

JULIERRE DEIDSON DE LACERDA

**USO DO HOMOENXERTO NA IMPLANTODONTIA: REVISÃO DA
LITERATURA**

Faculdade de Odontologia

Universidade Federal de Minas Gerais

BELO HORIZONTE – MG

2014

JULIERRE DEIDSON DE LACERDA

**USO DO HOMOENXERTO NA IMPLANTODONTIA: REVISÃO DA
LITERATURA**

Monografia apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de especialista em cirurgia e traumatologia buco-maxilo-facial.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Campanha

Faculdade de Odontologia – UFMG

BELO HORIZONTE

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

L131u
2014
MP

Lacerda, Julierre Deidson de.
Uso de homoenxerto na implantodontia: revisão de
literatura / Julierre Deidson de Lacerda . – 2014.
28 f.

Orientador: Bruno Campanha.

Monografia (Especialização) – Universidade Federal de
Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Aloenxertos. 2. Implantes dentários. I. Campanha,
Bruno. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Odontologia. III. Título.

BLACK - D74



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
Belo Horizonte – MG – 31.270-901 – Brasil
Tel. (31) 3409-2470 Fax: (31) 3409-2472
Site: www.odonto.ufmg.br – posgrad@odonto.ufmg.br



Ata da Comissão Examinadora para julgamento de Monografia do aluno **Julierre Deidson de Lacerda**, do **Curso de Especialização em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial**, realizado no período de 01/08/2012 a 07/12/2014.

Ao 05º. (quinto) dia do mês de dezembro de 2014, às 16:30 horas, na sala da Pós-Graduação (3403) da Faculdade de Odontologia, reuniu-se a Comissão Examinadora, composta pelos professores Bruno pereira Campanha (Orientador), Cláudio Rômulo Comunian, Marcos Antônio Lima. Em sessão pública foram iniciados os trabalhos relativos à apresentação da monografia intitulada **“Uso do Homoenxerto Na Implantodontia: Revisão de Literatura”**. Terminadas as arguições, passou-se à apuração final. A nota obtida pelo aluno **75 (setenta e cinco)** pontos, e a Comissão Examinadora decidiu por bem, considerá-lo **aprovado**. Para constar, eu, *Prof. Bruno Pereira Campanha*, Presidente da Comissão lavrei a presente ata que assino, juntamente com os demais membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 05 de dezembro de 2014.


Prof. Bruno Pereira Campanha (Orientador)


Prof. Evandro Guimarães de Aguiar


Prof. Marcos Antônio Lima

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar sempre presente, por toda força e coragem e por ter colocado pessoas tão especiais em meu caminho.

Ao meu pai Amantino Novais de Lacerda, que partiu de forma tão inesperada deixando uma saudade enorme, mas que sempre me apoiou.

A minha mãe Nilza da Silva Lacerda, que mesmo com suas limitações, se orgulha de mais essa etapa na vida.

A minha esposa e filhos, por compreenderem os sacrifícios realizados para alcançarmos este objetivo.

Aos colegas de curso, que sem a ajuda e cooperação de todos, jamais conseguiria chegar até este momento.

Aos irmãos Hugo e Henrique, pessoas fantásticas e que foram peças fundamentais nessa minha caminhada.

Aos cirurgiões Diego e Damata, que além de colegas se tornaram irmãos.

A todos os professores por dividirem seus conhecimentos conosco, meus sinceros agradecimentos

Ao Prof. Dr. Bruno, pela orientação, companheirismo e conhecimento.

Aos Prof's Dr. Vladimir (Vladi) e Dr. Augusto (Guto) pela amizade, paciência e compartilhamento de conhecimento.

“Um professor influi para a eternidade; nunca se pode dizer até onde vai sua influência”

(HENRY BROOKS ADAMS)

Ao Prof Dr. Evandro pelo empenho, conhecimento e dedicação empenhados nessa nossa formação.

Aos Prof's Dr. Marcelo Naves e Dr. Claudio, por estarem presentes conosco em nossas atividades hospitalares, compartilhando suas experiências e conhecimentos.

Aos preceptores no Hospital Odilon Behrens, que ajudaram a nos guiar nessa empreitada.

A Cris e Chayene pela amizade, ajuda e profissionalismo impecáveis.

Aos funcionários Hospital Odilon Behrens que nos receberam e auxiliaram.

E por último, mas não menos importante, agradeço aos pacientes que nos confirmam sua saúde, acreditando em nossos conhecimentos e capacidades. A vocês serei eternamente grato.

Muito obrigado!

RESUMO

Os enxertos ósseos têm sido usados rotineiramente com resultados satisfatórios. Com o aprimoramento da técnica têm-se utilizado vários substitutos para o enxerto autógeno, que muitas vezes é limitado pela quantidade insuficiente a ser oferecida, além de causar o desconforto e a maior morbidade ao paciente. A escolha pela técnica do osso homogêneo de banco de ossos, como substituto enxerto autógeno, tem aumentado significativamente. Com isso, o objetivo deste trabalho seria avaliar, por meio de revisão de literatura, a efetividade do uso dos homoenxertos na implantodontia. Foi realizada pesquisa no banco de dados PubMed, sendo selecionados artigos baseados em parâmetros como sucesso clínico, taxa sobrevida implante, análise clínica e histológica. Comparando diversos artigos obteve resultados controversos no uso dos homoenxertos para implantodontia a curto e longo prazo. Com taxas de sucesso clínico inicial, porém quando realizado exame histológico, os resultados demonstram presença de osso necrótico e encapsulamento, sem evidências de neoformação óssea. Conclui-se pelos resultados, que o enxerto homogêneo apresenta bom resultado clínico inicial mas com perda óssea e necrose a longo prazo. E mesmo os autores que resultaram em sucesso clínico, são unânimes em dizer que, estudos a longo prazo são necessários para se comprovar a efetividade do homoenxerto.

Unitermos: Homoenxerto; implantodontia; enxerto óssea.

ABSTRACT

Bone grafts have been used routinely with satisfactory results. With the development of the technique, many products have been used to replace the autogenous graft, which many times can be limited due to the insufficient amount offered, with also the discomfort and risk of morbidity for the patient. The choice of the technique of homogenous bone from the bone bank, as a substitute for the autogenous graft has increased significantly. Therefore, the aim of this paper is to assess, by reviewing the literature, the effectiveness of the usage of the homografts in Implantology. Research has been done in the PubMed databank, with articles selected by using the parameters of range of clinical success, rate of life of the implant, clinical analysis, and histological analysis. When comparing the diverse papers, controversial results were found about the usage of homografts for Implantology to the long and short-term. There are rates of clinical success at the beginning, but when the histological exam is done, the results demonstrate the presence of necrotic bones and encapsulation, without evidence of a new formation of bones. It can be concluded by the results of the analysis, that the homogenous graft presents a satisfactory initial clinical result, but later on, there are bone loss and necrosis in the long-term in the process. And even the authors who obtained a clinical successful result, are unanimous to declare that studies in the long-term are necessary to substantiate the effectiveness of the homograft.

Key Words: *Homografts; implantology; Bone Graft.*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	09
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3 REVISÃO LITERATURA.....	12
3.1 Biologia da reparação óssea em enxerto autógeno.....	12
3.1.1 Função dos diferentes fatores no processo da neogênese.....	14
3.2 Homoenxerto.....	16
4 DISCUSSÃO.....	23
5 CONCLUSÃO.....	25
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O osso alveolar, após extrações, sofre um processo fisiológico de reabsorção que, muitas vezes, limita a quantidade de osso impossibilitando a reabilitação por meio de implantes. Contudo, graças à enxertia óssea tem-se ampliado o estudo sobre o uso de implantes osseointegrados na substituição de dentes perdidos, gerando a necessidade de novas técnicas de reconstrução ósseas. (SOBREIRA *et al*, 2011).

Breine e Branemark em 1980, afirmaram que pacientes com quadro de edentulismo total, não podendo ser reabilitados adequadamente com próteses removíveis mucossuportadas, o tratamento de escolha seria próteses suportadas por implantes dentais. Sendo que, nos casos onde a quantidade ou a qualidade do rebordo alveolar não proporcionar tecido ósseo adequado para ancoragem de implantes dentais, a restauração da anatomia dos maxilares se fez necessário.

Para tal, o material reconstutivo ideal para substituição óssea deveria: facilitar a revascularização, promover a osteogênese e osteoindução, não exibir propriedades antigênicas, existir em abundância sem necessidade sítio doador e prover adequada estabilidade e suporte. (MOLON *et al*, 2009).

A procura por substitutos que apresentassem as mesmas propriedades que o osso autógeno, com objetivo de reduzir a morbidade dos procedimentos cirúrgicos, pesquisas e técnicas com novos materiais foram desenvolvidas.

Metodologias tem sido estudadas para reconstrução do osso atrofiado, buscando otimizar o tratamento posterior com implantes osseossuportados, tais como: enxerto ósseo autógeno, alógeno, xenógeno, aloplástico, ROG (*regeneração óssea guiada*), distração osteogênica, fatores crescimento e, por fim, a combinação destas metodologias. Contudo, apesar dos extensos esforços para se criar e promover substitutos ósseos nos tempos atuais, o osso autógeno continua sendo a referência em qualidade, para as demais técnicas desenvolvidas. (DORNIT, 2008; RISSOLO & BENNETT, 1998).

A seleção de determinada metodologia está relacionada à extensão do defeito, com conformação anatômica da área a ser tratada, com as condições locais dos tecidos

moles e duros, com as exigências de reabilitação do paciente e, não menos importante, com as preferências de cada operador. Tendo como objetivo comum restaurar a morfologia adequada das áreas êdentulas e as relações esqueléticas entre os maxilares, recriando um volume ósseo apto à inserção de implantes com dimensões adequadas às necessidades mecânicas. (CHIAPASCO & ROMEO, 2007).

Assim, diante das varias técnicas de reconstrução óssea existentes, o objetivo deste trabalho é comparar, por meio de revisão da literatura, o uso do homoenxerto e enxerto autógeno na implantodontia atual.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta revisão bibliográfica foi realizado baseado em artigos científicos pesquisados na base de dados PubMed. Principais palavras pesquisadas foram: *dental implant, bone implant, bone regeneration, bone grafting, allografts bone, autologous bone, fresh freeze bone* e *fresh dried bone*. Foram selecionados artigos que seguiam seguintes parâmetros:

- Tipo enxerto utilizado;
- Taxa de sobrevivência do implante;
- Análise clínica e histológica;
- Tempo de acompanhamento;
- Taxa de sucesso clínico.

3 REVISÃO LITERATURA

3.1 Biologia da reparação óssea em enxerto autógeno

O osso autógeno é considerado o padrão ouro na enxertia óssea, servindo de orientação para avaliação de outros materiais para mesma finalidade. Vários processos diferentes facilitam a regeneração do osso alveolar perdido, sendo que todos esses processos fundamentam-se em 3 princípios básicos da recuperação óssea: osteogênese, osteoindução e osteocondução. (AHLMANN *et al*; 2002):

- Osteogênese: definida como a capacidade de neoformação óssea pelo enxerto, provendo células naturais capazes de formar novo osso;
- Osteoindução: Capacidade de induzir as células mesenquimais indiferenciadas, proveniente do leito receptor ou tecidos circunvizinhos, a se diferenciarem em osteoblastos. Estimulando a neogênese óssea no enxerto e leito receptor;
- Osteocondução: Definido como a capacidade de criar suporte estrutural para a neoformação óssea. Assim permite o crescimento vascular e invasão células matrizes provenientes do leito receptor.

O osso autógeno estimula a separação, diferenciação e secreção das células ósseas presentes e das células mesenquimais indiferenciadas através de substâncias mensageiras para sintetizar o novo osso. Portanto, além de possuir tais características já citadas, pode-se descartar as respostas imunes pelo hospedeiro. (KING; 2002).

Urist *et al* (1983) e Burchardt (1983), determinaram que um material ideal para enxerto deve apresentar as seguintes características: biocompatível ou biotolerado, osteocondutor, eliminado do organismo em um tempo compatível com a sua substituição por novo osso, fácil manipulação, esterilizável, facilmente obtido, hidrofílico, econômico, antigênico, não ter ação cancerígena e não atuar como substrato para proliferação de microrganismos patogênicos.

Porém, concordam que nenhum material de enxertia óssea possui todas características unidas em um só.

O mecanismo da neoformação óssea segue análogo ao mecanismo de reparo das fraturas ósseas, diferenciando pela presença de tecido ósseo transplantado. De forma geral, o tecido ósseo transplantado evolui para uma necrose no leito receptor não havendo preocupação com o processo infeccioso e imunológico, pois o enxerto ósseo mantém inalterada a sua composição molecular e estrutural. Há diminuição pH, favorecendo a atividade dos leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, removendo os resíduos necrosados. (DOMIT, 2008).

O osso apresenta uma extraordinária capacidade de regeneração. Entretanto, a regeneração total fica limitada quando os seguintes fatores impedem a reparação (KHOURY, 2011):

- Irrigação sanguínea escassa: O tecido ósseo está dotado de uma rede vascular rica, que garante a proliferação vasos e o aporte hemático ao enxerto;
- Instabilidade mecânica: Para que ocorra a penetração de novos vasos e a diferenciação celular na linhagem osteoblástica, é imprescindível a imobilização do enxerto. Os macros e micromovimentos interferem na revascularização e desencadeiam uma pseudo-artrose ou uma reabsorção acelerada do enxerto;
- Competição com tecidos altamente proliferativos e contaminação externa: O tecido ósseo recém-trasplantado é vulnerável à infecção, por estar escassamente vascularizado e deficiente em células defesa e pela perfusão de algum fármaco.

Chiapasco & Romeo (2007) descrevem o mecanismo da aceitação ou reparação do enxerto ósseo, em 2 fases:

Fase 1: Das primeiras horas até os primeiros 2 a 4 dias, após lesão vasos sanguíneos locais, ocorre hemorragia com formação de um coágulo pelas plaqueta, agindo no controle da hemostasia e na liberação de mediadores (*PDGF-Platelet Derived Growth Factor*, *TGF-Transforming Growth Factor*, *IGF 1 e 2-Insulin-like Growth Factor*). No 5º dia, há organização do coágulo primitivo formando tecido granulação, contendo vasos recém formados, macrófagos e vários isotipos de colágeno. Há deposição e diferenciação de células pluripotenciais em osteoblastos, atraídas po fatores como BMP (*Bone*

Morphogenetic Proteins) e os TGF. Da 2ª a 4ª semana, há diminuição células inflamatórias e aumento atividade osteoclástica. O enxerto é invadido pelos vasos sanguíneos, havendo produção e liberação biomoléculas (BMP; BDGF-*Bone Derived Growth Factor*; IGF 1 E 2; FGF-*Fibroblast Growth Factor*; PDFG e TGF) que irão controlar ativação e diferenciação células mesenquimais do hospedeiro em células osteoprogenitoras. Havendo portanto, a formação de osso esponjoso desorganizado e carente de sistema de Havers seguido pelo retorno do pH ao normal, afim prover melhor oxigenação dos tecidos e diminuição atividade dos macrófagos.

Fase 2: caracteriza-se pela remodelação e substituição do tecido osteóide por osso lamelar, mediante a osteoindução e a transformação do sistema harvesiano. Ocorre uma rápida proliferação de capilares vasculares para dentro enxerto garantindo sua nutrição.

3.1.1 Função dos diferentes fatores no processo da neogênese

Para compreendermos como um enxerto ósseo pode ser aceito adequadamente no leito receptor, é necessário entender quais são as principais potencialidades que um enxerto pode alcançar na neogênese óssea. Sabendo disto, devem ser considerados muitos mediadores, hormônios, células e produtos metabólicos implicados neste processo. (HAM, 1952; BECKER, 1990; CHAPPARD, 1983; king, 2002; CHIAPASCO & MATEO, 2007; SYKARAS, 2000; FOUAD, 2011).

Matriz óssea: Constitui um componente extracelular do tecido ósseo, conferindo características de resistência e dureza. Composto por uma parte orgânica (colágeno tipo I) e uma parte inorgânica (cristais hidroxiapatita).

Osteoblastos: Provenientes das células progenitoras mesenquimais multipotentes, são células diferenciadas que depositam a matriz óssea e regulam o depósito de minerais mediante a produção de colágeno, prostaglandinas, colagenase, dentre outros. Durante as fases de transformação do osso, alguns osteoblastos diminuem sua atividade osteogênica e ficam incorporados na matriz, formando os osteócitos. Tendo como função o controle transporte iônico através de nexos ou *gap junctions*, sendo essenciais na nutrição óssea.

Células de revestimento: São células que, junto com o osteócitos, formam uma camada que reveste as superfícies ósseas, criando uma barreira entre o tecido ósseo e o ambiente que o envolve. Agem, mediando as trocas moleculares, transportando íons minerais e outras substâncias. Osteoclastos: São células gigantes polinucleadas que derivam do tecido hematopoiético. São precursoras dos monoblastos, que se formam no fígado, *baço, timo e medula óssea*. Agem decompondo o tecido calcificado mediante um processo de acidificação, que leva à dissolução dos cristais de hidroxiapatita. Se dispõem ao longo da superfície óssea a ser reabsorvida, levando à formação de lacunas de reabsorção conhecidas como lacunas de *Howship*.

BMP (*Bone Morphogenetic Proteins*): São proteínas com alta capacidade osteoindutora, através do qual, induzem uma cascata de eventos como a quimiotaxia, proliferação e diferenciação celulares afim de promover a neoformação óssea.

BFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*): Esse fator é uma molécula identificada sobre a superfície endotelial, que estimula a neoangiogênese e interage com as BMP na diferenciação de células pluripotenciais.

TGF(*Transforming Growth Factor*): É um termo que compreende uma superfamília de fatores de crescimento. São sintetizados por plaquetas, macrófagos e osteoblastos, desempenhando uma função de quimiotaxia e mitogenia ativando pré-osteoblastos, células pluripotenciais e fibroblatos na neoformação óssea. Como também, agem como mediadores na remodelagem óssea e na maturação de um enxerto ósseo, inibindo a atividade osteoclástica.

SGF (*Skeletal Growth Factor*): Acredita-se que o fator de crescimento esquelético aumenta a taxa de formação óssea, agindo sobre o número de células e na sua atividade afim de favorecer a incorporação de prolina ao colágeno e aumentando o conteúdo de fosfatase alcalina.

IGF (*Insulin-like Growth Factor*): São liberados na reabsorção da matriz óssea e agem como mitógenos celulares sobre os pré-osteoblastos e estimula também a produção de colágeno por parte dos osteoblastos já existentes, compensando dessa maneira a atividade osteoclástica.

PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*): Esse fator é uma glicoproteína sintetizada, pelas plaquetas, macrófagos e células endoteliais. É um dos primeiros fatores envolvidos

no reparo inicial de uma ferida e é liberado durante a degradação das plaquetas. Estão implicados nos processos de reparação dos tecidos, osteogênese, ativação dos macrófagos, quimiotaxia dos fibroblastos e nos precursores das células ósseas, assim como de outros fatores envolvidos na cicatrização das feridas.

CDGF (*Cartilage Derived Growth Factor*): Favorece a formação do tecido de granulação e do colágeno, estimulando a neoangiogênese e a formação de fibroblastos nas distintas fases de reparo dos tecidos.

Interleucinas (*IL*): Formam parte das citocinas e que participam ativamente da regulação local do metabolismo ósseo. Sendo a IL-1 e IL-6, consideradas mais ativas no metabolismo ósseo.

3.2 Homoenxerto

Homoenxerto é conceituado como enxerto ósseo colhido em outro indivíduo, geneticamente diferente, mas da mesma espécie do receptor. Pode provir tanto de cadáveres quanto de seres vivos que foram submetidos à amputações terapêutica, podendo ser coletado da crista íliaca, fêmur, tibia, úmero costelas e vertebra. (CHIAPASCO & ROMEO, 2007).

Uma vez coletado e removido os tecidos moles o material é lavado, cortado e armazenado em recipiente de vidro estéril. Podendo ou não ser submetido a um processo denominado liofilização, que consiste em etapas de congelamento e secagem para remoção células do seu interior. Assim, pode-se denomina-los em: FDB (*Freeze-dried Bone*), DFDB (*Desmineralized Freeze-dried Bone*) e Osso Fresco Congelado: (BECKER *et al*, 1995; WETZEL *et al*, 1995; LYNCH *et al*, 2000; LEITÃO, G., 2009).

- FDB: Componente mineral não é removido, apresentando a matriz orgânica mergulhada na estrutura inorgânica. Sua ação baseia na ação dos osteoclastos reabsorvendo a matriz inorgânica do enxerto, expondo as BMP's contidas na matriz orgânica e aumentam os íons de cálcio e fosfato, úteis no processo da osteogênese.
- DFDB: Há processo adicional em que ocorre desmineralização das partículas ósseas por imersão em ácido nítrico por 6-16hs. Este processo disponibiliza

maiores quantidades de BMP em relação ao FDB, não sendo necessária a atividade osteoblástica para que sejam liberadas.

- Osso Humano Fresco Congelado: Consiste na coleta asséptica de blocos ósseos de um doador vivo ou cadáveres, sendo assim processado e congelado a -80°C , mantendo células osteogênicas viáveis, sendo tratado em condições estéreis, colocados em embalagem estéril e resistente ao congelamento. São submetidos a testes sorológicos para sífilis, doença Chagas, HIV, hepatite A, B e C, HTLV-1, cultura para fungos e bactérias aeróbias e anaeróbias. Estas normas são recomendadas pela Associação Americana de Bancos de Tecidos (AATB 1992) nos Estados Unidos e, no Brasil, regulamentada pelo Decreto 1.686/2002, do ministério da Saúde.

Nishibori *et al* (1994) num estudo clínico, compararam clínica e histologicamente, enxerto ósseo autógeno e homogêneo (DFDBA) em cirurgia para levantamento assoalho seio maxilar com posterior inserção de implantes dentais. Foram removidos amostras ósseas com 8 e 16 meses, em que a análise histológica do homoenxerto demonstrou osso de má qualidade com presença de material encapsulado após esse período, predispondo ao insucesso clínico. Concluindo que o enxerto autógeno possuiu neoformação óssea superior, comparado ao homoenxerto DFDBA.

Becker *et al* (1994) comparando neoformação óssea em cavidades de alvéolos pós-extração dental, utilizaram enxerto ósseo autógeno e homoenxerto DFDBA como materiais de preenchimento. Foram colhidas amostras tecido ósseo em 5 tempos pós cirúrgico variando de 3 a 13 meses. Ao exame histológico, observou áreas necróticas com partículas de DFDBA cercados por tecido conjuntivo inflamatório, não encontrando evidências de qualquer atividade osteoclástica ou osteoblástica. Já nas amostras enxerto autógeno, o osso foi semelhante ao adjacente, com presença osteócitos e formação vasos sanguíneos. Concluindo que fragmentos de partículas do DFDBA encontrados atrasam a formação óssea normal.

A fim de avaliar as propriedades osteoindutivas do osso humano desmineralizado e liofilizado (DFDBA), Becker *et al* em 1995, adquiriram amostras comerciais aleatórias de quatro bancos de ossos (*LifeNet, Cruz Vermelha, Muscolsketal e Pacific Coast*). Para tal, foram realizados 16 enxertos em 8 camundongos, sendo 2 enxertos serviram de controle com infusão de proteína óssea morfogenética não-colágenas (h-BMP) à superfície do osso cortical humano desmineralizado. Os resultados se mostraram

insatisfatórios para nova formação óssea nas diversas marcas comerciais encontradas, com quantidades insignificantes de formação novo osso. Já o grupo controle com presença de h-BMP, apresentou quantidades impressionantes de formação óssea ativa, com presença de osteoblasto, condroblasto e osteócito. O presente trabalho sugere que o DFDBA disponível no estudo apresenta quantidades insuficientes de BMP`s para induzir a formação de osso novo em camundongos, porém, mesmo não sabendo quantifica afirma que há neoformação óssea quando BMP`s está presente.

Jesus-Garcia & Feofiloff (1996) realizaram um estudo das técnicas de obtenção, processamento, armazenamento e utilização de homoenxertos ósseos e descreveram os procedimentos adotados pelo Banco de Ossos do Hospital de São Paulo. O trabalho apresentou resultados da implantação de 45 homoenxertos. O baixo índice de complicações demonstrou que o método é eficaz e os autores acreditam que os homoenxertos congelados, obtidos em condições assépticas funcionam como uma plataforma para a formação de um osso novo, agindo mais como um osteocondutor que um osteoindutor. Além disso, os enxertos ósseos congelados podem ser reabsorvidos e transformados com mais facilidade do que os enxertos tratados com substâncias químicas, difíceis de serem removidas.

A quantidade de neoformação óssea está relacionado com a idade do doador e, quantidade de BMP implantado. Nos estudo apresentados por Becker et al(1995) e Panegrau *et al* (1998), a idade dos doadores variava entre 25 a 65 anos. Uma vez que a quantidade de BMPs presente diminui após a quarta década de vida e sendo que, estes doadores podem ter diminuído sua quantidade de BMPs, isto pode ter sido responsável para uma resposta de neoformação óssea indutiva mínima em seus estudos.

Ross *et al.* (2000) salientaram que o risco de transmissão de doenças ocorre, mesmo dentro das normas legais que regem os Bancos de Tecidos Músculo-Esquelético, sendo: a captação, processamento, estocagem e transporte do tecido ósseo. E sugerem que todo tecido ósseo homólogo utilizado em procedimentos reconstrutivos devem ser proveniente de bancos de tecidos credenciados pela Anvisa, a fim de aumentar a segurança contra doenças transmissíveis.

Ullmark *et al.* (2002) afirmaram que a revascularização e remodelação óssea do homoenxerto aos 8 meses é inferior a do enxerto autólogo no mesmo período, tendendo a igualar-se após 12 meses. Soube-se também que a total remodelação do homoenxerto

pode nunca ocorrer, com áreas de osso necrótico podendo ser encontradas mesmo em longos períodos pós-enxertia, ainda que o enxerto apresente funcionalidade para suporte de cargas, de tensão e compressão.

Segundo Misch (2002), a indicação do osso homogêneo deve-se principalmente à ausência de osso autólogo para captação e também ao fato do paciente apresentar, em alguns casos, resistência frente à necessidade de manipulação de um segundo leito cirúrgico para sua captação e morbidade pós cirúrgicas.

Weyts *et al* (2003) encontraram células vivas no interior de amostras de osso fresco e criopreservado. Mesmo acreditando que a ultrabaixa temperatura tinha capacidade de romper a membrana celular pela cristalização da água contida no interior das células. Assim, existe riscos de transmissão viral e contaminação bacteriana neste tipo de osso, portanto necessitam de testes efetivos de sorologia do doador.

Leonetti & Koup (2003) demonstraram alta atividade osteogênica dos enxertos alógenos frescos e congelados. Porém este processo ocorrerá de forma mais lenta. Como também, afirmam ausência infecção, baixa reabsorção e boa densidade a fim de promover estabilidade primária dos implantes e sucesso clínico à carga funcional.

Macedo *et al* (2006) utilizaram enxerto de osso humano fresco congelado previamente à instalação de implantes dentais. Para tal, foram triados 76 pacientes sendo, 19 casos submetidos ao enxerto sinusal, 55 casos submetidos ao aumento de espessura de rebordo da maxila e mandíbula e, 2 casos selecionados para reconstrução em alvéolos dentais. Observaram na reabertura que aos 6 meses, o tecido não estava completamente remodelado e maturo, com presença de osso de baixa densidade.

Molon *et al* (2009) e Sobreira *et al* (2010) demonstram em relatos de casos, a eficácia clínica no uso de enxerto ósseo homogêneo (UniOss) na reconstrução de maxila atrófica. Realizaram em seus trabalhos, enxertia óssea na região da pré-maxila com posterior instalação dos implantes e prótese dental. Após um período de 4 anos de controle clínico/radiográfico, os autores classificam os casos com taxas de reabsorções semelhante à maioria dos casos, sem indícios de insucesso. Concluindo sendo uma alternativa viável o uso de enxerto ósseo homogêneo. Porém afirmam que não é vasta a literatura que relata os resultados de procedimento de reconstituição usando osso de banco, sendo assim, não é conclusiva devido à variedade na utilização de técnicas,

sistemas de implantes, períodos de recuperação e abordagens na colocação de implantes. Sendo necessário estudos a longo prazo afim de comprovarem sua previsibilidade.

Mishra *et al* (2010) realizaram estudo com 24 pacientes afim de avaliar a eficácia da enxertia com DFDBA, hidroxiapatita (HA) e a combinação de ambos em defeitos ósseos mandibulares. Neste estudo não houve exame histológico pós-operatório pela não autorização dos pacientes, sido realizado radiografias periapicais para controle. Como resultados o grupo utilizando apenas DFDBA apresentou formação óssea imediatamente após preenchimento se comparado aos outros grupos (HA e HÁ+DFDBA). Conclui que a utilização pura do DFDBA oblitera os defeitos ósseos ignorando a fase de reabsorção obrigatória, mostrando os primeiros indícios de formação óssea. Assim os autores atribuem propriedades osteoindutivas ao enxerto homogêneo DFDBA, uma vez que os processos envolvidos na preparação e descalcificação expõe sobre a superfície as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs).

Num estudo retrospectivo com 90 casos, Guerrero *et al* (2012), avaliou a aplicabilidade e eficácia clínica do FDBA e DFDBA, como material escolha em cirurgias de enxerto ósseo para levantamento assoalho seio maxilar com posterior inserção implantes dentais. Deste total, o trabalho apresentou taxa de sucesso clínico de 87% de osseointegração para os implantes dentais inseridos numa segunda etapa que variou de 6 a 11 meses (média de 8 meses). Foram tomadas 2 amostras ósseas após 6 meses, para realização exame histológico, que revelou a presença de formação de osso vital com osteócitos, algum infiltrado de células inflamatórias ausência de tecido necrótico. Os autores atribuem o sucesso clínico ao fato do DFDBA agir principalmente como osteocondutor e menos como osteoindutor, uma vez que os bancos de ossos não teriam como garantir uma presença suficiente de BMPs no processamento das peças óssea.

Abla *et al* (2012) avaliaram através de análises histológicas e imunohistoquímicas, amostras de tecido ósseo homogêneo enxertados em humanos. Selecionaram 10 pacientes com defeitos ósseos em espessura para o estudo, em que, após 6 meses, houve a reabertura para instalação dos implantes osseointegráveis e coletas das amostras ósseas com broca trefina. Após análise, observaram presença tecido ósseo não vital e infiltrado inflamatório com áreas de osteomielite. Concluindo que o enxerto

homógeno fresco congelado em bloco, não incorporou ao leito receptor após período de 6 meses.

Pelegrine *et al* (2011) realizaram estudo clínico e histomorfométrico em coelhos com objetivo de investigar o potencial cicatrização óssea do osso homólogo fresco congelado e compará-lo com osso autógeno. Como também, verificar a associação destes com medula óssea iria melhorar a formação óssea. Foram divididos em 2 grupos com material mineralizado e não mineralizado. Houve diferença estatística significativa com resultados macroscópicos e histomorfométricos de formação óssea que eram comparáveis ao grupo controle (autógeno). Os autores atribuem o resultado ao potencial osteocondutivo e osteoindutivo do osso fresco congelado, pois o material não se encontra liofilizado e não estéril, que em teoria, preserva o potencial osteoindutivo.

Macedo *et al.* (2012) também obtiveram resultados satisfatórios ao já apresentado, quando avaliou clínica e radiograficamente o aumento ósseo vertical em maxila e mandíbula utilizando enxerto ósseo fresco congelado. Foram selecionados 9 pacientes e utilizados blocos ósseos Banco de Marília (Unioos). Após 7 meses os sítios foram expostos para inserção implantes dentais com uma taxa reabsorção média de 20% compatível com enxerto autógeno.

Krasny *et al.* (2013) realizaram estudo com 68 pacientes tendo o objetivo de avaliar os resultados imediatos e a longo prazo no aumento de maxila atrófica e processos alveolares mandibulares com o uso de homoenxertos. Para tais reconstruções, foram utilizados blocos ósseos frescos e congelados e matriz óssea desmineralizada e liofilizada concomitante ao uso de membrana de plasma rico em fibrina (PRF). Foram realizados acompanhamentos clínico e radiográficos por um período de 9 meses. O estudo obteve altura e largura dos processos alveolares, considerado adequado para o restabelecimento do sistema implante/prótese. Os autores relatam que os dados clínicos obtidos a longo prazo de acompanhamento dos homoenxertos, são compatíveis ou superior ao enxerto autógeno e que o uso de membranas de PRF permite a união rápida de enxerto ao osso, por conter fatores de crescimento e atuando como barreira mecânica contra penetração do endotélio. Concluem que o procedimento cirúrgico com esse tipo de enxerto ósseo constitui uma modalidade de tratamento muito eficaz e promissora em pacientes com atrofia alveolar. Porém nenhum estudo histológico fora realizado neste estudo.

Resultados similares, Chiapasco *et al.* (2013), compararam o resultado clínico de reconstruções de maxilas atróficas, reconstruídas com enxerto ósseo homogêneo fresco congelado e osso autógeno. Para tal, acompanharam 8 pacientes que receberam tais enxertos com posterior instalação implantes dentais. Após 2 anos de acompanhamento observou, nos pacientes com homoenxertos, que houve exposição e perda parcial de osso (média 1,64mm) em 75% e uma taxa de sucesso nos implantes de 91%. Já nos pacientes com enxertos autógenos, houve sucesso em 100% dos implantes e perda óssea com média de 0,92mm. Assim concluem que o enxerto osso humano fresco e congelado não é uma alternativa confiável.

Xavier *et al.* (2014) compararam a neoformação óssea em levantamento assoalho seio maxilar entre enxerto autógeno versus osso fresco congelado. Foram selecionados 15 pacientes com inserção implantes dentais após 6 meses, período que realizou biópsias tecido ósseo com broca trefina. Os achados clínicos e histomorfométricos indicaram boa capacidade regeneração em ambos os enxertos, concluindo que os achados no estudo suportam o uso do osso fresco congelado em cirurgias de aumento seio maxilar.

Spin-Neto *et al.* (2014) obteve resultados contrários aos já apresentados, quando comparou, em 24 pacientes, a remodelação em cirurgias de enxerto ósseo fresco e congelado cortical e córtico-esponjoso (UniOss) com enxertos ósseos autógenos. Foi realizado análise clínica, radiográfica e histomorfométrica em 94 blocos ósseos após 6 meses da cirurgia. Em seus resultados observou áreas de osso necrosado de tamanho variável com ausência de osteoblastos e vasos capilares em todas as biópsias. Os blocos alo gênicos corticais apresentaram clinicamente, manutenção volumétrica satisfatória, porém permaneceu quase que inteiramente necrótico após 8 meses na análise histológica. Em que quantidades mínimas de osso vital foram observadas nas proximidades do rebordo residente. Já os blocos alógenos córtico-esponjoso apresentou menor taxa osso necrosado, porém houve a maior taxa de reabsorção óssea. Fato este atribuído pelos autores, por apresentarem a menor fração osso mineralizado e ao formato trabecular do mesmo. Assim concluem que a arquitetura do aloenxerto influencia de forma significativa a sua remodelação dimensional e incorporação.

4 DISCUSSÃO

Cada vez que se transplanta um material proveniente, seja da mesma espécie ou de espécies diferentes, cria-se uma resposta tissular do hospedeiro, dependente de fatores de histocompatibilidade entre doador e receptor. (BOYLE, 1971).

Várias técnicas cirúrgicas de enxertia óssea nos maxilares atróficos têm sido propostas nos últimos anos. O enxerto ósseo autógeno ainda é considerado o padrão ouro comparado a outros materiais hoje existentes, devido à suas propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese. No entanto, estas técnicas estão associadas à morbidades pós-operatórias relevantes como: limitação de material, área doadora, dor pós-operatória e possíveis complicações pós- cirúrgicas. Com isso, a utilização do homoenxerto vem sendo defendida e estimulada por alguns autores.

O enxerto homogêneo fresco congelado é uma alternativa para as reconstruções dos rebordos atróficos devido a sua capacidade de remodelação, incorporação e qualidade que permite resistir a cargas funcionais quando da instalação de implantes osseointegráveis.(AHLMANN *et al.*, 2002).

Autores como Jesus-Gracia e Feofiloff (1996) e Molon *et al.* (2009), em seus estudos, atribuem taxas de sucesso do homoenxerto DFDB às propriedades osteocondutoras e osteoindutoras do mesmo. Resultados compatíveis, Pelegrine *et al.* (2011), obteve em seu estudo clínico e de histomorfometria, relatando resultados de neoformação óssea com enxerto homogêneo fresco e congelado comparáveis ao enxerto autógeno. Guerrero *et al.* (2012), apesar de relatar taxas de neoformação óssea compatíveis com estes autores, atribuem os resultados apenas as propriedades osteocondutivas do homoenxerto.

Resultados semelhantes já encontrados por Nishibori *et al.* (1994) e Becker *et al.* (1994). Em estudos clínicos e histológicos, também concluíram por não atribuir características osteoindutivas de neoformação óssea ao homoenxerto. Encontrado em suas amostras histológicas, indícios de não formação óssea se comparadas ao enxerto autógeno com presença de osso necrótico e encapsulamento das partículas. Resultados estes compatíveis com os encontrados por Ulmark *et al.* (2002), afirmando que a remodelação óssea do homoenxerto poderá jamais ocorrer.

Estudos clínicos e histomorfométricos recentes de Spin-Neto *et al.* (2014) e Chiapasco *et al.* (2013), desestimulam o uso do osso humano fresco e congelado. Por encontrarem presença osso necrosado e maior taxa de reabsorção óssea, com baixo índice de sucesso na instalação dos implantes dentais.

Já Krasny *et al.* (2013) e Macedo *et al.* (2012) concluem pela eficácia do uso do homoenxerto, apresentando resultados comparáveis ao enxerto autógeno. Porém não apresentam em seus estudos, análises histológicas para reforçarem suas conclusões. Já Pelegrine *et al.* (2011) e Xavier *et al.* (2014), através de análise histológicas num período de 7 a 9 meses, defendem em seus achados o uso do osso humano fresco e congelado. Porém Abla *et al.* (2012), divergem destes resultados por encontrarem em suas análises clínicas e histológicas, tecido ósseo de baixa densidade e presença de osso não vital após 6 meses de cirurgia.

Mesmo apresentado resultados satisfatórios, muitos autores reconhecem a necessidade de mais estudos e acompanhamento clínico à longo prazo. Uma vez que alguns trabalhos associaram seus índices de sucesso à instalação dos implantes dentais, acompanhamento por menos de 1 ano e a não realização de exames histológicos a longo prazo.

Estudos sugerem que o enxerto de osso fresco e congelado pode mostrar resultados semelhantes aos obtidos com enxerto autógeno, sobre a possibilidade de instalação do implante na área enxertada. Porém é importante interpretar esses resultados com cuidado, em que taxas de sucesso de 40% em 4 anos foram notificados, devido ao aumento da taxa de peri-implantite e perda óssea nessas áreas. Assim o homoenxerto fresco e congelado é opção nos casos em que a futura inserção do implante dental, seja previsivelmente posicionados principalmente dentro do osso residente, assegurando uma grande proporção osso vital. (CARINCI *et al.*, 2010; CHIAPASCO *et al.*, 2009; STAVOPOULOS *et al.*, 2012).

Desse modo, observamos que apesar do homoenxerto apresentar maior facilidade de uso, menor tempo de cirurgia e morbidade, o enxerto autógeno ainda apresenta melhores resultados com maior previsibilidade à longo prazo.

5 CONCLUSÃO

Baseado no universo de trabalhos aqui pesquisados, pode-se concluir que:

- O osso autógeno é a melhor opção para obtenção de uma regeneração óssea de qualidade;
- Há uma demanda crescente de pesquisas no intuito de descobrir um substituto ósseo com características comparáveis ao enxerto autógeno;
- O homoenxerto, liofilizado ou fresco congelado, apresentaram bom resultado clínico inicial, porém seu acompanhamento a longo prazo, resultou em perda óssea local e presença de osso necrótico;
- Trabalhos que apresentaram sucesso clínico inicial ou médio prazo de acompanhamento, não realizaram estudos histológicos, baseando-se em análises clínicas e radiográficas;
- Trabalhos que complementaram seus resultados com análises histológicas, desestimulam seu uso pela deficiência de remodelação óssea e pouca previsibilidade. Necessitando de mais estudos a longo prazo para.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABLA, Marcelo Sablag et al. Avaliação da incorporação de enxerto ósseo homólogo fresco congelado em humanos: Análises histológicas e imuno-histoquímicas. *Implant News*, v 9, n.6a, p.159-165,2012.
2. BECKER W., Schenk R., Higuchi K. Variation in bone regenerations adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dog. *Int J Oral Maxillofac Impl*, v.10, n.2, p.143-154, 1995.
3. BECKER W., BECKER B.E., HANDLESMAN M., CELLETI R., OCHSENBEIN C., HARDWICK R. et al. Bone formation at dehisced dental implant sites treated with implant augmentation material: a pilot study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent*,v.10, p.92-101, 1990.
4. BECKER, W., URIST, M.R., TUCKER, L.M. Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminar report. *J. Periodontol* ,v.66,p.822-828,1995.
5. BECKER, W. & BECKER B.E. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J. Periodontol*,v.65,p.1128-1133,1994.
6. BOYNE P.J. Transplantation, implantation and graft. *Dent Clin Nor Am*, v.15,n.2 e4,p.433-453, 1971.
7. BURCHADT H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Rel Res*,v.174,n.4,p.28-42,1983.
8. CARINCI, F., BRUNELLI, G., FRANCO, M., VISCIONI, A., RIGO, L., GUIDI, R. & STROHMENGER, L. A retrospective study on 287 implants installed in resorbed maxillae grafted with fresh frozen allogeneous bone. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*,v.12,p. 91-98,2010.
9. CHAPPARD, D., ALEXANDRE, C., RIFFAT, G. Histochemical identification of osteoclasts. Review of current methods and reappraisal of a simple procedure for routine diagnosis on undecalcified human iliac bone biopsies. *Basic Appl Histochem*,v.27,p.75-85,1983.
10. CHIAPASCO M. & ROMEO E. Reabilitação oral com prótese implantossuportada para casos complexos. *Livraria Santos Editora*,p.142-156, 2007.
11. CHIAPASCO, M., CAENTINI, P. & ZANIBONI, M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. v.24, p.237-259, 2009.

12. GUERRERO, J. & AL-JANDAN, B. Allograft for maxillary sinus floor augmentation: a retrospective study of 90 cases. *Implant dent*, v.21,p.136-140,2012.
13. HAM A.W. Some histophysiological problems peculiar to calcified tissues. *J Bone Joint Surg Am*, v.24,n.A-3,p.701-28,1952.
14. KRASNY M., KRASNY K., KAMINSKI A., MALGORZATA Z., PIEKARCZYK P., FIEDOR P. Evaluation of safety efficacy of radiation-sterilized bone allografts in reconstructive oral surgery. *Cell Tissue Bank*,v.14,p.367-374,2013.
15. KING G.N.,COCHRAN D.L. Factors that modulate the effects of bone morphogenetic protein-induced periodontal regeneration:a critical review. *J Periodontol*,v.73,p.925-36,2002.
16. KHOURY, F. Aumento Ósseo em implantodontia. *Quintessence Editora Ltda*, p.2-22,2011.
17. LEITÃO, G. R. Avaliação de sucesso e insucesso de casos clínicos relatados por cirurgiões-dentistas usuários de homoenxertos proveniente do banco de tecidos músculos-esqueléticos do hospital de clínicas da universidade federal do Paraná.*Monografia UNICAMP*, Campinas:(s.n.), 2009.
18. LYNCH S.E., GENCO R.J., MARX R.E. Tissue engineering. Grafting materials in repair and regeneration. *Quintessence Books*,p.84-97,2000.
19. MACEDO, L.G.S. Reparação óssea em enxerto alógeno fresco congelado na calvária de coelhos: análises histológicas e histomorfométrica. *Diss. UNESP. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos*, 2011.
20. MACEDO L.G., MAZZUCHELLI-COSMO L.A., MACEDO N.L., MONTEIRO A.S., SENDYK W.R. Fresh-frozen human bone allograft in vertical ridge augmentation: clinical and tomographic evaluation of bone formation and resorption. *Cell Tissue Bank*,v.13,p.577-586,2012.
21. MISHA S., SINGH R.K., MOHAMMAD S., PRADHAN R., PAL U.S. A comparative evaluation of decalcified freeze-dried bone allograft, hidroxyapatite and their combination in osseous defects of the jaws. *J. Macillofac Oral Surg*, v.9,n.3,p.236-240July-Sept,2010.
22. MOJÓN J.C., DORADO C.B., MORENO G.G., CÁLLIZ F.F., GONZÁLEZ J.M.G. Meta-analytic study of implant survival following sinus augmentation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, Jan 1,v.17,n.1,2012.
23. MOLON R.S., ÁVILA E.D., MELO W.M., FILHO V.A., HOCHULI-VIEIRA E. Reconstrução de maxila atrofica utilizando enxerto ósseo homogêneo. *Ver. Cir. Traumatol. Buco-maxilo-fac.*, Camaragibe v.9, n.4, p.25-30,2009.
24. NISHIBORI, M., BETTS, N.J., SALAMA, H. Short-Term healing of autogenous and allogenic bone grafts after sinus augmentation: a report of 2 cases. *J. Periodontol*, v.65,p.958-966,1994.

25. PANSEGRAU K.J., FRIDRICH K.L., DANIEL L., KELLER J.C. A comparative study of osseointegration of titanium implants in autogenous and freeze-dried. *J. Oral Maxillofac Surg*, v.56,p.1067-1074,1998.
26. PELEGRINE A.A., COSTA C.E., SENDYK W.R., GROMATZKY A. The comparative analysis of homologous fresh frozen bone and autogenous bone graft, associated or not with autogenous bone marrow, in rabbit calvaria: a clinical and histomorphometric study. *Cell Tissue Bank*, v.12,p.171-184,2011.
27. ROENBERG A.S. e SINGER A. Cellular basis of skin allograft reaction; na in vivo modelo f immuno-reconstruction. *Amm Ver Immunol*, v.10,p.333-358,1992.
28. STAVROPOULOS, A., PAPADIMITRIOU, S., NYENGAARD, J.R. & KARRING, T. Influence of peri-implant bone tissue composition on progression of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, v.22,p.899. European Academy of Osseointegration Abstract #850,2012.
29. SOBREIRA T., MAIA F.B.M., PALITÓ A.P., GALDINO A.S., MORAIS F.R. Enxerto ósseo homogéneo para de maxila atrofica. *Cir. Traumatol, Buco-maxil-fac*, Camaragibe v.11, n.1, p.9-12, jan-mar. 2011.
30. SYKARAS N., TRIPLETT R.G., NUNN M.E. et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone regeneration and osseointegration of dental implant. *Clinical Oral Implants Reserch*,v.12,n.4,p.339-349,2000.
31. SPIN-NETO R., SAVROPOULOS A., PEREIRA L.A., MARCANTONIO E.Jr., WENZEL A. Remodeling of cortical and corticocancellous fresh-frozen allogenic block boné grafts-a radiographic and histomorphometric comparison to autologous bone grafts. *Clin. Oral Impl. Res.* v00,p.1-6,2014.
32. XAVIER S.P., DIAS R.R., SEHN F.P. et al. Maxillary sinus grafting with autograft vs. Fresh frozen allograft: a Split-mouth histomorphometric study. *Clin. Oral Impl. Res.* v.00,p.1-6,2014.