por um novo conceito que designou por “*Diamond-model of bone healing interactions*”.

Neste estudo, verificou-se que o procedimento cirúrgico realizado - osteotomia do bordo basilar, tábua externa e região alveolar entre o terceiro pré-molar mandibular e o quarto pré-molar mandibular – foi uma decisão acertada, pois permitiu a preservação da continuidade do rolo vaso-nervoso alveolar inferior e de todo o recobrimento, periosteio e mucoso, da face externa lingual da mandíbula.

Como foi referido no capítulo da introdução, a agressão causada para a criação de um defeito num tecido vascularizado leva, no imediato, ao desenvolvimento de um hematoma e à formação de uma matriz provisória nesse local. Esta matriz provisória consiste, fundamentalmente, numa rede de fibrina derivada da ativação dos sistemas de coagulação, contendo produtos de natureza inflamatória, plaquetas ativadas e células inflamatórias e endoteliais, para além de glóbulos vermelhos. A retenção e organização do coágulo é, pois, considerada como um pré-requisito essencial para a migração celular; funcionando como um tecido intermédio que proporciona, provisoriamente, os requisitos mínimos de estabilidade mecânica, tornando possível a invasão de novos capilares que precedem sempre a formação de novo osso.

O estudo de Ali e colaboradores (2009) comprova que as forças de tensão, produzidas pelo aparelho distrator, influenciam a organização do tecido fibroso formado no espaço de distração nos estádios iniciais de ativação, alinhando-se as fibras de colagénio na direção do vetor de distração. Além disso, as forças de tensão produzem um estímulo para a proliferação e diferenciação das células mesenquimatosas indiferenciadas em pré-osteoblastos, que indicariam a ocorrência de processos de ossificação intramembranosa. Pelo contrário, no período de consolidação, quando as forças de tensão são descontinuadas é evidente a presença de processos de ossificação endocondral. Os estudos anteriores corroboram estes resultados (Jazrawi et al, 1998; Meyer et al, 2001; Isaksson et al, 2007).

O estímulo para a condrogênese poderá estar diretamente relacionado com a redução das forças de tensão e, ao mesmo tempo, de uma redução da tensão de oxigênio na região central do espaço de distração. Este fenómeno é suportado por um estudo recente de Hirao e colaboradores (2006), no qual verificaram que a hipóxia promove a diferenciação das células indiferenciadas em condroblastos e a síntese de matriz cartilaginosa via p38 MAPK.

Parece que a formação óssea depende também de dois pré-requisitos essenciais: amplo fornecimento sanguíneo e estabilidade mecânica. A função dos osteoblastos só é desempenhada na proximidade imediata a vasos sanguíneos. Do mesmo modo, a redução dos níveis de oxigênio altera a expressão génica na direção de formação de fibrose e de fibrocartilagem (Guerra, 2003). Por outro lado, a estabilidade da ferida operatória é essencial para a regeneração de um tecido altamente organizado, como é o tecido ósseo, requerendo uma superfície mecânica estável para a sua deposição.

A intromissão de fatores perturbadores desta estabilidade mecânica irá provocar a ruptura do coágulo de fibrina o que levará, inevitavelmente, a um comprometimento de todo o processo regenerativo (Matos, 2008).

Não obstante, qualquer lesão óssea causa a libertação de fatores de crescimento específicos no meio envolvente e ativação de uma resposta cicatricial, mediada inicialmente pelas plaquetas e células inflamatórias. Os fatores libertados, num determinado gradiente de concentração, atuam como agentes quimiotáticos para as células brancas do sangue e células osteoprogenitoras, para o local da ferida cirúrgica. A maioria destes fatores de crescimento encontram-se na circulação sanguínea, mas grande parte deles atuam, essencialmente, como mediadores químicos locais, com efeitos parácrinos e autócrinos.

O traumatismo cirúrgico desencadeia, também, uma resposta osteogénica, através da produção de fatores de crescimento locais e sistémicos. Os fatores de regulação locais são, numa primeira fase, produzidos pelas plaquetas (IGF-I, TGF- β) e pelas células inflamatórias. Os monócitos e macrófagos, após ativação, segregam fatores quimiotáticos incluindo leucotrienos B₄, PDGF e TGF- β , que amplificam o recrutamento celular. Estes fatores, principalmente o PDGF, o TGF- β e o IGF-I promovem a proliferação das células mesenquimatosas indiferenciadas. No seio do tecido ósseo, estas células vão posteriormente diferenciar-se em osteoblastos que sintetizam matriz osteóide e numerosos fatores de crescimento.

Numa fase mais tardia, assumem importância crescente os fatores sintetizados pelos osteoblastos envolvidos no processo de reparação do defeito ósseo. Entre eles incluem-se o PDGF, FGF- β 1, IGF-I e as BMPs que vão modular a atividade dos osteoblastos, de um modo autócrino, ou as células vizinhas de uma forma parácrina. São, ao mesmo tempo, libertados mediadores prostanoídes, como a prostoglandina E₂, que irão, por via sistémica, afetar as células à distância.

O estroma da medula óssea contém MSC com capacidade de se diferenciarem numa imensa variedade de tipos celulares, dependendo do seu habitat e dos fatores reguladores presentes. Entre elas estão as células da linha osteocondral que, num meio ósseo, têm o potencial de se diferenciarem em condroblastos ou osteoblastos dependendo, em parte, das condições de estabilidade e da tensão de oxigênio.

Convém referir, no entanto, que as vias que promovem uma diferenciação, num sentido osteogénico ou condrogénico, ainda não estão totalmente clarificadas. Crê-se, contudo, que possam replicar fenómenos embriológicos, a nível da determinação fenotípica das MSC.

Especula-se, também, que concentrações diferentes de BMPs e a síntese localizada de fatores angiogénicos ou anti-angiogénicos possam modular o fenótipo das células mesenquimatosas indiferenciadas (Hirao et al, 2006). Consequentemente e dependendo dos estímulos atrás referidos, poderá ocorrer a formação de um tecido cartilaginoso (em condições menos exigentes) ou de tecido ósseo.

As áreas com maior vascularização, como a região do esqueleto crânio-facial, podem favorecer a sequestração, otimização de gradientes de concentração e a localização de FGF e BMPs, através da ligação seletiva ao colágeno IV constituinte das membranas basais vasculares (Folkman et al, 1988; Campbell e Kaplan, 1992).

Importa salientar que a localização do FGF poderá ter um papel importante, ao sustentar a intensidade da neo-angiogénese, enquanto as populações de células indiferenciadas têm a possibilidade de interagir com as BMPs. Esta interação células indiferenciadas-BMPs, parece ser a responsável pelo seguimento de uma via osteogénica (intramembranosa) em vez de condrogénica (endocondral). Em locais estáveis e bem vascularizados, a maior parte destas células indiferenciadas segue a via osteogénica, diferenciando-se em osteoblastos, como referido anteriormente.

É reconhecido que um aumento das forças de tensão, durante o processo de distração osteogénica, geram uma expressão acentuada da BMP-2 e da BMP-4 nos fibroblastos e pré-osteoblastos. Consequentemente, a BMP-2 e a BMP-4 ativam a expressão de RUNX-2 que irá induzir a diferenciação osteoblástica e, desta forma, facilitar a osteogénese (Ali et al, 2009). Por outro lado, nos locais mecanicamente instáveis e menos vascularizados, as células indiferenciadas têm tendência a diferenciarem-se em condroblastos. Algumas destas células podem, ainda, diferenciar-se em adipócitos, o que justifica a frequente presença de tecido adiposo, reconhecendo-se uma transdiferenciação entre este fenótipo e o das células ósteocondroprogenitoras (Bellows et al, 1999). Se as condições não forem favoráveis à formação do tecido ósseo, ou de cartilagem, estas células diferenciam-se em fibroblastos, resultando numa reparação por fibrose, com conseqüente não-união dos segmentos ósseos.

Estes aspetos agora referidos, relevam ainda mais a importância da estabilidade dos distratores, conseguida durante todo o trabalho experimental, na obtenção dos bons resultados apresentados.

Para além dos fatores de crescimento há a considerar, ainda, uma variedade de outros sinais reguladores, como as forças mecânicas, os estímulos eletromagnéticos e nutricionais.

Presume-se que a regeneração óssea ocorrida durante o processo de distração osteogénica advenha, também, dos estímulos das forças de tração aplicadas ao calo mole, que se forma após a fase inflamatória atrás descrita, durante o período de latência.

A presença de tecido cartilaginoso no calo mole, nos estádios iniciais da distração osteogénica, parece estar relacionada com uma menor vascularização e, como consequência, do menor aporte de oxigénio. Assim, o espaço de distração é preenchido inicialmente por cartilagem, até que o suprimento sanguíneo possa ser reestabelecido (Samchukov et al, 1998). Desta forma, a cartilagem, um tecido estrutural e fisiologicamente menos exigente que o tecido ósseo, pode funcionar apenas como uma estrutura transeunte, fornecendo alguma estabilidade mecânica, para a posterior deposição de tecido ósseo no espaço de distração durante o período de ativação.

Como já foi mencionado, durante o período ativo de distração, uma força mecânica é aplicada ao calo mole, impedindo a consolidação da fratura e criando um microambiente específico e altamente dinâmico. Decorrentes destas forças de tensão, aplicadas sobre os segmentos ósseos, os tecidos moles, incluindo epiderme, derme, vasos sanguíneos, tendões, músculos e nervos, acompanham o crescimento ósseo de forma gradual (Ilizarov, 1988; McCormick et al, 1995; Molina e Ortiz-Monasterio, 1995).

A matriz óssea das margens dos fragmentos seccionados, desempenha um papel fundamental no processo de regeneração. Esta matriz óssea funciona como um reservatório de fatores de crescimento, fornece a fonte primária de células osteogénicas e de nutrição vascular. Desta forma, depreende-se que o processo de ossificação ocorra originalmente a partir das margens destes segmentos e se processe em direção centrípeta em direção ao centro do espaço de distração, justificando o que foi observado radiograficamente ao longo de todo o processo do nosso estudo e as observações histológicas abordadas mais adiante.

Na descrição dos processos biológicos da distração osteogénica, vários autores referem a existência de uma zona intermédia - interzona - situada no centro do espaço de distração (Aronson et al, 1990; Yasui et al, 1993; Cope et al, 2000). Esta zona intermédia parece ser constituída por fibras de colagénio (altamente organizadas, paralelas e orientadas longitudinalmente), por fibroblastos e por células mesenquimatosas indiferenciadas (onde a influência das forças de tensão é máxima). A interzona é considerada como uma zona de crescimento, providenciando o meio adequado para a ocorrência de processos de ossificação durante o período de alongamento sagital (Aronson et al, 1990). As forças ativas de tensão são transmitidas aos elementos celulares do tecido conjuntivo inter-segmentar, provocando o prolongamento da angiogénese e, conseqüente, aumento da tensão de oxigénio e aumento na proliferação dos fibroblastos com intensificação da sua atividade de síntese. Ao mesmo tempo, os tecidos presentes no espaço de distração alinham-se no sentido das forças de tração, o número de neo-vasos aumenta, em direção ao centro do espaço de distração, trazendo consigo células indiferenciadas (que posteriormente se irão diferenciar em fibroblastos, condroblastos ou osteoblastos).

A presença de tecido fibroso e cartilagem na interzona sugere que, durante o período de distração, ambos os processos de ossificação, intramembranoso e endocondral, desempenham papéis importantes na neoformação óssea. (Samchukov et al, 1998).

Após o período de ativação segue-se o período de consolidação, compreendido entre o momento final da fase ativa da distração e a remoção do aparelho distrator, durante o qual o dispositivo deve permanecer no local, para garantir a indução da ossificação e a conseqüente consolidação da fratura (Ilizarov, 1988).

Relativamente ao desenho do estudo experimental efetuado, a justificação da escolha de um período de consolidação de 12 semanas, vai de encontro ao tempo de consolidação aplicado pela maior parte dos estudos clínicos (Rowe et al, 1998; Farhadieh et al, 2000; Raghoobar et al, 2000; Chiapasco et al, 2001; Klug et al, 2001; Robiony et al, 2002; Uckan et al, 2002; Rachmiel et al, 2005).

O ciclo de remodelação óssea, definido como a reestruturação do osso pré-existente, é composto por quatro fases: 1- ativação de células precursoras, 2- seguido de uma sequência de reabsorção ativa, 3- de uma fase quiescente ou de reversão, 4- e de formação óssea. A duração deste ciclo de remodelação óssea aumenta na proporção direta do tamanho do animal. Este período tem a duração de 6 semanas no coelho, 12 semanas no cão e 18 semanas nos humanos (Roberts et al, 2006). Assim, o estabelecimento de uma relação entre a duração do ciclo de remodelação óssea nas várias espécies animais, pode permitir calcular os tempos que são necessários no Homem para obter um comportamento idêntico ao do tecido ósseo, facilitando a posterior extrapolação dos resultados.

A escolha do tempo de consolidação está dependente de diferentes fatores, como o comprimento total obtido após o período ativo de distração e da idade do paciente. Não obstante, o estudo complementar com auxílio à DEXA (Absorciometria de Raio X de dupla energia) pode demonstrar-se muito proveitoso para a determinação do tempo ideal para efetuar a remoção do aparelho distrator (Saran e Hamdy, 2008). A DEXA tem sido referida como um método bastante útil para determinar o BMC e a BMD pela precisão na obtenção dos resultados e pelo baixo custo de execução (Long et al, 2009; Sabharwal et al, 2011).

Tanto para o clínico, como para o paciente, é importante que a retoma da plenitude das funções do osso distraçionado seja feita no mais breve espaço de tempo. No entanto, a remoção precoce do distrator aumenta o risco de fratura ou deformação plástica na zona distraçionada, quando não existe uma consolidação adequada do novo tecido ósseo formado.

Não existe um método preditivo isolado que permita, com certeza, afirmar que o tecido ósseo neoformado estará em condições estruturais que permita a remoção do aparelho distrator, sem ter em conta as possíveis conseqüências mecânicas. No entanto, a densitometria óssea é um método seguro e de baixa radiação, que

permite de forma eficaz estudar o BMC e a BMD na zona de distração (Tselentakis et al, 2001). Com este método é possível avaliar a rigidez do tecido ósseo neoformado e assim estabelecer a altura ideal para cessar com o processo de distração osteogénica e remover o distrator (Tavakoli et al, 1998; Rauch et al, 2000; Hazra et al, 2008).

Birch e Samchukov (2004) referem que a decisão de remover o distrator deve ser feita em função de critérios clínicos, radiográficos e de tempo de consolidação. Mas que se for adicionada a avaliação por densitometria a esses critérios, a probabilidade de ocorrer fratura ou deflexão do osso neoformado após a remoção do distrator, é 5-10 vezes inferior.

Neste estudo não se verificaram diferenças estatisticamente significativas, de BMC e de BMD, entre o osso neoformado dos grupos submetidos à distração osteogénica e o osso mandibular do grupo de controlo. Também não foram observadas diferenças com significância estatística entre os grupos B e C. Observou-se, no entanto, uma menor variação dos valores encontrados, de BMC e de BMD, nas hemimandíbulas do grupo B (frequência de ativação múltipla), em relação às hemimandíbulas do grupo C. Isto sugere que, apesar da velocidade de alongamento de 1 mm/dia ter produzido bons resultados em ambos os grupos, estes podem ser ainda melhores, se se aumentar o ritmo ou frequência de ativação.

Como foi referido na introdução, o conhecimento sobre os mecanismos celulares que a governam a distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial provém, na sua maioria, dos estudos feitos sobre os ossos longos. Em contraste com os ossos longos, que se originam por um processo de ossificação endocondral, o esqueleto crânio-facial é formado essencialmente por um processo de ossificação intramembranosa (Rowe et al, 1998; Meyer et al, 2001; Lobo et al, 2004), o que poderá influenciar de certo modo os eventos biológicos e celulares que ocorrem durante o processo de osteogénese por distração.

Neste âmbito, é de salientar que o processo de cicatrização e remodelação da mandíbula é muito semelhante ao que ocorre em alguns ossos longos, como a tibia. Esta semelhança é consistente com as forças funcionais que atuam em ambos os ossos, isto é, a tensão muscular e compressão do peso corporal na tibia e a tensão muscular e compressão mastigatória na mandíbula (Matos, 2008). Por sua vez, durante a reparação do esqueleto adulto, a sequência da regeneração endocondral e intramembranosa não tem obrigatoriamente que prosseguir as mesmas vias da embriogénese. Convém referir que não existe evidência de que as células e os fatores solúveis (ex: BMPs) ou insolúveis (ex: colagénio) sejam diferentes, ou que a o período temporal de regeneração difira substancialmente entre os dois tipos de osso (Hollinger et al, 1999). Apesar disso, reconhecem-se algumas diferenças, quer na carga bio-funcional quer na vascularização, que poderão acarretar, eventualmente, algumas adaptações terapêuticas.

No que diz respeito ao tipo de ossificação que ocorre durante o processo de distração osteogénica, estudos referem que, apesar da ocorrência de processos de ossificação endocondral, o mecanismo de ossificação predominante é intramembranoso (Stallings et al, 1998; Stalmans et al, 2003).

Além destas duas formas de ossificação, foi sugerido um terceiro tipo de ossificação, designada transcondróide (Ilizarov, 1989; Aronson et al, 1994; Li et al, 1999; Li et al, 2000; Krawczyk et al, 2007).

Durante a ossificação transcondróide, o tecido ósseo é formado por células semelhantes a condroblastos, sem que ocorram, no entanto, os processos sequenciais típicos da ossificação endocondral, com a transição gradual do tecido cartilaginoso em tecido ósseo. (Yasui et al, 1997; Cho et al, 1999).

Estes estudos estão de acordo com os achados histológicos onde se verificou, no final do período de consolidação, a ocorrência de processos de ossificação intramembranosa e alguma matriz cartilaginosa/fibrocartilagem em processo de ossificação endocondral, apesar de em muito menor número e quase que circunscritos à região central do espaço de distração.

A este propósito, deve ser tido em conta que as diferenças no tipo de aparelho distrator utilizado e as alterações do protocolo/metodologia de distração – tipo de osteotomia, período de latência, velocidade e ritmo de distração, período de consolidação – podem dificultar a comparação dos resultados experimentais e clínicos com outros estudos. Todavia, os fenómenos biomecânicos que ocorrem durante o período de distração osteogénica são produzidos de forma muito semelhante, o que facilita, posteriormente, a comparação dos resultados histológicos e histomorfométricos.

Um outro fator biomecânico importante que poderá influenciar os resultados obtidos é a velocidade e ritmo de distração. De facto, velocidades de distração distintos podem ter efeitos diferentes no tecido ósseo neoformado, de acordo com os efeitos tensão-stress (Mehrotra et al, 2012).

No capítulo da introdução, foi referido que a magnitude diária da tensão mecânica pode influenciar o tipo de fenótipo celular que surge no interior do espaço de distração, levando a diferentes preenchimentos do defeito com tecido ósseo, tecido cartilaginoso e/ou tecido fibroso (Li et al, 1997; Meyer et al, 1999; 2001; Isaksson et al, 2007; Maeda et al, 2008).

Também foi referido que velocidades lentas podem resultar numa ossificação prematura, com fusão dos segmentos ósseos, enquanto uma velocidade exagerada de ativação poderá levar a uma não-união, com formação de tecido fibroso na zona média do espaço de distração e, conseqüentemente, uma consolidação instável (Li et al, 1997; Meyer et al, 1999; 2001; Stalmans et al, 2003; Maeda et al, 2008).

Alguns autores afirmam que ocorre uma resposta tecidual mais uniforme quando a velocidade de distração é moderada (cerca de 1 mm/dia) e quando são feitas a um ritmo de duas ativações de 0,5 mm por dia (Aldegheri et al, 1989; Price et al, 1990; Dahl et al, 1994).

Neste estudo e de acordo com a evidência disponível, quando comparados os resultados radiográficos e histológicos dos diferentes ritmos de distração, verifica-se também uma melhor resposta dos tecidos duros e moles no grupo B, cujo ritmo de distração foi de 0,5 mm de 12 em 12 horas, do que no grupo C, composto por hemimandíbulas distracionadas através de uma única ativação diária de 1 mm.

Caraterizados alguns dos aspetos das reações biológicas subjacentes aos mecanismos de regeneração óssea durante a distração osteogénica, procede-se, nos próximos parágrafos, à discussão dos resultados histológicos.

Após o processo de distração efetuado nas hemimandíbulas direitas, com um ritmo de distração múltipla, pode-se afirmar que no final do período experimental, a região de interesse encontrava-se, na maioria dos casos, preenchido por uma notável quantidade de novo tecido ósseo, formado por uma espessa rede de estruturas trabéculares, estabelecendo um *continuum* entre os dois fragmentos ósseos mandibulares distracionados.

O tecido ósseo constituinte das trabéculas apresentou nítidos sinais de remodelação, sendo formado, maioritariamente, por grandes zonas de tecido ósseo lamelar. No entanto, no seu interior, foram observadas algumas áreas de tecido ósseo imaturo.

Considerando que a grande densidade das trabéculas ósseas neoformadas não apresentava áreas de matriz cartilaginosa no seu interior, é de inferir um predomínio do padrão de ossificação intramembranoso no seu processo de formação.

Todavia, não pode ser excluído um perfil de ossificação endocondral em alguns dos casos observados nas zonas centrais do espaço de distração, particularmente visíveis na região vestibular. Nestes casos foram detetadas pequenas áreas de tecido cartilaginoso, corroborando esta hipótese.

Com efeito, este perfil de ossificação endocondral, encontrado particularmente em algumas lâminas correspondentes aos cortes sagitais vestibulares, pode estar relacionado com o facto de o trauma cirúrgico ter sido muito mais agressivo nesta região anatómica.

Kojimoto e colaboradores (1988), num estudo radiográfico e histológico feito sobre as diferentes zonas da distração osteogénica efetuada em ossos longos de coelhos, observaram um prejuízo significativo do processo de neoformação óssea, após ter sido propositadamente lesado o perióstio. Esses achados sugerem que o endóstio e a medula óssea não são tão primordiais para uma adequada formação do calo ósseo e que o perióstio representa, na verdade, a estrutura mais importante. Contudo, importa recordar que nos resultados deste estudo experimental, estas observações representaram uma minoria de situações, em relação ao total do tecido ósseo neoformado.

Quanto ao conjunto de imagens provenientes dos cortes histológicos realizados após o processo de distração efetuado nas hemimandíbulas esquerdas (grupo C), submetidas a um ritmo de distração único de 1 mm/dia, observou-se, no final do período experimental, que o espaço de distração encontrava-se preenchido por uma rede bem definida de trabéculas ósseas, mas com restos de matriz cartilaginosa em maior número de casos do que o observado no grupo B.

De notar ainda que, em relação ao que se verificou no grupo B, nas hemimandíbulas do grupo C foram observadas um maior número de imagens de cortes sagitais vestibulares em que não se verificou uma união completa entre os segmentos distracionados em toda a extensão corono-apical. Além dessa observação, também foi evidente a maior presença de tecido cartilágneo, maioritariamente, fibrocartilagem, muitas vezes em processo de ossificação; ou mesmo de um tecido conjuntivo denso na zona central do espaço de distração.

Oda e colaboradores (2000) confirmaram a existência de diferenças significativas nos tecidos regenerados, quando compararam a região cortical vestibular e lingual. Nesse estudo, a região lingual apresentou uma superioridade notável na neoformação óssea, no final do período experimental.

Também na avaliação histológica do estudo foram observados melhores resultados nas lâminas referentes ao corte sagital lingual de cada hemimandíbulas dos grupos de teste, com maior maturação e densidade do tecido ósseo neoformado. A este propósito, não será alheio o facto do traumatismo cirúrgico ter sido menor na cortical lingual, tendo sido preservado o perióstio, ao contrário do que se verificou na superfície cortical vestibular.

Ao mesmo tempo, foi também visível uma grande atividade de remodelação no tecido ósseo das regiões adjacentes ao local do defeito criado por distração. Este facto ficará, certamente, a dever-se ao traumatismo cirúrgico que desencadeia por si só, e como já foi descrito, uma resposta osteogénica. Esta resposta surge com naturalidade, uma vez que essas áreas, não sendo diretamente agredidas, mantêm todos os elementos e condições necessárias para o desencadear da atividade de remodelação.

Os estudos histomorfométricos podem conter importantes variações intra e interobservador, tornando, por vezes, difícil a comparação objetiva dos resultados. Por sua vez, os resultados estão também dependentes do tipo de osso a estudar, da orientação dos cortes, das diferentes colorações utilizadas e, ainda, de diferenças nas técnicas de medição.

Na verdade, aquando da valorização destas técnicas, é importante considerar que mesmo quando o processamento das amostras é idêntico, as variações obtidas na avaliação interobservador podem ser muito diferentes, diminuindo a fiabilidade dos resultados (Compston et al. 1986).

Neste estudo, a análise quantitativa, realizada por histomorfométrica, foi efetuada por um único observador (autor) de modo permitir a menor acumulação de erros de avaliação.

A análise histomorfométrica foi realizada através do software para análise de imagem BioquantOsteo® 2012 (Bioquant® - Image Analysis Corporation, Nashville, EUA), que se revelou uma ferramenta extremamente útil ao complementar, com rigor, a avaliação qualitativa histológica convencional em microscopia óptica.

A utilização das hemimandíbulas do grupo A (controlo negativo), teve o propósito de possibilitar a comparação com o novo osso formado nos grupos de teste e simultaneamente estabelecer uma validação interna do estudo.

Na análise global dos resultados sobre o preenchimento de novo tecido ósseo na região de interesse, ou seja, na câmara de distração, verificou-se a inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de teste. No entanto, estes resultados quantitativos, se analisados em conjunto com as diferenças qualitativas observadas na microscopia de luz, indiciam que deveriam ter sido considerados também os estádios de maturação do tecido ósseo neoformado. Este facto pode ser particularmente importante, principalmente, para a escolha do tempo de permanência do aparelho distrator após a fase ativa de distração.

Tal como o sucedido na observação histológica, e análise histomorfométrica revelou também uma certa heterogeneidade, em ambos os grupos de teste, na distribuição do tecido ósseo neoformado, quer no sentido vertical (ápico-coronário) quer no sentido transversal (vestíbulo-lingual).

Assim, da avaliação global dos três cortes sagitais, vestibular, médio e lingual, ficou evidente que apesar dos valores encontrados, relativamente ao preenchimento de novo osso, serem diferentes (Tabela 3.13) as análises inferenciais não evidenciarem significância estatística [F (2,133) = 3,298; p = 0,040]. No entanto foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o coeficiente de variação dos cortes médio (23,20%) e vestibular (48,94%) [F (1,87) = 28,222; p = < 0,001], e entre o coeficiente de variação dos cortes vestibular e lingual (21,87%) [F (1,89) = 35,702; p < 0,001]. Estes resultados surgem de encontro ao que foi observado na análise histológica e não diferem dos resultados encontrados por outros autores (Oda et al, 2000; Cope e Samchukov, 2000).

Da mesma forma, na análise global e comparação entre as zonas coronal, mediana e apical, o valor total de novo tecido mineralizado presente em cada andar da câmara de distração foi de $74,66 \pm 30,04$ na zona coronal; $73,26 \pm 22,03$ na zona mediana; $80,37 \pm 21,08$ na zona apical. Apesar da região mais próxima do bordo basilar se encontrar com maior percentagem de tecido mineralizado, estatisticamente não foram observadas diferenças significativas [F (2,133) = 1,099; p = 0,336]. No entanto, é de salientar o maior desvio-padrão apresentado na região coronal, comprovando aritmeticamente o que foi observado à microscopia de luz: a ausência de tecido ósseo devido à deiscência coronal observada em alguns cortes, principalmente na região vestibular do espaço de distração. Como referido anteriormente, esta poderá estar intrinsecamente relacionada com o traumatismo cirúrgico mas, ao mesmo tempo, por uma menor disponibilidade de matriz óssea na região interdentária, correspondente à crista óssea alveolar. Bell e colaboradores (1997) afirmam que é importante manter uma margem de tecido ósseo alveolar, em volta dos dentes adjacentes ao espaço de distração, de forma a maximizar a regeneração do tecido ósseo na câmara de distração. Afirmam ainda que, quando é mantida esta margem de tecido ósseo, a regeneração no espaço de distração demonstrou os melhores resultados, além de ocorrer a um ritmo superior.

A este propósito, importa ainda referir que a zona mediana (sentido ápico-coronal) e a zona média (sentido vestibulo-lingual) são regiões constituídas por tecido ósseo esponjoso. Na verdade, este tipo de tecido ósseo tem uma mais rápida e eficaz capacidade de resposta que o tecido ósseo compacto, não sendo, por isso, de estranhar que reaja com uma grande exuberância. Pensa-se, de facto, que esta organização estrutural do tecido ósseo poderá relacionar-se com a superioridade dos resultados obtidos nesta área, em relação à região vestibular.

Por fim, importa referir que muitos dos estudos sobre distração osteogénica descrevem os mecanismos de ossificação após o período de consolidação, sem fazerem um estudo pormenorizado dos mecanismos que

ocorrem durante a fase ativa de distração. Por essa razão, a avaliação dos processos de ossificação que, por vezes, já não é linear, torna-se ainda mais difícil. Assim, e após a realização do estudo experimental, seria útil fazer uma avaliação durante a fase ativa de distração para se poder seguir, de forma sequencial, os processos biológicos que ocorreram no espaço de distração. Desta forma, as conclusões obtidas poderiam ser suportadas de uma forma mais consistente.

Uma nota final para referir que, alicerçados neste estudo, já foram dados os primeiros passos para a criação de um dispositivo que, no futuro, permitirá utilizar os princípios biomecânicos deste estudo em humanos. O PATD (Programmable and Autonomous Tissue Distractor Device), desenvolvido e patenteado pelo autor em associação com um grupo de investigadores da Universidade de Coimbra, é um dispositivo intra-oral que é ancorado preferencialmente no 1º molar e no 1º pré-molar inferiores, com o objetivo de realizar a distração osteogénica da mandíbula paralelamente ao plano oclusal de um modo automático e autónomo. Esta particularidade, permite que a colocação e a remoção do dispositivo se faça tal e qual como qualquer outro aparelho de Ortodontia, sem necessidade de sedação e anestesia. O PATD é formado pelas hastes de ancoragem e corpo de distração, que inclui o encapsulamento, os motores, a eletrónica de controlo que permite a distração progressiva e automática, a eletrónica de comunicação que permite uma programação personalizável do dispositivo e a fonte de alimentação para o funcionamento do dispositivo. Além de permitir a distração contínua e progressiva através da motorização do dispositivo, permite uma boa ancoragem, favorecendo a estabilidade, e a sua ativação pode ser realizada em ambulatório. É um dispositivo programável por comunicação sem fios, logo personalizável caso-a-caso, e que pode ser facilmente ajustado no decorrer da distração. Esta capacidade de ajuste caso-a-caso pode, posteriormente, ser documentada numa base de dados, usando-se essa informação para se conseguir elaborar um protocolo de distração mais eficiente.

5. Conclusões

Do estudo experimental realizado e dos resultados obtidos e apresentados, decorrentes das metodologias testadas, foi possível extrair as seguintes conclusões:

1. O animal de experimentação escolhido relevou ser adequado a este tipo de trabalho experimental.
2. O distrator dento-ancorado permitiu o alongamento sagital mandibular de uma forma simples e cómoda para os animais utilizados neste estudo experimental.
3. O protocolo de distração utilizado demonstrou ser fiável e eficaz para o alongamento sagital mandibular.
4. Este estudo demonstrou ser possível alongar sagitalmente a mandíbula através da distração osteogénica, recorrendo a um distrator exclusivamente dento-ancorado, com um período de latência de 7 dias, a uma velocidade de distração de 1 mm/dia durante 10 dias e com um período de consolidação de 12 semanas.
5. Os distratores dento-ancorados e o local escolhido para a osteotomia não produziram efeitos no ângulo goníaco e não afetaram nem a posição transversal nem a angulação dos segmentos ósseos durante o alongamento mandibular. Assim, permitiram uma correta direção do alongamento, favorecendo a criação de forças desejáveis ao processo de osteogénese por distração.
6. Existe uma relação direta entre o aumento do ritmo de distração e o processo de regeneração óssea. A distração osteogénica bi-diária permite um desempenho biológico superior no espaço de distração.
7. A estabilidade mecânica foi determinante na formação de novo tecido ósseo, condicionando a invasão celular e angiogénica especialmente nos períodos mais precoces do processo de osteogénese.
8. O Sistema Exakt® permitiu otimizar a técnica de processamento dos tecidos duros. A técnica não descalcificada proporcionou a obtenção de imagens histológicas onde foi possível identificar, sem artefactos, os elementos constituintes dos tecidos duros, apresentando-se bem preservados e com uma excelente qualidade morfológica.
9. A opção pelo procedimento cirúrgico realizado revelou ser adequada dado que, ao preservar a continuidade do rolo vaso-nervoso alveolar inferior e todo o recobrimento perióstico da face externa lingual da mandíbula, influenciou os resultados obtidos nos diferentes cortes histológicos sagitais.
10. A consolidação óssea do calo de distração foi observada 15 semanas após a osteotomia.

11. O processo de osteogénese de origem intramembranosa foi o mecanismo de ossificação mais frequentemente observado nos grupos estudados. Porém, em alguns casos foi possível verificar a presença de tecido cartilaginoso num nítido processo de ossificação endocondral.
12. Os tecidos neoformados orientam-se longitudinalmente, seguindo a direção das forças de distração e ossificam-se de forma centrípeta, desde os segmentos ósseos originais até ao centro do calo de distração.
13. No final do período experimental, o espaço de distração ficou preenchido por uma notável quantidade de trabéculas ósseas estabelecendo íntimas e numerosas ligações entre si.
14. Por último, os resultados obtidos neste estudo permitiram o desenvolvimento de um novo distrator, premiado com uma bolsa de ignição e patenteado internacionalmente. Apesar de experimentar os primeiros passos, pela condição de protótipo, perspectiva-se como uma solução viável e inovadora para o tratamento de deformidades dento-esqueléticas que requeiram alongamento sagital mandibular.

Capítulo III. Resumen

O interesse e utilização da distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial cresceu de forma significativa nos últimos anos devido à enorme potencialidade desta técnica no tratamento das deformidades dento-faciais. A sua aplicação tardia nesta área em relação à ortopedia pode ser explicada, em grande parte, devido às características anatómicas da região crânio-facial que dificultam a aplicação dos dispositivos de distração convencionais. Com efeito, a morfologia dos ossos do maciço facial é mais complexa, as cicatrizes são menos toleráveis do que em outras partes do corpo e as técnicas clássicas da cirurgia ortognática permitiam o tratamento de grande parte das deformidades severas da face.

Atualmente os ortodontistas e cirurgiões maxilo-faciais, conscientes de que mudanças induzidas cirurgicamente, ainda que ligeiras, do esqueleto crânio-facial podem provocar alterações significativas e irreversíveis na estrutura facial, têm procurado incorporar novas técnicas de distração na sua prática clínica que permitem aumentar a qualidade e previsibilidade do tratamento ortodôntico-cirúrgico-ortognático, comportando menores riscos e sequelas para os seus pacientes.

O sucesso desta técnica na reabilitação morfofuncional dos ossos da face em pacientes de qualquer idade, associado à excelente relação risco-benefício verificada, fez com que a osteogénese por distração deixasse de estar reservada exclusivamente ao tratamento de síndromes crânio-faciais e permitiu a sua rápida extensão ao tratamento de situações clínicas menos severas, mas mais prevalentes, como a deformidade dento-esquelética de Classe II por retrognatia ou por hipoplasia mandibular.

Os estudos clínicos e experimentais encontrados na literatura provêm maioritariamente da traumatologia, da ortopedia, ou da distração crânio-facial com distratores externos. Os distratores externos apresentam vários efeitos secundários e riscos para o paciente, como um maior período incapacitante, sequelas cicatriciais na face, erros na orientação do vetor de distração e instabilidade na fixação dos distratores. Com o surgimento dos distratores internos, os problemas relacionados com a visibilidade dos dispositivos e com as sequelas cicatriciais deixaram de existir, mas as restantes limitações e riscos relacionadas com a fixação, mantiveram-se. Neste âmbito, a utilização de distratores internos dento-ancorados municia uma série de benefícios, que vão desde a ausência de intervenções cirúrgicas para colocação ou remoção do aparelho, reservando o ato cirúrgico apenas à osteotomia; até à favorável orientação do vetor de distração, tornando mais previsível o tratamento. Contudo, a quase inexistência de estudos experimentais sobre a distração osteogénica dento-ancorada e sobre os vários factores que lhe estão associados, desde o protocolo mais adequado até à qualidade e quantidade do novo tecido ósseo formado, impedem a formulação de conclusões definitivas sobre a sua utilização.

É neste contexto que se situa o trabalho experimental aqui apresentado. Com efeito, o objetivo deste estudo consistiu, para além da apreciação dos efeitos biomecânicos de um novo distrator, numa avaliação *in vivo* do desempenho biológico e potencial regenerativo de dois ritmos diferentes de distração na formação de novo tecido ósseo, tendo por base análises radiográficas, cefalométricas, de absorciometria, histológicas e histomorfométricas.

Para a sua realização, foram utilizados 10 cães machos de raça Beagle, com cerca de 1 ano de idade e pesando entre 15 a 18 kg. Três permaneceram como o grupo de controlo e sete foram submetidos ao protocolo de distração mandibular: foi realizada uma osteotomia entre o terceiro e quarto pré-molar inferior, preservando a continuidade do rolo vâsculo-nervoso alveolar inferior e a integridade da mucosa e perióstio lingual. Após a verificação da mobilidade óssea, procedeu-se à colocação de um distrator por cada hemimandíbula.

Posteriormente à intervenção cirúrgica e após 7 dias de período de latência, foi iniciado o processo de aumento do comprimento mandibular, que se fez diariamente e ininterruptamente durante 10 dias.

Foram aplicados três protocolos experimentais distintos aos animais:

Grupo A: 6 hemimandíbulas não sofreram qualquer intervenção cirúrgica, permanecendo como grupo de controlo.

Grupo B: 7 hemimandíbulas foram submetidas a uma distração múltipla de 0,5 mm de 12 em 12 horas.

Grupo C: 7 hemimandíbulas foram submetidas a uma distração diária única de 1 mm.

Após o período de distração, todos os dispositivos foram devidamente bloqueados, seguindo-se um período de consolidação de 12 semanas.

As imagens radiográficas de todas as hemimandíbulas, revelaram o alongamento pósterio-anterior, com as zonas distraçadas totalmente mineralizadas, evidenciando uma densidade radiográfica típica de um fenómeno de aposição/regeneração óssea, orientada paralelamente ao eixo da distração, sem focos centrais ou periféricos; radiotransparentes e sem desvios axiais dos segmentos ósseos anterior e posterior.

O estudo cefalométrico permitiu verificar que, durante o protocolo de distração, não foram produzidos efeitos quer no ângulo goníaco quer na angulação dos segmentos ósseos distraçados.

Nos resultados da densitometria óssea de dupla energia não se verificaram diferenças estatisticamente significativas, de densidade e conteúdo mineral ósseo, entre o osso neoformado dos grupos submetidos à distração osteogénica e o osso mandibular do grupo de controlo. Também não foram observadas diferenças com significância estatística entre os grupos B e C. Observou-se, no entanto, um menor coeficiente de variação nos valores encontrados nas hemimandíbulas do grupo B em relação às hemimandíbulas do grupo C.

Quanto ao conjunto de imagens provenientes dos cortes histológicos, verificou-se que o espaço de distração se encontra ocupado por uma notável quantidade de trabéculas ósseas que estabelecem íntimas e numerosas ligações entre si, mantendo uma orientação paralela à direção da distração. No entanto, observaram-se restos de matriz cartilaginosa em maior número de casos do grupo C do que nas hemimandíbulas submetidas a um ritmo de distração múltiplo.

Na análise global dos resultados histomorfométricos, verificou-se a inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de teste.

Como conclusões gerais deste estudo experimental é possível afirmar que:

- 1) O alongamento sagital da mandíbula, através de um distrator exclusivamente dento-ancorado, permitiu que o vetor da distração fosse paralelo ao plano oclusal, sem produzir efeitos no ângulo goníaco nem alteração da posição transversal e da angulação dos segmentos ósseos. Assim, permitiu uma correta direção do alongamento, favorecendo a criação de forças de tensão desejáveis ao processo de osteogénese em detrimento das forças de compressão.
- 2) O ritmo de distração influenciou o coeficiente de variação nos grupos submetidos à distração osteogénica, indiciando existir uma relação direta entre o aumento do ritmo de distração e a aceleração no processo de regeneração óssea.

Capítulo IV. Abstract

At present, there is a growing interest in the use of the osteogenesis distraction technique applied to the craniofacial skeleton due to its enormous potential on the treatment of dentofacial deformities. The delayed use of the technique to solve problems in the craniofacial region in relation to orthopaedics can be mainly ascribed to the anatomical characteristics of this region that hinder the application of conventional distraction devices. In fact, craniofacial bone morphology is more complex; skin scars are less tolerable than scars everywhere else in the body and most deformities of the face were resolved by the classical techniques of orthognathic surgery.

Nowadays, orthodontists and maxillofacial surgeons aware that even minor changes in the craniofacial skeleton can cause significant and irreversible changes in the facial structure have sought to incorporate new distraction techniques in their clinical practice. The lower risks and consequences to the patients, associated to the use of these new techniques, allow improvements in quality and predictability of orthodontic and orthognathic surgery treatments.

The success of osteogenesis distraction in the morphofunctional rehabilitation of the craniofacial skeleton deformities in patients of all ages, in association with an excellent risk-benefit ratio, extended it to the treatment of less severe clinical situations as the Class II mandibular hypoplasia, rather than exclusively use it in the treatment of severe craniofacial syndromes.

The clinical and experimental studies reported so far in the literature, mostly about traumatology, orthopaedics, or craniofacial distraction, use external distractors. However, these external distractors have several side effects and risks to the patient: a greater crippling period, scarring of the face, misplacement of the distraction force vector and instability of the fixation distractors.

With the advent of internal distractors, the problems related to the visibility of the devices and scarring disappeared, while other limitations like those associated with bone fixation still remained. In this context, the use of tooth-born distractors has several benefits, e.g., the absence of surgical interventions for the placement or the removal of the device, being the only osteotomy surgery; favourable orientation of the distraction force vector; and increased treatment predictability. However, the low number of experimental studies concerning osteogenesis distraction with tooth-born distractors does not allow the formulation of any definitive conclusion about its use.

Having in mind all the above mentioned considerations, this study aimed to assess *in vivo* the biomechanical effects of a new tooth-born distractor, as well as the biological performance and regenerative potential of two different frequencies of distraction in the formation of new bone. To this end radiographic and cefalometric analyses, absorptiometry, histology and histomorphometry techniques were used to evaluate the treatments outcome.

Ten male Beagle dogs, approximately 1 year old and weighing between 15 and 18 kg, were used. Three remained as the control group and seven underwent a mandibular distraction protocol: an osteotomy, performed between the third and fourth premolar, that preserved the continuity of the inferior alveolar neurovascular bundle and the integrity of the lingual periosteum. Subsequently, after checking bone mobility, a tooth-borne distractor was placed in each hemimandible.

After the surgery and following a latency period of 7 days, each hemimandible length was gradually increased daily and continuously for 10 days.

Three different experimental protocols were applied to the animals:

Group A: 6 hemimandibles did not undergo any surgical intervention, remaining as the control group.

Group B: 7 hemimandibles were subjected to two daily activations of 0.5 mm, with an interval of twelve hours.

Group C: 7 hemimandibles were subjected to single daily distraction of 1 mm.

After the distraction period, all devices were properly blocked, followed by a 12 weeks consolidation period.

The radiographic images revealed the antero-posterior elongation of all the mandibles, showing fully mineralized zones within the distraction areas. The typical radiographic density associated with the apposition/repair phenomenon appeared parallel to the axis of distraction, with no focus, central or peripheral; radiolucent and without axial deviation of the anterior and posterior bone segments.

The cephalometric study showed that the distraction protocol did not produce any effects either in the gonial angle or in the angle formed by both distracted bone segments.

The radiographic, histologic and histomorphometric, as well as dual X-ray absorptiometry analyses of new bone tissue were performed and the data obtained was subsequently subjected to statistical analysis.

The results revealed statistically significant differences between the linear cephalometric variable among the different groups; no statistically significant differences in the cephalometric variable angle between the control group and the test groups.

The radiographic evaluation showed that the longer consolidation period the greater the amount of new bone tissue apposed within the distraction area, even though there were no statistically significant differences in bone mineral content and bone mineral density among groups A, B and C. There were, nevertheless, statistically significant differences between the coefficient of variation in groups B and C.

The histological analysis revealed that distraction areas were occupied by a remarkable amount of trabecular bone, establishing intimate and numerous relations among them, while maintaining a parallel orientation to the direction of distraction. However, there were observed remnants of cartilage tissue, greater in group C than in the mandibles submitted to a multiple frequency of distraction.

As to the histomorphometric results, no statistical significance differences were found between the test groups.

This experimental study most prominent conclusions are:

- 1) The distractors anchored to the teeth and parallel to the occlusal plane allowed the significant increase of the anterior bone segment, without any side effects at the gonial angle level or alteration of the transverse angulation of the bone segments. Therefore, the tooth-borne distractor allowed a correct lengthening direction, the creation of a desirable stress force necessary to the osteogenesis process, instead of an undesirable compression force.
- 2) The frequency of the distraction influenced the coefficient of variation in the groups submitted to osteogenesis distraction protocol, indicating that there was a direct relationship between the increase in the frequency and the acceleration of bone regeneration.

Capítulo V. Bibliografía

- Abbott LC. The operative lengthening of the tibia and fibula. *J Bone Joint Surg.* 1927;9:128-52.
- Adolphson P, Abbaszadegan H, Bodén H, Salemyr M, Henriques T. Clodronate increases mineralization of callus after Colles' fracture: a randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective trial in 32 patients. *Acta Orthop Scand.* 2000;71:195-200.
- Ahn JG, Figueroa AA, Braun S, Polley JW. Biomechanical considerations in distraction of the osteotomized dentomaxillary complex. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;116:264-70.
- Aida T, Yoshioka I, Tominaga K, Fukuda J. Effects of latency period in a rabbit mandibular distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:54-62.
- Aizenbud D, Hazan-Molina H, Emodi O, Rachmiel A. Advancement of the cleft maxilla using distraction osteogenesis-surgical and orthodontic considerations. *Alpha Omegan.* 2011;104:85-96.
- Al Ruhaimi KA. Comparison of different distraction rates in the mandible: an experimental investigation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30:220-7.
- Aldegheri R, Trivella G, Lavini F. Epiphyseal distraction. Chondrodiatasis. *Clin Orthop Relat Res.* 1989;241:117-27.
- Ali MN, Ejiri S, Kobayashi T, Anwar RB, Oda K, Ohshima H, Saito C. Histologic study of the cellular events during rat mandibular distraction osteogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107:325-35.
- Al-Mahdi AH, Al-Jumaily HA. Clinical evaluation of distraction osteogenesis in the treatment of mandibular hypoplasia. *J Craniofac Surg.* 2013;24:50-7.
- Alonso JE, Regazzoni P. Bridging bone gaps with the Ilizarov technique: Biologic principles. *Clin Plast Surg.* 1991;18:497-504.
- Amaral M. Desenvolvimento de um distractor mandibular automático dento-ancorado [Tese Mestrado em Engenharia Biomédica]. Coimbra: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra; 2012.
- Amaral M, Vale F, Silva J, Caramelo F, Veiga G. In vitro Zinc-Air battery evaluation for use in intraoral medical devices. *J Med Devices.* 2014; 20;8(1). doi:10.1115/1.4026450.
- Anderson HC. Mechanism of mineral formation in bone. *Lab Invest.* 1989;60:320-30.
- Ando Y, Matsubara K, Ishikawa J, Fujio M, Shohara R, Hibi H, Ueda M, Yamamoto A. Stem cell-conditioned medium accelerates distraction osteogenesis through multiple regenerative mechanisms. *Bone.* 2014;61:82-90.
- Andrade N, Gandhewar T, Kalra R. Development and evolution of distraction devices: Use of indigenous appliances for Distraction Osteogenesis-An overview. *Ann Maxillofac Surg.* 2011;1:58-65.
- Annino DJ Jr, Goguen LA, Karmody CS. Distraction osteogenesis for reconstruction of mandibular symphyseal defects. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994;120:911-6.
- Aoki A, Kawamoto T, Aoki K, Inokuchi T, Kudoh A, Nagahama K, Baba Y, Suzuki S, Ohya K, Moriyama K. Amount of bone lengthening affects blood flow recovery and bone mineralization after distraction osteogenesis in a canine cleft palate model. *Cleft Palate Craniofac J.* 2010;47:303-13.

- Aronson J, Harrison B, Boyd CM, Cannon DJ, Lubansky HJ. Mechanical induction of osteogenesis: the importance of pin rigidity. *J Pediatr Orthop*. 1988;8:396-401.
- Aronson J, Harrison BH, Stewart CL, Harp JH. The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. *Clin Orthop Relat Res*. 1989a;241:106-16.
- Aronson J, Johnson E, Harp JH. Local bone transportation for treatment of intercalary defects by the Ilizarov technique. Biomechanical and clinical considerations. *Clin Orthop Relat Res*. 1989b;243:71-9.
- Aronson J, Good B, Stewart C, Harrison B, Harp J. Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;250:43-9.
- Aronson J, Harp JH. Mechanical forces as predictors of healing during tibial lengthening by distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 1994;301:73-9.
- Aronson J, Shen X. Experimental healing of distraction osteogenesis comparing metaphyseal with diaphyseal sites. *Clin Orthop Relat Res*. 1994;301:25-30.
- Aronson J. Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 1994;301:124-31.
- Aronson J, Gao GG, Shen XC, McLaren SG, Skinner RA, Badger TM, Lumpkin CK Jr. The effect of aging on distraction osteogenesis in the rat. *J Orthop Res*. 2001;19:421-7.
- Atar D, Lehman WB, Grant AD, Strongwater A, Frankel VH, Posner M, Golyakhovsky V. New method of limb deformities correction in children. *Bull NY Acad Med*. 1992;68:447-69.
- Aykan A, Ozturk S, Sahin I, Gurses S, Ural AU, Oren NC, Isik S. Biomechanical analysis of the effect of mesenchymal stem cells on mandibular distraction osteogenesis. *J Craniofac Surg*. 2013;24:169-75.
- Ayoub AF, Richardson W, Koppel D, Thompson H, Lucas M, Schwarz T, Smith L, Boyd J. Segmental mandibular reconstruction by microincremental automatic distraction osteogenesis: an animal study. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2001;39:356-64.
- Ayoub AF, Richardson W, Barbenel JC. Mandibular elongation by automatic distraction osteogenesis: the first application in humans. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2005;43:324-8.
- Babcock WW. Surgical Treatment of certain deformities of the jaw associated with malocclusion of the teeth. *JAMA*. 1909;53:833-9.
- Baiomy AA, Nassan MA, Abdellatif EM, Abdel Fattah A, El-Fekey AA, Abdel Aal AB. Experimental comparison of the effects of locally administered zoledronic acid and alendronate on the rate of mandibular distraction osteogenesis in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;20:1-8.
- Barton JR. On the treatment of ankylosis by the formation of artificial joints. *N Am Med Surg J*. 1827;3:279-92.
- Basa S, Uner E, Citir M, Aras K. Reconstruction of a large mandibular defect by distraction osteogenesis: a case report. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58:1425-8.
- Bavitz JB, Payne JB, Dunning D, Glenn A, Koka R. Empleo de la osteogenesis por distraccion para incluir nueva fijacion supraosea periodontal en un perro beagle. *Rev Int Odont Rest Perio*. 2000;4:617-23.
- Behnia H, Homayoun S, Qaranizade K, Morad G, Khojasteh A. Multidisciplinary reconstruction of a palatomaxillary defect with nonvascularized fibula bone graft and distraction osteogenesis. *J Craniofac Surg*. 2013;24:186-90.
- Bell WH, Harper RP, Gonzalez M, Cherkashin AM, Samchukov ML. Distraction osteogenesis to widen the mandible. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1997;35:11-9.
- Bell WH, Gonzalez M, Samchukov ML, Guerrero CA. Intraoral widening and lengthening of the mandible in baboons by distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg*. 1999;57:548-62.
- Bell WH, Guerrero CA. Distraction osteogenesis of the facial skeleton. Ontario: BC Decker Inc, 2007.
- Bellows CG, Heersche JN, Aubin JE. Aluminum accelerates osteoblastic differentiation but is cytotoxic in long-term rat calvaria cell cultures. *Calcif Tissue Int*. 1999;65:59-65.
- Bertelè G, Mercanti M, Stella F, Albanese M, De Santis D. Osteodistraction in the craniofacial region. *Minerva Stomatol*. 2005;54:179-98.

- Bhatnagar RS, Qian JJ, Wedrychowska A, Sadeghi M, Wu YM, Smith N. Design of biomimetic habitats for tissue engineering with P-15, a synthetic peptide analogue of collagen. *Tissue Eng* 1999;5:53-65.
- Bilbao-Alonso A, García-Rielo JM, Varela-Centelles P, Seoane J. Lateral transport osteogenesis in maxillofacial oncology patients for rehabilitation with dental implants: a retrospective case series. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18:56-9.
- Birch JG, Samchukov ML. Use of the Ilizarov method to correct lower limb deformities in children and adolescents. *J Am Acad Orthop Surg*. 2004;12:144-54.
- Blair VP. Operations of the jaw bone and face. *Surg Gynecol Obstet*. 1907;4:67.
- Block MS, Daire J, Stover J, Matthews M. Changes in the inferior alveolar nerve following mandibular lengthening in the dog using distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993;51:652-60.
- Block MS, Cervini D, Chang A, Gottsegen GB. Anterior maxillary advancement using tooth-supported distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg*. 1995;53:561-5.
- Blumenthal NM, Alves ME, Al-Huwais S, Hofbauer AM, Koperski RD. Defect-determined regenerative options for treating periodontal intrabony defects in baboons. *J Periodontol*. 2003;74:10-24.
- Bonewald L. Osteocytes as multifunctional cells. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2006;6:331-3.
- Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone*. 2008;42:606-15.
- Bostrom MPG, Yang X, Koutras I. Biologics in bone healing. *Curr Op Orthop*. 2000;11:403-12.
- Bou Assi T, Rahme M, Saghieh S, Bou Raad Azoury N, Abdallah Hajj Hussein I, Leone A, Jurjus A. Effect of autologous platelet-rich plasma on distraction osteogenesis in the mandible of rabbits: a morphologic and morphometric approach. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2013;27:177-87.
- Bouchard C, Troulis MJ, Kaban LB. Management of obstructive sleep apnea: role of distraction osteogenesis. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2009;21:459-75.
- Braumann B, Niederhagen B, Schmolke C. Mandibular distraction osteogenesis. Preliminary results of an animal study with a dentally fixed distraction device. *J Orofac Orthop*. 1997;58:298-305.
- Brevi BC, Toma L, Magri AS, Sesenna E. Use of the mandibular distraction technique to treat obstructive sleep apnea syndrome. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69:566-71.
- Broome M, Herzog G, Hohlfeld J, de Buys Roessingh A, Jaques B. Influence of the primary cleft palate closure on the future need for orthognathic surgery in unilateral cleft lip and palate patients. *J Craniofac Surg*. 2010;21:1615-8.
- Brunner UH, Cordey J, Schweiberer L, Perren SM. Force required for bone segment transport in the treatment of large bone defects using medullary nail fixation. *Clin Orthop Relat Res*. 1994;301:147-55.
- Brutscher R, Rahn BA, Rüter A, Perren SM. The role of corticotomy and osteotomy in the treatment of bone defects using the Ilizarov technique. *J Orthop Trauma*. 1993;7:261-9.
- Buck DW, Dumanian GA. Bone biology and physiology: Part I. The fundamentals. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129:1314-20.
- Bundgaard KG, Christensen KS. Tibial bone loss and soft-tissue defect treated simultaneously with Ilizarov-technique: a case report. *Acta Orthop Scand*. 2000;71:534-6.
- Cai M, Shen G, Wang X, Fang B. Intracranial fixation pin migration: a complication of external Le Fort III distraction osteogenesis in Apert syndrome. *J Craniofac Surg*. 2010;21:1557-9.
- Cai M, Lu X, Shen G, Wang X and Cheng AH. Customized bifocal and trifocal transport distraction osteogenesis device for extensive mandibular reconstruction. *J Craniofac Surg*. 2011;22:562-5.
- Calhoun JH, Li F, Bauford WL, Lehman T, Ledbetter BR, Lowery R. Rigidity of half-pins for the Ilizarov external fixator. *Bull Hosp Jt Dis*. 1992;52:21-6.
- Campbell JT, Kaplan FS. The role of morphogens in endochondral ossification. *Calcif Tissue Int*. 1992;50:283-9.
- Capote-Moreno AL, Naval-Gías L, Muñoz-Guerra MF, Rodríguez-Campo FJ. Zygomatic distraction osteogenesis for correction of midfacial support after hemimaxillectomy: experience and technical considerations. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;71:189-97.

- Carls FR, Sailer HF. Seven years clinical experience with mandibular distraction in children. *J Craniomaxillofac Surg.* 1998;26:197–208.
- Carter DR, Beaupré GS, Giori NJ, Helms JA. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin Orthop Relat Res.* 1998;355:S41-55.
- Carvalho RS, Einhorn TA, Lehmann W, Edgar C, Al-Yamani A, Apazidis A, Pacicca D, Clemens TL, Gerstenfeld LC. The role of angiogenesis in a murine tibial model of distraction osteogenesis. *Bone.* 2004;34:849–61.
- Castano FJ, Troulis MJ, Glowacki J, Kaban LB, Yates KE. Proliferation of masseter myocytes after distraction osteogenesis of the porcine mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:302-7.
- Catagni MA, Guerreschi F, Holman JA, Cattaneo R. Distraction osteogenesis in the treatment of stiff hypertrophic nonunions using the Ilizarov apparatus. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;301:159–63.
- Cech O. Prof. Ilizarov and his contribution to the challenge of limb lengthening. *Injury.* 1993;24:2-8.
- Chanchareonsook N, Whitehill TL, Samman N. Speech outcome and velopharyngeal function in cleft palate: comparison of Le Fort I maxillary osteotomy and distraction osteogenesis: early results. *Cleft Palate Craniofac J.* 2007;44:23-32.
- Chang-Woo-Lee, K. Sathiyarayanan, Seung Wook Eom, Hyun Soo Kim, Mun Soo Yun. Effect of additives on the electrochemical behaviour of zinc anodes for zinc/air fuel cells. *J Power Sources.* 2006;160:161-4.
- Cheng JC, Maffulli N, Sher A, Ng BK, Ng E. Bone mineralization gradient at the callotasis site. *J Orthop Sci.* 2002;7:331-40.
- Cheung LK, Zhang Q, Zhang ZG, Wong MC. Reconstruction of maxillectomy defect by transport distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:515–22.
- Cheung LK, Chua HD. A meta-analysis of cleft maxillary osteotomy and distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35:14-24.
- Cheung LK, Zheng LW, Ma L. Effect of distraction rates on expression of bone morphogenetic proteins in rabbit mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2006;34:263-9.
- Chiapasco M, Romeo E, Vogel G. Vertical distraction osteogenesis of edentulous ridges for improvement of oral implant positioning: a clinical report of preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:43-51.
- Chiapasco M, Zaniboni M, Rimondini. Autogenous onlay bone grafts vs. alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 2-4-year prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:432-40.
- Chieffi S, Ricci M, Carlomagno S. Influence of visual distractors on movement trajectory. *Cortex.* 2001;37:389-405.
- Chin M, Toth BA. Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery using internal devices. Review of five cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54:45-53.
- Chin M, Toth BA. LeFort III advancement with gradual distraction using internal devices. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100:819-30.
- Cho BC, Lee JH, Balk BS, Liou EJ, Figueroa AA, Cohen M. Distraction osteogenesis of free interpositional membranous bone: experimental design. *J Craniofac Surg.* 1999;10:123-7.
- Cho BC, Seo MS, Baik BS. Distraction osteogenesis after membranous bone onlay grafting in a dog model. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:1025-33.
- Choi JW, Ra YS, Hong SH, Kim H, Shin HW, Chung IW, Kim TG, Park SH, Koh KS. Use of distraction osteogenesis to change endocranial morphology in unilateral coronal craniosynostosis patients. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126:995-1004.
- Choi SH, Kang DY, Hwang CJ. Adult patient with hemifacial microsomia treated with combined orthodontics and distraction osteogenesis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2014;145:72-84.
- Chopra S, Enepekides DJ. The role of distraction osteogenesis in mandibular reconstruction. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;15:197–201.
- Chung MD, Rivera RD, Feinberg SE, Sastry AM. An implantable battery system for a continuous automatic distraction device for mandibular distraction osteogenesis. *J Med Device.* 2010;4:1-6.
- Chung YW, Tae KC. Dental stability and radiographic healing patterns after mandibular symphysis widening with distraction osteogenesis. *Eur J Orthod.* 2007;29:256-62.
- Claes LE, Cunningham JL. Monitoring the mechanical properties of healing bone. *Clin Orthop Relat Res.* 2009;467:1964–71.
- Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:S131-9.

- Clayman MA, Murad GJ, Steele MH, Seagle MB, Pincus DW. History of craniostylosis surgery and the evolution of minimally invasive endoscopic techniques: the University of Florida experience. *Ann Plast Surg.* 2007;58:285-7.
- Codivilla A. On the means of lengthening in the lower limbs, the muscles, and tissues which are shortened through deformity. *Am J Orthop Surg* 1905;2: 353-69.
- Cohen SR, Rutrick RE, Burstein FD. Distraction osteogenesis of the human craniofacial skeleton: initial experience with new distraction system. *J Craniofac Surg.* 1995;6:368-74.
- Cohen SR, Holmes RE, Amis P, Fichtner H. Internal craniofacial distraction with biodegradable devices: early stabilization and protected bone regeneration. *J Craniofac Surg.* 2000;11:354-66. Erratum in: *J Craniofac Surg* 2000;11(5):510.
- Cohen SR, Holmes RE, Machado L, Magit A. Surgical strategies in the treatment of complex obstructive sleep apnea in children. *Paediatr Respir Rev.* 2002;3:25-35.
- Conley R, Legan H. Mandibular symphyseal distraction osteogenesis: diagnosis and treatment planning considerations. *Angle Orthod.* 2003;73:3-11.
- Conley RS, Krug AY. Mandibular distraction osteogenesis with a new ratchet screw. *J Clin Orthod.* 2006;40:219-23.
- Converse JM, Waknitz FW. External skeletal fixation in fractures of the mandibular angle. *J Bone Joint Surg Am.* 1942;24:154-60.
- Converse JM, Horowitz S. The surgical-orthodontic approach to the treatment of dentofacial deformities. *Am J Orthod.* 1969;55:217-43.
- Cope JB, Samchukov ML, Cherkashin AM. Mandibular distraction osteogenesis: a historic perspective and future directions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;115:448-60.
- Cope JB, Samchukov ML. Regenerate bone formation and remodeling during mandibular osteodistraction. *Angle Orthod.* 2000;70:99-111.
- Cope JB, Yamashita J, Healy S, Dechow PC, Harper RP. Force level and strain patterns during bilateral mandibular osteodistraction. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58:171-8.
- Cope JB, Samchukov ML, Muirhead DE. Distraction osteogenesis and histogenesis in beagle dogs: the effect of gradual mandibular osteodistraction on bone and gingiva. *J Periodontol.* 2002;73:271-82.
- Copray JC, Jansen HW, Duterloo HS. An in-vitro system for studying the effect of variable compressive forces on the mandibular condylar cartilage of the rat. *Arch Oral Biol.* 1985;30: 305-11.
- Corcoran J, Hubli EH, Salyer KE. Distraction osteogenesis of costochondral neo-mandibles: a clinical experience. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100:311-5.
- Cordey J, Grütter R, Johner R. The mechanical strength of bones in torsion application to human tibiae. *Injury.* 2000;31:C68-71.
- Costantino PD, Shybut G, Friedman CD, Pelzer HJ, Masini M, Shindo ML, Sisson GA. Segmental mandibular regeneration by distraction osteogenesis. An experimental study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1990;116:535-45.
- Costantino PD, Johnson CS, Friedman CD, Sisson GA Sr. Bone regeneration within a human segmental mandible defect: a preliminary report. *Am J Otolaryngol.* 1995;16:56-65.
- Crawford MJ. Selection of appliances for typical facial fractures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1948;1:442-51.
- Crenshaw AH. *Campbell's Operative Orthopaedics.* 8th ed. St. Louis: Mosby; 1992.
- Cuvilliez A. Etude histologique de l'ostéogenèse d'un cal d'allongement lors de l'utilisation d'une technique d'enclouage centromédullaire versus fixateur externe chez la brebis [Thèse de Doctorat vétérinaire]. Lyon: École nationale vétérinaire de Lyon; 1998.
- Dahl MT, Gulli B, Berg T. Complications of limb lengthening. A learning curve. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;301:10-8.
- De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Trivella G. Limb lengthening by distraction of the epiphyseal plate. A comparison of two techniques in rabbit. *J Bone Joint Surg Br.* 1986;68:545-9.
- De Deyne PG, Meyer R, Paley D, Herzenberg JE. The adaptation of perimuscular connective tissue during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;379:259-69.
- De Pablos J Jr, Canadell J. Experimental physal distraction in immature sheep. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:73-80.
- Dean A, Alamillos F. Mandibular distraction in temporomandibular joint ankylosis. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104:2021-31.

- DeCoster TA, Simpson AH, Wood M, Li G, Kenwright J. Biologic model of bone transport distraction osteogenesis and vascular response. *J Orthop Res.* 1999;17:238–45.
- Delloye C, Delefortrie G, Coutelier L, Vincent A. Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening. An experimental study. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:34–42.
- Deng ZL, Sharff KA, Tang N, Song WX, Luo J, Luo X, Chen J, Bennett E, Reid R, Manning D, Xue A, Montag AG, Luu HH, Haydon RC, He TC. Regulation of osteogenic differentiation during skeletal development. *Front Biosci.* 2008;13:2001-21.
- Deshpande SS, Monson LA, Cavaliere CM, Ayzengart AL, Buchman SR. Distraction osteogenesis following low-dose hyperfractionated irradiation in the rat mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1465-70.
- Dessner S, Razdolsky Y, El-Bialy T, Evans CA. Mandibular lengthening using preprogrammed intraoral tooth-borne distraction devices. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57:1318-22;
- Dheeraj K, Rastogi N, Singh M. Modern practice in orthognathic and reconstructive surgery – Craniofacial distraction osteogenesis. *J Public Health Epidemiol.* 2011;3: 129-37.
- Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury.* 2005;36:1392–404.
- Diner PA, Kollar EM, Martinez H, Mazquez MP. Intraoral distraction for mandibular lengthening: a technical innovation. *J Craniomaxillofac Surg.* 1996; 24:92-5.
- Diner PA, Kollar EM, Vazquez MP. [Mandibular distraction]. *Ann Chir Plast Esthet.* 1997;42:547–55.
- Ding Y, Li G, Zhang X, Ao J, Liu W, Ma Q, Liu Y, Liu B. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on bone formation during mandible distraction osteogenesis in a canine model--a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:2431-9.
- Dinu C, Kretschmer W, Băciuț M, Rotaru H, Bolboacă SD, Gheban D, Muste A, Cătoi C, Peștean C, Băciuț G. The effect of distraction rate on bone histological and histomorphometrical properties in an ovine mandible model. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52:819-25.
- Djasim UM, Wolvius EB, van Neck JW, Weinans H, van der Wal KG. Recommendations for optimal distraction protocols for various animal models on the basis of a systematic review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36:877-83.
- Do Vale F, Cabrita S, Abreu JLM. Effects of rhythm of distraction osteogenesis on sagittal mandibular lengthening. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2013a;54:124-30.
- Do Vale F, Barroso R. Orthodontic-surgical protocol in the treatment of class III dental-facial deformities - report of a clinical case. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2013b;54:95-102.
- Do Vale F, Cabrita S, Caramelo F, Amaral M, Viegas C, Abreu JLM. Mandibular plane orientation after tooth- supported distraction osteogenesis: An experimental study in dog. *Rev Port Estomatol Med Dentária e Cir Maxilofac.* 2014;55:23–8.
- Doblare M, Garcia JM. Anisotropic bone remodelling model based on a continuum damage-repair theory. *J Biomech.* 2002;35:1-17.
- Doblare M, García JM, Gómez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics.* 2004;71:1809-40.
- Doucet JC, Herlin C, Bigorre M, Bäumlér C, Subsol G, Captier G. Effects of growth on maxillary distraction osteogenesis in cleft lip and palate. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013;41:836-41.
- Lindsay LR, Douglass JB, Nakeeb S, Smith PJ, Al Rubaiya A. Intraoral distraction osteogenesis in the baboon mandible using a tooth and bone-anchored appliance. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58:49-54; discussion 55.
- Dunning D. Basic mammalian bone anatomy and healing. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2002;5:115-28.
- Dzhorov A, Dzhorova I. [Maxillofacial surgery and distraction osteogenesis--history, present, perspective]. *Khirurgiia (Sofia).* 2003;59:30-5.
- El-Bialy TH, Royston TJ, Sakata A, Magin RL. Vibratory coherence as an alternative to radiography in assessing bone healing after osteodistraction. *Ann Biomed Eng.* 2002;30:226-31
- Eldridge JC, Bell DF. Problems with substantial limb lengthening. *Orthop Clin North Am.* 1991; 22:625-31.
- Eley KA, Witherow H, Hayward R, Evans R, Young K, Clark A, Dunaway D. The evaluation of bony union after frontofacial distraction. *J Craniofac Surg.* 2009;20:275-8.

- Elkins AD, Morandi M, Zembo M. Distraction osteogenesis in the dog using the ilizarov external ring fixator. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1993;29:419-26
- Elsalanty ME, Zakhary I, Akeel S, Benson B, Mulone T, Triplett GR, Opperman LA. Reconstruction of canine mandibular bone defects using a bone transport reconstruction plate. *Ann Plast Surg.* 2009;63:441-8.
- Eralp L, Kocaoğlu M, Ozkan K, Türker M. A comparison of two osteotomy techniques for tibial lengthening. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2004;124:298-300.
- Erikson EP, Axelrod DW, Melson F. Bone histomorphometry. New York: Ravan Press; 1994
- Faloni APS. Morte celular de osteoclastos do osso alveolar de ratas tratadas com estrógeno. Tese de Mestrado em Ciências. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2006.
- Farhadieh RD, Gianoutsos MP, Dickinson R, Walsh WR. Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105:889-95.
- Fauchard P. *Le Chirurgien Dentiste, ou Traité des Dents.* Mariette PJ et Fauchard P éditeurs 2ème ed. Paris, 1746. (Fac-símile).
- Fawcett DW, Jensch RP. Bloom & Fawcett's Concise Histology. London: Arnold publishers; 2002.
- Feng X, Tuo X, Chen F, Wu W, Ding Y, Duan Y, Lin Z. Ultrastructural cell response to tension stress during mandibular distraction osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008;46:527-32.
- Ferguson C, Alpern E, Miclau T, Helms JA. Does adult fracture repair recapitulate embryonic skeletal formation? *Mech Dev.* 1999;87:57-66.
- Figueroa AA, Polley JW, Ko EW. Maxillary distraction for the management of cleft maxillary hypoplasia with a rigid external distraction system. *Semin Orthod.* 1999;5:46-51.
- Figueroa AA, Polley JW, Figueroa AD. Biomechanical considerations for distraction of the monobloc, Le Fort III, and Le Fort I segments. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126:1005-13.
- Fink B, Neuen-Jacob E, Lehmann J, Francke A, Rütger W. Changes in canine peripheral nerves during experimental callus distraction. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;376:252-67.
- Fisher E, Staffenberg DA, McCarthy JG, Miller DC, Zeng J. Histopathologic and biochemical changes in the muscles affected by distraction osteogenesis of the mandible. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99:366-71.
- Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I. A heparin-binding angiogenic protein-basic fibroblast growth factor-is stored within basement membrane. *Am J Pathol.* 1988;130:393-400.
- Franco JE, Van Sickels JE, Thrash WJ. Factors contributing to relapse in rigidly fixed mandibular setbacks. *J Oral Maxillofac Surg.* 1989;47:451-6.
- Franco J, Coppage J, Carstens MH. Mandibular distraction using bone morphogenic protein and rapid distraction in neonates with Pierre Robin syndrome. *J Craniofac Surg.* 2010;21:1158-61.
- Frankel VH, Burstein AH. *Orthopaedic Biomechanics.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1970.
- Frankel VH, Gold G, Golyakhovsky V. The Ilizarov technique. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst.* 1988;48:17-27.
- Freddo AL, Hübler R, de Castro-Beck CA, Heitz C, de Oliveira MG. A preliminary study of hardness and modulus of elasticity in sheep mandibles submitted to distraction osteogenesis and low-level laser therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17:102-7.
- Frierson M, Ibrahim K, Boles M, Boté H, Ganey T. Distraction osteogenesis. A comparison of corticotomy techniques. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;301:19-24.
- Fritz MA, Sidman JD. Distraction osteogenesis of the mandible. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;12:513-8.
- Fröhlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobnic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2008;3:254-64.
- Frost HM. From Wolff's law to the Utah paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. *Anat Rec.* 2001;262:398-419.
- Gabbay JS, Heller JB, Song YY, Wasson KL, Harrington H, Bradley JP. Temporomandibular joint bony ankylosis: comparison of treatment with transport distraction osteogenesis or the matthews device arthroplasty. *J Craniofac Surg.* 2006;17:516-22.

- Gaggl A, Schultes G, Regauer S, Kärcher H. Healing process after alveolar ridge distraction in sheep. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;90:420-9.
- Ganey TM, Klotch DW, Sasse J, Ogden JA, Garcia T. Basement membrane of blood vessels during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;301:132-8.
- Gantous A, Phillips JH, Catton P, Holmberg D. Distraction osteogenesis in the irradiated canine mandible. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93:164-8.
- Gao F, Yang M, Zhao Z, Sun X, Yin N, Wang Y, Song T, Li H, Wu D, Yin J, Cao Y, Tong H. Advancement of maxillary anterior segment by distraction osteogenesis for severe maxillary retrusion in cleft lip and palate. *Chin Med J.* 2014;127:500-5.
- Garant PR. *Oral Cells and Tissues.* 1st ed. Quintessence Publishing; 2003.
- Gasparini G, Di Rocco C, Tamburrini G, Pelo S. External craniofacial osteodistraction in complex craniosynostoses. *Childs Nerv Syst.* 2012;28:1565-70.
- Gateño J, Teichgraber JF, Aguilar E. Computer planning for distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105:873-82.
- Gay CV, Gilman VR, Sugiyama T. Perspectives on osteoblast and osteoclast function. *Poult Sci.* 2000;79:1005-8.
- Geddes AC. The Origin of the Osteoblast and of the Osteoclast. *J Anat Physiol.* 1913;47: 159-176.
- Genecov DG, Barceló CR, Steinberg D, Trone T, Sperry E. Clinical experience with the application of distraction osteogenesis for airway obstruction. *J Craniofac Surg.* 2009;20:1817-21.
- George LT, Barber HD, Smith BM. Maxillomandibular advancement surgery: an alternative treatment option for obstructive sleep apnea. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2007;15:163-77.
- Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury.* 2007;38:S3-6.
- Giannoudis PV, Einhorn TA, Schmidmaier G, Marsh D. The diamond concept--open questions. *Injury.* 2008;39:S5-8.
- Glowacki J, Shusterman EM, Troulis M, Holmes R, Perrott D, Kaban LB. Distraction osteogenesis of the porcine mandible: histomorphometric evaluation of bone. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113:566-573.
- Goldstein JA, Paliga JT, Wink JD, Low DW, Bartlett SP, Taylor JA. A craniometric analysis of posterior cranial vault distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:1367-75.
- Goldwasser BR, Papadaki ME, Kaban LB, Troulis MJ. Automated continuous mandibular distraction osteogenesis: review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:407-16.
- Goldwasser BR, Magill J, Papadaki ME, Byl M, Kromann R, Yates B, Morency J, Kaban LB, Troulis MJ. Continuous mandibular distraction osteogenesis: novel device and preliminary results in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:168-77.
- Golyakhovsky V, Ilizarov GA. "The magician from Kurgan". *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst.* 1988;48:12-6.
- Gonçalves C, Bairos V. *Histologia Texto e Imagens - Histologia Histogénese Organogénese.* 2 ed. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra; 2006.
- Gonzalez M, Bell WH, Guerrero CA, Buschang PH, Samchukov ML. Positional changes and stability of bone segments during simultaneous bilateral mandibular lengthening and widening by distraction. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2001;39:169-78.
- González-García R, Rubio-Bueno P, Naval-Gías L, Rodríguez-Campo FJ, Escorial-Hernández V, Martos PL, Muñoz-Guerra MF, Sastre-Pérez J, Gil-Diez Usandizaga JL, Diaz-González FJ. Internal distraction osteogenesis in mandibular reconstruction: clinical experience in 10 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:563-75.
- Grant AD, Atar D, Lehman WB. Pin care using the Ilizarov apparatus: recommended treatment plan in Kurgan, Russia. *Bull Hosp Jt Dis.* 1992;52:18-20.
- Guarniero R, Barros Júnior TE. Femoral lengthening by the Wagner method. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:154-9.
- Guerra F. *Biomimética - Formulações haptotáticas para aplicação em regeneração óssea.* Tese de Douturamento. Coimbra: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2003.
- Guerrero C. Expansion mandibular quirúrgica. *Rev Venez Ortod.* 1990;7:48-50.
- Guerrero C, Bell WH, Flores A, Modugno VL, Contasti G, Rodriguez AM, Leddy M. Distracción osteogénica mandibular intraoral. *Odontol día.* 1995;11:116-32.

- Guerrero C. Intraoral distraction osteogenesis to widen or lengthen the jaws using the Guerrero-Bell distractor. In: International Congress on Cranial and Facial Bone Distraction Processes. Paris, France. 1997; 53.
- Guerrero CA, Bell WH, Contasti GI, Rodríguez AM. Mandibular widening by intraoral distraction osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997;35:383-92.
- Guerrero CA, Bell WH, Contasti GI, Rodríguez AM. Intraoral mandibular distraction osteogenesis. *Semin Orthod.* 1999;5:35-40.
- Guimarães-Ferreira J, Miguéns J, Lauritzen C. Advances in craniosynostosis research and management. *Adv Tech Stand Neurosurg.* 2004;29:23-83.
- Gürsoy S, Hukki J, Hurmerinta K. Five year follow-up of mandibular distraction osteogenesis on the dentofacial structures of syndromic children. *Orthod Craniofac Res.* 2008;11:57-64.
- Gürsoy S, Hukki J, Hurmerinta K. Five-year follow-up of maxillary distraction osteogenesis on the dentofacial structures of children with cleft lip and palate. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68:744-50.
- Guyette TW, Polley JW, Figueroa AA, Cohen MN. Mandibular distraction osteogenesis: effects on articulation and velopharyngeal function. *J Craniofac Surg.* 1996;7:186-91.
- Habal MB. New bone formation by biological rhythmic distraction. *J Craniofac Surg.* 1994;5:344-7.
- Hagiwara T, Bell WH. Effect of electrical stimulation on mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2000;28:12-9.
- Hamada Y, Kondoh T, Ogawa T, Nakajima T, Sekiya H, Seto K. Backward distraction osteogenesis of condylar segment in patient with mandibular ramus deficiency: report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98:28-31.
- Harper RP, Bell WH, Hinton RJ, Browne R, Cherkashin AM, Samchukov ML. Reactive changes in the temporomandibular joint after mandibular midline osteodistraction. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997;35:20-5.
- Hasse AR, Pörksen M, and Zimmermann CE. Bilateral mandibular distraction in adult dogs with an epiperiosteal distractor. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2005;43:105-12.
- Havlik RJ, Bartlett SP. Mandibular distraction lengthening in the severely hypoplastic mandible: a problematic case with tongue aplasia. *J Craniofac Surg.* 1994;5:305-10.
- Hawkinson RT. Retrognathia correction by means of an arcing osteotomy in the ascending ramus. *J Prosthet Dent.* 1968;20:77-86.
- Hayden RE, Mullin DP, Patel AK. Reconstruction of the segmental mandibular defect: current state of the art. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;20:231-6.
- Haynes HH. Treating fractures by skeletal fixation of the individual bone. *South Med J.* 1939;32:720-4.
- Hazra S, Song HR, Biswal S, Lee SH, Lee SH, Jang KM, Modi HN. Quantitative assessment of mineralization in distraction osteogenesis. *Skeletal Radiol.* 2008;37:843-7.
- Heppenstall RB. Fracture healing. Philadelphia: Saunders; 1980.
- Herford AS. Use of a plate-guided distraction device for transport distraction osteogenesis of the mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62:12-20.
- Hibi H, Ueda M. New internal transport distraction device for reconstructing segmental defects of the mandible. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2006;44:382-5.
- Hirao M, Tamai N, Tsumaki N, Yoshikawa H, Myoui A. Oxygen tension regulates chondrocyte differentiation and function during endochondral ossification. *J Biol Chem.* 2006 13;281:31079-92.
- Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol.* 2002;28:290-4.
- Hollier LH, Kim JH, Grayson B, McCarthy JG. Mandibular growth after distraction in patients under 48 months of age. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:1361-70.
- Hollier LH Jr, Higuera S, Stal S, Taylor TD. Distraction rate and latency: factors in the outcome of pediatric mandibular distraction. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:2333-6.

- Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg.* 1990;1:60-8.
- Hollinger JO, Buck DC, Bruder SP. Biology of bone healing: its impact on clinical therapy. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE editors. *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics.* Illinois: Quintessence; 1999.
- Hollis BJ, Block MS, Gardiner D, Chang A. An experimental study of mandibular arch widening in the dog using distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:330-8.
- Hong P, Bezuhly M. Mandibular distraction osteogenesis in the micrognathic neonate: a review for neonatologists and pediatricians. *Pediatr Neonatol.* 2013;54:153-60.
- Hönig JF, Grohmann UA, Merten HA. Facial bone distraction osteogenesis for correction of malocclusion: a more than 70-year-old concept in craniofacial surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109:41-4.
- Hu J, Tang Z, Wang D, and Buckley MJ. Changes in the inferior alveolar nerve after mandibular lengthening with different rates of distraction. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:1041-45.
- Huang CS, Ko WC, Lin WY, Liou EJ, Hong KF, Chen YR. Mandibular lengthening by distraction osteogenesis in children - a one-year follow-up study. *Cleft Palate Craniofac J.* 1999;36:269-74.
- Hullihen SP. Case of elongation of the under jaw and distortion of the face and neck, caused by a burn, successfully treated. *Am J Dent Sci.* 1849;9:157-65.
- Hurmerinta K, Hukki J. Vector control in lower jaw distraction osteogenesis using an extra-oral multidirectional device. *J Craniomaxillofac Surg.* 2001;29:263-70.
- Hurmerinta K, Peltomäki T, Hukki J. Unexpected events during mandibular distraction osteogenesis. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2004;38:209-14.
- Iatrou I, Theologie-Lygidakis N, Schoinohoriti O. Mandibular distraction osteogenesis for severe airway obstruction in Robin Sequence. Case report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2010;38:431-5.
- Ichimura S, Hasegawa M. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. Changes in bone turnover markers during fracture healing. *Clin Calcium.* 2009;19:1102-8.
- Idelsohn S, Peña J, Lacroix D, Planell JA, Gil FJ, Arcas A. Continuous mandibular distraction osteogenesis using superelastic shape memory alloy (SMA). *J Mater Sci Mater Med.* 2004;15:541-6.
- Ilizarov GA, Soybelman LM. Some clinical and experimental data concerning lengthening of lower extremities. *Eksp Khir Anesteziol.* 1969;14:27-32.
- Ilizarov GA, Khelimskii AM, Helimskii AM, Barabash AP. Relationship of the course of reparative osteogenesis in experimental elongating arthrodesis of the knee joint to the time of the start of distraction. *Ortop Travmatol Protez.* 1977;2:23-8.
- Ilizarov GA. The possibilities offered by our method for lengthening various segments in upper and lower limbs. *Basic Life Sci.* 1988a;48:323-4.
- Ilizarov GA. The principles of the Ilizarov method. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst.* 1988b;48:1-11.
- Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop Relat Res.* 1989a;238:249-81.
- Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop Relat Res.* 1989b;239:263-85.
- Ilizarov GA. Clinical application of the tension-stress effect for limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:8-26.
- Imola MJ, Tatum SA. Craniofacial distraction osteogenesis. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2002;10:287-301.
- Ippolito E, Peretti G, Bellocci M, Farsetti P, Tudisco C, Caterini R, De Martino C. Histology and ultrastructure of arteries, veins, and peripheral nerves during limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;54-62.
- Isaksson H, Comas O, van Donkelaar CC, Mediavilla J, Wilson W, Huijkes R, Ito K. Bone regeneration during distraction osteogenesis: mechano-regulation by shear strain and fluid velocity. *J Biomech.* 2007;40:2002-11.
- Isomura ET, Shogen Y, Hamaguchi M, Harada T, Tanaka N, Kogo M. Inferior alveolar nerve regeneration after bifocal distraction osteogenesis in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1810.e1-11.

- Jacobsen HC, Sieg P, Hakim SG. Combined internal and external distraction of the midface for the treatment of Crouzon syndrome and critical obstructive sleep apnea: a case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:2004-9.
- Jazrawi LM, Majeska RJ, Klein ML, Kagel E, Stromberg L, Einhorn TA. Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *J Orthop Trauma.* 1998;12:111-6.
- Jönsson B, Siemssen SJ. Arced segmental mandibular regeneration by distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101:1925-30.
- Judas F, Palma P, Falacho RI, Figueiredo H. Estrutura e dinâmica do osso. Coimbra: Clínica Universitária de Ortopedia, HUC; 2011.
- Juenger TH, Klingmueller V, Howaldt HP. Application of ultrasound in callus distraction of the hypoplastic mandible: an additional method for the follow-up. *J Craniomaxillofac Surg.* 1999;27:160-7.
- Junqueira LCCJ. Tecido ósseo. In: Koogan G, editor. *Histologia Básica.* 11ª edição; 2008. p. 108-26.
- Kaban LB, Thurmuller P, Troulis MJ, Glowacki J, Wahl D, Linke B, Rahn B, Perrott DH. Correlation of biomechanical stiffness with plain radiographic and ultrasound data in an experimental mandibular distraction wound. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:296-304.
- Kanno T, Takahashi T, Ariyoshi W, Tsujisawa T, Haga M, Nishihara T. Tensile mechanical strain up-regulates Runx2 and osteogenic factor expression in human periosteal cells: implications for distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:499-504.
- Kapadia SM, Golinko MS, Williams JK. Facial nerve paralysis and frey syndrome in an infant following removal of an internal mandibular distraction device. *J Craniofac Surg.* 2013;24:961-3.
- Karaharju-Suvanto T, Karaharju EO, Ranta R. Mandibular distraction. An experimental study on sheep. *J Craniomaxillofac Surg.* 1990;18:280-3.
- Karas ND, Boyd SB, Sinn DP. Recovery of neurosensory function following orthognathic surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990;48:124-34.
- Karp NS, Thorne CH, McCarthy JG, Sissons HA. Bone lengthening in the craniofacial skeleton. *Ann Plast Surg.* 1990;24:231-7.
- Karp NS, McCarthy JG, Schreiber JS, Sissons HA, Thorne CH. Membranous bone lengthening: a serial histological study. *Ann Plast Surg.* 1992;29:2-7.
- Karun V, Agarwal N, Singh V. Distraction osteogenesis for correction of mandibular abnormalities. *Natl J Maxillofac Surg.* 2013;4:206-13.
- Kassis B, Glorion C, Tabib W, Blanchard O, Pouliquen JC. Callus response to micromovement after elongation in the rabbit. *J Pediatr Orthop.* 1996;16:480-3.
- Katchburian E, Arana V. Conceitos de Biomineralização. In: Katchburian E, Arrana V editors. *Histologia e Embriologia Oral, Texto-Atlas-Correlações Clínicas.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA; 2004.
- Kazanjian VH. The interrelationship of dentistry and surgery in the treatment of deformities of the face and jaws. *Am J Orthod Oral Surg.* 1941;27:10-30.
- Kenwright J, White SH. A historical review of limb lengthening and bone transport. *Injury.* 1993;24:S9-19.
- Kessler P, Wiltfang J, Neukam FW. A new distraction device to compare continuous and discontinuous bone distraction in mini-pigs: a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2000;28:5-11.
- Kessler PA, Merten HA, Neukam FW, Wiltfang J. The effects of magnitude and frequency of distraction forces on tissue regeneration in distraction osteogenesis of the mandible. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109:171-80.
- Kierszenbaum AL. *Histologia e Biologia Celular.* In: Kierszenbaum AL editor. Tradução da 2ª Edição ed. Mosby-Elsevier; 2008. p. 136-59.
- Kilic E, Alkan A, Demetoglu U, Ozturk M. Evaluation of the effects of guided bone regeneration and periosteum on newly formed bone in a distraction gap. *J Craniofac Surg.* 2011;22:1871-4.
- King GJ, Liu ZJ, Wang LL, Chiu IY, Whelan MF, Huang GJ. Effect of distraction rate and consolidation period on bone density following mandibular osteodistraction in rats. *Arch Oral Biol.* 2003;48:299-308.
- Kirsch T, Wang W, Pfander D. Functional differences between growth plate apoptotic bodies and matrix vesicles. *J Bone Miner Res.* 2003;18:1872-81.

- Klein C, Howaldt HP. Lengthening of the hypoplastic mandible by gradual distraction in childhood--a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg.* 1995;23:68-74.
- Klein C, Howaldt HP. Correction of mandibular hypoplasia by means of bidirectional callus distraction. *J Craniofac Surg.* 1996;7:258-66.
- Klein-Nulend J, Bacabac RG, Mullender MG. Mechanobiology of bone tissue. *Pathol Biol (Paris).* 2005;53:576-80.
- Klotch DW, Ganey TM, Slater-Haase A, Sasse J. Assessment of bone formation during osteoneogenesis: a canine model. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995;112:291-302.
- Klug CN, Millesi-Schobel GA, Millesi W, Watzinger F, Ewers R. Preprosthetic vertical distraction osteogenesis of the mandible using an L-shaped osteotomy and titanium membranes for guided bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:1302-8.
- Ko EW, Figueroa AA, Guyette TV, Polley JW, Law WR. Velopharyngeal changes after maxillary advancement in cleft patients with distraction osteogenesis using a rigid external distraction device: a 1-year cephalometric follow-up. *J Craniofac Surg.* 1999;10:312-20.
- Ko EW, Hung KF, Huang CS, Chen PK. Correction of facial asymmetry with multiplanar mandible distraction: a one-year follow-up study. *Cleft Palate Craniofac J.* 2004;41:5-12.
- Ko EW, Chen PK, Tai IC, Huang CS. Fronto-facial monobloc distraction in syndromic craniosynostosis. Three-dimensional evaluation of treatment outcome and facial growth. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41:20-7.
- Kocabalkan O, Leblebicioğlu G, Erk Y, Enacar A. Repeated mandibular lengthening in Treacher Collins syndrome: a case report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1995;24:406-8.
- Kojimoto H, Yasui N, Goto T, Matsuda S, Shimomura Y. Bone lengthening in rabbits by callus distraction. The role of periosteum and endosteum. *J Bone Joint Surg Br.* 1988;70:543-9.
- Kolbeck S, Bail H, Weiler A, Windhagen H, Haas N, Raschke M. Digital radiography. A predictor of regenerate bone stiffness in distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;366:221-8.
- Kollar EM, Diner PA, Vazquez MP, Accart G, Pirollo M. Bone distraction using an external fixator: a new mandibular lengthening technic. A preliminary study apropos of 2 cases of children with mandibular hypoplasia. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1994;95:411-6.
- Komuro Y, Takato T, Harii K, Yonemara Y. The histologic analysis of distraction osteogenesis of the mandible in rabbits. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94:152-9.
- Komuro Y, Akizuki T, Kurakata M, Ohmori K. Histological examination of regenerated bone through craniofacial bone distraction in clinical studies. *J Craniofac Surg.* 1999;10:308-11.
- Konofaos P, Kashyap A, Ver Halen J. Biomedical approaches to improve bone healing in distraction osteogenesis: a current update and review. *Biomed Tech (Berl).* 2014;8:1-7.
- Koo KT, Polimeni G, Qahash M, Kim CK, Wikesjö UM. Periodontal repair in dogs: guided tissue regeneration enhances bone formation in sites implanted with a coral-derived calcium carbonate biomaterial. *J Clin Periodontol.* 2005;32:104-10.
- Krawczyk A, Kuroпка P, Kuryszko J, Wall A, Dragan S, Kulej M. Experimental studies on the effect of osteotomy technique on the bone regeneration in distraction osteogenesis. *Bone.* 2007;40:781-91.
- Kreisner PE, Blaya DS, Gaião L, Maciel-Santos ME, Etges A, Santana-Filho M, de Oliveira MG. Histological evaluation of the effect of low-level laser on distraction osteogenesis in rabbit mandibles. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15:616-8.
- Kuntscher, G. *The Callus Problem.* W. H. Gree, St. Louis; 1973.
- Kunz C, Adolphs N, Buescher P, Hammer B, Rahn B. Possible problems of moulding the regenerate in mandibular distraction osteogenesis - experimental aspects in a canine model. *J Craniomaxillofac Surg.* 2005;33:377-85.
- Kunz C, Adolphs N, Buescher P, Hammer B, Rahn B. Mineralization and mechanical properties of the canine mandible distraction wound following acute molding. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35:822-7.
- Kuroda S, Watanabe K, Ishimoto K, Nakanishi H, Moriyama K, Tanaka E. Long-term stability of LeFort III distraction osteogenesis with a rigid external distraction device in a patient with Crouzon syndrome. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;140:550-61.

- Kuryszko J, Kuroпка P, Jedrzejowska I. Distraction osteogenesis and fracture healing. Differences and similarities. *Acta Bioeng Biomech.* 2000; 2:83-8.
- Kusnoto B, Figueroa AA, Polley JW. A longitudinal three-dimensional evaluation of the growth pattern in hemifacial microsomia treated by mandibular distraction osteogenesis: a preliminary report. *J Craniofac Surg.* 1999;10:480-6.
- Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15:49-60.
- Labbé D, Nicolas J, Kaluzinski E, Soubeyrand E, Sabin P, Compère JF, Bénateau H. Gunshot wounds: reconstruction of the lower face by osteogenic distraction. *Plast Reconstr Surg.* 2005;116:1596-603.
- Ladizesky MG, Zeni SN, Mautalén CA. Precise measurement of bone mineral density in rats using dual-energy X-ray absorptiometry. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam.* 1994;44:30-5.
- Lee DY, Choi IH, Chung CY, Chung PH, Chi JG, Suh YL. Effect of tibial lengthening on the gastrocnemius muscle. A histopathologic and morphometric study in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1993;64:688-92.
- Lee DW, Ham KW, Kwon SM, Lew DH, Cho EJ. Dual midfacial distraction osteogenesis for Crouzon syndrome: long-term follow-up study for relapse and growth. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:242-51.
- Lemaire V, Tobin FL, Greller LD, Cho CR, Suva LJ. Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *J Theor Biol.* 2004;229:293-309.
- Lepola V, Väänänen K, Jalovaara P. The effect of immobilization on the torsional strength of the rat tibia. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;297:55-61.
- Lewinson D, Maor G, Rozen N, Rabinovich I, Stahl S, Rachmiel A. Expression of vascular antigens by bone cells during bone regeneration in a membranous bone distraction system. *Histochem Cell Biol.* 2001;116:381-8.
- Lewinson D, Rachmiel A, Rihani-Bisharat S, Kraiem Z, Schenzer P, Korem S, Rabinovich Y. Stimulation of Fos- and Jun-related genes during distraction osteogenesis. *J Histochem Cytochem.* 2003;51:1161-8.
- Li G, Simpson AH, Kenwright J, Triffitt JT. Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J Orthop Res.* 1997;15:765-72.
- Li G, Simpson AH, Triffitt JT. The role of chondrocytes in intramembranous and endochondral ossification during distraction osteogenesis in the rabbit. *Calcif Tissue Int.* 1999;64:310-7.
- Li G, Bouxsein ML, Luppen C, Li XJ, Wood M, Seeherman HJ, Wozney JM, Simpson H. Bone consolidation is enhanced by rhBMP-2 in a rabbit model of distraction osteogenesis. *J Orthop Res.* 2002;20:779-88.
- Li J, Hu J, Wang D, Tang Z, Gao Z. Biomechanical properties of regenerated bone by mandibular distraction osteogenesis. *Chin J Traumatol.* 2002;5:67-70.
- Li J, Ying B, Hu J, Zhu S, Braun TW. Reconstruction of mandibular symphyseal defects by trifocal distraction osteogenesis: an experimental study in Rhesus. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35:159-64.
- Liao LS, Tan Z, Zheng Q, Wu J, Shi B, He X, Meng T, Lu DW, Wang Y, Li S. Animal experimental study on repairing alveolar clefts by using rectilinear distraction osteogenesis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62:1573-9.
- Lim H, Ko EW, Lo LJ. Le Fort III distraction osteogenesis: modification of the intraoral splint in the rigid external distraction. *J Craniofac Surg.* 2012;23:856-8.
- Lima Mde D, Marques YM, Alves Sde M Jr, Ortega KL, Soares MM, Magalhães MH. Distraction osteogenesis in Goldenhar Syndrome: case report and 8-year follow-up. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12:528-31.
- Limberg A. A new method of plastic lengthening of the mandible in unilateral microgenia and asymmetry of the face. *J Am Dent Assoc.* 1928;15:851-71.
- Linden D, Reddy TB. *Handbook of Batteries.* 3 ed. New York: McGraw-Hill; 2002.
- Liou EJ, Huang CS. Rapid canine retraction through distraction of the periodontal ligament. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1998;114:372-82.
- Liu ZJ, King GJ, Herring SW. Alterations of morphology and microdensity in the condyle after mandibular osteodistraction in the rat. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:918-27.

- Liu ZJ, Anderson MW, Gu GM, King GJ. Apoptosis in the regenerate produced by mandibular osteodistraction in the mature rat. *Orthod Craniofac Res.* 2005;8:41-51.
- Liu Y, Liu G, Xu J, Zhu G, Wang Z, Liu Y. Distraction osteogenesis in the dog mandible under 60-Gy irradiation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113:183-7.
- Loboa EG, Fang TD, Warren SM, Lindsey DP, Fong KD, Longaker MT, Carter DR. Mechanobiology of mandibular distraction osteogenesis: experimental analyses with a rat model. *Bone.* 2004;34:336-43.
- Long J, Tang W, Fan YB, Tian WD, Feng F, Liu L, Zheng XH, Jing W, Wu L. Effects of rapid distraction rate on new bone formation during mandibular distraction osteogenesis in goats. *Injury.* 2009;40:831-4.
- Longaker MT, Siebert JW. Microsurgical correction of facial contour in congenital craniofacial malformations: the marriage of hard and soft tissue. *Plast Reconstr Surg.* 1996;98:942-50.
- Lopez PE, Guerrero CA, Mujica EV. Mandibular basal osteotomy: new designs and fixation techniques. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:786-97.
- Lucas R, Gounot N, Cresseaux P, Breton P, Freidel M, Ferez C, Roger T, Genevois JP. [An experimental study of a new bidirectional distraction appliance]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1998;99:72-5.
- Lv T, Kang N, Wang C, Han X, Chen Y, Bai D. Biologic response of rapid tooth movement with periodontal ligament distraction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009;136:401-11.
- Maeda A, Soejima K, Ogura M, Ohmure H, Sugihara K, Miyawaki S. Orthodontic treatment combined with mandibular distraction osteogenesis and changes in stomatognathic function. *Angle Orthod.* 2008;78:1125-32.
- Maffulli N, Hughes T, Fixsen JA. Ultrasonographic monitoring of limb lengthening. *J Bone Joint Surg Br.* 1992;74:130-2.
- Maffulli N. Callotasis lengthening: a review of some technical aspects. *Bull Hosp Jt Dis.* 1996;54:249-54.
- Magnuson P. Lengthening shortened bones of the leg by operation. *Univ Perm Med Bull.* 1908;21:103.
- Magyar G, Toksvig-Larsen S, Alkstedt J, Lindstrand A, Nilsson LT, Andersen R, Bergenudd H. Frequent complications in distal femoral osteotomy: a retrospective 8 year multicenter follow-up. *Chir Organi Mov.* 1999;84:19-26.
- Makarov MR, Harper RP, Cope JB, Samchukov ML. Evaluation of inferior alveolar nerve function during distraction osteogenesis in the dog. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:1417-23.
- Makarov MR, Harper RP, Cope JB, Samchukov ML. Evaluation of inferior alveolar nerve function during distraction osteogenesis in the dog. *J. oral Maxillofac. Surg.* 2005;56:1417-1423; discussion 1424-1425.
- Malone E, Rasa K, Cohen D, Isaacson T, Lashley H, Lipson H. Freeform fabrication of zinc-air batteries and electromechanical assemblies. *Rapid Prototyping Journal.* 2004. 10:58-69.
- Marañés Gálvez C, Martínez Plaza A, Fernández Valadés R, Licerias Licerias E, Martín Cano F, Cortés Sánchez R, Martínez Tellería A, Cabello A, García Medina B. Mandibular distraction osteogenesis in patients with craniofacial malformation. *Cir Pediatr.* 2011;24:102-8.
- Martini Z, Castaman E. Tissue regeneration in the reconstruction of lost bone and soft tissue in the lower limbs: a preliminary report. *Br J Plast Surg.* 1987;40:142-8.
- Marucci DD, Yu Y, McTavish J, Fiona Bonar S, Poole MD, Walsh WR. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in bone remodelling following distraction osteogenesis of the sheep mandible. *J Craniomaxillofac Surg.* 2002;30:208-12.
- Matos S. Aplicação de matrizes enriquecidas com moduladores biológicos na regeneração de tecidos periodontais e tecidos ósseos. Tese de Doutoramento. Coimbra: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2008.
- Mauil DJ. Review of devices for distraction osteogenesis of the craniofacial complex. *Semin Orthod.* 1999;5:64-73.
- McCarthy JG, La Trenta GS, Breitbart AS, Grayson BH, Bookstein FL. The Le Fort III advancement osteotomy in the child under 7 years of age. *Plast Reconstr Surg.* 1990;86:633-46.
- McCarthy JG, Schreiber J, Karp N, Thorne CH, Grayson BH. Lengthening the human mandible by gradual distraction. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89:1-8; discussion 9-10.
- McCarthy JG. The role of distraction osteogenesis in the reconstruction of the mandible in unilateral craniofacial microsomia. *Clin Plast Surg.* 1994;21:625-31.

- McCarthy JG, Staffenberg DA, Wood RJ, Cutting CB, Grayson BH, Thorne CH. Introduction of an intraoral bone-lengthening device. *Plast Reconstr Surg.* 1995;96:978-81.
- McCarthy JG, Williams JK, Grayson BH, Crombie JS. Controlled multiplanar distraction of the mandible: device development and clinical application. *J Craniofac Surg.* 1998;9:322-9.
- McCarthy JG, Stelnicki EJ, Grayson BH. Distraction osteogenesis of the mandible: a ten-year experience. *Semin Orthod.* 1999;5:3-8.
- McCarthy JG, Stelnicki EJ, Mehrara BJ, Longaker MT. Distraction osteogenesis of the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 2001;107:1812-27.
- McCarthy JG, Hopper RA. Distraction osteogenesis of zygomatic bone grafts in a patient with Treacher Collins syndrome: a case report. *J Craniofac Surg.* 2002;13:279-83.
- McCarthy JG, Katzen JT, Hopper R, Grayson BH. The first decade of mandibular distraction: lessons we have learned. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110:1704-13.
- McCarthy JG, Hopper RA, Hollier LH Jr, Peltomaki T, Katzen T, Grayson BH. Molding of the regenerate in mandibular distraction: clinical experience. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112:1239-46.
- McCormick SU, Grayson BH, McCarthy JG, Staffenberg D. Effect of mandibular distraction on the temporomandibular joint: Part 2, Clinical study. *J Craniofac Surg.* 1995;6:364-7.
- McNamara JA, Trotman CA. *Distraction Osteogenesis and Tissue Engineering.* Ann Arbor: Center for Human Growth and Development, University of Michigan, 1998.
- Meazzini MC, Mazzoleni F, Caronni E, Bozzetti A. Le Fort III advancement osteotomy in the growing child affected by Crouzon's and Apert's syndromes: presurgical and postsurgical growth. *J Craniofac Surg.* 2005;16:369-77.
- Medra AM, Marei AG, Shehata EA, McGurk M, Habib A. Simultaneous and differential fronto-orbital and midface distraction osteogenesis for syndromic craniosynostosis using rigid external distractor II. *J Craniofac Surg.* 2012;23:1306-13.
- Mehrara BJ, Rowe NM, Steinbrech DS, Dudziak ME, Saadeh PB, McCarthy JG, Gittes GK, Longaker MT. Rat mandibular distraction osteogenesis: II. Molecular analysis of transforming growth factor beta-1 and osteocalcin gene expression. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:536-47.
- Mehrotra D, Chellappa AAL, Gupta C, Passi D, Kumar S. Reconstruction of ramus-condyle unit with transport distraction osteogenesis: Report of eight cases and review of literature. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2012;2:144-8.
- Meling TR, Høgevoid HE, Due-Tønnessen BJ, Skjeltbred P. Midface distraction osteogenesis: internal vs. external devices. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2011;40:139-45.
- Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP, Stratmann U, Kruse-Lösler B, Maas H, Joos U. The effect of magnitude and frequency of interfragmentary strain on the tissue response to distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57:1331-9.
- Meyer U, Meyer T, Schlegel W, Scholz H, Joos U. Tissue differentiation and cytokine synthesis during strain-related bone formation in distraction osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2001;39:22-9.
- Miao J, Li G, Zhao P, Chen G, Teng L, Ling Y. 2/3 osteotomy for lengthening the mandible in dogs by gradual distraction. *J Craniomaxillofac Surg.* 1997;25:301-4.
- Michieli S, Miotti B. Lengthening of mandibular body by gradual surgical-orthodontic distraction. *J Oral Surg.* 1977;35:187-92.
- Mihmanli A, Dolanmaz D, Tüz H, Pampu A, Dönmez HH. Histomorphometric examination of long-term changes in temporomandibular joints after mandibular lengthening by distraction osteogenesis in rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113:600-3.
- Milner RH. The effect of tissue expansion on peripheral nerves. *Br J Plast Surg.* 1989;42:414-21.
- Milner RH, Wilkins PR. The recovery of peripheral nerves following tissue expansion. *J Hand Surg Br.* 1992;17:78-85.
- Minty I, Maffulli N, Hughes TH, Shaw DG, Fixsen JA. Radiographic features of limb lengthening in children. *Acta Radiol.* 1994;35:555-9.
- Mitsukawa N, Saiga A, Morishita T, Satoh K. Special distraction osteogenesis before bone grafting for alveolar cleft defects to correct maxillary deformities in patients with bilateral cleft lips and palates: Distraction osteogenesis performed separately for each bone segment. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013. doi: 10.1016/j.jcmj.2013.09.003

- Mizumoto Y, Mizuta H, Nakamura E, Takagi K. Tibial nerve function during tibial lengthening. Measurement of nerve conduction and blood flow in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1995;66:275-7.
- Mofid MM, Manson PN, Robertson BC, Tufaro AP, Elias JJ, Vander Kolk CA. Craniofacial distraction osteogenesis: a review of 3278 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108:1103-14.
- Mofid MM, Inoue N, Tufaro AP, Vander Kolk CA, Manson PN. Spring-mediated mandibular distraction osteogenesis. *J Craniofac Surg.* 2003;14:756-62.
- Molina F, Ortiz Monasterio F. Mandibular elongation and remodeling by distraction: a farewell to major osteotomies. *Plast Reconstr Surg.* 1995;96:825-40; discussion 841-2.
- Molina F, Ortiz Monasterio F, de la Paz Aguilar M, Barrera J. Maxillary distraction: aesthetic and functional benefits in cleft lip-palate and prognathic patients during mixed dentition. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101:951-63.
- Molina F. From midface distraction to the "true monoblock". *Clin Plast Surg.* 2004;31:463-79.
- Mommaerts MY. Horizontal anchorage in the ascending ramus--a technical note. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg.* 1998;13:59-65.
- Monticelli G, Spinelli R, Bonucci E. Distraction epiphysiolysis as a method of limb lengthening. II. Morphologic investigations. *Clin Orthop Relat Res.* 1981;154:262-73.
- Moorcroft CI, Ogrodnik PJ, Thomas PB, Verborg S. A data-logging system to monitor bone fracture movement continuously. *Med Eng Phys.* 1997;19:286-90.
- Moore MH, Guzman-Stein G, Proudman TW, Abbott AH, Netherway DJ, David DJ. Mandibular lengthening by distraction for airway obstruction in Treacher-Collins syndrome. *J Craniofac Surg.* 1994;5:22-5.
- Morota N, Ogiwara H, Kaneko T. Hybrid surgery for scaphocephaly with distraction osteogenesis using skull expanders: technical note. *Childs Nerv Syst.* 2012;28:1353-8.
- Morrill LR, Baumrind S, Miller D. Surgical correction of mandibular prognathism. I. A cephalometric report. *Am J Orthod.* 1974;65:503-18.
- Mosheiff R, Cordey J, Rahn BA, Perren SM, Stein H. The vascular supply to bone in distraction osteoneogenesis: an experimental study. *J Bone Joint Surg Br.* 1996;78:497-8.
- Mowlem RM, Buxton JLD, MacGregor AB, Barron JN. External pin fixation for fractures of the mandible. *Lancet.* 1941;2:391-3.
- Muhonen A, Muhonen J, Lindholm TC, Minn H, Klossner J, Kulmala J, Happonen RP. Osteodistraction of a previously irradiated mandible with or without adjunctive hyperbaric oxygenation: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31:519-24.
- Mullender M, El Haj AJ, Yang Y, van Duin MA, Burger EH, Klein-Nulend J. Mechanotransduction of bone cells in vitro: mechanobiology of bone tissue. *Med Biol Eng Comput.* 2004;42:14-21.
- Muraki Y, Tominaga K, Yoshioka I, Fujita M, Khanal A, Matsushita S, Fukuda J. Mandibular reconstruction with bone transport in a patient with osteogenesis imperfecta. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37:870-3.
- Murray DW, Wilson-MacDonald J, Morscher E, Rahn BA, Käslin M. Bone growth and remodelling after fracture. *J Bone Joint Surg Br.* 1996;78:42-50.
- Murray JE. *Surgery of the Soul: Reflections on a Curious Career.* Science History Publications; 2004.
- Nada RM, Sugar AW, Wijdeveld MG, Borstlap WA, Clauser L, Hoffmeister B, Kuijpers-Jagtman AM; Eurocran Distraction Osteogenesis Group. Current practice of distraction osteogenesis for craniofacial anomalies in Europe: a web based survey. *J Craniomaxillofac Surg.* 2010;38:83-9.
- Nakai H, Niimi A, Ueda M. The influence of compressive loading on growth of cartilage of the mandibular condyle in vitro. *Arch Oral Biol.* 1998;43:505-15.
- Nakamoto N, Nagasaka H, Daimaruya T, Takahashi I, Sugawara J, Mitani H. Experimental tooth movement through mature and immature bone regenerates after distraction osteogenesis in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2002;121:385-95.
- Narang R, Laskin DM. Experimental Osteogenesis at fracture sites and gaps. *J Oral Surg.* 1996;78-B(4): 479-98.
- Niederhagen B, Braumann B, Bergé S, von Lindern JJ, Appel T. Tooth-borne distraction to widen the mandible. Technical note. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2000;29:27-8.

- Noble B. Bone microdamage and cell apoptosis. *Eur Cell Mater.* 2003; 21:46-55.
- Nolte JW, Jansma J, Becking AG. Distraction osteogenesis of maxilla and midface in postradiotherapy patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:1145-51.
- Nørholt SE, Jensen J, Schou S, Pedersen TK. Complications after mandibular distraction osteogenesis: a retrospective study of 131 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111:420-7.
- Oda T, Sawaki Y, Ueda M. Alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis using titanium implants: an experimental study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1999;28:151-6.
- Oda T, Sawaki Y, Ueda M. Experimental alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis using a simple device that permits secondary implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15:95-102.
- Ogrodnik PJ, Moorcroft CI, Thomas PB. A fracture movement monitoring system to aid in the assessment of fracture healing in humans. *Proc Inst Mech Eng H.* 2001;215:405-14.
- Okafuji N, Liu ZJ, King GJ. Assessment of cell proliferation during mandibular distraction osteogenesis in the maturing rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;130:612-21.
- Oliveira MT, Macedo LD, Del Bel EA, Watanabe P, Ferreira de Albuquerque R. Avaliação da densitometria óssea de tecido ósseo neoformado após distração osteogênica mandibular. *Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial.* 2006;11:37-43.
- Ortakoglu K, Karacay S, Sencimen M, Akin E, Ozyigit AH, Bengi O. Distraction osteogenesis in a severe mandibular deficiency. *Head Face Med.* 2007;3:7.
- Ow A, Cheung LK. Meta-analysis of mandibular distraction osteogenesis: clinical applications and functional outcomes. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:54-69.
- Ow A, Cheung LK. Skeletal stability and complications of bilateral sagittal split osteotomies and mandibular distraction osteogenesis: an evidence-based review. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:2344-53.
- Ow A, Cheung LK. Bilateral sagittal split osteotomies versus mandibular distraction osteogenesis: a prospective clinical trial comparing inferior alveolar nerve function and complications. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010;39:756-60.
- Paccione MF, Mehrara BJ, Warren SM, Greenwald JA, Spector JA, Luchs JS, Longaker MT. Rat mandibular distraction osteogenesis: latency, rate, and rhythm determine the adaptive response. *J Craniofac Surg.* 2001;12:175-82.
- Paley D. Problems, obstacles, and complications of limb lengthening by the Ilizarov technique. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:81-104.
- Panikarovskii VV, Grigor'ian AS, Kaganovich SI, Osipian EM, Antipova ZP. Characteristics of mandibular reparative osteogenesis under compression-distraction osteosynthesis (an experimental study). *Stomatologia (Mosk).* 1982;61:21-5.
- Panjabi MM, Walter SD, Karuda M, White AA, Lawson JP. Correlations of radiographic analysis of healing fractures with strength: a statistical analysis of experimental osteotomies. *J Orthop Res.* 1985;3:212-8.
- Panjabi MM, Lindsey RW, Walter SD, White AA 3rd. The clinician's ability to evaluate the strength of healing fractures from plain radiographs. *J Orthop Trauma.* 1989;3:29-32.
- Papadaki ME, Kaban LB, Troulis MJ. Minipig model of maxillary distraction osteogenesis: immunohistochemical and histomorphometric analysis of the sequence of osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:2629-40.
- Parfitt AM. Bone remodeling, normal and abnormal: a biological basis for the understanding of cancer-related bone disease and its treatment. *Can J Oncol.* 1995;5:1-10.
- Paterson D. Leg-lengthening procedures. A historical review. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:27-33.
- Pedersen JA, Swartz MA. Mechanobiology in the third dimension. *Ann Biomed Eng.* 2005;33:1469-90.
- Pelo S, Gasparini G, Di Petrillo A, Tamburrini G, Di Rocco C. Distraction osteogenesis in the surgical treatment of craniostenosis: a comparison of internal and external craniofacial distractor devices. *Childs Nerv Syst.* 2007;23:1447-53.
- Peltier LF. A brief history of traction. *J Bone Joint Surg Am.* 1968;50:1603-17.
- Peltier LF. External skeletal fixation for the treatment of fractures. In: *Fractures: a history and iconography of their treatment.* San Francisco: Norman Publishing, 1990.
- Peltier LF. The origin of orthopedics. In: *Fractures: a history and iconography.* Norman Publishing, San Francisco; 1993. p.20-40.

- Pensler JM, Goldberg DP, Lindell B, Carroll NC. Skeletal distraction of the hypoplastic mandible. *Ann Plast Surg.* 1995;34:130-6.
- Perrott DH, Berger R, Vargervik K, Kaban LB. Use of a skeletal distraction device to widen the mandible: a case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51:435-9.
- Perrott DH, Rahn B, Wahl D, Linke B, Thurüller P, Troulis M, Glowacki J, Kaban LB. Development of a mechanical testing system for a mandibular distraction wound. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:523-7.
- Phillips JH, Forrest CR, Gruss JS. Current concepts in the use of bone grafts in facial fractures. Basic science considerations. *Clin Plast Surg.* 1992;19:41-58.
- Pickerill HP. Double resection of the mandible. *Dent Cosmos.* 1912;54:114-9.
- Ploder O, Mayr W, Schnetz G, Unger E, Ewers R, Plenk H Jr. Mandibular lengthening with an implanted motor-driven device: preliminary study in sheep. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999;37:273-6.
- Ploder O, Kanz F, Randl U, Mayr W, Voracek M, Plenk H Jr. Three-dimensional histomorphometric analysis of distraction osteogenesis using an implanted device for mandibular lengthening in sheep. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110:130-7.
- Polley JW, Figueroa AA, Charbel FT, Berkowitz R, Reisberg D, Cohen M. Monobloc craniomaxillofacial distraction osteogenesis in a newborn with severe craniofacial synostosis: a preliminary report. *J Craniofac Surg.* 1995;6:421-3.
- Polley JW, Figueroa AA. Management of severe maxillary deficiency in childhood and adolescence through distraction osteogenesis with an external, adjustable, rigid distraction device. *J Craniofac Surg.* 1997;8:181-5.
- Posner AS. The mineral of bone. *Clin Orthop Relat Res.* 1985;200:87-99.
- Price CT, Mann JW. Experience with the Orthofix device for limb lengthening. *Orthop Clin North Am.* 1991;22:651-61.
- Primrose AC, Broadfoot E, Diner PA, Molina F, Moos KF, Ayoub AF. Patients' responses to distraction osteogenesis: a multi-centre study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:238-42.
- Proffit WR, Jackson TH, Turvey TA. Changes in the pattern of patients receiving surgical-orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2013;143:793-8.
- Putti V. The operative lengthening of the femur. 1921. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;250:4-7.
- Rachmiel A, Levy M, Laufer D. Lengthening of the mandible by distraction osteogenesis: report of cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53:838-46.
- Rachmiel A, Aizenbud D, Peled M. Long-term results in maxillary deficiency using intraoral devices. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:473-9.
- Rachmiel A, Srouji S, Emodi O, Aizenbud D. Distraction osteogenesis for tracheostomy dependent children with severe micrognathia. *J Craniofac Surg.* 2012;23:459-63.
- Raghoobar GM, Heydenrijk K, Vissink A. Vertical distraction of the severely resorbed mandible. The Groningen distraction device. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2000;29:416-20.
- Rauch F, Lauzier D, Travers R, Glorieux F, Hamdy R. Effects of locally applied transforming growth factor-beta1 on distraction osteogenesis in a rabbit limb-lengthening model. *Bone.* 2000;26:619-24.
- Razdolsky Y, Pensler JM, Dessner S. Skeletal distraction for mandibular lengthening with a completely intraoral toothborn distractor. In: McNamara JA Jr, Trotman CA, editors *Advances in craniofacial orthopedics. Volume 34. Craniofacial Growth Series.* Ann Arbor: Center for Human Growth and Development, University of Michigan; 1998:117-40.
- Razdolsky Y, Dessner S. Aplicación clínica del distractor dentosoportado ROD5 para la distracción de la cresta alveolar. *Rev Esp Odontostomatologica Implantas.* 2000; 8(3):173-8.
- Reitsma JH, Ongkosuwito EM, Buschang PH, Adrichem LN, Prah-Andersen B. Craniofacial Stability in Patients With Crouzon or Apert Syndrome After Le Fort III Distraction Osteogenesis. *Cleft Palate Craniofac J.* 2013;50:561-9.
- Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys.* 1998;20:92-102.
- Richards M, Goulet JA, Weiss JA, Waanders NA, Schaffler MB, Goldstein SA. Bone regeneration and fracture healing. Experience with distraction osteogenesis model. *Clin Orthop Relat Res.* 1998;355:191-204.
- Richardson JB, Cunningham JL, Goodship AE, O'Connor BT, Kenwright J. Measuring stiffness can define healing of tibial fractures. *J Bone Joint Surg Br.* 1994;76:389-94.

- Rieger UM. Evidence for long-term effectiveness of cranial distraction osteogenesis for syndromic craniosynostosis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014;67:166.
- Roberts WE, Simmons KE, Garetto LP, DeCastro RA. Bone physiology and metabolism in dental implantology: risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. *Implant Dent*. 1992;1:11-21.
- Roberts WE, Bruce NE, David BB, James KH, Jeffery AR. Remodeling of Mineralized Tissues, Part II: Control and Pathophysiology. *Semin orthod*. 2006;12:238-53.
- Robey PG, Fedarko NS, Hefferan TE, Bianco P, Vetter UK, Grzesik W, Friedenstein A, Van der Pluijm G, Mintz KP, Young MF, et al. Structure and molecular regulation of bone matrix proteins. *J Bone Miner Res*. 1993;8:S483-7.
- Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002;60:630-5.
- Rodan GA. Introduction to bone biology. *Bone*. 1992;13:S3-6.
- Rodrigues MJ. Alterações da dinâmica articular induzidas pela perda de suporte dentário posterior. Tese de Doutorado. Coimbra: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 1999.
- Rolim Filho EL, Larrazabal MC, Costa LF Jr, Santos SM, Santos RM, Aguiar JL. Effect of autologous stem cells on regenerated bone during distraction osteogenesis by Ilizarov technique in the radius of dogs. Histomorphometric analysis. *Acta Cir Bras*. 2013;28:574-81.
- Roth DA, Gosain AK, McCarthy JG, Stracher MA, Lefton DR, Grayson BH. A CT scan technique for quantitative volumetric assessment of the mandible after distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg*. 1997;99:1237-47.
- Rowe NM, Mehrara BJ, Dudziak ME, Steinbreck DS, Mackool RJ, Gittes GK, McCarthy JG, Longaker MT. Rat mandibular distraction osteogenesis: Part I. Histologic and radiographic analysis. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:2022-32.
- Rowe NM, Mehrara BJ, Luchs JS, Dudziak ME, Steinbreck DS, Illei PB, Fernandez GJ, Gittes GK, Longaker MT. Angiogenesis during mandibular distraction osteogenesis. *Ann Plast Surg*. 1999;42:470-5.
- Rubio-Bueno P, Sanromán F, García P, Sánchez M, Llorens P, Nieto S, Adrados M, Sastre J, de Artiñano FO, Amde S, Naval L, Díaz-González FJ. Experimental mandibular regeneration by distraction osteogenesis with submerged devices: preliminary results of a canine model. *J Craniofac Surg*. 2002;13:224-30.
- Rubio-Bueno P, Naval L, Rodríguez-Campo F, Gil-Díez JL, Díaz-González FJ. Internal distraction osteogenesis with a unidirectional device for reconstruction of mandibular segmental defects. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63:598-608.
- Ryoyama D, Sawaki Y, Ueda M. Experimental study of mechanical analysis in mandibular lengthening. Application of strain gauge measurement. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33:294-300.
- Sabharwal S. Enhancement of bone formation during distraction osteogenesis: pediatric applications. *J Am Acad Orthop Surg*. 2011;19:101-11.
- Sacco AG, Chepeha DB. Current status of transport-disc-distraction osteogenesis for mandibular reconstruction. *Lancet Oncol*. 2007;8:323-30.
- Sadiq Z, Coombes DM, Cascarini L, Brennan PA. Orthognathic surgery and related papers published in the British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2008-2009. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2010;48:364-8.
- Salgado CJ, Raju A, Licata L, Patel M, Rojavin Y, Wasielewski S, Diarra C, Gordon A, Norcross A, Kent KA. Effects of hyperbaric oxygen therapy on an accelerated rate of mandibular distraction osteogenesis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009;62:1568-72.
- Saman M, Abramowitz JM, Buchbinder D. Mandibular osteotomies and distraction osteogenesis: evolution and current advances. *JAMA Facial Plast Surg*. 2013;15:167-73.
- Samchukov ML, Cherkashin AM, Cope JB. Distraction osteogenesis: Origins and evolution. In: McNamara JA, Trotman CA, editors. *Distraction Osteogenesis and Tissue Engineering*. Ann Arbor: Center for Human Growth and Development, University of Michigan; 1998.
- Samchukov M, Cope JB, Cherkashin AM. *Craniofacial Distraction Osteogenesis*. St. Louis: Mosby; 2001.
- SANTIAGO FACFJ, FERNANDES DOVJ, CORREIA DOSSVGM, GOMES MMA. Programmable and autonomous tissue distractor device [Internet]. Google Patents; 2013. Available from: <http://www.google.com.tr/patents/WO2013172726A1?cl=en>

- Saran N, Hamdy RC. DEXA as a predictor of fixator removal in distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466:2955-61.
- Sato M, Yasui N, Nakase T, Kawahata H, Sugimoto M, Hirota S, Kitamura Y, Nomura S, Ochi T. Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res.* 1998;13:1221-31.
- Satoh K, Mitsukawa N, Tosa Y, Kadomatsu K. Le Fort III midfacial distraction using an internal distraction device for syndromic craniosynostosis: device selection, problems, indications, and a proposal for use of a parallel bar for device-setting. *J Craniofac Surg.* 2006;17:1050-8.
- Sawaki Y, Ohkubo H, Hibi H, Ueda M. Mandibular lengthening by distraction osteogenesis using osseointegrated implants and an intraoral device: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54:594-600.
- Sawaki Y, Hagino H, Yamamoto H, Ueda M. Trifocal distraction osteogenesis for segmental mandibular defect: a technical innovation. *J Craniomaxillofac Surg.* 1997;25:310-5.
- Schendel SA. Treatment of maxillomandibular deformities with internal curvilinear distraction. *Ann Plast Surg.* 2011;67:1-9.
- Schickendantz MS, Watson JT, Sferra JJ, Kambic HE. A model for evaluating the strength of bones lengthened by distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 1992;275:248-52.
- Schmelzeisen R, Neumann G, von der Fecht R. Distraction osteogenesis in the mandible with a motor-driven plate: a preliminary animal study. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1996;34:375-8.
- Schmitt JM, Buck DC, Joh SP, Lynch SE, Hollinger JO. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. *J Periodontol.* 1997;68:1043-53.
- Schortinghuis J, Bronckers AL, Gravendeel J, Stegenga B, Raghoobar GM. The effect of ultrasound on osteogenesis in the vertically distracted edentulous mandible: a double-blind trial. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37:1014-21.
- Schreuder WH, Jansma J, Bierman MW, Vissink A. Distraction osteogenesis versus bilateral sagittal split osteotomy for advancement of the retrognathic mandible: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36:103-10.
- Schwartzman V, Schwartzman R. Corticotomy. *Clin Orthop Relat Res.* 1992;37-47.
- Seeman E. Structural basis of growth-related gain and age-related loss of bone strength. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47:s2-8.
- Seitz WH Jr. Distraction osteogenesis of a congenital amputation at the elbow. *J Hand Surg Am.* 1989;14:945-8.
- Seldin EB, Troulis MJ, Kaban LB. Evaluation of a semiburied, fixed-trajectory, curvilinear, distraction device in an animal model. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57:1442-6.
- Sferra J, Kambic HE, Schickendantz MS, Watson JT. Biomechanical analysis of canine bone lengthened by the callotaxis method. *Clin Orthop* 1995; 311:222-6.
- Shang H, Lin X, Du J, He L, Liu Y. Use of a new curvilinear distractor to repair mandibular defects in dogs. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012;50:166-70.
- Shaw WC, Semb G, Nelson P, Brattström V, Mølsted K, Prah Andersen B, Gundlach KK. The Eurocleft project 1996-2000: overview. *J Craniomaxillofac Surg.* 2001;29:131-40.
- Shaw WC, Mandall NA, Mattick CR. Ethical and scientific decision making in distraction osteogenesis. *Cleft Palate Craniofac J.* 2002;39:641-5.
- Shetye PR, Grayson BH, Mackool RJ, McCarthy JG. Long-term stability and growth following unilateral mandibular distraction in growing children with craniofacial microsomia. *Plast Reconstr Surg.* 2006 15;118:985-95.
- Shibasaki R, Maki K, Tachikawa T, Shibasaki Y, Hinton RJ, Carlson DS, Opperman LA. Changes in parathyroid hormone-related protein and 3-dimensional trabecular bone structure of the mandibular condyle following mandibular distraction osteogenesis in growing rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:505-12.
- Shin JY, Liu ZJ, King GJ. Trabecular organization in mandibular osteodistraction in growing and maturing rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:77-86.
- Shvyrkov MB, Shamsudinov AKh, Sumarokov DD, Shvyrkova II. Non-free osteoplasty of the mandible in maxillofacial gunshot wounds: mandibular reconstruction by compression-osteodistraction. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999;37:261-7.
- Siddiqui NA, Owen JM. Clinical advances in bone regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2013;8:192-200.

- Sidor ML, Golyakhovsky V, Frankel VH. Humeral lengthening and bone transport using the Ilizarov technique. *Bull Hosp Jt Dis.* 1992;52:13-6.
- Siegel MI, Mooney MP. Appropriate animal models for craniofacial biology. *Cleft Palate J.* 1990;27:18-25.
- Silant'eva TA, Krasnov VV, Dobychina NA. Mandible reparative regeneration and adaptive remodeling by multiply fracture treatment by means of transbone osteosynthesis. *Stomatologiya (Mosk).* 2012;91:7-10.
- Simpson AH, Williams PE, Kyberd P, Goldspink G, Kenwright J. The response of muscle to leg lengthening. *J Bone Joint Surg Br.* 1995;77:630-6.
- Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol.* 2008;19:444-51.
- Singare S, Li D, Liu Y, Wu Z, Wang J. The effect of latency on bone lengthening force and bone mineralization: an investigation using strain gauge mounted on internal distractor device. *Biomed Eng Online.* 2006;5:18.
- Singh DJ, Glick PH, Bartlett SP. Mandibular deformities: single-vector distraction techniques for a multivector problem. *J Craniofac Surg.* 2009;20:1468-72.
- Smith SW, Sachdeva RC, Cope JB. Evaluation of the consolidation period during osteodistraction using computed tomography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;116:254-63.
- Snyder CC, Levine GA, Swanson HM, Browne EZ Jr. Mandibular lengthening by gradual distraction. Preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1973;51:506-8.
- Spagnoli D, Gollehon SG. Distraction osteogenesis in reconstruction of the mandible and temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2006;18:383-98.
- Spagnoli D. Mandible reconstruction with transport distraction osteogenesis. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2008;16:287-307.
- Stallings JT, Lewis DD, Welch RD, Samchukov ML. An introduction to distraction osteogenesis and the principles of the Ilizarov method. *VCOT.* 1998;11:59-67.
- Stalmans K, Van Erum R, Verdonck A, Nadjmi N, Schepers E, Schoenaers J, Carels C. Cephalometric evaluation of maxillary advancement with an internal distractor in an adult boxer dog. *Orthod Craniofac Res.* 2003;6:104-11.
- Standring S. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice.* 40th ed. London: Churchill Livingstone; 2009. p. 27-59.
- Stanitski DF, Shahcheraghi H, Nicker DA, Armstrong PF. Results of tibial lengthening with the Ilizarov technique. *J Pediatr Orthop.* 1996;16:168-72.
- Stefko RM, Cain JE Jr, Lauerman WC 2nd, Brann C, Platenburg RC, Pyka R. Vertebrodiastasis experimental lengthening of the juvenile goat spine. *Spine (Phila Pa 1976).* 1993;18:1616-20.
- Steinbacher DM, Kaban LB, Troulis MJ. Mandibular advancement by distraction osteogenesis for tracheostomy-dependent children with severe micrognathia. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:1072-9.
- Steinbrech DS, Mehrara BJ, Rowe NM, Dudziak ME, Luchs JS, Saadeh PB, Gittes GK, Longaker MT. Gene expression of TGF-beta, TGF-beta receptor, and extracellular matrix proteins during membranous bone healing in rats. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105:2028-38.
- Steiner CC. Is there one best orthodontic appliance? *Angle Orthod.* 1933;3:277-94.
- Stelnicki EJ, Stucki-McCormick SU, Rowe N, McCarthy JG. Remodeling of the temporomandibular joint following mandibular distraction osteogenesis in the transverse dimension. *Plast Reconstr Surg.* 2001;107:647-58.
- Stewart KJ, Lvoff GO, White SA, Bonar SF, Walsh WR, Smart RC, Poole MD. Mandibular distraction osteogenesis: a comparison of distraction rates in the rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg.* 1998;26:43-9.
- Stucki-McCormick SU, Fox RM, Mizrahi RD. Reconstruction of a neocondyle using transport distraction osteogenesis. *Semin Orthod.* 1999;5:59-63.
- Suhr MA, Kreusch T. Technical considerations in distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33:89-94.
- Sunay O, Can G, Cakir Z, Denek Z, Kozanoglu I, Erbil G, Yilmaz M, Baran Y. Autologous rabbit adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of bone injuries with distraction osteogenesis. *Cytotherapy.* 2013;15:690-702.

- Swennen G, Schliephake H, Dempf R, Schierle H, Malevez C. Craniofacial distraction osteogenesis: a review of the literature: Part I: clinical studies. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30:89-103.
- Swennen G, Dempf R, Schliephake H. Cranio-facial distraction osteogenesis: a review of the literature. Part II: Experimental studies. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31:123-35.
- Sykes JM. Orthognatic Surgery. In: Ira Papel, editor. Facial plastic and reconstructive surgery. 3rd ed. New York: Thieme Medical Publishers; 2009.p.1095-119.
- Szachowicz EH. Facial bone wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am.* 1995;28:865-80.
- Takata T, Katauchi K, Akagawa Y, Nikai H. New periodontal ligament formation on a synthetic hydroxyapatite surface. *Clin Oral Implants Res.* 1993;4:130-6.
- Takata T. Oral wound healing concepts in periodontology. *Curr Opin Periodontol.* 1994:119-27.
- Takato T, Harii K, Hirabayashi S, Komuro Y, Yonehara Y, Susami T. Mandibular lengthening by gradual distraction: analysis using accurate skull replicas. *Br J Plast Surg.* 1993;46:686-93.
- Tang ZL, Hu J, Li JH, Zou SJ. Effect of nerve growth factor and Schwann cells on axon regeneration of distracted inferior alveolar nerve following mandibular lengthening. *Chin J Traumatol.* 2004;7:81-6.
- Tavakoli K, Walsh WR, Bonar F, Smart R, Wulf S, Poole MD. The role of latency in mandibular osteodistraction. *J Craniomaxillofac Surg.* 1998;26:209-19.
- Taylor JA, Derderian CA, Bartlett SP, Fiadjoie JE, Sussman EM, Stricker PA. Perioperative morbidity in posterior cranial vault expansion: distraction osteogenesis versus conventional osteotomy. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129:674-80.
- Telser AG, Young J, Baldwin K. Elsevier's Integrated Histology. 1st ed. St Louis: MOSBY; 2007. p.47-62.
- Tessier P. Foreword. Dans: McCarthy JG. Distraction of the craniofacial skeleton. Ed. Springer, 1999.
- Thaller SR, Hoyt J, Borjeson K, Dart A, Tesluk H. Reconstruction of calvarial defects with anorganic bovine bone mineral (Bio-Oss) in a rabbit model. *J Craniofac Surg.* 1993;4:79-84.
- Thurmüller P, Troulis MJ, Rosenberg A, Kaban LB. Changes in the condyle and disc in response to distraction osteogenesis of the minipig mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60:1327-33.
- Tonna EA, Cronkite EP. The periosteum. Autoradiographic studies on cellular proliferation and transformation utilizing tritiated thymidine. *Clin Orthop Relat Res.* 1963;30:218-33.
- Tóth BZ, Vizkelety T, Kertész E, Gyenes V. Distractios osteogenesis in maxillofacial surgery. *Fogorv Sz.* 2006;99:213-9.
- Towler DA. The osteogenic-angiogenic interface: novel insights into the biology of bone formation and fracture repair. *Curr Osteoporos Rep.* 2008;6:67-71.
- Trauner R, Obwegeser H. The surgical correction of mandibular prognathism and retrognathia with consideration of genioplasty. I. Surgical procedures to correct mandibular prognathism and reshaping of the chin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1957;10:677-89.
- Troulis MJ, Glowacki J, Perrott DH, Kaban LB. Effects of latency and rate on bone formation in a porcine mandibular distraction model. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58:507-13.
- Tselentakis G, Owen PJ, Richardson JB, Kuiper JH, Haddaway MJ, Dwyer JS, Evans GA. Fracture stiffness in callotaxis determined by dual-energy X-ray absorptiometry scanning. *J Pediatr Orthop B.* 2001;10:248-54.
- Tsuchiya H, Tomita K, Minematsu K, Mori Y, Asada N, Kitano S. Limb salvage using distraction osteogenesis. A classification of the technique. *J Bone Joint Surg Br.* 1997;79(3):403-11.
- Tsunokuma M, Nosaka Y, Hayashi, Haeniwa H, Hamamoto K, Nakajima M, Kakudo K. Neovascularization during distraction osteogenesis of the mandible in dogs. In: Diner PA, Vazquez MP editors. 2° International congress on cranial and facial bone distraction process. Bologna: Monduzzi. 1999:345-52.
- Turner CH, Pavalko FM. Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress: the mechanisms and mechanics of bone adaptation. *J Orthop Sci.* 1998;3:346-55.
- Ueki K, Nakagawa K, Marukawa K, Takazakura D, Shimada M, Takatsuka S, Yamamoto E. Changes in condylar long axis and skeletal stability after bilateral sagittal split ramus osteotomy with poly-L-lactic acid or titanium plate fixation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:627-34.

- Ueng SW, Lee SS, Lin SS, Wang CR, Liu SJ, Yang HF, Tai CL, Shih CH. Bone healing of tibial lengthening is enhanced by hyperbaric oxygen therapy: a study of bone mineral density and torsional strength on rabbits. *J Trauma*. 1998;44:676-81.
- Ugurlu F, Basel B, Sener BC, Sertgöz A. Maxillary tuberosity reconstruction with transport distraction osteogenesis. *Case Rep Dent*. 2012;81:65-72.
- Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965;150:893-9.
- Vale F, Amaral M, Veiga G, Caramelo F. New mandibular distraction device. I Simpósio Inter-Universitário de Investigação em Medicina Dentária. Coimbra, Portugal; 2013.
- Van 't Hof RJ, Idris AI, Ridge SA, Dunford J, Greig IR, Ralston SH. Identification of biphenylcarboxylic acid derivatives as a novel class of bone resorption inhibitors. *J Bone Miner Res*. 2004;19:1651-60.
- Van der Meulen JH, Borschel GH, Lynch JB, Nicklin S, Ho KC, Gianoutsos MP, Walsh WR, Kuzon WM Jr. The effect of rate of distraction osteogenesis on structure and function of anterior digastric muscle fibers. *Plast Reconstr Surg*. 2005;115:831-7.
- Van Sickels JE. Need for distraction osteogenesis. Dans: *Distraction osteogenesis of the facial skeleton*. Ed. BC Decker Inc, 2007.
- Van Strijen PJ, Perdijk FB, Becking AG, Breuning KH. Distraction osteogenesis for mandibular advancement. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2000;29:81-5.
- Vécsei V. Callus distraction vs. spongiosaplasty for replacement of osseous defects. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*. 1997;135:Oa28.
- Versnel SL, Wolvius EB, van Adrichem LN, van der Meulen JN, Ongkosuwito EM, Mathijssen IM. Distraction assisted treatment of a unilateral complex facial cleft. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009;38:790-4.
- Vissink A, de Baat C. Distraction osteogenesis: principles, history and background. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 2008;115:291-5.
- Waanders NA, Herzenberg JE. The theoretical application of inclined hinges with the Ilizarov external fixator for simultaneous angulation and rotation correction. *Bull Hosp Jt Dis*. 1992;52:27-35.
- Waanders NA, Richards M, Steen H, Kuhn JL, Goldstein SA, Goulet JA. Evaluation of the mechanical environment during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 1998;349:225-34.
- Wagner H. Operative lengthening of the femur. *Clin Orthop Relat Res*. 1978;136:125-42.
- Wahl N. Orthodontics in 3 millennia. Chapter 14: surgical adjuncts to orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007;131:561-5.
- Waldron CW, Kazanjian VH, Parker DB. Skeletal fixation in the treatment of fractures of the mandible. *J Oral Surg*. 1943;1:59-83.
- Wang X, Schröder HC, Grebenjuk V, Diehl-Seifert B, Mailänder V, Steffen R, Schloßmacher U, Müller WE. The marine sponge-derived inorganic polymers, biosilica and polyphosphate, as morphogenetically active matrices/scaffolds for the differentiation of human multipotent stromal cells: potential application in 3D printing and distraction osteogenesis. *Mar Drugs*. 2014 21;12:1131-47.
- Wang XX, Wang X, Li ZL. Effects of mandibular distraction osteogenesis on the inferior alveolar nerve: an experimental study in monkeys. *Plast Reconstr Surg*. 2002;109:2373-83.
- Wangerin K, Gropp H. Intraoral distraction osteogenesis for lengthening of the horizontal mandibular ramus. In: *International Congress on Cranial and Facial Bone Distraction Processes*. Paris, France. 1997;p. 036.
- Watanabe K, Kuroda S, Takahashi T, Kijima T, Torikai K, Moriyama K, Tanaka E. Segmental distraction osteogenesis with modified LeFort II osteotomy for a patient with craniosynostosis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012;142:698-709.
- Weil TS, Van Sickels JE, Payne CJ. Distraction osteogenesis for correction of transverse mandibular deficiency: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997;55:953-60.
- Weinberger BW. The history of orthodontics: Part 6. *Int J Orthod*. 1916;2:103-17.
- Weinberger BW. Dr. Edward Hartley Angle, his influence on orthodontics. *Am J Orthod*. 1950;36:596-607.
- Welch RD, Birch JG, Makarov MR, Samchukov ML. Histomorphometry of distraction osteogenesis in a caprine tibial lengthening model. *J Bone Miner Res*. 1998;13:1-9.
- Welch RD, Lewis DD. Distraction osteogenesis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1999;29:1187-205.

- White SH, Kenwright J. The importance of delay in distraction of osteotomies. *Orthop Clin North Am.* 1991;22:569-79.
- Wiedemann M. Callus distraction: a new method? A historical review of limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;327:291-304.
- Wikesjö UM, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J Periodontol.* 1992;63:158-65.
- Williams JK, Rowe NM, Mackool RJ, Levine JP, Hollier LH, Longaker MT, Cutting CB, Grayson BH, McCarthy JG. Controlled multiplanar distraction of the mandible, Part II: Laboratory studies of sagittal (anteroposterior) and vertical (superoinferior) movements. *J Craniofac Surg.* 1998;9:504-13.
- Williams JK, Maull D, Grayson BH, Longaker MT, McCarthy JG. Early decannulation with bilateral mandibular distraction for tracheostomy-dependent patients. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:48-57.
- Williams P, Simpson H, Kenwright J, Goldspink G. Muscle fibre damage and regeneration resulting from surgical limb distraction. *Cells Tissues Organs.* 2001;169:395-400.
- Wiltfang J, Kessler P, Merten HA, Neukam FW. Continuous and intermittent bone distraction using a microhydraulic cylinder: an experimental study in minipigs. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2001;39:2-7.
- Williams BE, King GJ, Liu ZJ, Rafferty KL. Sequential histomorphometric analysis of regenerate osteogenesis following mandibular distraction in the rat. *Arch Oral Biol.* 2005;50:497-506.
- Windhager R, Tsuboyama T, Siegl H, Groszschmidt K, Seidl G, Schneider B, Plenk H Jr. Effect of bone cylinder length on distraction osteogenesis in the rabbit tibia. *J Orthop Res.* 1995;13:620-8.
- Windhagen H, Bail H, Schmeling A, Kolbeck S, Weiler A, Raschke M. A new device to quantify regenerate torsional stiffness in distraction osteogenesis. *J Biomech.* 1999;32:857-60.
- Wolford LM, Fields RT. *Maxillofacial Surgery.* Philadelphia: Churchill Livingstone; 1999.
- Xie M, Xiao H, Hu M, Liu H, Li Y. Primary study of the use of a shape-memory alloy distraction device in the dog mandible for alveolar ridge distraction: determination of osteotomy techniques and evaluation of osteogenesis outcome. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:2876-83.
- Yamaguchi K, Imai K, Fujimoto T, Takahashi M, Maruyama Y, Sakamoto H, Matsusaka Y. Cranial distraction osteogenesis for syndromic craniosynostosis: long-term follow-up and effect on postoperative cranial growth. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67:35-41.
- Yamashita K, Takagi T. Ultrastructural observation of calcification preceding new bone formation induced by demineralized bone matrix gelatin. *Acta Anat (Basel)* 1992;143:261-7.
- Yanoff SR, Hulse DA, Palmer RH, Herron MR. Distraction osteogenesis using modified external fixation devices in five dogs. *Vet Surg.* 1992;21:480-7.
- Yasui N, Kojimoto H, Shimizu H, Shimomura Y. The effect of distraction upon bone, muscle, and periosteum. *Orthop Clin North Am.* 1991;22:563-7.
- Yavropoulou MP, Yovos JG. Osteoclastogenesis-current knowledge and future perspectives. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2008;8:204-16.
- Yen SL. Distraction osteogenesis: application to dentofacial orthopedics. *Semin Orthod.* 1997;3:275-83.
- Yen SL, Wei S, Li S, Shuler C, Yamashita DD. Bending of the distraction site during mandibular distraction osteogenesis in the rabbit: a model for studying segment control and side effects. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:779-88.
- Yeshwant K, Seldin EB, Gateno J, Everett P, White CL, Kikinis R, Kaban LB, Troulis MJ. Analysis of skeletal movements in mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:335-40.
- Ylikontiola LP, Sándor GK, Salokorpi N, Serlo WS. Experience with craniosynostosis treatment using posterior cranial vault distraction osteogenesis. *Ann Maxillofac Surg.* 2012;2:4-7.
- Yukata K, Takahashi M, Yasui N. [Bone fracture and the healing mechanisms. The mechanical stress for fracture healing in view of distraction osteogenesis]. *Clin Calcium.* 2009;19:641-6.
- Zamani AR, Oyadiji SO. Analytical modelling of Kirschner wires in Ilizarov circular external fixator as pretensioned slender beams. *J R Soc Interface.* 2009;6:243-56.

- Zhang RZ, Zhang L, Deng Y, Zhang QL, Zhen EM, Yu B. Reconstruction of mandibular symphyseal defects by an internal trifocal distractor: an experiment in dogs. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009;47:205-9.
- Zheng LW, Cheung LK, Ma L, Wong MC. High-rhythm automatic driver for bone traction: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37:736-40.
- Zhou HZ, Hu M, Hu KJ, Yao J, Liu YP. Transport distraction osteogenesis using nitinol spring: an exploration in canine mandible. *J Craniofac Surg.* 2006;17:943-9.
- Zhou LB, Shang HT, Hu M, Li DC, Sigare S, Chen BL, Liu YP, Zhao JL. Reconstruction of curved mandibular angle defects using a new internal transport distraction device: an experiment in goats. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008;46:445-8.
- Zimmermann CE, Thurmüller P, Troulis MJ, Perrott DH, Rahn B, Kaban LB. Histology of the porcine mandibular distraction wound. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:411-9.
- Zimolo Z, Wesolowski G, Rodan GA. Acid extrusion is induced by osteoclast attachment to bone. Inhibition by alendronate and calcitonin. *J Clin Invest.* 1995;96:2277-83.
- Zou S, Hu J, Wang D, Li J, Tang Z. Changes in the temporomandibular joint after mandibular lengthening with different rates of distraction. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg.* 2001;16:221-5.

Capítulo VI. Anexos

Listagem de Abreviaturas

TGF- β	<i>Transforming growth factor β</i> / Fator de crescimento transformante β
IGF-I	<i>Insulin growth factor-I</i> / Fator de crescimento derivado da insulina
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i> / Fator de crescimento derivado das plaquetas
FGF- β I	<i>Fibroblast growth factor βI</i> / Fator de crescimento de fibroblastos β I
BMP	<i>Bone morphogenic protein</i> / Proteínas morfogenéticas do osso
MSC	<i>Mesenchymal stem cells</i> / Células estaminais mesênquimatosas
PATD	<i>Programmable and Autonomous Tissue Distrator Device</i>
ATM	Articulação temporomandibular
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-β ligand</i> / Ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa β (NF- κ β)
RANK	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-β</i> / Recetor ativador do NF- κ β
OPG	<i>Osteoprotegerin</i> / Osteoprotegerina
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> / Fator de crescimento do endotélio vascular
BMUs	<i>Bone multicellular units</i> / Unidades ósseas multicelulares
BMC	<i>Bone mineral content</i> / Conteúdo mineral ósseo
BMD	<i>Mineral density</i> / Densidade mineral óssea

Listagem de Figuras

Figura 1.1 - Linhas de reversão traduzindo uma intensa remodelação óssea visível ao nível do tecido ósseo esponjoso	10
Figura 1.2 - Linhas de reversão traduzindo uma intensa remodelação óssea visível ao nível do tecido ósseo cortical	10
Figura 1.3 - Modelo biomecânico dos processos de (re)modelação. A aplicação de uma força por unidade de área (tensão) causa a deformação da matriz óssea. Esta deformação é transmitida aos osteócitos que desencadeiam processos de modelação (causando um aumento da massa óssea e da área de aplicação da força), ou remodelação (substituição do tecido ósseo para adaptação funcional ou para remoção dos danos).....	12
Figura 1.4 - Cronologia das diferentes fases da distração osteogénica	32
Figura 1.5 - Esquema dos diferentes tipos de distração.....	33
Figura 1.6 - Esquema dos diferentes tipos de distratores.....	37
Figura 1.7 - Desenho em SolidWorks® do PATD	39
Figura 1.8 - Desenho do exterior do PATD	39
Figura 1.9 - Desenho interior do PATD	40
Figura 1.10 - Desenho lateral e interior do PATD	40
Figura 1.11 - Estrutura de uma pilha de zinco-ar.....	42
Figura 1.12 - Câmara climática FitoClima 300 (Aralab - Equipamentos de Laboratório e Electromecânica Geral, Lda, Lisboa, Portugal).....	43
Figura 1.13 - Desenho em SolidWorks® do suporte utilizado para a pilha de zinco-ar	44
Figura 1.14 - Imagem do setup experimental. Na figura observa-se o robot IRB2400, o circuito teste com os microcontroladores, uma tina com saliva e o suporte acoplado ao braço do robot.....	44
Figura 2.1 - Dentição definitiva de um dos animais sujeitos ao estudo.....	83
Figura 2.2 - Odontograma da dentição do cão com identificação dos dentes que serviram de ancoragem ao aparelho de distração	83
Figura 2.3 - Diagrama da dentição do cão com identificação dos dentes que serviram de ancoragem ao aparelho de distração	84
Figura 2.4 - <i>Workflow</i> do estudo experimental em modelo animal.....	85
Figura 2.5 - Impressão da arcada mandibular para a confecção da moldeira individual.....	87
Figura 2.6 - Fotopolimerizador utilizado na construção das moldeiras individuais	87
Figura 2.7 - Impressão da arcada mandibular e bandas ortodónticas para os modelos de trabalho.....	87
Figura 2.8 - Aspeto final da impressão com moldeira individual	88
Figura 2.9 - Modelo de trabalho em gesso com as bandas ortodónticas.....	88
Figura 2.10 - Adaptação do parafuso de disjunção às bandas ortodónticas	89
Figura 2.11 - Figura demonstrativa da soldagem.....	89
Figura 2.12 - Aspeto final dos aparelhos construídos para cada hemimandíbula para cada animal do estudo experimental	90
Figura 2.13 - Dispositivos embalados e esterilizados.....	90
Figura 2.14 - Prova dos distratores para verificar a correta adaptação	90
Figura 2.15 - Diagrama cronológico das etapas do protocolo de distração osteogénica	91
Figura 2.16 - Colocação de um dos animais na mesa operatória, em decúbito lateral, após indução anestésica geral...	92
Figura 2.17 - Imagem demonstrativa do início da cirurgia num dos animais do estudo.....	92
Figura 2.18 - Perfuração da mucosa e tábua óssea vestibular para a colocação do parafuso.....	93
Figura 2.19 - Inserção do parafuso com chave manual.....	93

Figura 2.20 - Aspeto final da colocação dos dois parafusos.....	93
Figura 2.21 - Incisão sagital vestibular inferior	94
Figura 2.22 - Descolamento sub-periósteo, revelando o bordo alveolar e basilar bem como a face externa vestibular do ramo horizontal da mandíbula correspondente ao local da osteotomia.....	94
Figura 2.23 - Osteotomia da tábua óssea externa vestibular da com serra elétrica de movimento recíproco.....	95
Figura 2.24 - Movimentos de torção com osteótomo até se obter a osteotomia da tábua interna.....	95
Figura 2.25 - Hemóstase por eletrocoagulação	95
Figura 2.26 - Osteotomia completa, após verificação da mobilidade dos segmentos ósseos seccionados.....	96
Figura 2.27 - Sutura reabsorvível com pontos contínuos.....	96
Figura 2.28 - Aspeto final da intervenção cirúrgica.....	96
Figura 2.29 - Polimerização do cimento de ionómero de vidro para cimentação das bandas do distrator	97
Figura 2.30 - Imagem demonstrativa do aspeto final da adaptação e cimentação do distrator.....	97
Figura 2.31 - Imagem demonstrativa do aspeto geral do distrator, bloqueado após o período ativo de distração	99
Figura 2.32 - Exposição das carótidas para preparação do garrote	100
Figura 2.33 - Injeção de formaldeído a 10% tamponado em cada carótida para fixação <i>in vivo</i> dos tecidos	101
Figura 2.34 - Amostras devidamente acondicionadas e identificadas para transporte.....	101
Figura 2.35 - Hemimandíbula esquerda e hemimandíbula direita do mesmo animal de estudo.....	102
Figura 2.36 - Sistema Exakt® para processamento histológico de material não descalcificado instalado no Laboratório de Tecidos Duros da FMUC	103
Figura 2.37 - Pormenor da garra do Sistema Exakt®	103
Figura 2.38 - Hemimandíbula sujeita a corte no Sistema Exakt®	103
Figura 2.39 - Imagem ilustrativa de uma das amostras fixadas em formaldeído a 10% em tampão fosfato (pH 7,4)	104
Figura 2.40 - Unidade de desidratação e infiltração.....	104
Figura 2.41 - Fotopolimerização da resina em moldes plásticos, com emissão de luz no espectro amarelo	105
Figura 2.42 - Fotopolimerização da resina em moldes plásticos, com emissão de luz no espectro azul.....	105
Figura 2.43 - Amostras incluídas em blocos de acrílico	105
Figura 2.44 - Bloco de resina contendo uma amostra da área mandibular distracionada.....	106
Figura 2.45 - Corte dos blocos para preparação da primeira lâmina	106
Figura 2.46 - Montagem da primeira lâmina em prensa com vácuo.....	107
Figura 2.47 - Unidade de polimento inicial.....	107
Figura 2.48 - Prensa fotopolimerizadora para montagem da segunda lâmina pela técnica da <i>sandwich</i>	108
Figura 2.49 - Corte de precisão por ponto de contato da <i>sandwich</i> com a serra de banda diamantada	109
Figura 2.50 - Polimento final da segunda lâmina	109
Figura 2.51 - Micrómetro digital para controlo da espessura final da lâmina	109
Figura 2.52 - Aplicação da água oxigenada na técnica de coloração.....	110
Figura 2.53 - Coloração com solução azul de Toluidina	110
Figura 2.54 - Lâminas finais dos três cortes sagitais de uma das amostras	111
Figura 2.55 - Medição do alongamento sagital com paquímetro.....	111
Figura 2.56 - Aparelho de Raios X portátil utilizado.....	112
Figura 2.57 - Animal em preparação para o controlo radiográfico.....	112
Figura 2.58 - Desenho figurativo do processo de regeneração de acordo com a classificação.....	114
Figura 2.59 - Colocação das fitas de gaze para promover a abertura intermaxilar máxima durante a execução do exame de telerradiografia cefalométrica.....	115

Figura 2.60 - Posicionamento em decúbito lateral para a telerradiografia cefalométrica	115
Figura 2.61 - Posto de controlo do aparelho emissor de raios X e leitura digital dos filmes radiográficos.....	116
Figura 2.62 - Telerradiografia cefalométrica de um dos animais de estudo	116
Figura 2.63 - Imagem da análise cefalométrica de um dos animais de estudo evidenciando o plano de referência e as variáveis cefalométricas	116
Figura 2.64 - Aparelho de absorciometria de Raio X de dupla energia Hologic® QDR 4500.....	117
Figura 2.65 - DEXA scan de cinco hemimandíbulas com as regiões de interesse delimitadas pelo retângulo sobre a zona da distração	118
Figura 2.66 - Exemplar dos relatórios DEXA para estudo estatístico.....	118
Figura 2.67 - Equipamento de microscopia de luz e análise de imagem da Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina de Coimbra.....	119
Figura 2.68 - Etapas da histomorfometria: A- Imagem de um corte sagital da área distracionada, obtida com estereomicroscópio acoplado a um software analítico; B- Delimitação da área de estudo a verde; C- Identificação colorimétrica do novo tecido ósseo mineralizado (áreas amarelas); D- Representação da variável histomorfométrica em relação à área do defeito.....	119
Figura 2.69 - Imagem demonstrativa do estudo histomorfométrico na zona coronal do corte lingual de uma das amostras envolvendo osso nativo e novo tecido ósseo	120
Figura 2.70 - Regiões de interesse apical, mediana e coronal para análise histomorfométrica de uma amostra de grupo de estudo: A - Imagem do corte sagital vestibular; B - Imagem do corte sagital médio; C - Imagem do corte sagital lingual	120
Figura 3.1 - Aspeto da zona distracionada de dois animais, sem qualquer sinal inflamatório observado às três semanas após cirurgia.....	124
Figura 3.2 - Aspeto da face lingual da zona distracionada.....	124
Figura 3.3 - Relação intermaxilar antes do início do protocolo de distração.....	125
Figura 3.4 - Relação intermaxilar após a distração osteogénica.....	125
Figura 3.5 - Radiografia pós-operatória evidenciando a osteotomia.....	127
Figura 3.6 - Radiografia à primeira semana após a osteotomia (período de latência)	128
Figura 3.7 - Radiografia evidenciando a separação dos fragmentos seccionados ao terceiro dia de distração.....	128
Figura 3.8 - Imagem radiográfica de uma hemimandíbula no final do alongamento mandibular após bloqueio do dispositivo de distração	129
Figura 3.9 - Imagem radiográfica, às duas semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 1 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 2....	129
Figura 3.10 - Imagem radiográfica, às quatro semanas do período de consolidação, demonstrativa da transição do estágio Tipo 2 para o estágio Tipo 3	130
Figura 3.11 - Imagem radiográfica, às seis semanas do período de consolidação, com as duas hemimandíbulas no estágio Tipo 3. É visível, na hemimandíbula esquerda, a zona de mineralização com as mesmas dimensões dos segmentos ósseos distracionados anterior e posterior	131
Figura 3.12 - Imagem radiográfica, às oito semanas do período de consolidação, com a hemimandíbula esquerda no estágio Tipo 4 e a hemimandíbula direita no estágio Tipo 5	131
Figura 3.13 - Imagem radiográfica demonstrando em pormenor a radiopacidade característica da mineralização da totalidade do espaço distracionado sem evidência de corticalização (estádio Tipo 4).....	132
Figura 3.14 - Imagem radiográfica, às dez semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 6 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 5....	132
Figura 3.15 - Imagem radiográfica, às onze semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com a hemimandíbula do Grupo B no estágio Tipo 5 e a hemimandíbula do Grupo C no estágio Tipo 6....	133

Figura 3.16 - Imagem radiográfica, às doze semanas do período de consolidação, da mandíbula de um dos animais, com as duas hemimandíbulas no estágio Tipo 6, demonstrativas da presença de uma zona uniforme de mineralização a preencher todo o espaço de distração de cada hemimandíbula, unindo os segmentos anterior e posterior, com as duas margens evidenciando a corticalização	133
Figura 3.17 - Aspeto histológico da região lingual, onde é possível observar a diferente organização do tecido ósseo. É notória a diferente organização do tecido ósseo compacto da região cortical da crista alveolar e bordo basilar, da organização trabecular do tecido ósseo esponjoso do septo interdentário. É ainda visível o espaço correspondente ao trajeto do nervo alveolar inferior	153
Figura 3.18 - Corte histológico da região cortical vestibular, no sentido corono-apical, pondo em evidência o tecido ósseo compacto que a constitui . De assinalar a presença do espaço correspondente ao canal mandibular.....	154
Figura 3.19 - Maior ampliação da imagem anterior demonstrando a interligação das trabéculas ósseas, constituídas por tecido ósseo lamelar. De notar a presença de processos de remodelação com formação de estruturas osteónicas secundárias e terciárias.....	155
Figura 3.20 - Maior ampliação de uma região da imagem anterior evidenciando o aspeto histológico peculiar das lamelas, em corte longitudinal, que formam o tecido ósseo compacto adjacente ao nervo alveolar inferior. São também visíveis linhas de reversão que indiciam a ocorrência de processos de remodelação no tecido ósseo compacto do bordo basilar da mandíbula.....	155
Figura 3.21 - Corte histológico evidenciando a constituição do periodonto de sustentação. É visível a camada de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar propriamente dito.....	156
Figura 3.22 - Corte histológico proveniente da hemimandíbula direita mostrando uma união completa entre as margens dos segmentos distraçados formada por uma grande densidade de trabéculas ósseas. É ainda possível observar que a maioria das trabéculas apresenta uma orientação paralela à direção da distração. De notar ainda a sua continuidade com as margens do defeito	158
Figura 3.23 - Corte histológico pondo em evidência as diferentes características estruturais do tecido ósseo nativo e a rede de trabéculas ósseas neoformadas.....	158
Figura 3.24 - Presença de uma nítida linha de demarcação na interface do tecido ósseo original e o tecido ósseo neoformado no espaço de distração.....	159
Figura 3.25 - Aspeto histológico das trabéculas ósseas recém-formadas evidenciando na sua constituição a presença de áreas de tecido ósseo imaturo rodeadas por tecido ósseo lamelar e algumas zonas de osteóide.....	159
Figura 3.26 - Aspeto histológico de um corte proveniente da superfície vestibular demonstrando a presença de trabéculas ósseas delgadas e, na zona central do espaço de distração, áreas de matriz cartilaginosa	160
Figura 3.27 - Trabéculas ósseas em processo de remodelação com áreas de tecido ósseo imaturo, de tecido ósseo lamelar e osteóide separadas por linhas de reversão.....	160
Figura 3.28 - Aspeto das trabéculas ósseas onde se observam grandes áreas de tecido ósseo lamelar contendo no entanto, no seu interior, algumas áreas de tecido ósseo imaturo	161
Figura 3.29 - Presença de uma grande densidade de trabéculas ósseas, ocupando uma extensa região entre a face externa do osso cortical e o respetivo perióstio. É também possível observar uma área de tecido ósseo com características de imaturidade, adjacente ao perióstio, e uma outra mais madura, evidenciando já nítidos processos de remodelação, localizada junto ao tecido ósseo cortical.....	161
Figura 3.30 - Corte histológico evidenciando a extensa área de tecido ósseo entre a face externa do osso cortical e o perióstio e um nítido processo de ossificação intramembranosa.....	162
Figura 3.31 - Maior ampliação da imagem anterior demonstrando o processo de ossificação intramembranosa observado na proximidade do perióstio.....	162

Figura 3.32 - Corte proveniente de uma apófise alveolar de um dos dentes adjacentes à zona cirúrgica demonstrando um certo estímulo osteogénico, certamente, relacionado com o trauma cirúrgico	163
Figura 3.33 - Grande ampliação de uma região central, abaixo do canal alveolar, onde se observa a presença de uma ilha de fibrocartilagem rodeada por tecido ósseo imaturo caracterizado por uma grande densidade e disposição irregular dos osteócitos. São também visíveis estruturas que sugerem o início de processos de remodelação	163
Figura 3.34 - Maior ampliação da imagem anterior mostrando o processo de mineralização de cartilagem, presente em raros casos, no centro do espaço de distração	164
Figura 3.35 - Imagem proveniente da superfície lingual evidenciando a grande densidade de tecido ósseo neoformado no espaço de distração, não sendo identificáveis áreas de matriz cartilaginosa.....	164
Figura 3.36 - Corte histológico evidenciando uma certa heterogeneidade na distribuição do tecido ósseo neoformado no espaço de distração. Em relação à região coronal verifica-se uma maior densidade de trabéculas ósseas na porção apical, e sobretudo, na zona média.....	165
Figura 3.37 - Presença de uma zona de tecido ósseo estruturalmente diferente do restante tecido ósseo neoformado no espaço de distração, constituída por uma grande densidade de sistemas de Havers na parede do canal mandibular	166
Figura 3.38 - Maior ampliação da imagem anterior onde é notória a densidade de sistemas de Havers.....	166
Figura 3.39 - Imagem proveniente de um corte da zona vestibular onde é visível que, apesar da grande quantidade de tecido ósseo neoformado, não houve uma união completa dos segmentos distracionados em algumas zonas do espaço de distração	167
Figura 3.40 - Aspeto do preenchimento da zona média (sentido V-L) do espaço de distração onde é visível a união parcialmente completa , por novo tecido ósseo, dos segmentos osteotomizados. De assinalar a existência de deiscência na região mais cervical e, a preservação do espaço correspondente ao canal alveolar	169
Figura 3.41 - Aspeto histológico proveniente de uma secção da hemimandíbula esquerda onde se observa uma acentuada formação de trabéculas ósseas, a partir das margens dos segmentos osteotomizados sem, contudo, ocorrer a sua completa união. De facto, é visível na região central do espaço de distração a presença de um tecido fibrocartilaginoso. De registar também a presença do nervo alveolar inferior	170
Figura 3.42 - Corte histológico da região central do espaço de distração onde é notório o grande número de trabéculas ósseas recém-formadas em sentido centrípeto, sem ocorrer, contudo, a sua completa união. Região ainda caracterizada pela presença de áreas de fibrocartilagem entre as trabéculas ósseas neoformadas	170
Figura 3.43 - Maior ampliação da imagem anterior pondo em evidência a presença de um tecido fibrocartilaginoso na região central do espaço de distração.....	171
Figura 3.44 - Corte histológico demonstrando a presença de um eixo de matriz cartilaginosa, localizado na região central de muitas trabéculas ósseas, traduzindo a fase final de um processo de ossificação endocondral. É também possível observar a presença de tecido ósseo imaturo e de estruturas que indiciam o início de processos de remodelação	171
Figura 3.45 - Grande ampliação da região central do espaço de distração, proveniente de uma amostra do lado vestibular, demonstrando a presença de cartilagem hialina.....	172
Figura 3.46 - Aspeto da zona central do espaço de distração evidenciando a não união dos segmentos distracionados. É visível a não união entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo nativo, bem como a presença de tecido conjuntivo fibroso na região central.....	172
Figura 3.47 - Maior ampliação da imagem anterior onde é notória a ocorrência de um processo de ossificação intramembranoso adjacente às trabéculas ósseas neoformadas	173
Figura 3.48 - Aspeto histológico que permite observar a coexistência de processos de ossificação intramembranosa e endocondral que concorriam em simultâneo em zonas específicas do espaço de distração. É também notória a imaturidade do tecido ósseo recém-formado, mais evidente na região esquerda da imagem	173

Figura 3.49 - Maior ampliação da zona esquerda representada na imagem anterior evidenciando a ocorrência de um processo de ossificação do tipo endocondral com septos lacunares preenchidos com condrócitos hipertrofiados	174
Figura 3.50 - Aspeto histológico de um processo de ossificação do tipo intramembranoso representado na região direita da Figura 3.48. Regista-se um desenvolvimento de tecido ósseo diretamente a partir de tecido conjuntivo ricamente vascularizado. Há uma síntese inicial de feixes condensados de fibras de colagénio que servem de matriz de suporte, e de osteóide, cuja subsequente mineralização resulta na formação de tecido ósseo imaturo.....	174
Figura 3.51 - Processo de remodelação óssea. É visível uma frente de reabsorção, com células com perfil osteoclástico e uma frente de deposição com osteoblastos e osteóide	175
Figura 3.52 - Fenómenos de atividade de reabsorção/remodelação do tecido ósseo sendo identificável a presença de células com um perfil osteoclástico. É interessante notar a sua proximidade às estruturas vasculares...	175
Figura 3.53 - Presença de uma nítida linha de demarcação entre o tecido ósseo recém-formado e o tecido ósseo nativo. É ainda visível um processo de remodelação óssea, identificando células com um perfil morfológico de um osteoclasto e uma fileira de células cúbicas, em paliçada, com perfil osteoblástico. De salientar a presença de osteóide e a assinalável densidade de estruturas vasculares	176
Figura 3.54 - Presença de uma grande densidade de tecido ósseo, ocupando uma extensa área entre a face externa do osso cortical e o respetivo periósteeo. De registar ainda o diferente grau de maturação do tecido ósseo neofomado localizado adjacente ao periósteeo, com trabéculas recém-formadas por tecido ósseo imaturo (+), do que aquele que está adjacente à face externa do osso cortical, já com uma estrutura lamelar	176
Figura 3.55 - Corte histológico demonstrando a união completa, por novo tecido ósseo, entre as margens dos segmentos osteotomizados. Verifica-se, também, a presença de tecido ósseo neofomado reforçando a área entre o tecido ósseo nativo e o periósteeo	177
Figura 3.56 - Aspeto histológico de um corte obtido da região média, pondo em evidência as diferenças na organização microscópica do tecido ósseo neofomado, particularmente nas proximidades da parede do canal mandibular	177
Figura 3.57 - Maior ampliação da imagem anterior evidenciando a enorme densidade de sistemas de Havers, contrastando com a restante organização estrutural do tecido ósseo formado no espaço de distração.....	178

Listagem de Gráficos

Gráfico 1.1 - Densidade energética da pilha por massa e volume em relação a outras pilhas primárias disponíveis no mercado.....	41
Gráfico 1.2 - Queda do potencial em condições de teste a 50% de humidade relativa e 37°C de temperatura.....	45
Gráfico 1.3 - Queda do potencial em condições de teste a 70% de humidade relativa e 37°C de temperatura.....	45
Gráfico 1.4 - Queda do potencial em condições de teste a 90% de humidade relativa e 37°C de temperatura.....	46
Gráfico 1.5 - Queda do potencial da pilha zinco-ar quando a entrada de oxigénio fica impedida	46
Gráfico 1.6 - Restabelecimento do potencial energético da pilha.....	47
Gráfico 1.7 - Comportamento energético da pilha submersa em saliva, com ciclos de 2 minutos.....	47
Gráfico 3.1 - Variação do peso entre o início e o fim do período experimental.....	123
Gráfico 3.2 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo B após distração osteogénica....	126
Gráfico 3.3 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo C após distração osteogénica ...	126
Gráfico 3.4 - Medição clínica das alterações sagitais nas hemimandíbulas do Grupo A durante o período do protocolo de distração osteogénica	126
Gráfico 3.5 - Evolução do processo de regeneração óssea na zona distracionada durante o período de consolidação....	134
Gráfico 3.6 - Médias marginais das medidas lineares.....	135
Gráfico 3.7 - Variação do comprimento hemimandibular entre T1 e T2.....	135
Gráfico 3.8 - Médias marginais das medidas angulares.....	136
Gráfico 3.9 - Variação plano mandibular entre T1 e T2.....	137
Gráfico 3.10 - Médias marginais de BMC nos diferentes grupos.....	138
Gráfico 3.11 - Valores individuais de BMC em cada grupo	139
Gráfico 3.12 - Médias marginais de BMD nos diferentes	140
Gráfico 3.13 - Valores individuais de BMD em cada grupo	140
Gráfico 3.14 - Médias marginais (%) estimadas nas duas hemimandíbulas do grupo de controlo	142
Gráfico 3.15 - Tecido mineralizado na região de interesse.....	142
Gráfico 3.16 - Médias marginais (%) estimadas no grupo B e no grupo C.....	143
Gráfico 3.17 - Tecido mineralizado na região de interesse dos grupos B e C.....	143
Gráfico 3.18 - Médias marginais (%) estimadas nos diferentes cortes do grupo B.....	144
Gráfico 3.19 - Tecido mineralizado nos diferentes cortes do grupo B.....	145
Gráfico 3.20 - Médias marginais (%) estimadas nos diferentes cortes do grupo C.....	146
Gráfico 3.21 - Tecido mineralizado nos diferentes cortes do grupo C.....	146
Gráfico 3.22 - Médias marginais (%) estimadas nos cortes sagitais.....	147
Gráfico 3.23 - Percentagem de novo osso presente na globalidade de cada um dos cortes sagitais da região de interesse das amostras dos grupos de teste.....	147
Gráfico 3.24 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse do grupo B.....	148
Gráfico 3.25 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse do grupo B.....	149
Gráfico 3.26 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse do grupo C	150
Gráfico 3.27 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse do grupo C.....	150
Gráfico 3.28 - Médias marginais (%) estimadas nas diferentes zonas da área de interesse dos grupos de teste.....	151
Gráfico 3.29 - Percentagem de novo osso presente nas zonas coronal, mediana e apical da região de interesse de todas as amostras dos grupos de teste.....	151

Listagem de Quadros

Quadro 1.1 - Artigos de distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial. MEDLINE 1996 a1999.....	51
Quadro 1.2 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica mandibular.....	53
Quadro 1.3 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica maxilar.....	54
Quadro 1.4 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica simultânea da mandíbula e maxilar.....	54
Quadro 1.5 - Protocolos de tratamento para a distração osteogénica andar médio da face e/ou crânio.....	55
Quadro 1.6 - Concordância nos protocolos de tratamento para a distração osteogénica.....	56
Quadro 1.7 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica mandibular para diferentes modelos animais.....	57
Quadro 1.8 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica maxilar para diferentes modelos animais.....	57
Quadro 1.9 - Parâmetros biológicos da distração osteogénica do andar médio da face para diferentes modelos animais.....	58
Quadro 1.10 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o cão como modelo animal.....	59
Quadro 1.11 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o rato como modelo animal.....	60
Quadro 1.12 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o porco como modelo animal.....	60
Quadro 1.13 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram a ovelha como modelo animal.....	60
Quadro 1.14 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o coelho como modelo animal.....	60
Quadro 1.15 - Estudos experimentais de distração osteogénica para alongamento sagital mandibular que utilizaram o macaco como modelo animal.....	60

Listagem de Tabelas

Tabela 1.1 - Trabalhos experimentais com distratores automáticos.....	38
Tabela 1.2 - Vantagens e desvantagens das pilhas de zinco-ar. Adaptado de (Linden e Reddy, 2002).....	41
Tabela 1.3 - Alguns estudos clínicos mais relevantes sobre distração osteogénica.....	50
Tabela 2.1 - Tabela de identificação dos animais da amostra.....	82
Tabela 2.2 - Síntese do protocolo dos diferentes grupos.....	85
Tabela 2.3 - Propriedades biomecânicas do dispositivo de alongamento.....	89
Tabela 2.4 - Classificação do processo de regeneração de acordo com a análise dos parâmetros observados nas radiografias intra-orais.....	113
Tabela 3.1 - Resultados e estatística descritiva das medidas lineares.....	135
Tabela 3.2 - Resultados e estatística descritiva das medidas angulares.....	136
Tabela 3.3 - Comparação de médias de BMC entre o grupo de controlo e o grupo B.....	138
Tabela 3.4 - Comparação de médias de BMC entre o grupo de controlo e o grupo C.....	138
Tabela 3.5 - Comparação de médias de BMC entre o grupo B e o grupo C.....	138
Tabela 3.6 - Comparação de médias de BMD entre o grupo de controlo e o grupo B.....	139
Tabela 3.7 - Comparação de médias de BMD entre o grupo de controlo e o grupo C.....	140
Tabela 3.8 - Comparação de médias de BMD entre o grupo B e o grupo C.....	140
Tabela 3.9 - Percentagem de tecido mineralizado na região de interesse do grupo A.....	141
Tabela 3.10 - Percentagem de novo osso nos grupos B e C.....	143
Tabela 3.11 - Percentagem de novo osso nos diferentes cortes sagitais do grupo B.....	144
Tabela 3.12 - Percentagem de novo osso nos diferentes cortes sagitais do grupo C.....	145
Tabela 3.13 - Percentagem global de novo osso nos diferentes cortes sagitais.....	147
Tabela 3.14 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse do grupo B.....	148
Tabela 3.15 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse do grupo C.....	149
Tabela 3.16 - Novo osso nas diferentes zonas da região de interesse dos grupos de teste.....	151

Capítulo VII. Índice

Índice

Agradecimentos.....	XVII
Sumário	XIX
Capítulo I. Introdução.....	1
1. Exposição da problemática	3
2. Tecido ósseo.....	5
2.1. Dinâmica e remodelação do tecido ósseo.....	8
3. Origem e evolução da distração osteogénica.....	15
4. Distração osteogénica aplicada ao esqueleto crânio-facial.....	23
4.1. Origem e evolução	23
5. Princípio da distração osteogénica	31
6. Dispositivos de distração osteogénica.....	35
7. Revisão da literatura sobre o protocolo da distração osteogénica	49
9. Efeitos sobre os tecidos associados.....	69
10. Processos biológicos da distração osteogénica	73
Capítulo II. Estudo Experimental em Modelo Animal	77
1. Objetivos.....	79
2. Materiais e Métodos.....	81
2.1. Animal de experimentação	81
2.2. Manutenção e bem estar animal	81
2.3. Aparelho estomatognático e fórmula dentária do cão.....	82
2.4. Definição dos grupos de estudo	84
2.5. Organização e cronologia do trabalho	85
2.6. Anestesia e sedação	85
2.7. Dispositivo de alongamento sagital mandibular.....	86

2.8. Protocolo da distração osteogénica	91
2.8.1. Cirurgia	91
2.8.1.1. Colocação dos dispositivos de alongamento mandibular	97
2.8.1.2. Medicação e manipulação pós-operatória	98
2.8.2. Período de latência	98
2.8.3. Período de distração	98
2.8.4. Período de consolidação	99
2.8.5. Eutanásia e necropsia dos animais	100
2.9. Colheita do material de estudo	101
2.10. Processamento histológico	102
2.10.1. Fixação e desidratação	104
2.10.2. Infiltração e polimerização	104
2.10.3. Corte inicial da amostra	106
2.10.4. Montagem da amostra	107
2.10.5. Polimento inicial da amostra	107
2.10.6. Montagem do <i>slide</i> final	108
2.10.7. Corte e polimento final	108
2.10.8. Coloração	110
2.11. Medição clínica	111
2.12. Análise radiográfica intra-oral	112
2.13. Telerradiografia cefalométrica e análise cefalométrica	114
2.14. Análise por Absorciometria de Raio X de Dupla Energia - DEXA	117
2.15. Análise histológica qualitativa	118
2.16. Análise histológica quantitativa	119
2.17. Análise estatística dos dados	121
3. Resultados	123
3.1. Evolução do estado de saúde dos animais e observações clínicas	123
3.2. Análise macroscópica	124
3.3. Análise clínica do alongamento mandibular	124
3.4. Avaliação radiográfica	127
3.4.1. Controlo radiográfico pós-cirúrgico	127
3.4.2. Controlo radiográfico no período de latência	127
3.4.3. Controlo radiográfico no período de distração	128
3.4.4. Controlo radiográfico no período de consolidação	129
3.4.4.1. Entre zero e duas semanas de consolidação	129
3.4.4.2. Entre duas e quatro semanas de consolidação	130
3.4.4.3. Entre quatro e seis semanas de consolidação	130
3.4.4.4. Entre seis e oito semanas de consolidação	131
3.4.4.5. Entre oito e dez semanas de consolidação	132
3.4.4.6. Entre dez e doze semanas de consolidação	133
3.5. Avaliação da telerradiografia e análise cefalométrica	134
3.5.1. Variável cefalométrica linear: <i>Molar Inferior LM - Canino Inferior LC</i>	134
3.5.2. Variável cefalométrica angular: <i>Côndilo Mandibular Cd - Apófise Angular Aa - Incisivo Inferior Li</i>	136

3.6. Avaliação da Absorciometria de Raio X de Dupla Energia - DEXA.....	137
3.6.1. Conteúdo mineral ósseo – BMC	137
3.6.2. Densidade mineral óssea – BMD	139
3.7. Histomorfometria	141
3.7.1. Preenchimento de tecido ósseo na região de interesse do grupo de controlo.....	141
3.7.2. Preenchimento de novo tecido ósseo na região de interesse dos grupos de teste.....	142
3.7.2.1. Análise global e comparação entre os grupos de teste B e C.....	142
3.7.2.2. Comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual do grupo B.....	144
3.7.2.3. Comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual do grupo C.....	145
3.7.2.4. Análise global e comparação entre os cortes vestibular, médio e lingual	146
3.7.2.5. Comparação entre as zonas coronal, mediana e apical do grupo B.....	148
3.7.2.6. Comparação entre as zonas coronal, mediana e apical do grupo C	149
3.7.2.7. Análise global e comparação das zonas coronal, mediana e apical	150
3.8. Observação em microscopia de luz	152
3.8.1. Grupo Controlo – Grupo A	152
3.8.2. Grupo submetido à distração múltipla – Grupo B.....	156
3.8.3. Grupo submetido à distração única – Grupo C.....	167
4. Discussão	179
5. Conclusões.....	195
Capítulo III. Resumo	197
Capítulo IV. Abstract.....	201
Capítulo V. Bibliografia	205
Capítulo VI. Anexos.....	232
Listagem de Abreviaturas	235
Listagem de Figuras	236
Listagem de Gráficos.....	242
Listagem de Quadros	243
Listagem de Tabelas.....	244
Capítulo VII. Índice.....	245

