

## Reparo de falha palatina tratada com diferentes enxertos periosteais

*Juliana de Paiva TOSATO<sup>a</sup>, Paulo Henrique Ferreira CARIA<sup>a</sup>, José Ângelo CAMILLI<sup>b</sup>*

<sup>a</sup>*Departamento de Morfologia, Faculdade de Odontologia, UNICAMP, 13414-903 Piracicaba - SP, Brasil*

<sup>b</sup>*Instituto de Biologia, UNICAMP, 13083-970 Campinas - SP, Brasil*

Tosato JP, Caria PHF, Camilli JA. Repair of palate defect treated by different periosteal graft. Rev Odontol UNESP. 2008; 37(1): 27-31.

**Resumo:** Alternativas para a continuidade óssea no reparo de fenda palatina têm sido pesquisadas, principalmente opções que substituam os problemas como enxerto de osso autógeno em osteoplastias no início do tratamento. O enxerto periosteal pode ser usado como um método alternativo, pois o alcance e a morbidade sobre o local doador são menores que o enxerto de osso autógeno. Proposta: Avaliar o potencial de reparação do enxerto periosteal do fêmur em defeito ósseo induzido na pré-maxila. Material e métodos: O defeito foi produzido na pré-maxila de ratos e dois grupos com 20 animais foram utilizados: 1º) tratados com o mucoperósteo da pré-maxila; e 2º) tratados com o periósteo do fêmur. Resultados: As radiografias, em ambos os grupos, não apresentaram sinais de formação óssea após 2, 4 e 8 semanas. Somente após dezesseis semanas houve evidência radiográfica com pontos de radiolucidez na margem do defeito, em ambos os grupos. Ocorreu proliferação celular em ambos os periósteos enxertados. O tecido ósseo cresceu a partir da margem do defeito em todos os casos, mas não houve total reparo do defeito. Conclusões: O retalho periosteal livre do fêmur, embora dezesseis semanas após a implantação não tenha promovido a total reparação da falha óssea provocada, apresentou sinais evidentes de favorecimento ao processo de reparo ósseo bem como impediu a migração dos tecidos adjacentes que limitariam esse processo.

**Palavras-chave:** *Periósteo; regeneração óssea; fissura palatina.*

**Abstract:** Alternatives to bone continuity in cleft palate repair have been searched, mainly options to substitute problems with autogenous bone graft in osteoplasty in the beginning of the treatment. The periosteal graft can be used like an alternative method because the attainment and morbidity over the donor local is lower than autogenous bone graft. Propose: To investigate the potential of femur periosteal graft to repair an induced-maxillary bone defect. Materials and methods: a defect was produced in the premaxillary bone of rats and two groups with 20 animals were utilized: 1<sup>st</sup>) treated with the mucoperiosteal from the premaxilla; 2<sup>nd</sup>) treated with periosteal graft from femur. Results: The radiographic aspect in both groups showed no signs of bone formation after 2, 4 and 8 weeks. Only after sixteen weeks, there was radiographic evidence with points of radiolucency from the margin of the defect in both groups. Cell proliferation occurred from both periosteum types grafted. Bone tissue grew from margin to inner of the defects in all cases but have no total bone repair of the defect. Conclusions: The periosteal graft from the femur did not promote the total repair of the bone defect after sixteen weeks, but presented favorable signals of bone regeneration and hindered the adjacent tissue migration that could limit this process.

**Keywords:** *Periosteum; bone regeneration; cleft palate.*

## Introdução

A continuidade óssea no reparo de fendas lábio-palatinas tem sido motivo de preocupação bem como a busca de alternativas para os efeitos deletérios do emprego de osteoplastia no estágio inicial do tratamento<sup>1</sup>.

Embora os enxertos ósseos autógenos sejam frequentemente utilizados no reparo de falhas ósseas<sup>2,3</sup>, o procedimento cirúrgico para obtenção desses enxertos é traumático e pode resultar em complicações como dores crônicas, infecções, parestesia e recuperação prolongada<sup>4-6</sup>.

Por este motivo, é importante o desenvolvimento de técnicas que substituam, inicialmente, os enxertos ósseos autógenos. Os enxertos periosteais podem ser usados como método alternativo, pois a sua obtenção e a morbidade sobre a área doadora, são menores quando comparadas ao enxerto ósseo<sup>7,8</sup>.

O enxerto periosteal autógeno retirado da tíbia foi usado pela primeira vez em 1965 por Skoog, para correção de fenda palatina e, desde então, tem apresentado resultados satisfatórios<sup>3</sup>.

Diante dos resultados promissores dessa técnica, outros estudos também apresentaram resultados satisfatórios, explorando o potencial osteogênico do periosteio<sup>2-3,9,10</sup>.

Considerando a necessidade de alternativas para o enxerto de osso autógeno e a capacidade osteogênica dos enxertos periosteais, o presente trabalho avaliou o reparo de falhas ósseas produzidas cirurgicamente na pré-maxila de ratos tratadas com o enxerto periosteal obtido do fêmur ou com o mucoperiosteio do palato.

## Material e método

### Animais

Foram utilizados 40 ratos Wistar de ambos os sexos, com oito semanas de idade e aproximadamente 250 g de peso.

### Procedimentos

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos para pesquisa animal determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal do Instituto de Biologia da Universidade de Campinas.

Antes da realização dos procedimentos, os animais foram anestesiados com solução 1:1 de ketamina e cloridrato de xylazina (2%), na dose de 0,1 ml.100 g<sup>-1</sup>, administrados via intramuscular.

O mucoperiosteio da pré-maxila de todos os animais foi incisado ao longo da rafe palatina e foi cuidadosamente levantado até a exposição da superfície óssea. Posteriormente, foi produzida uma falha óssea na pré-maxila, imediatamente atrás dos incisivos superiores, com o auxílio de uma broca esférica de 2 mm de diâmetro, acoplada a um minimotor

odontológico em baixa rotação e sob umidificação permanente do local. O retalho periosteal do fêmur foi obtido após os seguintes passos: tricotomia, incisão na pele da coxa esquerda do animal e afastamento dos músculos da face antero-medial do terço distal do fêmur. O periosteio foi seccionado e posteriormente removido, raspando-se firmemente a cortical do osso com a lâmina de bisturi, para assegurar a retirada da camada interna osteogênica (*cambium layer*). Foram formados 2 grupos de 20 animais cada: Grupo 1 - falha recoberta com mucoperiosteio da pré-maxila; e Grupo 2 - falha recoberta com periosteio do fêmur.

O mucoperiosteio da pré-maxila e o retalho periosteal do fêmur foram suturados sobre a falha óssea com fio de sutura de seda 8.0. Durante toda a experimentação, os animais foram tratados com ração balanceada e água *ad libitum*. Cada grupo foi subdividido em 4 subgrupos com 5 animais e submetidos à eutanásia nos períodos de 2, 4, 8 e 16 semanas após a cirurgia, respectivamente. Após a eutanásia, os crânios de todos os animais foram radiografados.

Os crânios foram fixados em formol a 10% por 72 horas e descalcificados em solução de EDTA. Foram obtidos cortes longitudinais semi-seriados da falha óssea, com 7 µm de espessura e corados com HE.

Após os procedimentos de preparo, os dados foram analisados e apresentados de forma descritiva, segundo observações radiográficas e histológicas.

## Resultado

### Observações radiográficas

Grupo 1 - falha recoberta com mucoperiosteio da pré-maxila:

Duas semanas após a cirurgia, nenhuma evidência radiográfica de crescimento ósseo foi observada. Após quatro semanas, discretos pontos de radiopacidade, partindo da margem da falha óssea, foram visíveis. Após oito semanas, observaram-se pontos radiopacos que sugeriam crescimento ósseo partindo da margem da falha produzida (Figura 1). Após dezesseis semanas, observou-se uma imagem radiopaca difusa no interior da falha, sugerindo uma possível neoformação óssea na região central da falha, porém, sem completo preenchimento.

Grupo 2 - falha recoberta com periosteio do fêmur:

Duas semanas após a cirurgia, não foi evidenciada formação óssea no local. Após a quarta semana, houve aumento da radiopacidade no interior da falha. Após oito semanas, embora sem preenchê-la totalmente, foram observadas a presença de pontos radiopacos e o limite impreciso da margem da falha, indicando a formação de osso no local. Nos animais com 16 semanas, pequenas áreas radiopacas no interior da falha indicaram presença de osso neoformado (Figura 2).



**Figura 1.** Radiografia da pré-maxila do rato após 8 semanas de pós-operatório (grupo 1). Pontos de radiopacidade junto da falha indicam discreta presença de tecido ósseo neoformado (seta).

#### Observações histológicas

Grupo 1 - falha recoberta com mucoperiósteo da pré-maxila:

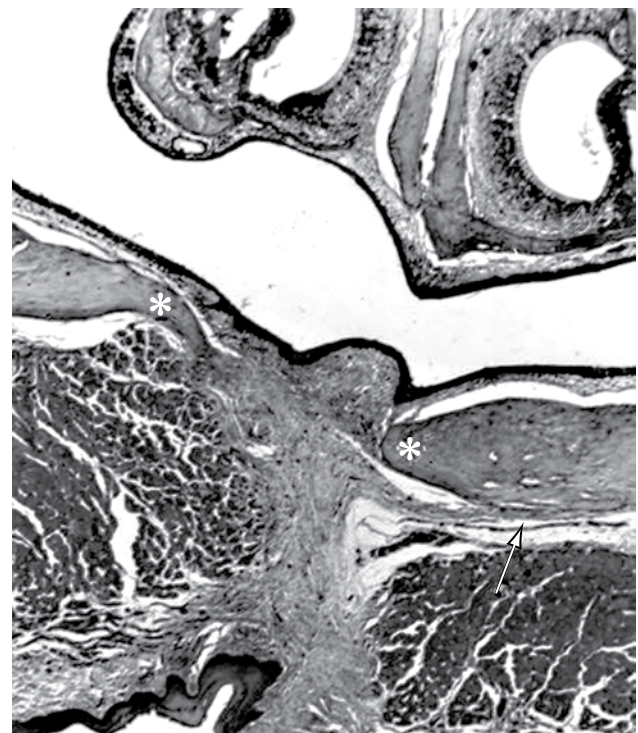
Após duas semanas, observou-se discreta proliferação de tecido ósseo partindo da margem da falha bem como do septo nasal. Houve espessamento do mucoperiósteo, com proliferação celular que invadiu o local operado. Após quatro e oito semanas, a falha óssea foi quase totalmente preenchida por tecido conjuntivo contendo células semelhantes a fibroblastos e vasos sanguíneos. O tecido ósseo, partindo da margem da falha e do septo nasal, cresceu para o seu interior e apresentou aspecto maturo. Após dezesseis semanas, embora a maior parte da falha da pré-maxila tenha persistido, foi possível observar osso neoformado junto às margens e ao septo nasal (Figura 3).

Grupo 2 - falha recoberta com periósteo do fêmur:

Com duas semanas de pós-operatório, foi observada discreta formação óssea partindo da margem da falha e do septo nasal, com a presença de tecido conjuntivo com infiltrado de células preenchendo a falha. Após quatro semanas, o tecido ósseo era mais abundante junto da margem da falha e do septo nasal. O periósteo apresentou-se inalterado com pouca atividade osteogênica. Depois de oito e dezesseis semanas, foi observada deposição de tecido ósseo junto à margem da falha e septo nasal (Figura 4). Tecido conjuntivo frouxo com células semelhantes a fibroblastos preencheu a parte central da falha.

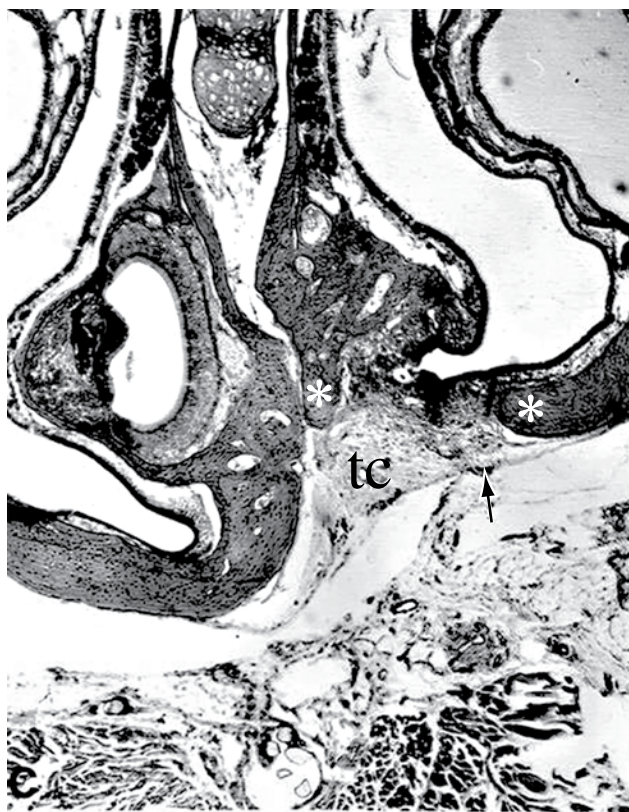


**Figura 2.** Radiografia da pré-maxila do rato, após dezesseis semanas de pós-operatório (grupo 2). A imagem radiopaca partindo da margem da falha (seta) sugere crescimento ósseo a partir do defeito em direção à imagem circular radiolúcida da falha óssea.



**Figura 3.** Seção histológica frontal do defeito ósseo recoberto com o mucoperiósteo da pré-maxila (grupo 1). Tecido ósseo neoformado partindo da margem do defeito (estrela branca). Não houve reparação após dezesseis semanas. O mucoperiósteo está indicado (seta branca) e apresenta discreta proliferação celular (Aumento original H&E, x32).





**Figura 4.** Seção histológica frontal do defeito ósseo recoberto com o mucoperiósteo do fêmur (grupo 2). Após oito semanas, foi possível observar presença de tecido ósseo junto às margens da falha e a partir do septo nasal (estrelas brancas). O periósteo enxertado apresentou-se inalterado cobrindo o defeito (seta preta) - (tc- tecido conjuntivo) (Aumento original H&E, x32).

## Discussão

A confecção cirúrgica da falha óssea com 2 mm de diâmetro na pré-maxila do rato constitui modelo adequado para a avaliação do reparo de fendas palatinas. Este fato pôde ser confirmado porque em nenhum dos casos ocorreu fechamento espontâneo até a décima sexta semana após a cirurgia. Esses resultados estão de acordo com Takano-Yamamoto et al.<sup>11</sup>, que estudaram os efeitos de enxertos da matriz óssea desmineralizada sobre a diferenciação de osteoblastos em defeitos de 2 mm na pré-maxila de ratos e concluíram tratar-se de bom modelo para estudar o tratamento de fendas palatinas e alveolares. Matzen et al.<sup>12</sup> criaram no rato uma fenda óssea mediana de 5 mm de comprimento e 2 mm de largura que não apresentou fechamento espontâneo da falha óssea.

No presente trabalho, a análise histológica mostrou que ocorreu deposição de osso principalmente junto à margem da falha e do septo nasal. Em ambos os procedimentos (periósteo retirado tanto da pré-maxila como do fêmur), não foi possível demonstrar se o crescimento de tecido ósseo na

região central da falha ocorreu a partir do enxerto de periósteo. Barro et al.<sup>13</sup> não encontraram osteogênese a partir do mucoperiósteo local que recobriu a falha óssea produzida no palato de cães. Matzen et al.<sup>12</sup> encontraram osso neoformado apenas a partir da margem de fenda longitudinal de 2 mm de largura produzida no palato ósseo de ratos. Em todos os casos, a região central da fenda foi preenchida por tecido conjuntivo fibroso. Os autores atribuíram esse resultado à invasão de células não osteogênicas provenientes do tecido mole adjacente ou ao tempo de experimentação de sete semanas, que pode ter sido curto para o reparo ósseo completo.

Ritsilä et al.<sup>14</sup> concluíram, depois de avaliarem 63 pacientes, que o enxerto periosteal da tíbia produz mais osso em menor tempo quando comparado ao periósteo da maxila. Outros estudos realizados por Ritsilä et al.<sup>15</sup> apresentaram resultados semelhantes. Uddströmer, Ritsilä avaliaram o potencial osteogênico do enxerto periosteal da tíbia no tratamento de defeito ósseo produzido na calvária de coelhos. Eles demonstraram que o periósteo da tíbia foi capaz de promover o completo reparo da falha, enquanto o periósteo da calvária apresentou pouco potencial osteogênico. Nossos resultados não permitiram concluir sobre a superioridade dos enxertos obtidos do fêmur, no entanto acredita-se que ele, por se tratar de um osso longo como a tíbia, apresenta maior capacidade osteogênica, além da vascularização ser mais abundante devido ao calibre dos vasos. A semelhança qualitativa entre os dois tipos de enxertos encontrados em nosso experimento provavelmente se deve ao fato do enxerto de periósteo do fêmur utilizado não ser vascularizado, fato que pode ter diminuído seu potencial osteogênico. Por outro lado, o mucoperiósteo da pré-maxila permaneceu vascularizado, o que poderia influenciar positivamente no processo reparativo.

O acompanhamento do pós-operatório prolongado em humanos destaca os excelentes resultados obtidos graças ao potencial osteogênico do periósteo<sup>3</sup>. A permanência da falha óssea produzida neste experimento pode ser atribuída à manutenção da atividade mastigatória habitual dos animais no pós-operatório imediato. A movimentação do local deve ter impedido o contato direto do retalho periosteal sobre a falha óssea.

## Conclusão

O retalho periosteal livre do fêmur, embora dezesseis semanas após a implantação não tenha promovido a total reparação da falha óssea provocada, apresentou sinais evidentes de favorecimento ao processo de reparo ósseo bem como impediu a migração dos tecidos adjacentes que limitariam esse processo.

## Agradecimentos:

CAPES, CNPq e FAEPEX.

## Referências

1. Morand B, Duroure F, Raphael B. The bony deficit in cleft lip and palate: review of procedures. Experience with the tibial periosteal graft. *Orthod Fr.* 2004;75:217-28.
2. Bonin B, Picard A, Stricker M. Developmente of the maxilla in patients with complete unilateral cleft palate surgically treated by a periosteal transplantation technic. A retrospective study of 15 surgical cases with an 18 year follow-up. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2001;102:162-8.
3. Raphael B, Morand B, Bettega G, Lesne C, Lesne V. Alveolar and hard palate repair by tibial periosteal graft in complete unilateral cleft lip and palate. Long-term follow-up 51 cases. *Ann Chir Plast Esthet.* 2002;47:196-203.
4. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Sakuda M. Effect of a pulsing electromagnetic field on demineralized bone-matrix induced bone formation in a bony defect in the premaxilla of rats. *J Dent Res.* 1992;71:1920-5.
5. Kostopoulos L, Karring T. Role of periosteum in the formation of jaw bone. An experiment in the rat. *J Clin Periodontol.* 1995;22:247-54.
6. Ransford AO, Morley T, Edgard MA, Webb P, Passiti N, Chopin D, et al. Synthetic porous ceramic compared with autograft in scoliosis surgery. *J Bone Joint Surg.* 1998;80:13-8.
7. Dailiana Z, Shiamishis G, Niokou D, Malizos KN. Vascularized periosteum: a n alternative to the reconstruction of small skeletal defects. *J Hand Surg [Br]* 2000;25(Suppl I):49-52.
8. Volegin MDE, Jones NF, Lieberman JR, Baker JM, Tsingotjidou BJH. Prefabrication of a vascularized periosteal flap and bone morphogenetic protein. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109:190-8.
9. Rintala AE, Ranta R. Periosteal flaps and grafts in primary clefts repair: A follow-up. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83:17-24.
10. Brownlon HC, Reed A, Joyner C, Simpson AHW. Anatomical effects of periosteal elevation. *J Orthop Res.* 2000;18:500-2.
11. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Sakuda M. Defects of the rat premaxilla as a model of alveolar clefts for testing bone-inductive agents. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51:887-91.
12. Matzen M, Kostopoulos L, Karring T. Healing of osseous submucous cleft palates with guided bone regeneration. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg.* 1996;30:161-7.
13. Barro WB, Latham RA. Palatal periosteal response to surgical trauma. *Plast Reconstr Surg.* 1981;67:6-8.
14. Ritsilä V, Alhopuro S, Gylling V, Rintala A. The use of free periosteum for bone formation in congenital clefts of the maxilla. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1972;6:57- 60.
15. Ritsilä V, Alhopuro S, Rintala A. Bone formation with free periosteal grafts in reconstruction of congenital maxillary clefts. *An Chirurg Gynaecol.* 1976;65:342-44.
16. Uddströmer L, Ritsilä V. Osteogenic capacity of periosteal grafts. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1978;12:207-14.

