

Utilização da Esclera Bovina para Correção de Fratura em Assoalho de Órbita de Coelhos

Bovine Sclerae Graft for Orbital Floor Fracture in Rabbits

*José Mariano Carvalho Costa**, *Lucas Gomes Patrocínio***, *Rafael De Rossi****, *Ângela B. C. Amorim*****,
*José Antônio Patrocínio******.

* Professor e Chefe do Setor de Cirurgia Crânio-Maxilo-Facial do Serviço de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia.

** Residente do Serviço de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia.

*** Professor do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

**** Cirurgiã Buco-Maxilo-Facial.

***** Professor Titular de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia.

Endereço para correspondência: Lucas Gomes Patrocínio – Rua XV de Novembro, 327/1600 – Uberlândia / MG – CEP 38400-214 – Telefax: (34) 3215-1143 – E-mail: lucaspatrocínio@triang.com.br

Artigo recebido em 2 de maio de 2005. Artigo aceito com modificações em 12 de julho de 2005.

RESUMO

Introdução:

A fratura do assoalho de órbita freqüentemente causa grandes defeitos ósseos, que demandam o uso de enxertos e/ou implantes para sua reconstrução. Vários materiais já foram empregados para este fim (cartilagem septal, cartilagem conchal, silicone, entre outros).

Objetivo:

Estudar a esclera bovina como material de barreira em fraturas programadas em assoalho de órbita de coelho evitando a herniação de gordura e músculo da órbita para o seio maxilar, através do estudo do seu comportamento de biocompatibilidade.

Métodos:

Foram utilizados 18 coelhos da raça Nova Zelândia, machos com idade média de 6 a 8 semanas pesando em média 2,8 Kg. Os animais foram distribuídos por sorteio em 2 grupos de 9 animais cada. No primeiro grupo, o defeito ósseo padrão foi confeccionado no rebordo infra-orbitário esquerdo e preenchido com esclera bovina. Nos animais do grupo 2 o defeito ósseo padrão foi preenchido com lâmina de silicone duro do lado direito. Cada grupo foi dividido em 3 sub-grupos com 3 animais, os quais foram sacrificados aos 30, 45 e 60 dias.

Resultados:

Nos animais submetidos ao implante de silicone, evidenciou-se reação inflamatória leve aos 30 dias, com ausência de inflamação aos 45 e 60 dias. Em contraste, no grupo que recebeu esclera bovina, houve reação inflamatória severa em 30 dias, moderada aos 45 dias e ausência de infiltrado inflamatório aos 60 dias.

Conclusões:

Ambos materiais implantados foram biocompatíveis, inicialmente causando discreto edema clínico e reação inflamatória crônica granulomatosa inespecífica que desapareceu aos 60 dias (mais rapidamente no grupo controle com implante de silicone). Permitiram regeneração óssea parcial, não sendo reabsorvidos e funcionando como material de barreira.

Unitermos:

esclera, biomateriais, implantes, silicone, fratura e assoalho de órbita.

SUMMARY

Introduction:

The orbit floor fractures frequently promote great bony defects that demand the use of grafts and/or implants for its reconstruction. Several materials were already used for this purpose (septal and conchal cartilage, silicon, among others).

Objective:

This research aimed to experiment the bovine sclera as a barrier material in programmed orbit floor fractures of rabbits, avoiding fat and eye muscle herniation to maxillary sinus, through its study of biocompatibility.

Methods:

Eighteen New Zealand male rabbits (medium age 6 to 8 weeks; medium weigh 2.8 Kg) were randomly distributed in 2 groups of 9 animals each. In the first group, the standard bony defect was made in the left infra-orbitary border and filled with bovine sclera. In the animals of the group 2, the standard bony defect was filled with a sheet of hard silicon on the right side. Each group was divided in 3 sub groups with 3 animals, which were sacrificed at 30, 45 and 60 days.

Results:

Animals submitted to silicon implant showed mild inflammatory reaction at 30 days and absence of inflammation at 45 and 60 days. In contrast, the group with bovine sclera showed severe inflammatory reaction at 30 days, moderated reaction at 45 days, and absence of inflammatory infiltration at 60 days.

Conclusion:

Both implanted materials were biocompatible, initially causing discreet clinical edema and chronic inflammatory granulomatous inespecific reaction that disappeared in 60 days (earlier in the control group of silicon implant). Both allowed partial bony regeneration not being reabsorbed, and working as a barrier material.

Key words:

sclera, biomaterials, implants, silicon, orbit floor fracture.

INTRODUÇÃO

Entre os tecidos altamente organizados, o osso tem um potencial único de reconstruir sua estrutura original após um defeito ou uma fratura. Em condições instáveis, predomina a cicatrização indireta ou secundária, via formação intermediária de fibrocartilagem sucedida por ossificação endocondrial. Em condições estáveis, o osso é formado direto ou primariamente, constando que duas condições fundamentais devem ser preenchidas: amplo suprimento sanguíneo e uma base sólida para deposição óssea (1).

Porém a capacidade regenerativa do osso é limitada pelo tamanho da lesão, de tal forma que defeitos ósseos extensos, provocados por trauma, tumores, infecções e anomalias de desenvolvimento, não se regeneram espontaneamente, representando um problema desafiante para a comunidade científica (2).

A fratura do assoalho de órbita freqüentemente causa grandes defeitos ósseos, que demandam o uso de enxertos e/ou implantes para sua reconstrução. Vários materiais já foram empregados para este fim (cartilagem septal, cartilagem conchal, silicone, entre outros) (3).

A esclera é a camada externa do olho, densa, branca, fibrosa e muito resistente, que protege o olho. Continua à córnea anteriormente e ao revestimento dural do nervo óptico. A esclera humana, por apresentar-se em abundância nos hospitais após a retirada das córneas doadas, poderá ser usada como material de barreira em fraturas do assoalho de órbita.

Como a esclera bovina é histologicamente semelhante à esclera humana, realizamos este estudo com o objetivo de avaliar a eficácia da esclera bovina como barreira em fraturas-padrão programadas no assoalho da órbita de coelhos, evitando a herniação de gordura, músculo reto inferior e víscera ocular, através do estudo do seu comportamento de biocompatibilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de Experimentação

Uma vez que o coelho oferece fácil controle de variáveis como idade, sexo, peso, higiene e são de fácil manuseio e manutenção, foram utilizados 18 coelhos isógenos da linhagem Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), albinos, machos, de seis a oito meses de idade, peso médio 2,8 quilogramas (Kg), fornecidos pelo Laboratório de Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU-MG).

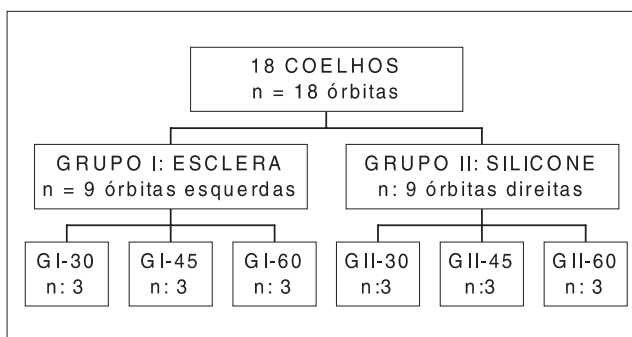


Figura 1. Algoritmo demonstrando aleatorização dos grupos, de acordo com tipo de implante (esclera ou enxerto) e dia de avaliação no pós-operatório (30, 45 ou 60 dias).

Definição dos Grupos de Estudo

Neste ensaio clínico randomizado, os animais foram distribuídos de forma aleatória em 2 grupos de 9 animais, de acordo com o material utilizado. Após a realização dos experimentos cirúrgicos em cada grupo, ambos foram subdivididos em três subgrupos de 3 animais para avaliação histopatológica em datas diferentes (30, 45 e 60 dias de pós-operatório) que expressassem a compatibilidade tecidual, possível reação imunológica e, conseqüentemente, a reparação óssea.

GI (experimento): 9 coelhos com defeito ósseo padrão no rebordo infra-orbitário esquerdo e preenchido com esclera bovina (subdivididos em GI-30, GI-45, GI-60).

GII (controle): 9 coelhos com defeito ósseo padrão no rebordo infra-orbitário direito e preenchido com bloco de silicone (subdivididos em GII-30, GII-45, GII-60) (Figura 1).

As cirurgias, bem como os pós-operatórios, foram realizados no Laboratório de Técnica Cirúrgica do Hospital de Veterinária da UFU-MG.

Preparo dos Implantes

Foram retirados seis globos oculares e armazenados em um pote de vidro previamente esterilizado, contendo solução alcalina (soro fisiológico). Em um segundo tempo, as escleras foram separadas e conservadas em glicerina, do mesmo modo como dura-mater, córneas e cartilagem são mantidos para posterior utilização como implante (4) (Figura 2).

Tanto o silicone como a esclera bovina foram preparadas com medida padronizada de 1 cm de compri-



Figura 2. Esclera bovina conservada em glicerina a 98% a ser utilizada com enxerto no assoalho da órbita dos coelhos.

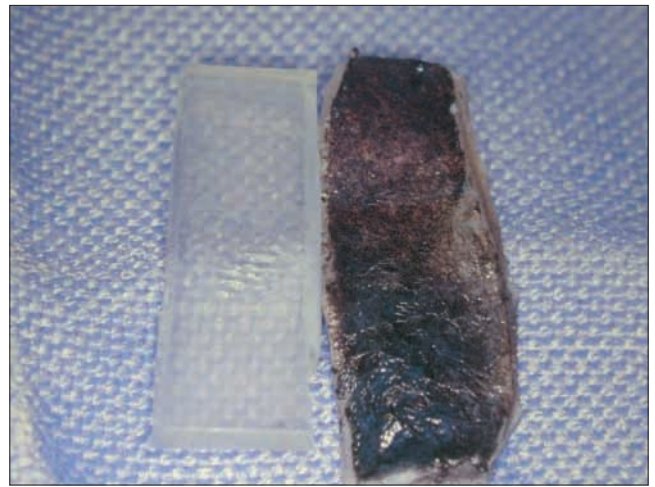


Figura 3. Implantes (silicone à esquerda e esclera bovina à direita) preparados em medida preconizada de 1 cm de comprimento X 0,5 cm de largura X 1 mm de espessura.

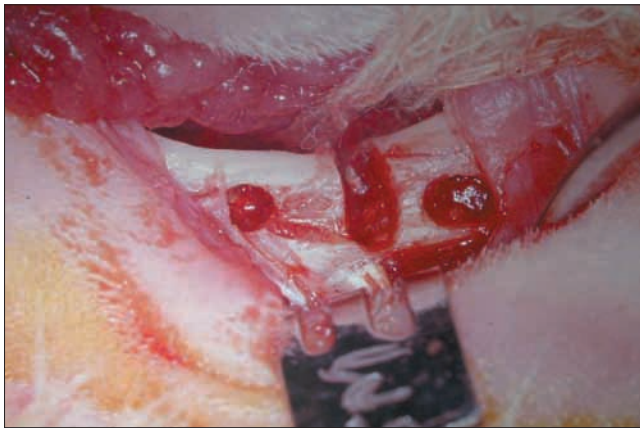


Figura 4. Fratura óssea padrão no assoalho orbitário dos coelhos realizada com broca tronco-cônica de aço nº 703 para peça reta, de espessura de 1 mm (diâmetro da porção mais calibrosa da ponta ativa da broca) e 5 mm de comprimento (medida da ponta ativa da broca em seu longo eixo), além de duas perfurações eqüidistantes nas bordas da fratura (2 mm).

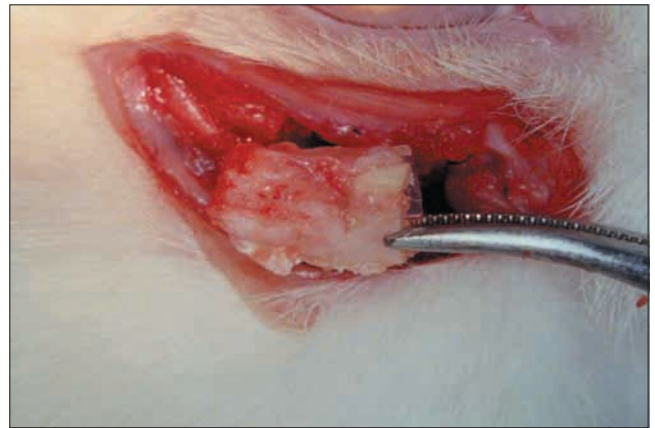


Figura 5. Colocação do implante de esclera bovina no local da fratura-padrão realizada no assoalho orbitário dos coelhos.

mento X 0,5 cm de largura X 1 mm de espessura, fazendo-se a isometria entre os implantes (Figura 3).

Procedimentos Operatórios

Uma vez anestesiados, os animais foram colocados lateralmente sobre a mesa cirúrgica. Os defeitos ósseos foram realizados com broca preconizada (tronco-cônica de aço nº 703 – para peça reta). A fratura óssea padrão foi realizada com espessura de 1 mm (diâmetro da porção mais calibrosa da ponta ativa da broca) e 5 mm de comprimento (medida da ponta ativa da broca em seu longo eixo) (Figura 4). Foram realizadas com a mesma

broca duas perfurações eqüidistantes nas bordas da fratura (2 mm) para que fossem feitas as fixações das escleras bovinas e silicone duro, com fio de aço 2-0, no assoalho da órbita mantendo-os dessa forma *in situ* (Figura 5). A síntese da pele foi realizada com sutura intradérmica com Mononylon 4-0 e posteriormente com alguns pontos simples como medida complementar de segurança.

Coleta e Preparação do Material para Exame Morfológico

Decorrido o período de observação de 30, 45 e 60 dias, os animais foram submetidos à anestesia similar à do

ato operatório, seguida de injeção endovenosa de cloreto de potássio 19,1%, na dose de 2 mL e tiopental sódico 1,0 g, promovendo a eutanásia.

A seguir realizou-se o procedimento cirúrgico através de diérese de tecido mole e osteotomia para remoção do bloco ósseo do assoalho da órbita contendo o implante.

Após o período de 48 horas, as peças obtidas foram lavadas em água corrente para retirar o excesso de fixador (formol tamponado a 10%) e em seguida, o processo de descalcificação foi iniciado. As peças foram imersas em solução descalcificante de EDTA 5,5g, 90 mL de água e 40 mL de formol à 37-40% para remoção da parte mineral da matriz óssea mineralizada. Seis dias após, as peças foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de EDTA e submetidas à desidratação em álcoois etílicos (70%, 90% e 100%, consecutivamente), diafanização em sabão p.a e inclusão em parafina histológica (5).

Os blocos foram seccionados com micrótomo, ajustados para 5 mm de espessura e os cortes foram semi-seriados no sentido látero-lateral. As lâminas assim obtidas da matriz óssea descalcificada foram coradas com hematoxilina e eosina e observadas ao microscópio óptico.

Análise Clínica e Macroscópica

Os resultados foram estatisticamente analisados clinicamente quanto à presença de eritema, edema, secreção, hematoma ou equimose na região orbitária (conjuntiva e esclerótica) e na pele infra-ocular. A avaliação clínica ao final dos 30, 45, 60 dias considerou também a presença de eritema, necrose, edema, aderências e se houve incorporação do material ao tecido ósseo ou conjuntivo da área. Esses registros foram baseados em avaliação semi-quantitativa considerando (0) ausente, (+) leve, (++) moderado ou (+++) acentuado.

Avaliação Microscópica

Os implantes foram avaliados histologicamente pela coloração hematoxilina e eosina, por meio de microscópio óptico de luz visível e com as ampliações mais adequadas para cada item observado. Foram consideradas nesta análise:

1. a composição celular do infiltrado inflamatório, classificando-os como agudo (predominantemente composto por neutrófilos) e crônico (predominantemente composto por linfócitos, plasmócitos e macrófagos, considerados em conjunto ou isoladamente) (6);
2. a intensidade do infiltrado, mensurado a partir da avaliação e sua intensidade: (0) ausente; (+) leve; (++) moderado; (+++) acentuado.

Esta avaliação teve caráter comparativo entre os dois grupos testados com a relação à dinâmica da formação do processo de reparo ósseo. Os resultados foram expressos segundo os critérios descritos acima e representados por meio de fotomicrografias das áreas mais expressivas.

Comissão de Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão Ética no Uso de Animais CEU/UFMS, em reunião de 15/12/2003, estando de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

RESULTADOS

Aspectos gerais no pós-operatório

Os animais suportaram bem a anestesia e o ato cirúrgico sem registro de ocorrências tanto no período pré, trans e pós-operatório. Durante o acompanhamento pós-cirúrgico dos dois grupos (Silicone e Esclera Bovina) não foi registrado nenhum sinal de complicações pós-cirúrgicas imediatas ou tardias. Todos os animais apresentaram apenas edema discreto (+) no pós-operatório.

Observações macroscópicas

A Tabela 1 demonstra as observações macroscópicas dos blocos ósseos do assoalho de órbita dos coelhos incluindo os implantes de Silicone e Esclera Bovina com 30, 45 e 60 dias.

Observações microscópicas

O Gráfico 1 demonstra a avaliação microscópica comparando o grupo de silicone e esclerose bovina aos 30, 45 e 60 dias.

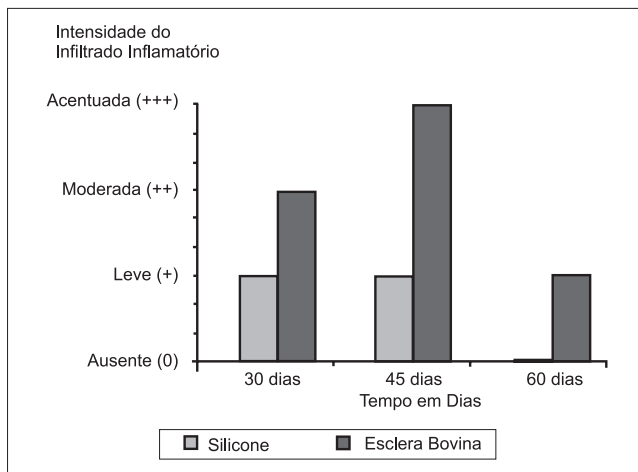
As Figuras 6 a 11 detalham as observações microscópicas de todos os grupos.

DISCUSSÃO

Diferentes e múltiplos materiais têm sido utilizados na correção da fratura de órbita, tais como: silicone, teflon, supramid, polietileno (Porex), osso ou cartilagem autógena, hidroxiapatita, etc (3). O enxerto ideal seria aquele que tivesse a forma, consistência e resistência da estrutura defeituosa. Deveria ser facilmente obtido e moldado, e de

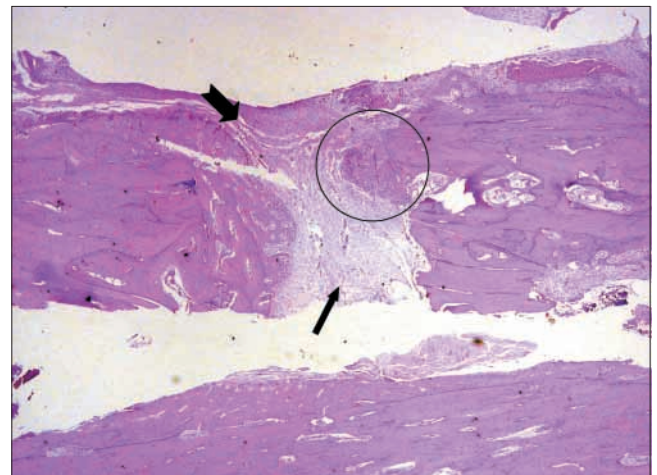
Tabela I. Observações macroscópicas das alterações dos blocos ósseos retirados da área receptora dos implantes com 30, 45 e 60 dias de pós-operatório.

	Grupo I – Controle Silicone – Órbita Direita	Grupo II – Pesquisa Esclera Bovina – Órbita Esquerda
30 dias	Presença de tecido fibrótico envolvendo o implante. Implante com superfície brilhante e pouco aderida ao assoalho da órbita do coelho.	Grande quantidade de tecido de granulação e aspecto sangrante. Interface esclera-osso do assoalho de órbita com áreas de lise óssea. Implante de esclera ligeiramente amolecido, porém fixado ao assoalho da órbita.
45 dias	Presença de tecido fibroso firme encapsulando o implante de silicone. Aspecto ósseo do assoalho da órbita normal (branco e firme).	Aumento acentuado de tecido de granulação. Várias crateras ósseas de diâmetros pequenos. Implante de esclera amolecido e aderido ao assoalho de órbita.
60 dias	Cápsula bem definida em torno do implante de silicone. Tecido firme fibrótico e presença de osso ligeiramente amolecido no traço da fratura padrão programada, porém com a cicatrização óssea	Permanência do implante aderido no assoalho da órbita. Considerável diminuição do tecido de granulação. O traço da fratura óssea padrão programada completa, ainda se mostrava com cicatrização óssea incompleta.

**Gráfico 1.** Avaliação microscópica comparando o grupo de silicone e esclerose bovina aos 30, 45 e 60 dias de pós-operatório.

baixo custo. Ademais, deveria causar o mínimo de reação tecidual e resistir à extrusão e à reabsorção pelo corpo (7).

Pesquisando a literatura, observamos a grande quantidade de trabalhos direcionados para a reconstrução parcial ou total do organismo humano. Quando escolhemos a esclera para pesquisa, analisamos suas vantagens sobre essa gama de materiais biocompatíveis, entre elas o custo para os hospitais e para o próprio paciente, pois a esclera é doada junto com a córnea. Além disso, é um material de fácil aquisição por ter em grande quantidade nos hospitais credenciados para receber ou retirar córneas de doadores. Outra propriedade da esclera seria a manipulação para remodelar, adaptar e se fixar no leito receptor. Sua conservação se faz em glicerina 98%, que mantém a integridade celular (4,8,9). Estudamos a esclera humana também para

**Figura 6.** Fotomicrografia de amostra do GI-30 demonstrando presença de tecido ósseo lamelar, com aspecto de osso cortical, apresentando na região referente ao traço de fratura um tecido conjuntivo fibroso, com aspecto fibrilar (frouxo), sendo preenchido, parcialmente, por tecido ósseo neoformado (seta grande). Pode-se observar em torno da área do silicone (seta pequena) um tecido conjuntivo fibro-celular, pobremente infiltrado por leucócitos mononucleares (círculo) (200X).

enquadrá-la entre os biomateriais. Durante o estudo foi observado no grupo de animais com esclera bovina, uma boa adaptação, fixação e acomodação no leito receptor, não havendo deslocamento da esclera e modelado facilmente conforme a anatomia da área receptora.

O silicone foi escolhido como material para o grupo controle por ser um implante extensivamente estudado nas enoftalmias traumáticas. Apresenta, porém, como des-

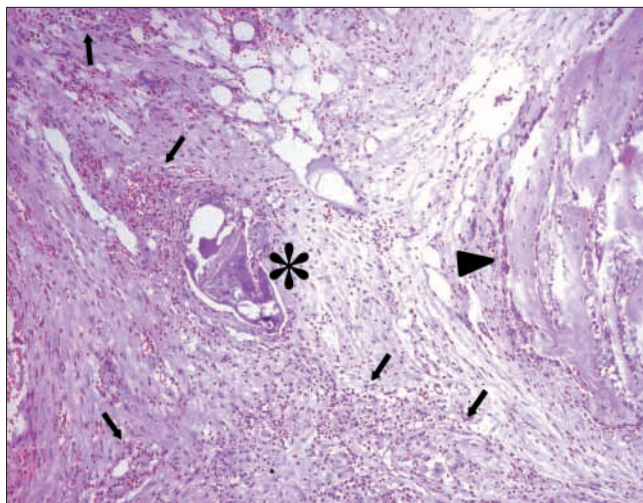


Figura 7. Fotomicrografia de amostra do GII-30 demonstrando linha de fratura, ocupada por tecido conjuntivo fibroso, rico em fibroblastos, com trabéculas ósseas incipientes em ambos cotos ósseos e um grande número de osteoblastos (seta grande). A região de implantação da esclera (asterisco) estava ocupada por infiltrado inflamatório em parte neutrofílico, em parte linfo-histiocitário (setas pequenas), permeando o tecido periféricamente e invadindo-o parcialmente em determinadas áreas, em direção ao centro do fragmento (20X).

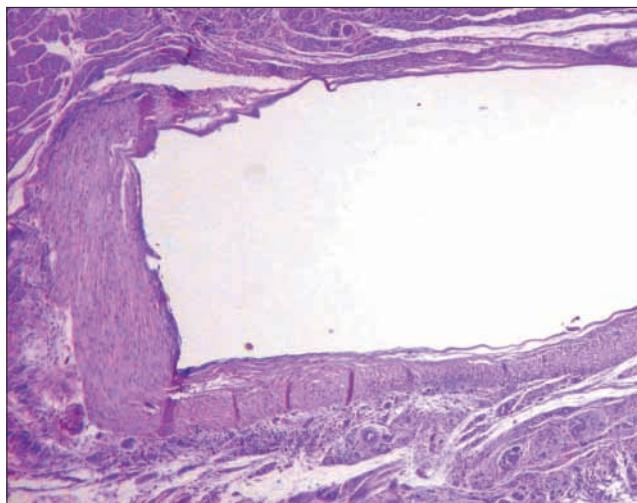


Figura 8. Fotomicrografia de amostra do GI-45 demonstrando maior deposição de fibras colágenas em torno do fragmento de silicone, permitindo a percepção da forma do material incluído no tecido. Identificam-se alterações ósseas significativas já compatíveis com o fechamento da ferida, percebendo-se osso lamelar com aspecto homogêneo em todo o segmento ósseo examinado (20X).

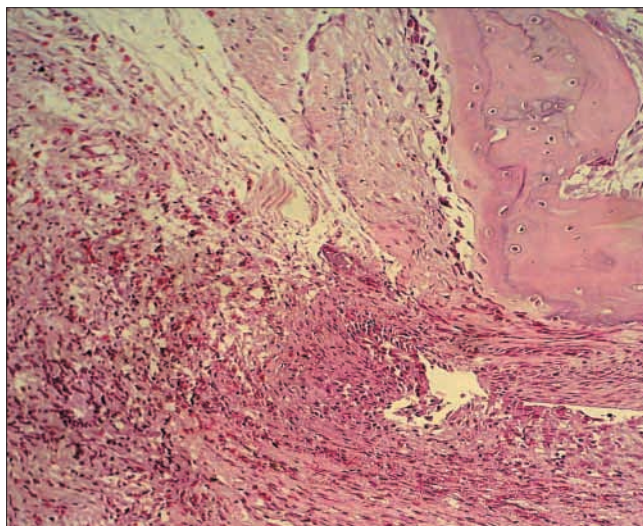


Figura 9. Fotomicrografia de amostra do GII-45 demonstrando osso íntegro com áreas de solução de continuidade preenchida por resposta inflamatória intensa, periféricamente a esclera, do tipo linfo-plasma-histiocitário. A esclera se molda em depressões do tecido ósseo, associada ao infiltrado inflamatório linfo-histiocitário sem, contudo, estar associado à sinais expressivos de reabsorção no osso adjacente. Neste período, já há sinais de reparação avançada do osso lesado que apresenta-se com aspecto lamelar (200X).

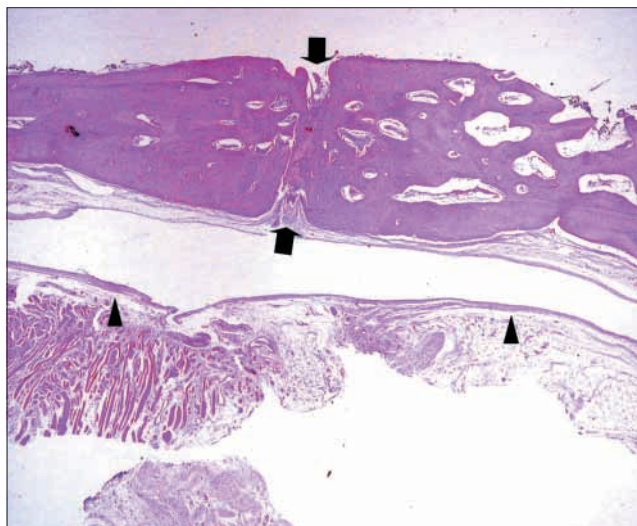


Figura 10. Fotomicrografia de amostra do GI-60 demonstrando término do reparo ósseo (setas). Nota-se o padrão lamelar classicamente evidenciado para o osso maduro. Não foi possível identificar infiltrado inflamatório próximo à área do silicone implantado ou mesmo na região da regeneração óssea (20X).

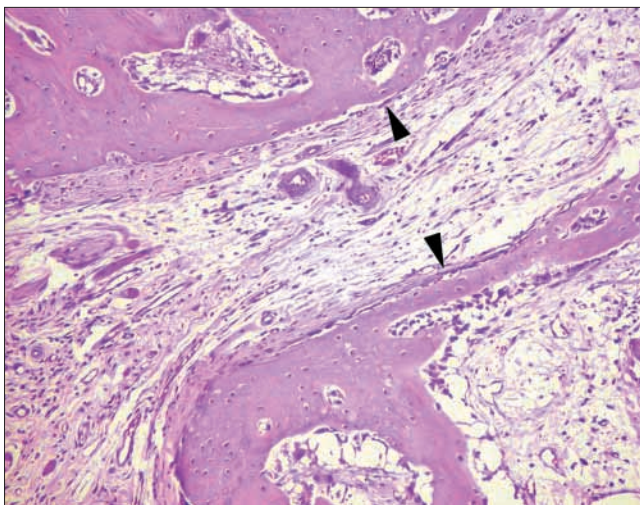


Figura 11. Fotomicrografia de amostra do GII-60 demonstrando que a área da lesão óssea encontra-se quase que totalmente regenerada, sem a presença de infiltrado inflamatório. Nota-se, no local, tecido conjuntivo fibroso frouxo, vascularizado e sinais de remodelação óssea (setas). Há evidências de lesão ainda não fechada (200X).

vantagens poder ser visível sob a pele, mesmo tendo sido esculturalmente modelado, além de existir a possibilidade de expulsão do leito receptor (3,7). Já referente ao nosso material em pesquisa, por ser orgânico, essas desvantagens não existem, pois há grande facilidade de fixação com fios cirúrgicos diversos.

A pele é outro implante usado em grande escala nas exenterações, porém com duas grandes desvantagens: a) possibilidade de crescer pêlos; b) possibilidade de produzir secreções (7). No implante com esclera não existem essas desvantagens.

No estudo da reação do tecido conjuntivo subcutâneo aos implantes de derme humana acelular (Alloderm®) e membrana de politetrafluoretileno (teflon) em ratos, verificou-se que no período tardio (90 dias) o teflon apresentou formação e cápsula fibrosa, sem reação inflamatória. Porém é um material de alto custo para os hospitais e os pacientes (8).

Na pesquisa da evolução de enxertos ósseos autógenos e alógenos colocados em defeitos ósseos de tamanho crítico em calvária de cobaias, URIST et al. (9) demonstraram que fatores osteoindutivos do osso endocondral induzem a formação óssea passando por um estágio de cartilagem hialina. Em referência ao resultado do nosso estudo com a esclera bovina, podemos até mesmo concordar que haja alguma substância também osteoindutora, pois, além de cumprir o papel de barreira, permitiu a formação óssea no final da pesquisa.

Foi realizado estudo usando a esclera humana e o politetrafluoretileno como material alternativo no tratamento de perfuração escleral em coelho. A evolução do pós-operatório dos animais foi analisada diariamente por um mês, classificando a intensidade da hiperemia ocular nas seguintes categorias: O (ausente), + (hiperemia leve), ++ (hiperemia moderada) e +++ (hiperemia intensa), além da presença ou ausência da secreção ocular (10).

Nosso estudo usa a esclera bovina nas fraturas programadas em assoalho de órbita de coelho. A presença de inflamação (+++) no grupo de esclera bovina no período de 30 e 45 dias, vindo a ser (++) no final da pesquisa, possivelmente está relacionada com o uso de implante (esclera) em forma inatura. Apesar disto, demonstrou características semelhantes a escleras homólogas usadas para correção de lesões diversas em escleras.

Foi estudada a implantação de placas ferromagnéticas na esclera de coelhos com o objetivo de neutralização de nistagmos e obtenção de uma posição ocular normal após uma correção de estrabismo e principalmente sua estabilização ao longo do tempo. Essa pesquisa teve a intensidade de inflamatório avaliada da seguinte forma: dois observadores independentes utilizaram os seguintes parâmetros para avaliações: -: ausente; + presente, mas discreta; ++: moderada; +++: acentuada; Secreção conjuntival: ausente (a); ou presente (p); Presença de nervo: ausente (a) ou presente (p). A reação inflamatória nesse estudo permaneceu até o 28º dia (11). No nosso estudo com a esclera bovina, tivemos o processo inflamatório presente em condição leve até o grupo de animais sacrificados com 60 dias (último sub-grupo da pesquisa).

Na pesquisa com a esclera bovina inatura, concluímos basicamente que o material é de fácil manuseio, fácil adaptação e modelagem na área receptora. Agiu como barreira, pois ao final de 60 dias fibrosou e permitiu a formação óssea na periferia da fratura-padrão programada.

A fratura-padrão programada do grupo controle (silicone) aos 60 dias, já tinha se fechado enquanto que no grupo de pesquisa (esclera bovina) de 60 dias, ainda não havia se fechado completamente. A esclera bovina mostrou que poderá vir a se integrar no grupo de bio-materiais, cabendo, porém, outros estudos que possam adequá-la em uma linha de pesquisa a ser intensamente testada. Segundo MEDAWAR “Congelamento e liofilização são métodos aparentemente capazes de destruir partículas e a vitalidade celular, portanto diminuindo a capacidade imunológica do enxerto (implante) e preservando a matriz intacta para um futuro enxerto (implante)” (12). O congelamento e a liofilização do material torna-se o passo natural do estudo deste enxerto nas fraturas de órbita.

CONCLUSÕES

Conclui-se que, em fraturas programadas em assoalho de órbita de coelhos, ambos os materiais implantados foram biocompatíveis, inicialmente causando discreto edema clínico e reação inflamatória crônica granulomatosa inespecífica que desapareceu aos 60 dias (mais rapidamente no grupo controle com implante de silicone). Ademais, permitiram regeneração óssea parcial no período estudado (60 dias), não sendo reabsorvidos e funcionando como material de barreira contra herniação do material orbitário para o seio maxilar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schenk RK. Regeneração óssea: bases biológicas. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Regeneração óssea guiada na implantodontia. 2.ed. São Paulo: Quintessence. 1996. p. 49-100.
2. Mendonça JCG. Estudo morfológico comparativo do enxerto ósseo autógeno e o polímero de mamona em rebordo infra-orbitário em coelhos. 47 f. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade Federal de Campo Grande – Mato Grosso do Sul. 2004.
3. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. Rio de Janeiro; Gunabara Koogan; 1995.
4. Sousa CJA, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JCG, Oliveira RP, Pascon EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endodont J*. 2004;37(10):1-11.
5. Portelinha WM, Couto Jr. AS, Moura EM, Zenha JC, França VP, Gonçalves JOR. Fraturas orbitárias. In: Soares EJC, Moura EM, Gonçalves JOR. Cirurgia plástica ocular. São Paulo: ROCA. 1997. p. 426-46.
6. Patrocínio LG, Patrocínio JA. Atualização em enxertos na rinoplastia. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2001;67(3):394-402.
7. Ramos RQ. Reações do tecido conjuntivo subcutâneo aos implantes de derme humana acelular (Alloderm®) e membrana de politetrafluoretileno não expandido (teflon). Estudo histológico em ratos. 129 f. 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia – Universidade Estadual Paulista, Araçatuba. 2001.
8. Koenig SB, Sanitato JJ, Kaufman HE. Long-term follow-up study of scleroplasty using autogenous periosteum. *Cornea*. 1990;9(2):139-143.
9. Florian A, Cohn LH, Dammin GJ, Collins JJ Jr. Small vessel replacement with gore-tex (expanded polytetrafluoroethylene). *Arch Surg*. 1976;111(3):267-70.
10. Utrilla JC, Martín-Lacave I, San Martín MV, Fernández-Santos JM, Galera-Davidson H. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in human thyroid tumours. *Histopathology*. 1999;34(1):60-65.
11. Abreu SLDR, Bicas HEA. Estudo comparativo entre técnicas cirúrgicas para fixação de placa metálica em esclera de coelhos. *Arq Bras Oftalmol*. 2002; 65(2):177-181.
12. Medawar PB. Transplantation immunity and subcellular particles. *Ann NY Acad Scienc*. 1957; 68(2): 255-67.