

O uso do modelo de distração osteogênica como uma ferramenta para avaliação da ação das drogas sobre o reparo ósseo

The distraction osteogenesis model as a tool for evaluation of the action of drugs on bone repair

Andreza Costa da Silva Santiago¹
Márcio Cajazeira Aguiar²

¹Acadêmica de Biotecnologia. Instituto de Ciências da Saúde da
Universidade Federal da Bahia.

²Professor Adjunto da Disciplina Histologia do Instituto de Ciências da Saúde da
Universidade Federal da Bahia.

Resumo

O reparo ósseo é um reflexo da interação harmoniosa entre os fenômenos de aposição e reabsorção óssea que são regulados por múltiplos e complexos mecanismos celulares e moleculares que são investigados por diferentes estudos *in vitro* e *in vivo*. Alterações ósseas são observadas em muitas doenças, inclusive na osteoporose. Uma maior compreensão da biologia óssea é importante, pois pode permitir a identificação de novos alvos e estratégias terapêuticas com a finalidade de estimular a osteogênese nas doenças ósseas. Uma estratégia de estudo desses mecanismos compreende a observação do efeito de algumas drogas sobre o reparo ósseo em modelos experimentais *in vivo*, dentre eles, a distração osteogênica. A distração osteogênica é uma técnica cujo objetivo é promover a geração de uma nova matriz óssea através de tração mecânica exercida por um dispositivo. Essa técnica tem sido utilizada em ossos longos e em mandíbulas para correção de diversas deformidades ósseas, sendo empregada para a avaliação do efeito de diversos tratamentos ou drogas sobre o reparo ósseo. Esta revisão traz uma série de relatos sobre o estudo de terapias e drogas que modificam o reparo ósseo em modelos de distração osteogênica, além de ressaltar a importância deste modelo para uma maior compreensão dos mecanismos relacionados à biologia óssea.

Palavras-chave: Matriz óssea. Osso. Osteogênese por distração.

Abstract

Bone repair comprises bone apposition and bone resorption activities regulated by multiple and complex cellular and molecular mechanisms that are investigated by different in vitro and in vivo studies. Bone changes are observed in many diseases, including osteoporosis. A better understanding of bone biology is important because it may allow the identification of novel therapeutic targets and strategies in order to stimulate osteogenesis in bone diseases. These mechanisms can be studied by analyzing of the effect of drugs on bone healing in vivo models as distraction osteogenesis. Distraction osteogenesis is a technique to promote the generation of new bone matrix by mechanical traction between surgically osteotomized bone segments. This technique has been used both in long bones and jaws to correct various skeletal deformities and as a tool for evaluation of the action of drugs on bone repair. The purpose of this review is to relate some studies about the use of some therapies or drugs on bone repair on model of distraction osteogenesis, emphasizing the contribution of this model to better understanding of the mechanisms related to bone biology.

Keywords: Bone matrix. Bone. Osteogenesis Distraction.

INTRODUÇÃO

Os mecanismos celulares e moleculares que regem o reparo ósseo têm sido largamente estudados. Sabe-se que o reparo ósseo é um reflexo da interação harmoniosa entre os fenômenos de aposição e reabsorção óssea que são regulados por múltiplos e complexos mecanismos celulares e moleculares, os quais têm sido investigados por diferentes estudos *in vitro* e *in vivo*.

Estudos *in vivo* têm sido necessários para aprofundar a compreensão destes mecanismos, além de comprovar o efeito de determinada técnica ou princípio ativo sobre o metabolismo ósseo, muitas delas testadas apenas em modelos *in vitro*. Nos estudos *in vitro* podemos observar somente as reações celulares específicas frente a um determinado estímulo e, portanto, com bases nesses resultados, não podemos inferir sobre os vários eventos celulares e moleculares que acontecem de fato num organismo vivo.

Em um modelo *in vivo*, o reparo ósseo pode ser avaliado por meio de técnicas histológica, imunohistoquímica, imagirológicas ou técnicas que mensurem a atividade celu-

Correspondência / Correspondence: Andreza Costa da Silva Santiago. Departamento de Biomorfologia, 1º andar, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela. 40.110-100. Salvador, Bahia, Brasil. Tel: +55 (71) 3283-8888. E-mail: mcajazeira@gmail.com

lar ou tecidual, objetivando avaliar o processo de regeneração de forma mais abrangente e mais próxima da realidade, considerando a complexidade do ser humano ou de uma espécie animal específica.

Nesse sentido, vários trabalhos *in vivo* têm empregado o modelo de distração osteogênica com o intuito de aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos que regem o reparo ósseo (ROWE et al., 1999; BYUN et al., 2007; DE ALBUQUERQUE JR. et al., 2008; ALI et al., 2009; ISSA et al., 2009; WEI et al., 2011). A presente revisão pretende mostrar as contribuições para o conhecimento da biologia óssea, mais precisamente no reparo ósseo, proporcionadas pelo emprego do modelo de distração osteogênica em animais de experimentação.

Distração osteogênica é uma técnica cirúrgica de engenharia tecidual *in vivo*, cujo objetivo é induzir e gerar uma nova matriz óssea em uma área osteotomizada submetida a forças de tração (ISSA et al., 2009). Essa técnica foi empregada inicialmente em ossos longos e tem sido utilizada atualmente na mandíbula. A técnica se popularizou na década de 1980 quando o médico russo Gavriil Ilizarov estabeleceu os princípios biomecânicos que regem a distração osteogênica e desde então, ela tem sido largamente utilizada (ALI et al., 2009). Essa técnica postula que a tração contínua estimula o tecido a se tornar metabolicamente ativo e que a proliferação e biossíntese aumentam durante esse processo (ARSLAN et al., 2003).

A distração osteogênica é indicada para correção de várias deformidades ósseas como apneia do sono, anquilose óssea, deformidades causadas por tumores e micrognatia (WEI et al., 2011). Uma vantagem da técnica de distração é que, na mandíbula, ela não requer a utilização de enxerto ósseo ou extração dentária. Como desvantagens, podemos citar o longo período para haver uma ossificação adequada da área, necessidade de intervenção adicional para remoção do aparelho distrator, além de riscos de complicações como infecção, desconforto e dor (WEI et al., 2011).

Na distração osteogênica, ocorre uma separação das extremidades ósseas proporcionada pela ativação do aparelho distrator. Essa técnica envolve etapas que são muito importantes para um andamento adequado de todo o processo. A osteotomia é o procedimento inicial, no qual o osso é seccionado cirurgicamente, sendo em seguida, instalado o aparelho distrator. Durante a realização desses procedimentos, atenção é necessária para a preservação do perióstio e endóstio e estabilização do aparelho, assegurando um suprimento sanguíneo adequado para o calo ósseo que será formado, condição necessária para uma adequada osteogênese durante e após a distração osteogênica.

Após instalação do aparelho distrator e antes da realização do movimento de distração, alguns estudos (ROWE et al., 1999; BYUN et al., 2007; DE ALBUQUERQUE JR. et al., 2008; ALI et al., 2009; ISSA et al., 2009; WEI et al., 2011) recomendam a necessidade de um período de latência, que irá variar de acordo com o objetivo do estudo. Nesse intervalo de tempo, o aparelho distrator permanece

ce inativo, proporcionando o desenvolvimento do calo reparador, regeneração dos tecidos moles, angiogênese e proliferação de células osteogênicas, antes que a força da distração seja aplicada. Esse período deve ser respeitado, pois está intimamente relacionado ao período de cicatrização, que se inicia logo após a realização do procedimento. O organismo no qual o aparelho é fixado, precisa de alguns dias de recuperação antes da aplicação da força, sendo fundamental para o sucesso da técnica.

Após o término da fase de latência, a próxima etapa é o período de distração no qual o distrator é acionado manualmente durante um intervalo de tempo previamente estabelecido pelo pesquisador. Um fator importante nesse período é a taxa de distração empregada. Esta consiste na rotação do dispositivo em mm, associado ao período de acionamento, por exemplo, 12 h/12 h, ou seja, uma rotação de 180° duas vezes ao dia ou 24h/24h, resultando em uma rotação de 360° uma vez ao dia. A taxa é muito variável, pois depende da quantidade de matriz óssea a ser depositada entre as extremidades osteotomizadas. Esta tração controlada é a responsável por proporcionar estímulos adequados para que as células do perióstio sejam capazes de diferenciar-se em células com potencial osteogênico, responsáveis pelo reparo ósseo.

A última etapa desse procedimento é a fase de consolidação, que dura entre 4 a 6 semanas (DE ALBUQUERQUE JR. R.F et al., 2008; ALI et al., 2009; ISSA et al., 2009; WEI et al. 2011). Durante esse período o aparelho distrator permanece fixo a área, mas não está ativado, permanecendo lá até a eutanásia dos animais de experimentação. Essa é uma fase muito importante, pois se constitui na fase na qual a primeira matriz óssea é formada por ossificação intramembranosa e matriz cartilaginosa eventualmente formada sofre ossificação endocondral, evoluindo para a maturação do calo ósseo e o restabelecimento das propriedades biomecânicas e das estruturas histológicas.

Diferentes espécies de animais têm sido utilizadas como modelo de estudo na distração osteogênica. Os modelos animais mais utilizados são o cão, que foi o primeiro a ser utilizado (BYUN et al., 2007), coelho e rato, mas existem relatos de utilização de outros animais como ovelha, porco e cabra (BYUN et al., 2007; WEI et al., 2011). O modelo de coelho é bem estabelecido e possui muitas vantagens como baixo custo e é utilizado principalmente por causa dos protocolos cirúrgicos simples. O porco também é um bom modelo, pois, é de fácil manuseio e apresenta uma mandíbula com tamanho e a forma semelhante à mandíbula humana, favorecendo o estudo da distração osteogênica em humanos. Muitos trabalhos da literatura utilizam o rato como modelo animal pela fácil manipulação, sendo assim um modelo viável e simples, que apresenta baixo custo e como consequência é utilizado frequentemente em estudos de reparo ósseo (DE ALBUQUERQUE JR. et al., 2008; ALI et al., 2009; ISSA et al., 2009). Nos ratos, em virtude do seu pequeno tamanho, a instalação de um aparelho distrator convencional é difícil, sendo necessária a confecção de um aparelho adaptado (Figura 1).



Figura 1 - Imagem mostrando um distrator osteogênico construído a partir de um expansor ortodôntico e parafusos de titânio para estudos experimentais em ratos.

O modelo de distração osteogênica tem sido utilizado em muitos trabalhos experimentais (ROWE et al., 1999; DE ALBUQUERQUE JR. et al., 2008; ALI et al., 2009; ISSA et al., 2009). Alguns desses trabalhos investigam o efeito de uma determinada droga sobre o reparo ósseo. Wei e outros (2011), por exemplo, estudaram o efeito do icariin, flavonóide extraído da planta *Epimedium brevicornum maxim*, sobre a formação óssea durante a distração mandibular, acreditando que este extrato poderia ter um efeito anti-osteoporótico por apresentar uma estrutura química similar ao estrógeno. Os seus achados indicaram que os animais tratados com icariin apresentaram maior formação óssea quando comparado com grupo controle, sugerindo a possibilidade de esta droga ser utilizada na clínica para reduzir o período de consolidação e de tratamento dos pacientes submetidos à distração osteogênica mandibular.

Outro estudo investigou a capacidade da proteína morfogenética óssea tipo 2 (rhBMP-2) recombinante associado ao gel de monoleína em estimular a formação óssea durante a distração mandibular aguda (ISSA et al., 2009). As proteínas morfogenéticas ósseas são fatores potentes na indução do desenvolvimento ósseo e reparo de fraturas (BUCHMAN et al., 2002). O exame histológico mostrou que os espécimes submetidos à distração osteogênica aguda e tratados com rhBMP-2 mostraram maior vascularização e trabéculas ósseas mais abundantes na área de reparo. O estudo histomorfométrico mostrou que esse grupo apresentou um maior volume ósseo na área reparada quando comparado com as amostras dos demais grupos. Ambos os resultados, permitiram sugerir que a aplicação do rhBMP-2 na área osteotomizada podem aumentar a osteogênese em um modelo de distração osteogênica mandibular.

A ação dos bisfosfonatos sobre a matriz óssea também tem sido estudada no modelo de distração osteogênica. Os bisfosfonatos são drogas que inibem a reabsorção óssea, sendo utilizadas no tratamento de doenças ósseas como a osteoporose pós-menopausa (SMITH et al., 2004). Um bisfosfonato bastante utilizado é o ácido zoledrônico (AZ), droga que inibe a reabsorção óssea sem afetar a for-

mação, mineralização ou propriedades mecânicas do osso. Com objetivo de examinar o efeito do AZ sobre o reparo ósseo em longo prazo, Smith e outros (2004) estudaram o reparo ósseo em um modelo de distração osteogênica na tíbia de coelhos tratados com esta droga por um período de 44 semanas através de radiografias, absorciometria de raios-x de dupla energia, histologia e histomorfometria. Os achados produzidos pelo estudo permitiram observar que o processo de reparo ósseo progrediu nos espécimes tratados com AZ e nos espécimes controle. Contudo, foi observada retenção da matriz cartilaginosa mineralizada e um atraso no processo de remodelação óssea. A remodelação lenta não impediu a substituição da matriz óssea inicial em matriz de osso maduro secundário, permitindo a confirmação do término do reparo ósseo nos períodos finais de análise. Conforme a análise histomorfométrica, a disfunção do processo de remodelação não estava associada à diminuição do número de osteoclastos, apontando para uma possível alteração na função osteoclástica. Os achados produzidos pelo presente estudo permitiram observar que o ZA traz alterações no reparo ósseo em modelos de distração osteogênica nas tíbias, particularmente em relação à remoção da matriz cartilaginosa necessária para o reparo completo do defeito ósseo.

Baseado no fato de que bisfosfonatos são drogas utilizadas no tratamento da osteoporose, Little e outros (2001) investigaram o efeito do pamidronato na redução da osteoporose em um modelo de distração osteogênica em tíbias de coelhas por meio de análise radiológica, histológica e densidade mineral óssea (BMD). Após 42 dias, os animais foram eutanasiados e foram feitas radiografias e mensuração do BMD. O estudo mostrou que o uso do pamidronato no início da distração ocasionou a mineralização e o reparo ósseo adequado, houve um aumento significativo do BMD no grupo tratado com pamidronato quando comparado com o grupo controle. O estudo histológico mostrou um aumento do endóstio nas proximidades da matriz óssea em regeneração, produzindo aumento da espessura da cortical óssea. Houve também aumento da ma-

triz em regeneração com diminuição do número de osteoclastos, sugerindo um aumento na formação óssea e diminuição da reabsorção na presença do pamidronato. No grupo controle, houve formação adequada de matriz óssea na área osteotomizada submetida à distração. Nos animais tratados com pamidronato, houve diminuição significativa no BMD em ambos os segmentos da tibia. Houve um aumento na média de área regenerada de 22% no grupo tratado com pamidronato. O pamidronato mostrou um efeito positivo no presente estudo, reduzindo a osteoporose por desuso associada normalmente com distração osteogênica associada à fixadores externos e aumentou a densidade do osso regenerado.

O alendronato e calcitonina têm sido muito utilizados para tratamento de osteoporose. O alendronato pertencente à classe dos bisfosfonatos, cujos efeitos já foram anteriormente explicados e têm relação com a inibição da reabsorção óssea. Já a calcitonina é um hormônio produzido pelas células C da tireoide, cuja função é aumentar a fixação de cálcio nos ossos. Sen e outros (2006) realizaram um estudo experimental sobre os efeitos do alendronato e da calcitonina durante a distração osteogênica em modelo de coelho utilizando tíbias. Após a divisão de grupos feita aleatoriamente, foi realizada uma osteotomia em todos os animais. No período de distração foi administrado placebo para o grupo controle e alendronato ou calcitonina para os grupos experimentais. Após períodos de tempo determinados foram realizadas análises histológica, radiológica e mecânica. O estudo mostrou que houve adequada formação de calo ósseo nos grupos tratados com calcitonina e alendronato em comparação com o grupo de controle. A análise radiológica realizada após seis semanas mostrou uma melhor consolidação nas tíbias dos grupos de calcitonina e do alendronato em relação com o grupo controle. Análises histológicas e radiográficas realizadas no final da 8ª semana demonstraram que houve uma melhor regeneração nos grupos tratados em comparação com o grupo controle. A administração de calcitonina e do alendronato nos grupos experimentais melhorou a regeneração óssea nos períodos de distração osteogênica e consolidação. Dessa forma, acredita-se que a associação da calcitonina com alendronato pode ser útil para a prevenção de complicações, tais como atraso na consolidação e ocorrência de refraturas (SEN et al., 2006).

A oxigenoterapia hiperbárica (OHB) é uma técnica de tratamento em que um indivíduo é colocado em uma câmara pressurizada e com oxigênio a 100%, em pressão atmosférica maior do que a do nível do mar, ocasionando possivelmente uma estimulação da osteogênese por meio do aumento da vascularização. Com o objetivo de investigar se o aumento do suprimento sanguíneo local proporcionado pela OHB pode estimular o processo de reparo ósseo, Salgado e outros (2009) estudaram o efeito desta técnica sobre a osteogênese induzida pela distração osteogênica em mandíbulas de coelhos por meio da avaliação da densidade mineral óssea (BMD). Os grupos experimentais rece-

beram a terapia com oxigênio hiperbárico antes do procedimento cirúrgico, durante a distração e por duas semanas na fase de consolidação. Verificou-se que BMD foi significativamente maior ($P < 0,05$) nos grupos que receberam oxigênio hiperbárico em relação aos demais grupos, quando avaliados em um mesmo período de tratamento. Os resultados produzidos por este estudo indicam que a OHB pode acelerar o processo de reparo ósseo em um modelo de distração osteogênica, permitindo um período de distração mais rápido com impacto sobre a redução do tempo de tratamento (SALGADO et al., 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A distração osteogênica é uma técnica que tem sido utilizada para estimular a osteogênese. Muitos trabalhos têm sido feitos com o objetivo de estudar os mecanismos que regem a osteogênese e o reparo ósseo. Nesse sentido, a distração osteogênica é um ótimo modelo in vivo para o estudo da biologia óssea, uma vez que apresenta um reparo bastante complexo compreendendo eventos de aposição e reabsorção óssea, ossificação endocondral, ossificação intramembranosa, inflamação e angiogênese. Além de poder ser empregado em várias espécies animais, constitui-se num modelo interessante para testes de drogas com ações farmacológicas sobre a matriz óssea. Drogas do grupo dos bisfosfonatos, hormônios como a calcitonina, alguns fatores ativos como proteínas morfogenéticas ósseas ou mesmo algumas terapias como oxigenoterapia hiperbárica têm sido utilizadas como coadjuvantes para estimular um reparo ósseo favorável em áreas osteomizadas e submetidas às trações efetuadas pelo aparelho distrator.

Considerando que várias drogas com alvo na matriz óssea, como aquelas para o tratamento da osteoporose, se encontram em ensaios clínicos avançados, vários fármacos estarão disponíveis nos próximos anos e precisarão ser testados em várias condições de reparo ósseo, sugere-se que a distração osteogênica seja considerada uma alternativa para uma maior compreensão do efeito dessas drogas sobre o metabolismo ósseo. O desenvolvimento de novos fármacos é fundamental, porque muitas drogas com propriedades antirreabsorptivas são efetivas, mas mostram alguns efeitos colaterais, além de exigirem longos períodos de tratamento.

Os conhecimentos sobre a biologia óssea proporcionados pela aplicação das drogas novas ou já existentes no modelo experimental de distração osteogênica pode permitir o desenvolvimento de novas estratégias com ação sobre estes novos mecanismos celulares ou moleculares, criando novas alternativas para o tratamento de pacientes com osteoporose ou com outras doenças esqueléticas, além de aperfeiçoar a técnica de distração osteogênica, tornando-a mais efetiva e menos desconfortável para o paciente. De fato, a descoberta de novos mecanismos relacionados com a biologia óssea ou aprofundamentos daqueles já existentes nos trabalhos experimentais com distração osteogênica são um excelente exemplo de como a pesquisa básica pode ser importante para o tratamento de doenças ósseas ou aceleração do reparo ósseo naquelas situações onde este se encontra prejudicado.

REFERÊNCIAS

- ALI, M.N. et al. Histologic study of the cellular events during rat mandibular distraction osteogenesis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 107, n.3, p. 325-335, 2009.
- ARSLAN, H. et al. The effects of osteoporosis on distraction osteogenesis: An experimental study in an Ovariectomised rabbit model. **Acta Orthop. Belg.**, Bruxelas, v. 69, n. 1, p. 67-73, 2003.
- BUCHMAN, S.R. et al. Unique rodent model of distraction osteogenesis of the mandible. **Ann. Plast. Surg.**, Boston, v. 49, n. 5, p. 511-519, 2002.
- BYUN, J.H. et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors after mandibular distraction osteogenesis. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 36, n. 4, p. 338-344, 2007.
- DE ALBUQUERQUE JR, R.F. et al. Trigeminal Nitric Oxide Synthase Expression Correlates with New Bone Formation During Distraction Osteogenesis. **Calcif. Tissue Int.**, Nova Iorque, v.82, n. 4, p. 309-315, 2008.
- GLOWACKI, J. et al. Nicotine impairs Distraction osteogenesis in the rat mandible. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 37, n. 2, p. 156-161, 2008.
- ISSA, J.P.M. et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone formation in the acute distraction osteogenesis of rat mandibles. **Clín. Oral Impl. Res.**, Copenhagen, v. 20, n. 11, p. 1286-1292, 2009.
- LITTLE, D. G. et al. Intravenous pamidronate reduces osteoporosis and improves formation of the regenerate during distraction osteogenesis: a study in immature rabbits. **J. Bone Joint Surg. [Br]**, Londres, v. 83-B, n. 7, p. 1069-1074, 2001.
- ROWE, N.M. et al. Angiogenesis during mandibular distraction osteogenesis. **Ann. Plast. Sur.**, Boston, v. 42, n. 5, p. 470-475, 1999.
- SALGADO, C.J. et al. Effects of hyperbaric oxygen therapy on an accelerated rate of mandibular distraction osteogenesis. **J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.**, Amsterdã, v. 62, n. 12, p. 1568-1572, 2009.
- SEN, C. et al. Effects of calcitonin and alendronate on distraction osteogenesis. **Int. Orthop.**, Berlim, v. 30, n. 4, p. 272-277, 2006.
- SMITH, E.J. et al. Transient retention of endochondral cartilaginous matrix with bisphosphonate treatment in a long-term rabbit model of distraction osteogenesis. **J. Bone Miner. Res.**, Washington, v. 19, n. 10, p. 1698-1705, 2004.
- WEI, H. et al. Effect of icariin on bone formation during distraction osteogenesis in the rabbit mandible. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 40, n. 4, p. 413-418, 2011.
- ZHENG, L.W. et al. Changes in blood perfusion and bone healing induced by nicotine during distraction osteogenesis. **Bone**, Nova Iorque, v. 43, n. 2, p. 355-361, 2008.

Submetido em 25.09.2013;

Aceito em 21.11.2013.