

OBSERVAÇÕES DA COMPACTA ÓSSEA DO CORPO DA MANDÍBULA DO COELHO APÓS SUA SECÇÃO, EMPREGANDO A MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

li-sei WATANABE*
Áurea do Carmo Pêpe AGULHA*
Horácio FAIG-LEITE**
Miguel C. MADEIRA***

- **RESUMO:** Com a finalidade de estudar modificações estruturais do osso compacto, reveladas pela microscopia eletrônica de varredura, foi praticada uma secção unilateral na compacta da face lateral do corpo da mandíbula, na direção dos primeiros molares, em quatro coelhos adultos. Estes foram sacrificados nos períodos pós-operatórios de 10 dias, 1, 4 e 6 meses, e o osso em questão foi preparado para ser examinado ao microscópio eletrônico de varredura. A secção óssea provocou acentuadas modificações estruturais. Aos 10 dias, a superfície óssea era extremamente irregular, com proeminências e depressões sem nenhum padrão morfológico, mas com frentes de ossificação em franco progresso. Com um mês pós-operatório, a cicatrização já estava bem adiantada, com inúmeros forames vasculares e outros sinais de remodelação progressiva e regressiva. Aos quatro meses, a superfície óssea mostrava vestígios de atividade celular e apresentava irregularidades morfológicas e muitos forames vasculares. Aos oito meses, a superfície óssea da área seccionada era mais lisa e regular, mas ainda apresentava rugosidades e indícios de remodelação progressiva e regressiva.
- **UNITERMOS:** Osso e ossos; mandíbula; microscopia eletrônica de varredura.

Introdução

A microscopia eletrônica de varredura tem sido utilizada no estudo da organização morfológica do tecido ósseo, em seus estados de formação, reabsorção e repouso.^{2, 3, 6, 9, 20} Modificações estruturais têm sido analisadas por este método em locais em que o osso sofreu cirurgias experimentais, tais como: remoção do arco

* Departamento de Anatomia – Instituto de Ciências Biomédicas – USP – 05508 – São Paulo – SP.

** Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

*** Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

zigomático,¹⁸ condilectomia mandibular,^{5, 12, 21} fraturas do zigomático^{4, 17} e da cabeça da mandíbula,⁷ transposição de inserção muscular¹¹ e extração de dentes.^{13, 14, 19}

Em trabalho feito anteriormente por alguns de nós,¹ a compacta óssea do lado externo do corpo da mandíbula de coelhos foi seccionada transversalmente, para o estudo do rearranjo da estrutura fibrosa do osso, pelas técnicas das linhas de fenda e sua interpretação morfofuncional. Com o mesmo animal e procedimento cirúrgico igual, é nosso propósito examinar agora a superfície da mesma área seccionada, através da microscopia eletrônica de varredura, para identificar as modificações morfológicas.

Material e métodos

Foram utilizados quatro coelhos adultos, com peso variando entre 4,0 kg e 4,5 kg. Os animais foram submetidos à anestesia geral, e, após tricotomia e anti-sepsia, foi realizada uma incisão unilateral em forma de "T" na pele da região masseterica, buscando acesso à mandíbula. O lado direito foi mantido íntegro e utilizado como controle. Uma vez afastados os tecidos moles, a compacta óssea da face lateral do corpo da mandíbula foi seccionada verticalmente com o auxílio de uma broca cilíndrica montada em um motor de chicote (Riocar).

A secção atingiu cerca de 1,0 cm de comprimento por 2,0 mm de largura e de profundidade. A secção se estendeu de um nível abaixo dos dois primeiros molares até a base da mandíbula (inclusive). Durante este procedimento, a área foi intensamente irrigada com solução fisiológica a fim de se evitar a necrose do tecido ósseo. A seguir, os tecidos moles foram reposicionados e suturados com fio de náilon. Passados aproximadamente 8 dias, os pontos cirúrgicos foram removidos.

Os animais foram sacrificados com dose excessiva de anestésico após os períodos de 10 dias, 1, 4 e 8 meses.

As peças contendo a região operada e área normal foram fixadas em solução de Karnovsky modificada, contendo 2,5% de glutaraldeído e 2% de paraformaldeído em solução tampão fosfato de sódio a 0,1M e pH 7,4.

Após 24 horas de fixação, foi tratado com solução de hipoclorito de sódio a 5% durante 5 dias.^{8, 15, 21}

Desidratou-se em série crescente de etanol, secagem em estufa a 60 °C durante 5 minutos. A montagem das peças em bases metálicas foi feita com a pasta de zinco e cobertura com íons de ouro em aparelho "Ions Sputter", SDC-040, Balzers. As peças foram examinadas ao microscópio eletrônico de varredura Jeol, JSM-P15.

Resultados

As áreas normais de superfície óssea caracterizavam-se pela presença de pequenos forames de diâmetros que variavam de 0,5 a 5,0 micrometros com o osso cortical liso e regular, revestido de feixes de fibras colágenas (Figura 1).

A área operada mostrou um aspecto extremamente irregular. Houve modificações acentuadas na superfície óssea. Aos 10 dias pós-operatórios, a área era tomada por um osso irregular, desorganizado estruturalmente, com crateras e forames irregulares e pontos de deposição tecidual e de fibras colágenas invadindo o local da secção óssea, como verdadeiras frentes de ossificação (Figuras 2 e 3).

Um mês após a secção óssea, o processo de cicatrização já estava bem adiantado. O tecido ósseo reparador apresentava uma grande quantidade de forames vasculares de diâmetros variados (Figuras 4 e 5) e sinais de um tecido ósseo ativo francamente em reabsorção, mostrando características lacunas de reabsorção entremeadas com forames e fendas (Figura 6).

Aos 4 meses pós-operatórios, a superfície óssea ainda mostrava um osso irregular, contendo trabéculas ósseas de tamanhos variáveis e grande número de forames de diferentes diâmetros. Estas características são notadas nitidamente na figura de menor aumento (Figura 7). A Figura 8 mostra vários forames e a superfície das trabéculas neoformadas. Em maior aumento, forames e a disposição de feixes de fibras colágenas da superfície óssea são evidenciados na Figura 9.

Oito meses após a secção, a neoformação óssea apresentou uma superfície mais regularizada e lisa, com diminuição dos forames vasculares tanto em quantidade quanto em diâmetro (Figura 10). Entretanto, em certos locais, o tecido ósseo ainda se mostrou bastante ativo, com sinais de remodelação regressiva, com áreas de reabsorção, que consistiam de numerosas lacunas circundadas por cristas baixas, e de remodelação progressiva, com lacunas de osteócitos, características de superfície depositária (Figura 11). Apresentava ainda projeções ósseas irregulares formadas por fibras colágenas calcificadas em locais de deposição (Figura 12).

Discussão

Neste estudo não houve propriamente fratura, muito menos mobilidade das partes separadas. Mas a secção foi suficiente para provocar modificações estruturais acentuadas. Os resultados acima descritos e ilustrados mostram, nos primeiros dias, uma superfície óssea rugosa, irregular, sem nenhum padrão morfológico. Ao lado de modificações degenerativas, há um processo de remodelação progressiva, repre-

sentado, principalmente, por um osso "entrelaçado". É um osso de caráter imaturo de aposição rápida, característica de casos que Weinmann & Sicher²² chamam de medida de emergência, como é o caso presente da secção, que precisa ser imediatamente reparada.

Quando não há emergência na deposição óssea, esta se faz lentamente, com as fibras colágenas arrançadas paralelamente, dentro de um padrão morfológico bem definido.^{3, 6}

Além da remodelação progressiva, há, também, nas várias fases pós-operatórias, presença de grande quantidade de forames vasculares e sinais de uma remodelação regressiva, evidenciando uma seqüência de atividade celular bastante acentuada.^{2, 3, 10, 13, 15, 16} Os forames representam alto grau de vascularização e resultado de rápida remodelação óssea. Wampler et al.¹⁶ acrescentam que, quando os forames vasculares estão associados a lacunas de reabsorção multiloculares, representam áreas de remodelação regressiva.

Nos casos de fratura, que não são muito diferentes da secção óssea, o processo de reconstrução dos dois fragmentos persiste por vários anos. "Formação de camadas compactas no calo ósseo, dissolução de osso compacto dos fragmentos e sua substituição por osso esponjoso e, finalmente, criação de trajetórias esponjosas são as características essenciais deste processo."²²

Na superfície, as irregularidades ósseas também permanecem por bastante tempo. No trabalho anterior,¹ a mandíbula parcialmente seccionada do coelho mostrou desorganização na superfície, pelo menos até 17 meses pós-operatórios. Não é de se estranhar, pois, que aos 8 meses pós-operatórios a microscopia eletrônica de varredura consiga detectar grande atividade osteoclástica e osteoblástica, traduzida por irregularidades morfológicas.

A neoformação óssea deste estudo se assemelha ao processo de reparação ou cicatrização de fraturas descrito nos trabalhos de Costa et al.,⁴ Kuroki,⁷ Mizusaki et al.¹³ e Watanabe & Okamoto.¹⁷

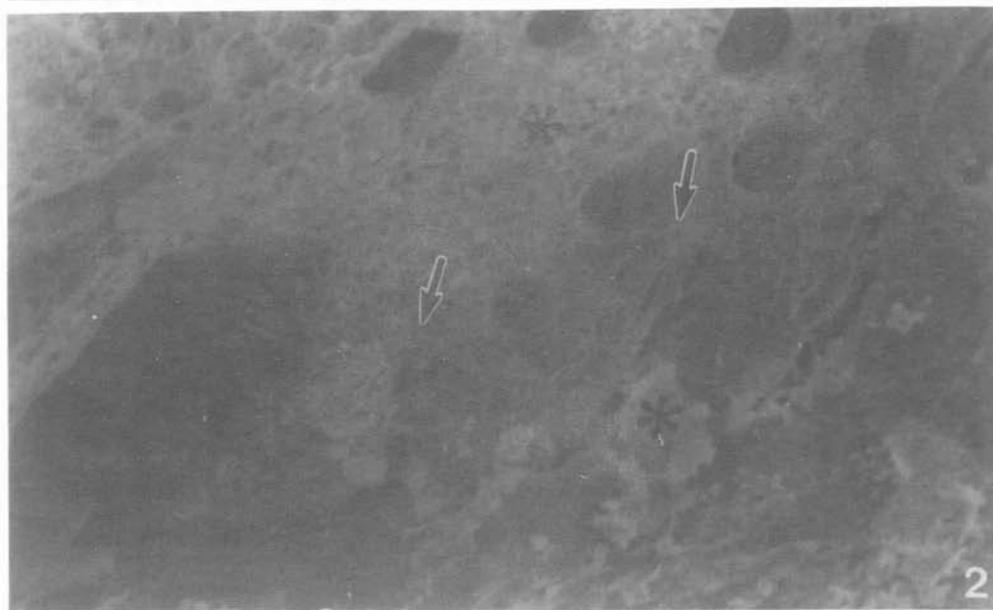
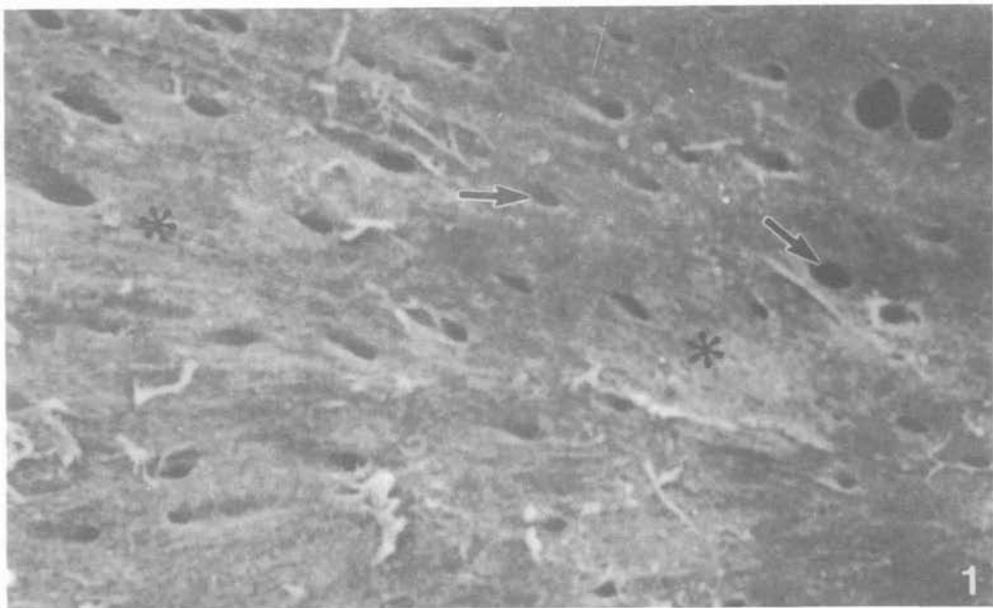


FIGURA 1 - Região da face lateral do corpo da mandíbula do coelho abaixo dos molares (lado controle), vista ao microscópio eletrônico de varredura. Mostra um osso homogêneo, liso, fibras colágenas densamente empacotadas (*) e forames vasculares (setas). 150X.

FIGURA 2 - Lado operado, 10 dias pós-operatórios. Superfície óssea irregular, mostrando uma frente de formação óssea, com osso imaturo (*) e fibras colágenas incompletamente mineralizadas (setas). 300X.

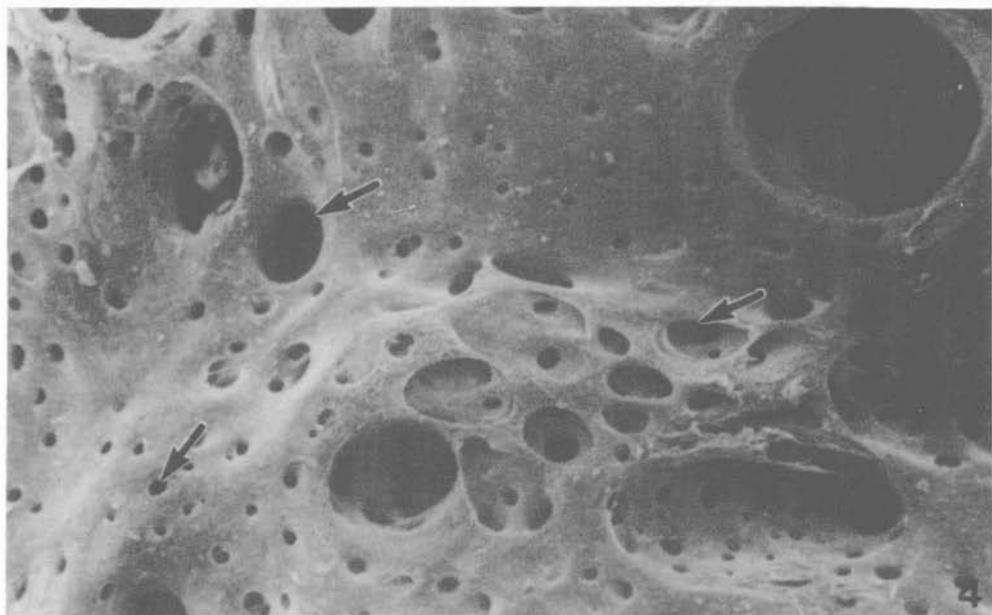
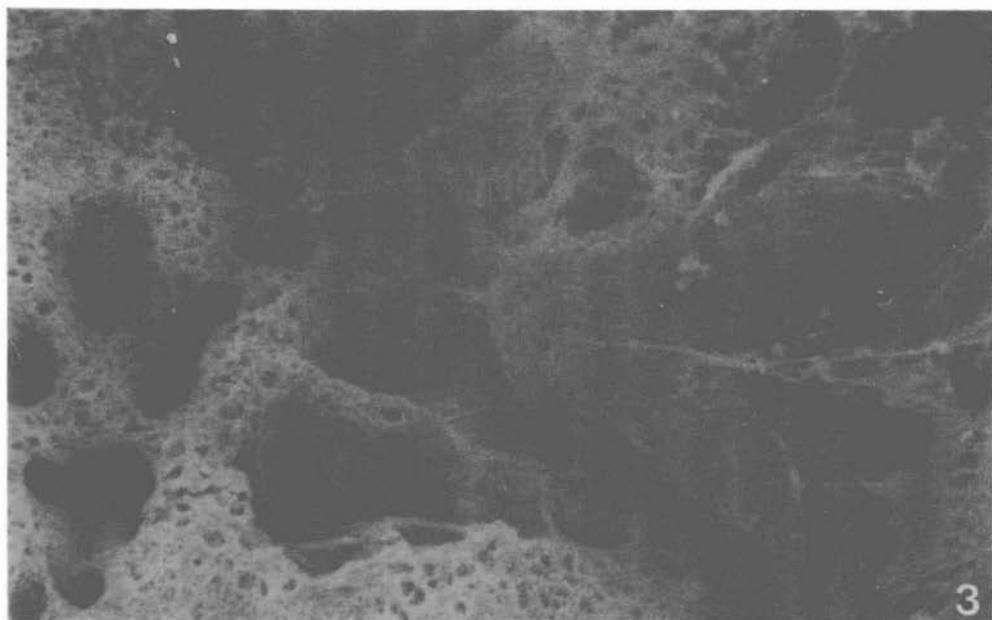


FIGURA 3 - Lado operado, 10 dias. Maior aumento de área semelhante à da figura anterior, para mostrar frente de formação óssea associada a modificações degenerativas. 240X.

FIGURA 4 - Lado operado, um mês. Tecido ósseo ativo, em franco estado de remodelação, com elevado número de forames vasculares de diferentes diâmetros (setas) e lacunas. 120X.

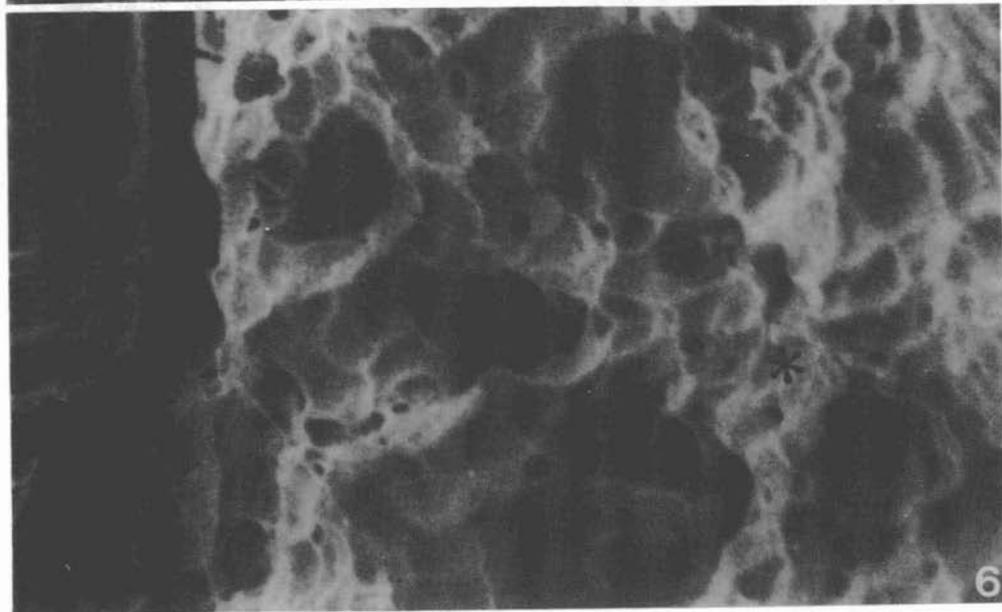
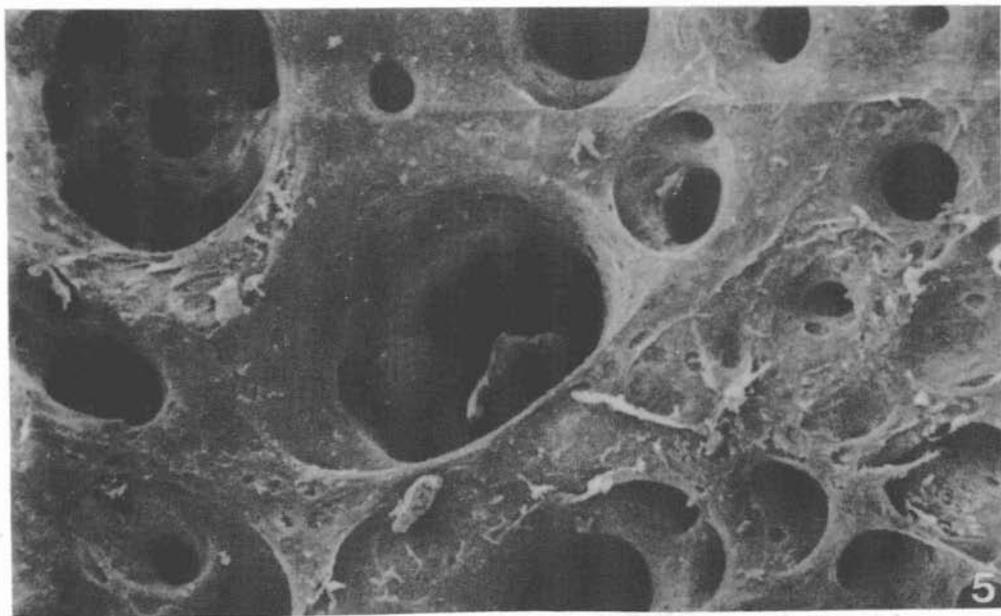


FIGURA 5 - Lado operado, um mês. Maior aumento de área semelhante à da figura anterior. 500X.

FIGURA 6 - Lado operado, um mês. Superfície próxima àquelas das figuras anteriores para mostrar extensa área de reabsorção (*), demonstrando acentuada atividade osteoclástica. 850X.

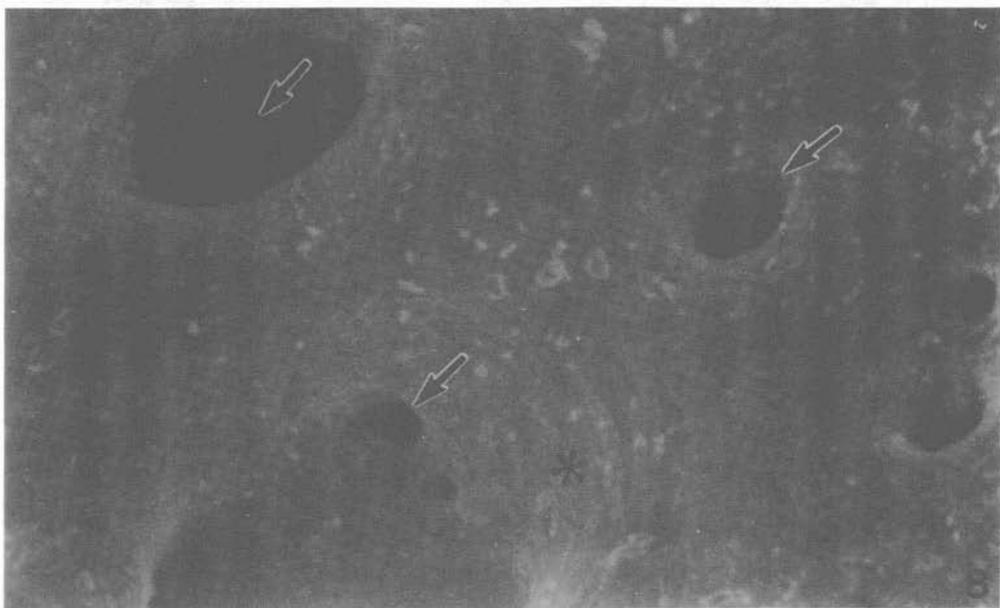
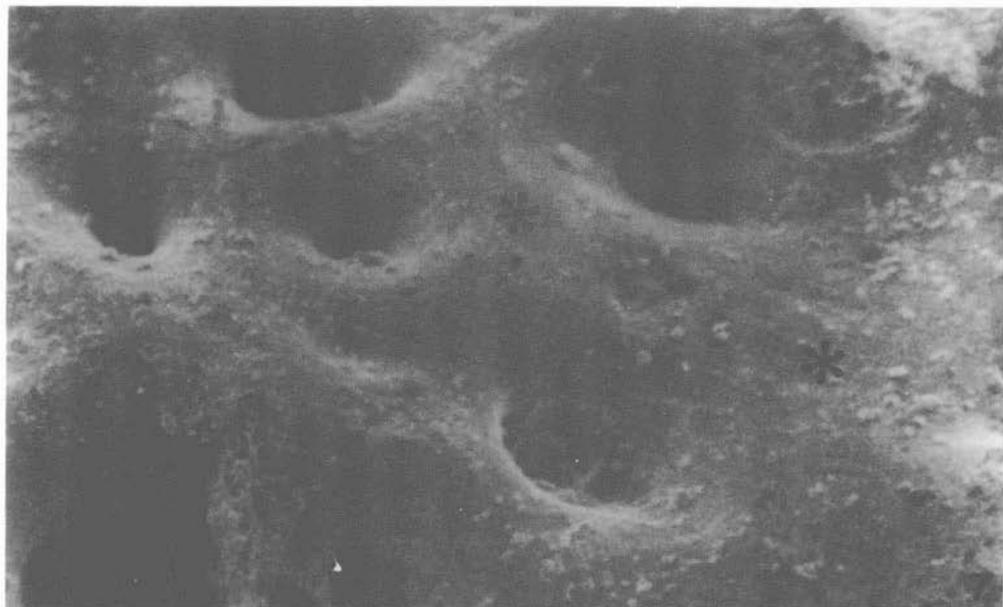


FIGURA 7 - Lado operado, quatro meses. Tecido ósseo maduro, fibras colágenas densamente empacotadas (*) e número diminuído de forames vasculares. 240X.

FIGURA 8 - Lado operado, quatro meses. Maior aumento de área da figura anterior, mostrando os forames vasculares (setas) e feixes de fibras colágenas (*). 220X.

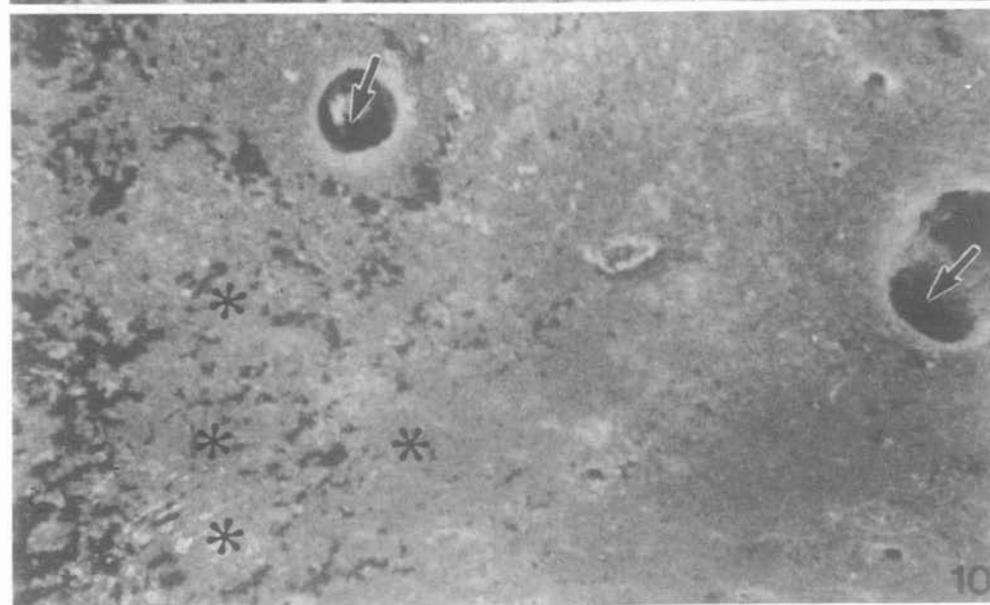
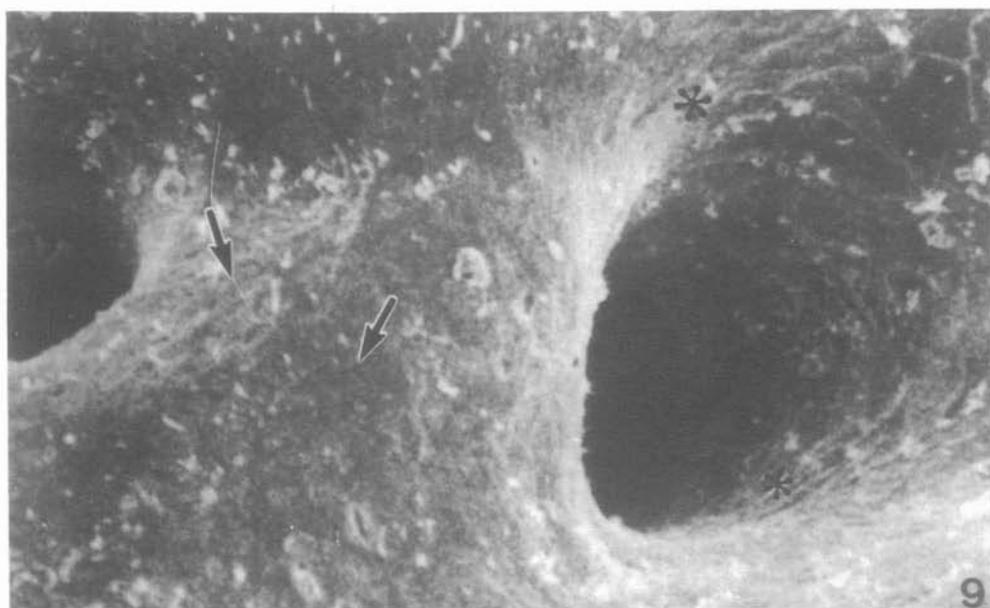


FIGURA 9 – Lado operado, quatro meses. Aumento maior ainda das figuras anteriores, evidenciando a disposição circular de feixes de fibras colágenas que circundam os forames vasculares (*) e a disposição de tecido conjuntivo superficial (setas). 430X.

FIGURA 10 – Lado operado, oito meses. Área de osso homogêneo, liso (*), com poucos forames (setas), semelhante ao lado controle. 110X.

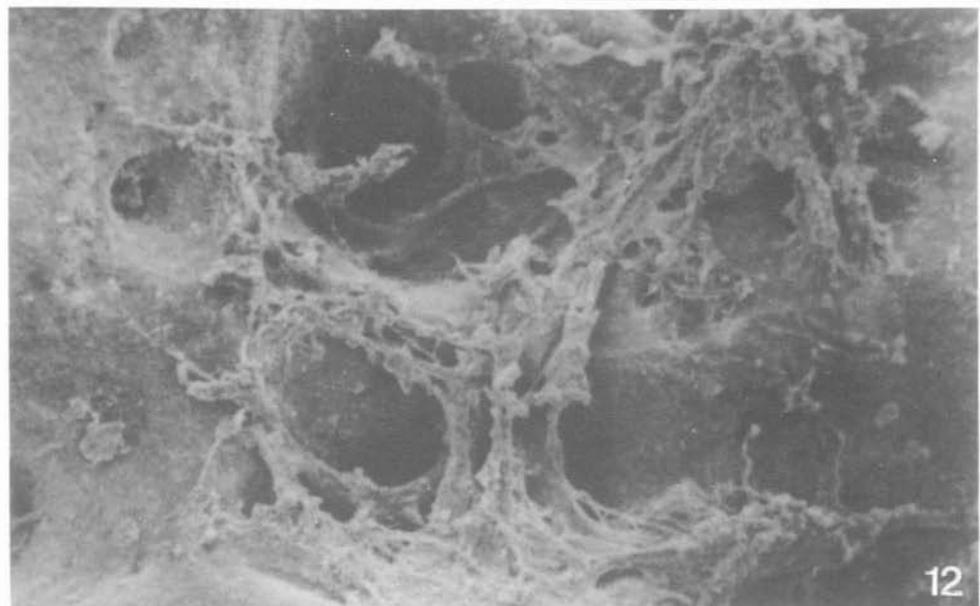
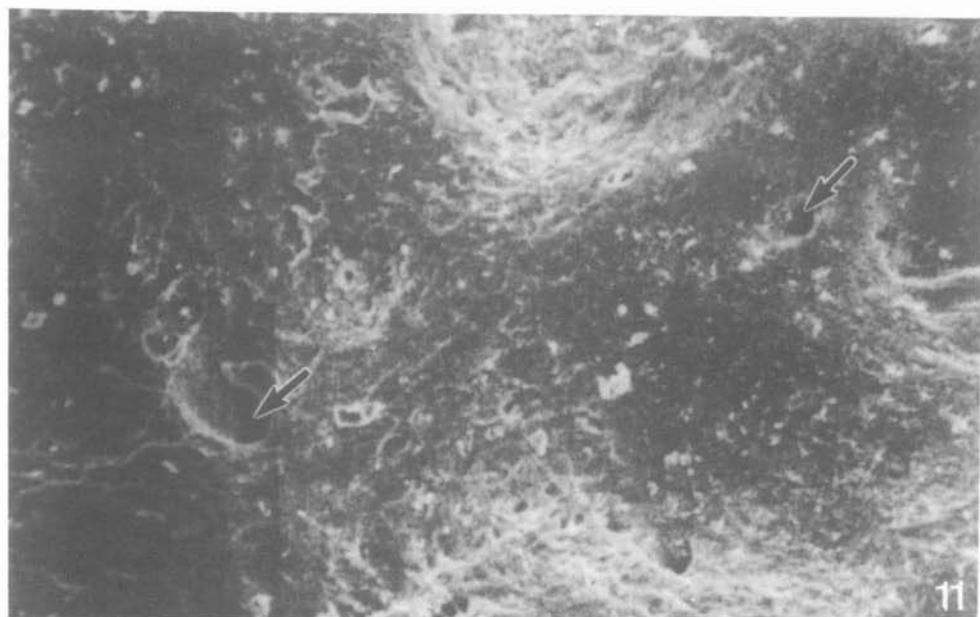


FIGURA 11 - Lado operado, oito meses. Área de atividade osteoclástica, entremeada com áreas de exostoses e pequenos forames vasculares (setas). 140X.

FIGURA 12 - Lado operado, oito meses. Área de formação, com irregularidades ósseas bem evidentes. 180X.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Nilso Barelli, Vice-Diretor do Instituto de Química do Campus de Araraquara, UNESP, por ter permitido a utilização do microscópio eletrônico de varredura.

WATANABE, I. et al Structural changes in the cortical bone of the mandible following its section in the rabbit. Scanning electron microscopic study. *Rev. Odontol. UNESP*, São Paulo, v., 22, n. 1, p. 43-55, 1993.

- **ABSTRACT:** *With the aim of studying changes in the fine structure of the cortical bone, as revealed by the scanning electron microscopy, unilateral section of this bone on the mandibular body was performed in four adult rabbits. At postoperative periods of 10 days, 1, 4, and 8 months, the animals were sacrificed, dissected, and the bone area of interest was prepared to be examined with the aid of the scanning electron microscope. Bone section caused remarkable morphological changes with preponderance of apposition in the first periods. At ten days, the bone surface was extremely rugged containing irregular prominences and depressions, with ossification fronts of immature character in progress. On the first month, the healing process was already advanced in the area of section, showing a great deal of vascular foramina and other signs of progressive and regressive remodelling. At four months the bone surface contained vestiges of cellular activity and exhibited morphological irregularities and many vascular foramina. At eight months, the irregularities on the sectioned area were less pronounced but still remained together with signs remodelling activity.*
- **KEYWORDS:** *Bone and bones; mandible; scanning electron microscopy.*

Referências bibliográficas

1. AGULHA, A. do C. P. et al. Observações, pela técnica das linhas de fenda, da arquitetura da compacta óssea do corpo da mandíbula após sua secção. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 20, p. 101-11, 1991.
2. BOYDE, A. Scanning electron microscope studies of bone. In: BOURNE, G. H. (Ed.). *The biochemistry and physiology of bone*. 2. ed. New York: Academic Press, 1972. v. 1, p. 259-310.
3. BROMAGE, T. G. Mapping remodeling reversals with the aid of the scanning electron microscope. *Am. J. Orthod.*, v. 81, p. 314-21, 1982.
4. COSTA, J. R. et al. Changes in structure of the facial bones after experimental fracture and displacement of the zygomatic bone in the tufted capuchin (*Cebus apella*) by means of radiography, the split-line technique, and scanning electron microscopy. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, v. 59, p. 321-36, 1982.

5. GARCIA, A. R. *Contribuição para o estudo do processo de reparo após condilectomia mandibular em ratos. Estudo ao microscópio óptico e eletrônico de varredura.* Araçatuba, 1985. Tese (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista.
6. KREMPIEN, B. Bone modelling processes at the endosteal surface of human femora. *Virchows Arch. Path. Anat. Histol.*, v. 382, p. 73-88, 1979.
7. KUROKI, M. *Reparação óssea da cabeça da mandíbula após fratura ao nível do colo da mandíbula em ratos. Estudo aos microscópios óptico e eletrônico de varredura.* Araçatuba, 1986. Tese (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista.
8. LESTER, K. S., ASH Jr., M., LILLIE, J. H. Condylar cartilage: A scanning electron microscope study of anorganic mammalian condyles. *J. Prosthet. Dent.*, v. 45, p. 422-9, 1981.
9. KAO, T. H. et al. Características peculiares da área de origem do músculo masseter, em ratos. Estudo do microscópio eletrônico de varredura. *An. Anat. Nor.*, Chile, v. 6, p. 122-6, 1988.
10. MADEIRA, M. C. et al. Vascularização arterial da superfície articular da mandíbula do macaco-prego (*Cebus apella*) após condilectomia. Estudo através da microscopia eletrônica de varredura. *Rev. Bras. Ciên. Morfol.*, v. 1, p. 35-40, 1984.
11. MADEIRA, M. C. et al. Modificações estruturais da compacta óssea da mandíbula decorrentes da transposição do músculo masseter, no coelho. Estudo pela microscopia eletrônica de varredura. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 18, p. 325-33, 1989.
12. MARTINS, A. A. et al. Influência da condilectomia mandibular unilateral sobre a arquitetura óssea da mandíbula e do temporal do macaco-prego (*Cebus apella*). Estudo através da radiografia, da técnica das linhas de fenda e da microscopia eletrônica de varredura. *Actual. Odontol.* (Buenos Aires), v. 14, p. 46-57, 1983.
13. MIZUSAKI, C. I., WATANABE, I., SEMPRINI, M. Changes in the alveolar vestibular bone compact following extraction of an incisor tooth in rats. Scanning electron microscopy study. *Rev. Bras. Ciên. Morfol.*, v. 2, p. 16-23, 1985.
14. SELA, J., JAFFE, A. The role of bone remodelling in the healing of extraction socket in rats. *Acta Anat.*, v. 97, p. 241-7, 1977.
15. TAKIGUCHI, R., KAMIJO, Y. Scanning electron microscopical study on morphological changes in surface of the mandibular joint because of resorption. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, v. 16, p. 163-75, 1975.
16. WAMPLER, H. W., TEBO, H. G., PINERO, G. J. Scanning electron microscopic and radiographic correlation of articular surface and supporting bone of the mandibular condyle. *J. Dent. Res.*, v. 59, p. 754-61, 1980.
17. WATANABE, I., OKAMOTO, T. Aspectos ultra-estruturais do calo ósseo após a remoção cirúrgica do arco zigomático. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. *Rev. Reg. Araçatuba Assoc. Paul. Cirurg. Dent.*, v. 2, p. 43-7, 1981.
18. WATANABE, I. et al. Estudo da sutura zigomaticotemporal normal e modificada após fratura e deslocamento do osso zigomático no macaco-prego (*Cebus apella*), através da microscopia eletrônica de varredura. *Naturalia*, v. 7, p. 99-105, 1982.

19. WATANABE, I., OKAMOTO, T. Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. *Vida Odontol.* (Lisboa), v. 11, p. 73-81, 1982a.
20. WATANABE, I., SEMPRINI, M. Modificações da superfície da compacta óssea da face externa do ramo da mandíbula após a condilectomia em ratos. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. *Rev. Bras. Ciên. Morfol.*, v. 4, p. 13-9, 1987.
21. WATANABE, I., SEMPRINI, M. Superfície da compacta óssea do ramo da mandíbula em ratos. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. *An. Anat. Nor.*, Chile, v. 6, p. 118-21, 1988.
22. WEINMANN, J. P., SICHER, H. *Bone and bones*. 2. ed. St. Louis: Mosby, 1955, p. 135.

Recebido em 17.7.1992.