

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

JULIANA BEZERRA SALDANHA
CIRURGIÃ DENTISTA

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO DE DEFEITOS DE REBORDO
ALVEOLAR COM REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA. ESTUDO
HISTOMÉTRICO EM CÃES.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre
em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

PIRACICABA

2003

JULIANA BEZERRA SALDANHA

CIRURGIÃ DENTISTA

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO DE DEFEITOS DE REBORDO
ALVEOLAR COM REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA. ESTUDO
HISTOMÉTRICO EM CÃES.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre
em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

Banca examinadora:

Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr.

Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghi

Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casati

Suplente:

Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum

PIRACICABA

2003

Ficha Catalográfica

Sa31a Saldanha, Juliana Bezerra.
Avaliação do tratamento de defeitos de rebordo alveolar com regeneração óssea guiada. Estudo histométrico em cães. / Juliana Bezerra Saldanha. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.
xiii, 57f. : il.

Orientadores: Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Periodontia. 2. Membranas (Biologia). I. Nociti Júnior, Francisco Humberto. II. Sallum, Enilson Antonio. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 30 de Janeiro de 2003, considerou a candidata JULIANA BEZERRA SALDANHA aprovada.

1. Prof. Dr. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JR

2. Prof. Dr. SEBASTIÃO LUIZ AGUIAR GREGHI

3. Prof. Dr. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

DEDICATÓRIA

Às pessoas que mais amo :

Meus pais, **Teresa e Fernando**, pelo amor incondicional em todos os momentos da vida e por terem me dado o alicerce, para que eu me tornasse o que sou.

Meu tão desejado e querido irmão, **Tiago**, pelo amor e compreensão.

A **Gustavo**, meu noivo e porto seguro, pelo amor, dedicação, companheirismo e muita paciência.

Dedico essa conquista a vocês

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, Onipresente e Onipotente, pelo dom da vida.

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, Professor Associado da Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP, pelo exemplo de dedicação e profissionalismo, meus sinceros agradecimentos por sua firme orientação, amizade, confiança e incentivo.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas.

Ao Prof. Dr. Thales R. de Matos Filho, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao Prof. Lourenço Corres Sobrinho, Coordenador de Pós-graduação e à Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo A.Gomes, Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro sob a forma de bolsa e auxílio pesquisa (Processos: 01/06480-7; 01/06481-3)

Ao Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum, pelo apoio e importante contribuição para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casati, pelo auxílio nas cirurgias e orientação na análise histométrica.

Aos Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum, Prof. Dr. Sérgio de Toledo, Prof. Dr. Antônio Fernando Martorelli de Lima, da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP, pela contribuição na minha formação acadêmica e científica.

À área de Morfologia dessa faculdade, na pessoa do Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes, pela orientação na fase do preparo histológico.

A Gustavo, pelos inúmeros finais de semana, que tivemos que passar no biotério, tratando dos animais.

À Suzana Peres Pimentel e Laerte Breemm, pela amizade, apoio e trabalho em equipe.

À Mariana Piovezan Fugolin, técnica do laboratório de Periodontia e à Fabiana Facco Casarotti, pelo preparo das lâminas.

Aos colegas Poliana, Patrícia e João, pelo apoio na fase final do trabalho.

À Dr^a Soraya Kassouf Perina, veterinária que nos acompanhou durante as cirurgias e que tratou nossos animais com muito carinho .

Aos senhores Wanderley Francisco Vieira, bioterista da FOP-UNICAMP, Benedito Batista de Miranda Filho e Zuleika Paes pelos cuidados dispensados aos animais durante a pesquisa.

À Eliete Aparecida Ferreira Lima, secretária da área de Periodontia, pelo apoio e auxílio inestimável.

Aos colegas do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica - Área de Periodontia, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos

“ O coração do homem dispõe o seu caminho, mas é o Senhor quem dirige seus passos.” (Provérbios 16, 9)

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Regeneração óssea guiada	7
2.2 Fatores que influenciam o sucesso da ROG	10
2.2.1 Associação ROG e enxertos ósseos	11
2.2.2 Exposição da membrana	13
2.3 Eficácia da regeneração óssea guiada a longo prazo	14
3. PROPOSIÇÃO	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Seleção dos animais	19
4.2 Procedimento cirúrgico	19
4.3 Preparo histológico	25
4.4 Análise histométrica	26
4.5 Análise estatística	27
5. RESULTADOS	28
5.1 Observações clínicas	29
5.2 Resultados histométricos	29
5.2.1 Altura de tecido ósseo neoformado	29

5.2.2 Largura de tecido ósseo neoformado	29
5.2.3 Área de tecido ósseo neoformado	31
5.2.4 Proporção de tecido ósseo mineralizado	32
6. DISCUSSÃO	36
7. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	53

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, histometricamente, a regeneração óssea de defeitos criados cirurgicamente em rebordos alveolares edêntulos de cães tratados ou não, pelo princípio da regeneração óssea guiada. Foram utilizados nove cães, sem raça definida, fêmeas, que tiveram seus primeiros, segundos e terceiros molares (M_1 , M_2 , M_3) extraídos bilateralmente. Após três meses, um defeito ósseo de três paredes foi criado bilateralmente na mandíbula, sendo um deles recoberto por uma membrana não reabsorvível de politetrafluoretileno expandido. As dimensões do defeito foram de aproximadamente 8mm no sentido apicocoronário, 12mm no sentido mesiodistal e 8mm no sentido vestibulolingual. Quatro meses após a criação e tratamento dos defeitos ósseos, os animais foram sacrificados, para remoção dos blocos e preparo histológico. A análise histométrica foi realizada quantificando a área, a altura, a largura do osso neoformado e a proporção de tecido ósseo mineralizado. A análise intergrupos revelou diferença estatística significativa para os parâmetros área ($215,62 \pm 42,44$; $156,33 \pm 46,85\text{mm}^2$), altura ($11,59 \pm 1,83$; $8,64 \pm 1,42\text{mm}$) e proporção de tecido ósseo mineralizado ($74,19 \pm 7,74$; $81,51 \pm 6,07\%$), para o grupo teste e controle respectivamente ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística para o parâmetro largura do tecido ósseo neoformado. Dentro dos limites do presente estudo, foi possível concluir que a utilização de membranas não reabsorvíveis no tratamento de defeitos ósseos traz significativos benefícios no reparo ósseo, proporcionando uma maior quantidade de osso neoformado, e promove um retardo no processo de maturação óssea.

Palavras-chaves: defeitos ósseos, membranas de PTFE-e, regeneração óssea guiada, reparo ósseo.

ABSTRACT

The aim of the present study was to histometrically evaluate the bone regeneration obtained in surgically created ridge defects in dogs treated or not with guided bone regeneration. Nine female mongrel dogs were included. All molars in the mandible were extracted. After three months, a bone defect was surgically created bilaterally in the mandible with dimensions of approximately 12mm mesiodistally and 8mm apicocoronally and 8mm buccolingually. The defects were randomly assigned to one of two groups: non-resorbable membrane (test) and no membrane (control). Four months later, the animals were sacrificed and the specimens were routinely processed for decalcified sections. The histomorphometric analyses were used to determine the height, the width and the area of new bone and the percentage of mineralized tissue. Statistically significant difference was found for the area ($215,62 \pm 42,44$; $156,33 \pm 46,85\text{mm}^2$), the height ($11,59 \pm 1,83$; $8,64 \pm 1,42\text{mm}$) and the percentage of mineralized tissue ($74,19 \pm 7,74$; $81,51 \pm 6,07\%$), for test and control group, respectively ($p < 0,05$). Within the limits of the present study, it was concluded that the use of non-resorbable membrane may positively influence bone regeneration, providing a superior amount of newly formed bone and delay the maturation.

Key words: bone defects, bone healing, ePTFE membranes, guided bone regeneration.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o uso dos implantes osseointegrados tornou-se uma importante modalidade terapêutica, para a substituição de dentes perdidos, em pacientes total ou parcialmente edêntulos (Jovanovic *et al.*, 1992; Buser *et al.*, 1999). Um bom prognóstico do implante depende de um volume e densidade ósseos adequados, no sítio que irá recebê-lo (Jovanovic *et al.*, 1992; Bain, 1996; Chiapasco, 1999). Porém, exames pré-cirúrgicos freqüentemente demonstram defeitos ósseos localizados no processo alveolar (Mellonig & Nevins, 1995; Buser, 1999), causados na maioria das vezes, por trauma e doença periodontal severa. Nos casos de dentes perdidos devido à doença periodontal destrutiva, por exemplo, observa-se uma considerável perda do osso alveolar de suporte (Ellegaard, 1997). Os defeitos de rebordo representam um comprometimento estético e funcional, que dificultam a realização de restaurações convencionais e a instalação de implantes, cuja previsibilidade depende de uma quantidade e qualidade óssea adequadas (Smukler *et al.*, 1995).

Diante destas condições, várias técnicas cirúrgicas reconstrutivas foram desenvolvidas, para contornar esse tipo de problema. A principal técnica é a regeneração óssea guiada (ROG), que é promovida pela adaptação de uma membrana sobre o defeito ósseo, criando-se um espaço, para o qual migrarão essencialmente células com potencial osteogênico e angiogênico, provenientes dos espaços medulares, permitindo, então, o preenchimento ósseo do defeito (Dahlin *et al.*, 1988).

A utilização de membranas de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e) permitiu uma completa regeneração óssea em defeitos ósseos circunferenciais em ratos (Dahlin *et al.*, 1988). O aumento de rebordos alveolares reduzidos cirurgicamente, também foi obtido em cães, após a colocação apenas de membranas de PTFE-e, ou combinadas com o uso de enxertos ósseos (Seybert & Nyman, 1990). Schenk *et al.* (1994) demonstraram, em estudo realizado em mandíbulas de cães, que a

regeneração óssea, nos defeitos protegidos por membranas, seguiu os padrões naturais de crescimento e desenvolvimento ósseo.

Apesar dos diversos estudos confirmando os resultados positivos dos procedimentos de regeneração óssea guiada, alguns fatores podem influenciar negativamente os resultados finais da técnica, como por exemplo, o colapso parcial ou total da membrana, a exposição precoce da membrana (Lang *et al.*, 1994), a anatomia dos defeitos (Gelb, 1993), a qualidade óssea e o consumo de cigarros (Tonetti *et al.*, 1995). A utilização de membranas com reforço de titânio (Simion *et al.*, 1994), mini-parafusos e pinos para a estabilização da membrana (Buser *et al.*, 1993; Becker *et al.*, 1994), além da associação da barreira a enxertos e substitutos ósseos (Jensen *et al.*, 1996; Hämmerle *et al.*, 1997), são alternativas, que têm sido testadas, com o objetivo de controlar alguns desses fatores prejudiciais à regeneração óssea guiada. Portanto, o estudo de fatores locais e sistêmicos, que possam influenciar os resultados obtidos pela ROG passa a ser de grande importância, quando se visa uma maior previsibilidade da técnica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Regeneração óssea guiada

A aplicação de barreiras físicas para promover a regeneração óssea foi inicialmente descrita por Hurley *et al.* (1959), na área de Ortopedia. No entanto, o potencial clínico desta técnica foi reconhecido por Nyman & Karring, no início da década de 80, como resultado de pesquisas voltadas para a regeneração de tecidos periodontais perdidos, estabelecendo-se o princípio biológico da regeneração tecidual guiada.

Uma série de estudos descreveram a possibilidade de exclusão de células não desejáveis, para o repovoamento da ferida, através da utilização de barreiras físicas, que favoreceriam a migração de células responsáveis pelo preenchimento do defeito, provenientes do tecido de escolha. Logo, a regeneração tecidual guiada encontrou aplicação em outras áreas, incluindo a regeneração do tecido ósseo (Nyman, 1991).

O princípio da regeneração tecidual guiada, voltado para a otimização da regeneração óssea em áreas com defeitos ósseos localizados no rebordo alveolar foi denominado regeneração óssea guiada (Buser *et al.*, 1993).

A regeneração óssea guiada é promovida pela adaptação de uma membrana sobre o defeito ósseo, com o objetivo de impedir que fibroblastos e outras células de tecido conjuntivo mole migrem para o defeito e impeçam, dessa forma, que células de potencial osteogênico e angiogênico, provenientes dos espaços medulares adjacentes, repovoem a área (Dahlin *et al.*, 1988).

A utilização da regeneração óssea guiada pode ser indicada em diversas situações, nas quais se visa à resolução de comprometimentos estéticos e/ou funcionais, como no momento da extração dentária, para preservação do rebordo alveolar; na instalação de implantes imediatos; no tratamento de defeitos peri-implantares; no aumento de rebordo em áreas de pânticos ou para subsequente instalação de implantes (Fugazzotto, 1996).

Vários estudos controlados em animais confirmaram o potencial da utilização de membranas na regeneração de defeitos ósseos de diferentes tipos.

Dahlin *et al.* (1988) produziram defeitos ósseos bilaterais nas mandíbulas de 30 ratos Sprague-Dawley adultos. Um dos defeitos foi coberto com uma membrana de PTFE-e (Gore-Tex, W.L. Gore, Flagstaff, AZ), enquanto o outro defeito foi recoberto e suturado apenas com o retalho muco-periosteal. Os resultados obtidos demonstraram que o impedimento mecânico do crescimento das células de tecido conjuntivo dentro do defeito ósseo resultou em um preenchimento ósseo completo dos defeitos experimentais, enquanto os defeitos controles foram preenchidos por tecido conjuntivo fibroso, com um crescimento ósseo mínimo apenas nas margens do defeito.

Em um outro estudo realizado por Dahlin *et al.* (1989), implantes intra-ósseos foram colocados bilateralmente nas tíbias de 15 coelhos da raça Nova-Zelândia, de modo que 3 ou 4 roscas fossem deixadas expostas em apenas um lado do implante, simulando um defeito ósseo peri-implantar. Metade da amostra foi coberta com uma membrana de PTFE-e, criando-se um espaço entre a membrana, o implante e a porção de osso cortical da tíbia. O implante forneceu suporte para a membrana, criando o espaço necessário para a formação óssea. A outra metade dos implantes inserida nas tíbias contralaterais serviu como controle. A quantidade de regeneração óssea, expressa em porcentagem da área do defeito original, foi de 99,5% nos grupos testes, comparada a 66,4%, nos sítios controle.

Seibert & Nyman (1990) associaram a técnica da membrana à utilização de hidroxiapatita (Interpore 200), como um procedimento de aumento de rebordo em defeitos criados cirurgicamente em maxilas edêntulas de cães. Observou-se uma completa formação óssea nos sítios com membrana, com ou sem hidroxiapatita, num período de 90 dias de cicatrização. Os sítios controle mantiveram a mesma topografia óssea que apresentavam no momento da cirurgia reconstrutiva, mesmo após um período de observação de 180 dias.

Smukler *et al.* (1995) realizaram um estudo semelhante, no qual colunas de osso cortical foram utilizadas para dar suporte às membranas colocadas sobre os defeitos de rebordo. Ao contrário dos sítios sem membrana, os sítios tratados com membranas foram preenchidos por tecido ósseo.

Diante da pequena quantidade de informações sobre a seqüência e o padrão de formação óssea nos defeitos tratados com membrana, alguns autores investigaram a dinâmica e a qualidade do osso formado, após a aplicação do princípio de regeneração óssea guiada.

Em um experimento realizado em cães, Schenk *et al.* (1994) demonstraram que o padrão e a seqüência de regeneração óssea nos defeitos tratados com membrana seguem o padrão de crescimento e desenvolvimento ósseo normal, passando por uma seqüência de passos até a sua maturação. Seguindo-se à formação do coágulo sanguíneo no interior do defeito recoberto pela membrana, a regeneração óssea é iniciada pela deposição de um osso imaturo nas três paredes ósseas, que circundam o defeito. Como resultado, forma-se a esponjosa primária, que constitui um tecido rico em vasos provenientes do espaço medular adjacente. Na segunda fase, o arcabouço de osso imaturo vai sendo reforçado pela deposição organizada de fibras, e posteriormente é substituído pelo osso lamelar, criando uma cortical óssea na periferia dos defeitos. A terceira fase representa o período de remodelação óssea.

Informações semelhantes também foram descritas por Hämmerle *et al.* (1995), em um modelo experimental de defeitos ósseos em calvária de coelhos. De acordo com esse estudo, a formação de novo osso se dá a partir das paredes ósseas do defeito, apresentando as características histofisiológicas do desenvolvimento do tipo intramembranoso.

O único estudo clínico sobre a seqüência de passos da regeneração óssea guiada descreve a formação óssea na área retromolar da mandíbula (Hämmerle *et al.*, 1996). Cilindros ocos de titânio, medindo 3,5mm de diâmetro externo, 2,5mm de diâmetro interno e 4mm de comprimento foram introduzidos na região retromolar de 9 voluntários. Os cilindros eram colocados, de forma que 1,5 a 2mm

permanecesse intra-ósseo e os 2 a 2,5mm restante ficasse acima do nível ósseo. A face do cilindro voltada para o osso foi mantida aberta, e a face voltada para o tecido mole foi recoberta com uma membrana de PTFE-e. Após períodos, que variaram de 2 a 36 semanas, os cilindros foram removidos e analisados. Os espécimes removidos até 12 semanas, estavam quase completamente preenchidos por tecido mole, enquanto naqueles removidos a partir de 4 meses, podia-se observar tecido mole e uma grande quantidade de tecido mineralizado. A formação óssea ultrapassou a altura do nível ósseo pré-existente, dessa forma, alterando a forma da mandíbula geneticamente determinada. O crescimento ósseo além do nível pré-existente foi primeiramente demonstrado em calvária de coelhos (Schmid *et al.*, 1991), sendo posteriormente confirmado por outros estudos em diferentes modelos animais (Linde *et al.*, 1993; Kostopoulos *et al.*, 1994; Jovanovic *et al.*, 1995).

2.2- Fatores que influenciam o sucesso da ROG

Apesar das altas taxas de sucesso relacionadas à regeneração óssea guiada, alguns problemas existem e devem ser resolvidos, para que se consiga uma maior previsibilidade da técnica. Os mais freqüentes desses problemas são o colapso parcial ou total da membrana, assim como sua exposição, devido à deiscência do tecido, podendo resultar numa infecção local e incompleta regeneração óssea (Hermann & Buser, 1996).

Gelb (1993) mencionou que a morfologia do defeito é um dos fatores que também pode influenciar o sucesso da regeneração óssea.

A manutenção do espaço é um dos fatores primordiais, para obtenção da regeneração óssea, e essa capacidade vai depender, em parte, das propriedades mecânicas da membrana e da morfologia do osso adjacente. Sabendo-se que a quantidade de osso regenerado é limitada pelo espaço disponível sob a membrana (Dahlin *et al.*, 1991), nas situações em que a dureza da membrana e a morfologia óssea são inadequadas, técnicas cirúrgicas, materiais e dispositivos

têm sido desenvolvidos, para proporcionar suporte à membrana (Buser *et al.*, 1990; Seibert & Nyman, 1990; Schenk *et al.*, 1994).

A utilização de mini-parafusos e pinos, para estabilização da membrana demonstrou melhores resultados em procedimentos de aumento de rebordo, mas ainda permitiu um colapso parcial da membrana (Buser *et al.*, 1993; Becker *et al.*, 1994). Uma outra alternativa é o uso das membranas com reforço de titânio (Simion *et al.*, 1994) e a utilização de enxertos e substitutos ósseos (Buser *et al.*, 1995, 1998; Jensen *et al.*, 1996; Hämmerle *et al.*, 1997).

2.2.1- Associação ROG e enxertos ósseos

Muitas vezes, a membrana por si só não é capaz de manter o espaço necessário, para a obtenção da regeneração óssea. Portanto, em muitos casos, o uso de materiais de preenchimento é importante para prevenir o colapso da membrana, e conseqüentemente, a perda de espaço.

As membranas com estrutura mais rígida, como as membranas com reforço de titânio (Simion *et al.*, 1994) e os mini-parafusos para estabilização da membrana (Buser *et al.*, 1993), apesar de melhorarem os resultados da técnica, não influenciam a resposta do hospedeiro, durante a fase de cicatrização.

A utilização de enxertos ósseos autógenos é uma boa alternativa, já que esse material é ainda considerado o “gold standard” para cirurgias ósseas reconstrutivas na área da Ortopedia (Burchardt, 1983). A justificativa para a utilização de enxertos ósseos autógenos em associação com a regeneração óssea guiada envolve a sua capacidade de suporte, mantendo, assim o espaço criado abaixo da membrana, além de suas propriedades de osteocondução e osteoindução, através da liberação de fatores de crescimento (Buser *et al.*, 1995; 1996).

Buser *et al.* (1996) demonstraram o sucesso da associação do enxerto autógeno e da regeneração óssea guiada em 40 pacientes, com um ganho médio

da largura do rebordo de 3,5mm, permitindo a instalação dos implantes na posição adequada em todos os 66 sítios envolvidos. Um outro estudo desenvolvido pelo mesmo grupo (Buser *et al.*, 1998), realizado em mandíbula de porcos, demonstrou que os defeitos tratados com osso autógeno e membrana apresentaram 39% do seu volume total preenchido por matriz óssea, em apenas 4 semanas de cicatrização.

Os enxertos autógenos, entretanto, requerem um procedimento para sua obtenção, que causa morbidade e desconforto adicional ao paciente. Com o objetivo de eliminar a necessidade de um segundo leito cirúrgico, outros materiais de preenchimento ósseo foram testados.

Von Arx *et al.* (2001) compararam o DFDBA (demineralized freeze-dried bone allograft), partículas de fosfato tricálcico (TCP) e osso autógeno associados à membranas de PTFE-e, quanto à eficiência do procedimento de aumento lateral de rebordo alveolar. Os sítios tratados com TCP e DFDBA apresentaram resultados inconsistentes, devido às partículas encapsuladas no tecido conjuntivo, que levaram a uma redução no ganho ósseo lateral.

Estudos de Becker *et al.* (1994, 1995) e Diès *et al.* (1996) demonstraram que a combinação de membranas com DFDBA não estimulam a osteogênese e pode até inibir a formação óssea. Esses achados foram confirmados por Buser *et al.* (1998), que demonstraram que o DFDBA prejudica a formação óssea, devido à presença de grande quantidade de suas partículas na parte central do defeito, após 4 semanas de cicatrização, e sugerem que a utilização do fosfato tricálcio leva a um aumento constante do volume de matriz óssea, que atinge 69% após 6 meses de cicatrização, contra 43,6% e 53,6%, para o DFDBA e osso autógeno, respectivamente.

Hämmerle *et al.* (1998), em um estudo em macacos testou o efeito do osso bovino mineral (Bio-oss) na ROG, em defeitos de deiscência ao redor de implantes. Os defeitos tratados pela associação enxerto e membrana apresentaram um crescimento ósseo vertical de 100%, ao longo das superfícies dos implantes, enquanto os defeitos tratados apenas com membranas,

demonstraram um crescimento de 91% e o controle negativo, 42%. A largura do osso regenerado foi de 97%, 85% e 23%, para os grupos que receberam membrana e enxerto, membrana e nenhum dos tratamentos, respectivamente.

2.2.2- Exposição da membrana

A exposição da membrana é um freqüente e importante problema que afeta os resultados da regeneração óssea guiada. Mellonig e Triplett (1993) realizaram o procedimento de ROG durante a instalação de implantes em 66 sítios (47 pacientes). A membrana teve que ser removida em 35 sítios (53%) devido à exposição e infecção. Outro estudo (Becker *et al.*, 1994) relatou que 20 dos 49 sítios tratados com ROG tiveram membrana exposta.

Lang *et al.* (1994) compararam o volume ósseo regenerado, usando membranas não reabsorvíveis, com o volume do espaço criado para a regeneração, no momento da cirurgia. Em 6 dos 19 pacientes, a membrana teve que ser removida precocemente (3 a 5 meses), e a regeneração óssea variou de 0 a 60%. Nos 13 pacientes restantes, ocorreu uma regeneração óssea de 90 a 100% do volume possível.

Esses achados foram confirmados por Simion *et al.* (1994), que demonstraram uma taxa média de regeneração de 96,6%, nos casos em que a membrana foi mantida submersa contra 41,6%, nos sítios onde a membrana foi exposta.

Matchei (2001) realizou uma metanálise, com o objetivo de esclarecer os efeitos negativos da exposição da membrana em procedimentos de RTG e ROG. Observou-se que os sítios onde não houve exposição de membrana, apresentaram uma formação óssea seis vezes maior, que os sítios, que apresentaram exposição ($3,01 \pm 0,38\text{mm} \times 0,56 \pm 0,45\text{mm}$). Para o grupo da RTG, as diferenças foram estatisticamente significantes, porém não tão preocupante quanto para a ROG.

Em contrapartida, alguns autores não concordaram que a exposição precoce da membrana pudesse prejudicar os resultados da ROG. Mellonig & Triplett (1993), apesar de terem removido a membrana precocemente em 53% dos sítios, não tiveram seus resultados afetados.

Dahlin *et al.* (1995) também não encontraram diferença na quantidade de osso regenerado entre os sítios com e sem exposição de membrana, da mesma forma que Rominger & Triplett (1994). Shanaman (1994) relatou que a exposição de membrana não foi significativa, quando os procedimentos de higiene oral foram realizados de maneira adequada. Um estudo clínico (Lang *et al.*, 1994), que utilizou implantes transmucosos associados a ROG confirmou a importância dos cuidados de higiene oral no período pós-operatório.

2.3- Eficácia da regeneração óssea guiada a longo prazo

Diversos experimentos clínicos e animais demonstraram a previsibilidade dos procedimentos de ROG, no tratamento de diferentes tipos de defeitos ósseos. Entretanto, poucos trabalhos apresentaram dados longitudinais a respeito da técnica.

Em um estudo realizado em cães, Becker *et al.* (1994) testaram a capacidade do osso regenerado suportar a carga funcional. Os sítios que foram submetidos a essa carga 3 meses após a cirurgia de ROG, perderam 85% do osso regenerado, em 6 meses. Os autores concluíram que o osso regenerado deve ser mantido sem nenhum tipo de carga por um período maior, para que ocorra sua maturação.

Em 1991, Dahlin *et al.* publicaram dados relacionados a três anos de manutenção de 10 implantes, tratados pelo princípio da regeneração óssea guiada, e mantidos com sucesso.

Buser *et al.* (1996) avaliou os resultados de 5 anos de implantes instalados posteriormente à realização da regeneração óssea guiada. Não foi encontrada

nenhuma diferença entre os parâmetros clínicos e radiográficos dos implantes instalados em osso regenerado e em osso original. De forma semelhante, em um estudo retrospectivo, Fugazotto (1997) avaliou a função de 626 implantes por um período de até 51 meses e relatou uma taxa de sucesso de 95,8% de acordo com os critérios de Albrektsson.

O estudo de Zitzmann *et al.* (2001) demonstrou que implantes associados ou não à técnica de ROG tiveram taxas de sucesso semelhantes após um período de 5 anos, mas a reabsorção óssea foi mais pronunciada nos sítios tratados com regeneração óssea guiada. Por isso, afirmou-se que o uso da ROG é mais indicado quando a altura do defeito inicial é superior a 2 mm.

Lorenzoni *et al.* (2002) avaliaram parâmetros clínicos e radiográficos de 72 implantes instalados em combinação com ROG, por um período de 60 meses. Os resultados demonstraram condições peri-implantares estáveis, sem nenhuma diferença significativa dos níveis ósseos em relação à região ou ao tipo de enxerto ósseo utilizado, para o aumento. O novo osso formado pareceu ser capaz de suportar a carga funcional, por um período de 5 anos, de maneira adequada.

Buser *et al.* (2002), num estudo retrospectivo de 5 anos realizado em pacientes parcialmente edêntulos, avaliou a estabilidade longitudinal de 66 implantes osseointegrados, colocados em osso previamente aumentados com membrana não reabsorvível e enxerto autógeno. Durante o período de observação, a taxa de sucesso obtida foi de 98,3%. Pode-se concluir que os resultados clínicos de implantes instalados em osso regenerado são comparáveis àqueles dos implantes em osso não regenerado.

3. PROPOSIÇÃO

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, histometricamente, a regeneração óssea de defeitos criados cirurgicamente em rebordos alveolares edêntulos de cães, tratados ou não pelo princípio da regeneração óssea guiada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Seleção dos Animais

Foram utilizados nove cães, sem raça definida, idade adulta, fêmeas, pesando em média 20 kg, em bom estado de saúde geral e dentição completa. Os cães foram submetidos a tratamento profilático, incluindo vacinação, dieta e higiene de acordo com as recomendações do Biotério Central da UNICAMP. Todos os procedimentos foram executados conforme as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNICAMP (processo n. 250-1, em anexo).

4.2- Procedimento Cirúrgico

Antes da cirurgia, os animais foram pesados e, de acordo, com seu peso corpóreo, receberam via intramuscular injeção de sulfato de atropina (Sulfato de Atropina 0,50mg[®], Hipolabor, São Paulo, SP, Brasil) e 1,5ml/10kg de cloridrato de dihidrotiazina (Rompum[®], Bayer do Brasil SA, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente a sedação, os animais foram submetidos à anestesia geral, através de uma injeção intravenosa de uma solução de 25% de tiopental sódio (Tiopental[®], Cristália produtos químicos e farmacêuticos Ltda, Itapira, São Paulo, Brasil), na dose de 1ml/kg. A via intravenosa foi mantida com soro fisiológico durante o ato cirúrgico, possibilitando a hidratação do animal e a administração de doses de manutenção do anestésico. A área cirúrgica foi localmente anestesiada com xilocaína 2% (Merrel Lepetit Farmacêutica Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil), contendo epinefrina (1:50.000), com o objetivo de reduzir o sangramento e assegurar um efeito anestésico adequado.

Foram removidos os primeiros, segundos e terceiros molares inferiores (M_1 , M_2 e M_3) de cada cão, bilateralmente, criando-se um espaço mesio-distal edêntulo (Figura 1). Um retalho de espessura total foi elevado e os dentes acima citados, seccionados ao nível da bifurcação de suas raízes com o auxílio de brocas (Carbide FG 701-SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) em alta rotação e irrigação contínua com soro fisiológico estéril a 0,9%. As raízes mesial e distal foram removidas separadamente (BECKER *et al.*, 1995), os alvéolos curetados, os tecidos reposicionados e suturados com fio reabsorvível Vycril 4-0 (Ethicon[®], Johnsons do Brasil AS, São José dos Campos, SP, Brasil).



Figura 1- Vista vestibular do rebordo alveolar após a elevação do retalho de espessura total e extração dos primeiro, segundo e terceiro molares.

Aproximadamente três meses após a extração dos dentes, os animais foram novamente anestesiados, para criação e tratamento dos defeitos ósseos. Com uma lâmina de bisturi nº 15C, foi realizada uma incisão sobre a crista do rebordo, associada a uma incisão relaxante na extremidade distal, facilitando o

deslocamento do retalho mucoperiosteio, que se estendeu até a base da mandíbula (Figura 2). Um defeito ósseo retangular de três paredes, incluindo a crista do rebordo, foi criado cirurgicamente em cada lado da mandíbula, nas áreas previamente ocupadas pelos molares inferiores, utilizando-se instrumentos rotatórios em alta-rotação (Carbide FG 701-SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), sob irrigação abundante com solução salina estéril de 0,9%, e instrumentos manuais, para acabamento final do defeito.



Figura 2- Vista vestibular do tecido ósseo após a elevação do retalho de espessura total, previamente à criação do defeito ósseo. Note o reparo dos alvéolos após o período de três meses de cicatrização.

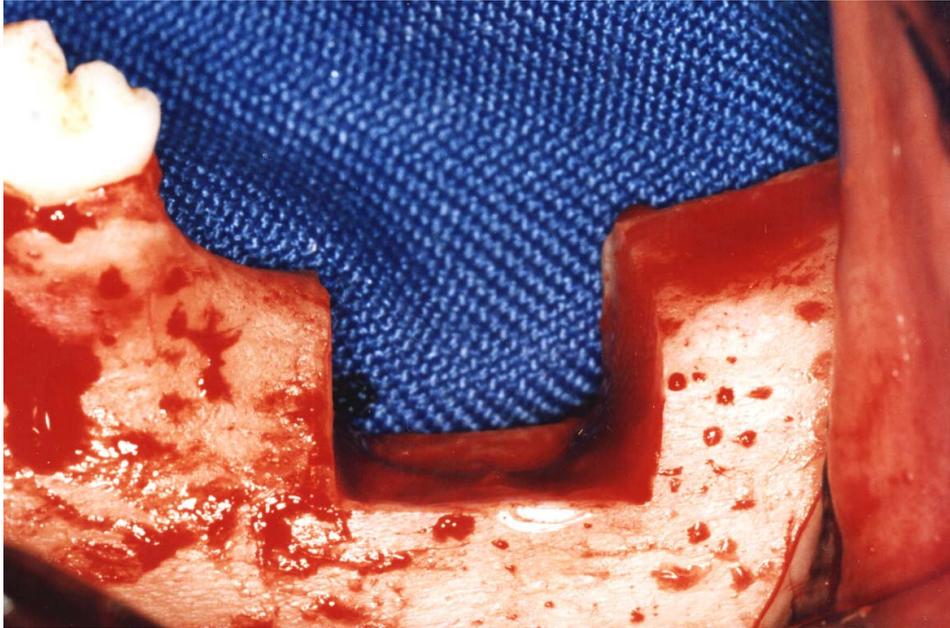


Figura 3- Vista vestibular do defeito ósseo criado cirurgicamente no rebordo alveolar após a elevação do retalho de espessura total.

As dimensões do defeito foram de 8mm no sentido apicocoronário, 12mm no sentido mesiodistal e 8mm no sentido vestibulolingual, na base do defeito (Figura 3).

Após a criação de cada defeito, a distância entre a base do defeito e a base inferior da mandíbula foi obtida em três diferentes pontos (mesial, central e distal), utilizando-se uma sonda periodontal milimetrada do tipo Carolina do Norte (PCPUNC 15, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) (Figura 4). Essas medidas foram utilizadas como referência na localização do tecido ósseo neoformado, no momento da análise histométrica.

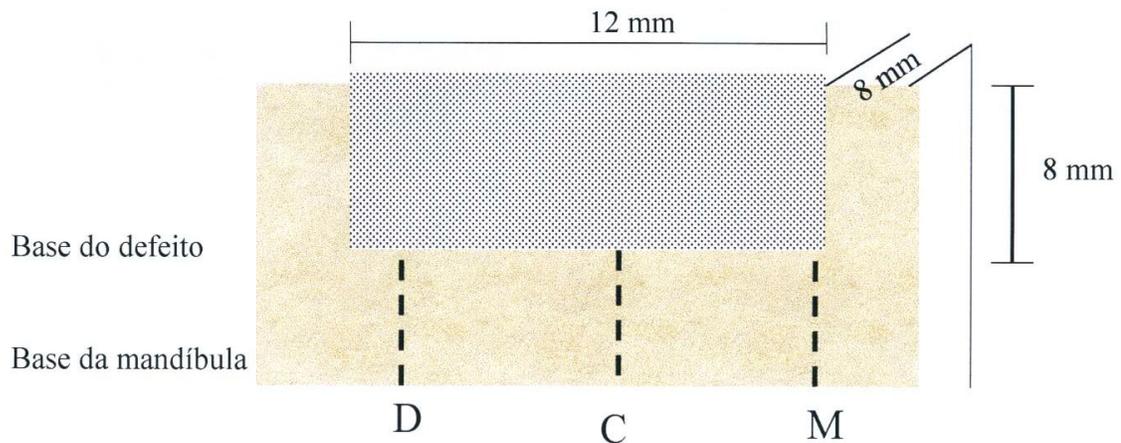


Figura 4- Ilustração esquemática das regiões de obtenção da distância entre a base inferior da mandíbula e a base apical do defeito, nos três diferentes pontos (D-distal, C-central e M-mesial). Além disso, ilustração das dimensões finais do defeito criado cirurgicamente, as quais foram de 12mm no sentido mesiodistal, 8mm no sentido apicocoronário e 8mm no sentido vestibulolingual.

Um dos defeitos ósseos recebeu uma membrana de politetrafluoretileno expandido (Gore-Tex Augmentation Material [GTAM], WL, Gore, Flagstaff, AZ, EUA), enquanto o defeito contralateral permaneceu sem membrana. A membrana foi bem adaptada, para que pudesse cobrir completamente o defeito, estendendo-se além das suas margens, de 2 a 3 mm, sendo fixada a tábua óssea vestibular e lingual, por meio de parafusos de aço inoxidável (Kit Osseofix 3i) (Figura 5). Posteriormente, o fechamento primário da ferida foi obtido com suturas contínuas (Gore-Tex Sutures, WL, Gore, Flagstaff, AZ, EUA).

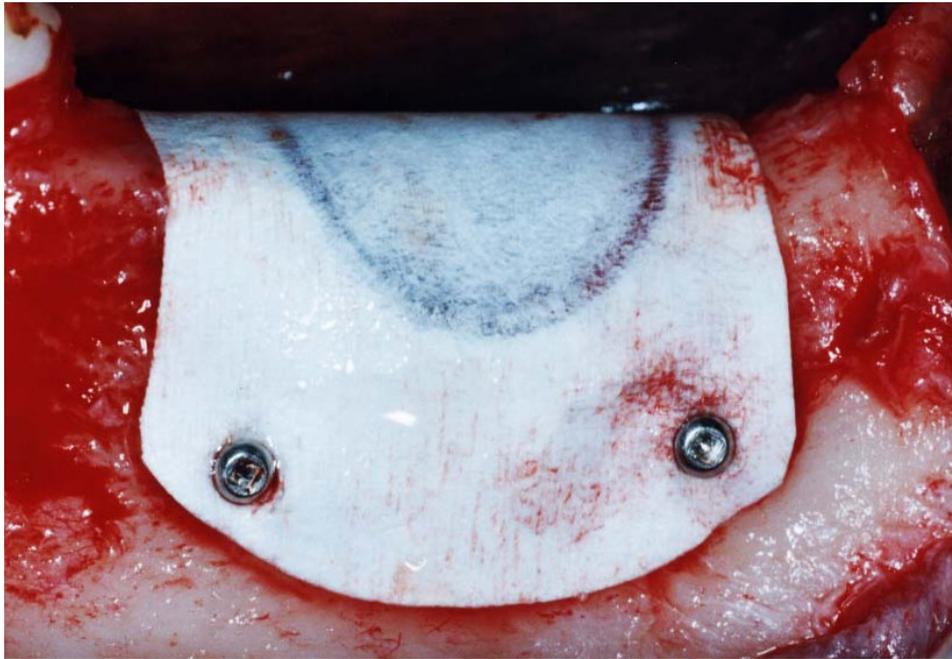


Figura 5- Vista vestibular da membrana não reabsorvível (PTFE-e) posicionada sobre o defeito ósseo e estabilizada por mini-parafusos.

Após cada uma das cirurgias, os animais receberam uma dose única de antibiótico, por via intramuscular (Pentabiótico Veterinário de Pequeno Porte, Wyeth-Whitehall Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Já que cada dose permite cobertura antibiótica por 04 dias, outra dose foi injetada 04 dias mais tarde, totalizando uma cobertura antibiótica de 08 dias. Logo em seguida, os animais também receberam uma dose de dipirona sódica 500mg, que variou de 1 a 5ml/cão (D500, Fort dodge uso veterinário, Campinas, SP, Brasil).

Durante todo o experimento, os cães foram alimentados com uma dieta macia e receberam aplicações diárias de uma solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, na forma de spray. Quinze dias após a cirurgia, os animais foram novamente sedados, para remoção das suturas, com sulfato de atropina (Sulfato de Atropina 0,50mg ®, Hipolabor, São Paulo, SP, Brasil) e cloridrato de dihidrotiazina (Rompum ®, Bayer do Brasil SA, São Paulo, SP, Brasil), utilizando-se a mesma dosagem anteriormente utilizada.

4.3- Preparo histológico

Ao final de quatro meses (Schenk *et al.*, 1994), os animais foram anestesiados como descritos previamente e sacrificados por aprofundamento da anestesia. As mandíbulas foram removidas e seccionadas em blocos contendo o defeito ósseo, os quais foram colocados em formol neutro a 4%. Antes de iniciar a descalcificação, os blocos foram aparados de forma mais precisa, no micrótomo EXACT 3002 (EXACT, Hamburg, Germany). Os espécimes foram descalcificados em uma solução de ácido tricloroacético a 5% (TCA), que foi renovada diariamente por um período que variou de 2 a 3 meses, até que o tecido estivesse suficientemente descalcificado.

No início do processo de descalcificação, os parafusos de fixação das membranas foram removidos, utilizando-se uma lâmina de bisturi 15C e a própria chave do kit Osseofix.

Para facilitar o processamento histológico, o bloco referente a cada defeito foi dividido em duas metades. Cada metade, por sua vez foi dividida em três terços de aproximadamente 2mm de espessura cada. Posteriormente, as peças foram desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol, incluídas em parafina e cortes vestibulolinguais de 7µm de espessura foram obtidos e corados por hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson.

4.4- Análise histométrica

Inicialmente, para cada amostra, foram selecionados 20 cortes, sendo 10 deles dos terços centrais e dez, dos terços das extremidades, mais próximos às paredes laterais do defeito ósseo.

As imagens dos cortes selecionados foram adquiridas através de uma câmera digital DXC-107 AP (Sony electronics inc., Japan), acoplada ao microscópio (Axioskop 2 plus[®]; Zeiss, Jena, Germany), utilizando a objetiva de 1,25X.

Histologicamente, o tecido ósseo neoformado foi delimitado pela sua porção mais coronária e a base apical do defeito ósseo, isto é, o limite entre o tecido ósseo pré-existente e o tecido ósseo neoformado. A base apical do defeito foi determinada através da seqüência de passos que segue: 1) digitalização da sonda periodontal milimetrada (utilizada na obtenção da distância entre a base inferior da mandíbula e a base apical do defeito, no momento da criação do defeito); 2) padronização entre as medidas obtidas clinicamente e a calibração do programa de análise de imagens (Image-Pro[®]; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA), 3) determinação da base apical do defeito na secção histológica utilizando-se a base inferior da mandíbula e a sua distância em relação à base apical do defeito ósseo como referências.

Uma vez delimitado o tecido ósseo neoformado, medidas lineares da altura e largura apical, média e coronária do novo osso foram obtidas. A determinação da área de novo osso foi feita utilizando o recurso de contagem de pontos de um retículo quadriculado, sendo computado os pontos que coincidiram com osso mineralizado e não mineralizado. Dessa forma, foram obtidas duas médias por cão, relacionadas ao defeito teste e controle, para os seguintes parâmetros:

- 1) Altura de novo osso
- 2) Largura do novo osso, em três diferentes pontos: base do defeito, em um ponto médio e em um ponto mais coronário.
- 3) Área de novo osso
- 4) Proporção de tecido ósseo mineralizado

4.5- Análise estatística

Uma vez obtidos os resultados, médias foram calculadas para cada grupo e os resultados dos parâmetros altura, largura e área do tecido ósseo neoformado foram comparados através do teste t pareado, enquanto para a comparação da proporção de tecido mineralizado, utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Observações Clínicas

Durante o período de cicatrização, um dos animais apresentou deiscência do tecido mole, no oitavo dia após a realização da cirurgia. A remoção precoce da membrana foi necessária devido a sinais de infecção, e conseqüentemente, o animal foi excluído do estudo.

5.2- Resultados histométricos

5.2.1 Altura de tecido ósseo neoformado

As médias e desvios padrão da altura de tecido ósseo neoformado nos grupos teste e controle estão representados no gráfico 1.

A altura do tecido ósseo neoformado foi significativamente maior ($p=0,007$) no grupo teste ($11,59 \pm 1,83$) do que no controle ($8,64 \pm 1,42$).

5.2.2- Largura de tecido ósseo neoformado

A largura do tecido ósseo neoformado nos grupos teste e controle foi avaliada em três regiões distintas. Avaliou-se o referido parâmetro na base do defeito (porção mais apical do tecido neoformado), na sua porção média e na porção mais coronária do mesmo. Em nenhuma das três regiões observou-se diferença estatística entre os grupos teste e controle. Os valores observados em milímetros para os grupos controle e teste foram respectivamente $11,75 \pm 1,88$ e $11,59 \pm 2,34$ na base do defeito ($p=0,761$), $10,74 \pm 2,15$ e $10,80 \pm 2,04$ na porção média do defeito ($p=0,914$), e $8,60 \pm 1,65$ e $9,59 \pm 1,01$ na porção mais coronária ($p=0,09$). Os resultados aqui relatados encontram-se ilustrados no gráfico 2.

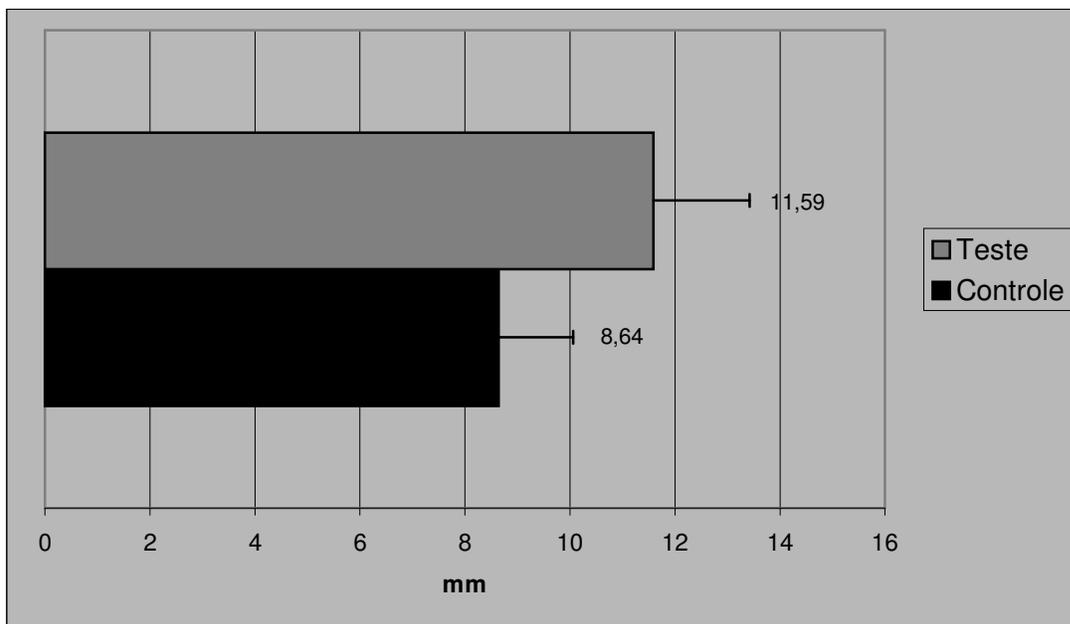


Gráfico 1- Médias e desvios padrão da altura do tecido ósseo neoformado (mm) dos grupos teste e controle ($p < 0,05$).

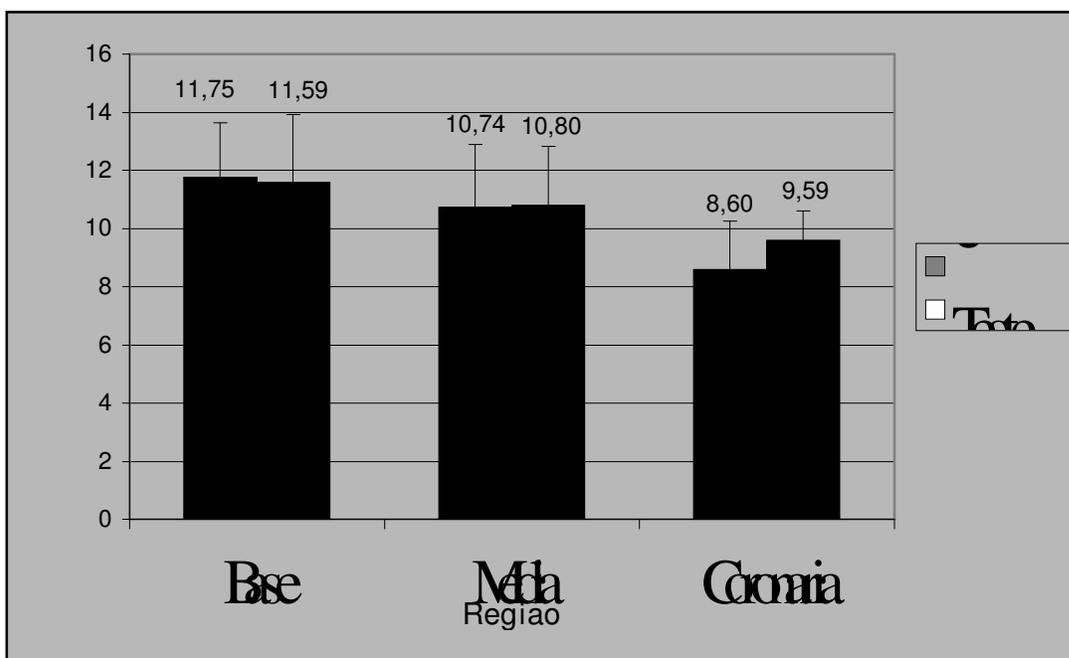


Gráfico 2- Médias e desvios padrão da largura do tecido ósseo neoformado das três diferentes regiões do defeito (mm) dos grupos teste e controle ($p > 0,05$).

5.2.3- Área de tecido ósseo neoformado

As médias e desvios padrão da área de tecido ósseo neoformado nos grupos teste e controle estão representados no gráfico 3. Observou-se que nos defeitos que foram tratados pelo princípio da regeneração óssea guiada a área de tecido ósseo neoformado foi significativamente maior do que nos defeitos que não receberam a membrana ($p = 0,01$). Os valores anotados em milímetros quadrados para o grupo controle e o teste foram respectivamente $156,33 \pm 46,85$ e $215,62 \pm 42,44$.

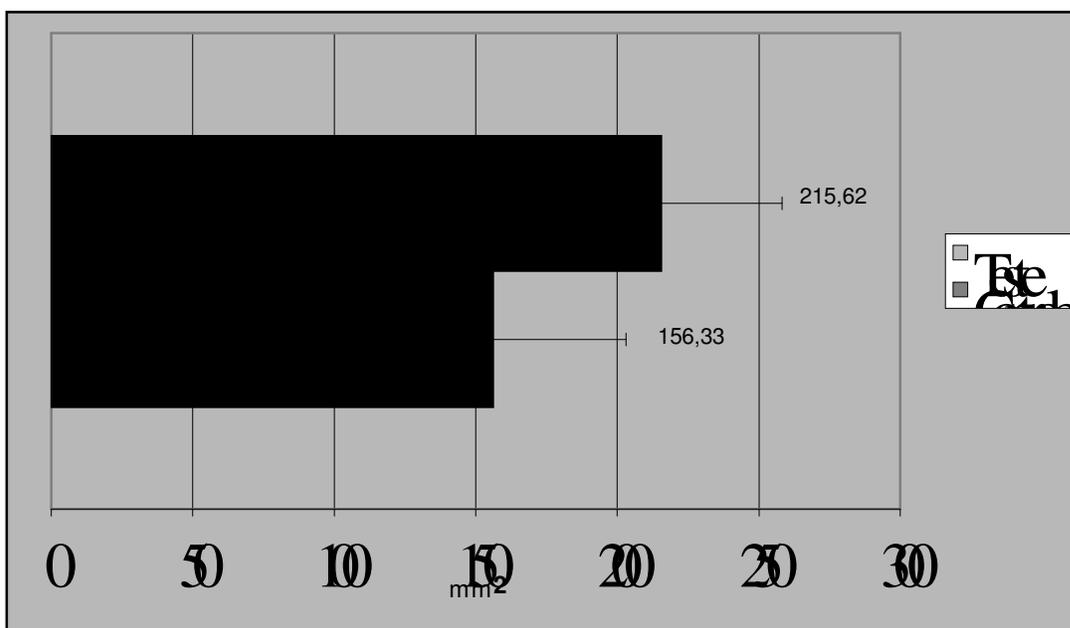


Gráfico 3- Médias e desvios padrão da área de tecido ósseo neoformado (mm²) dos grupos teste e controle ($p < 0,05$).

5.2.4- Proporção de tecido ósseo mineralizado

Embora, tenha sido encontrada uma maior área de tecido ósseo neoformado para os defeitos tratados com a utilização de membranas (teste) em relação aos defeitos não tratados (controle), o tecido ósseo neoformado nos defeitos do grupo controle apresentou-se estatisticamente mais denso do que o do grupo teste ($p = 0,023$). Os valores aqui apresentados, correspondem à proporção média de tecido mineralizado encontrado dentro da área total de tecido ósseo neoformado; sendo $81,51 \pm 6,07$ e $74,19 \pm 7,74$ para os grupos controle e teste, respectivamente. Ambos estão representados no gráfico 4.

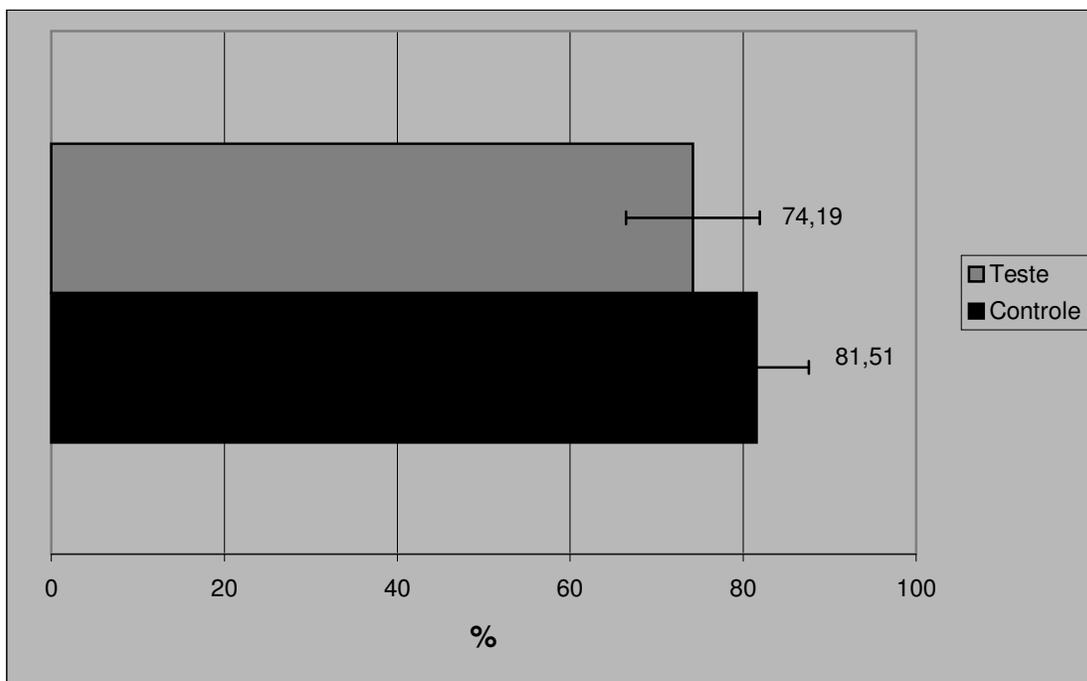


Gráfico 4- Médias e desvios padrão da proporção de tecido ósseo mineralizado (%) nos grupos teste e controle ($p < 0,05$)

As secções histológicas representadas pelas figuras 6 e 7 ilustram histologicamente as diferenças entre os grupos teste e controle, para os parâmetros acima citados.

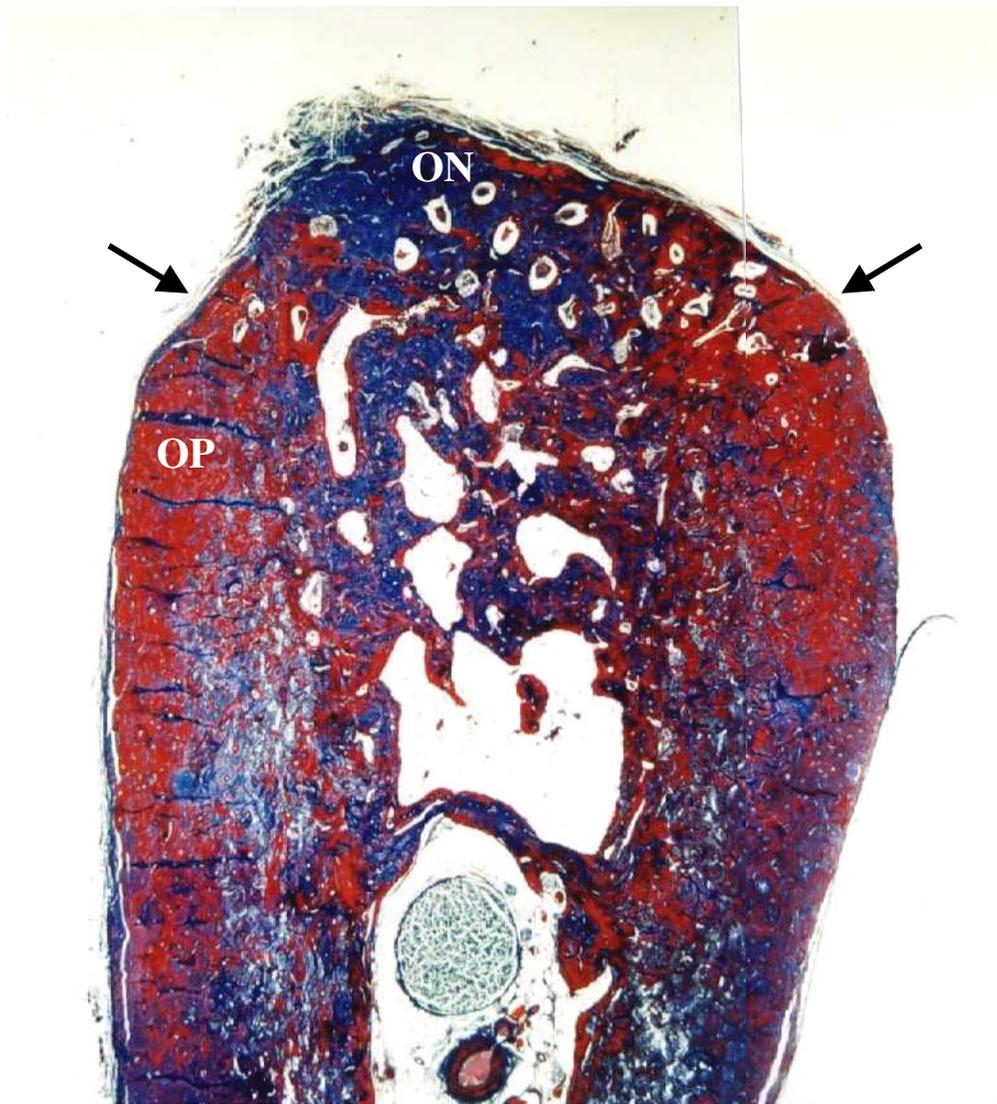


Figura 6- Fotomicrografia (vestibulolingual/ V-L) que ilustra o reparo do defeito ósseo em um animal do grupo controle. De forma geral, observa-se o preenchimento do defeito com um tecido ósseo neoformado (ON), que apresenta características de um tecido imaturo, i.e., rico em células e espaços medulares (•). Note o limite (setas) entre o osso neoformado (ON) e o tecido ósseo pré-existente (OP). (Tricrômico de Masson, aumento de 3,12X)

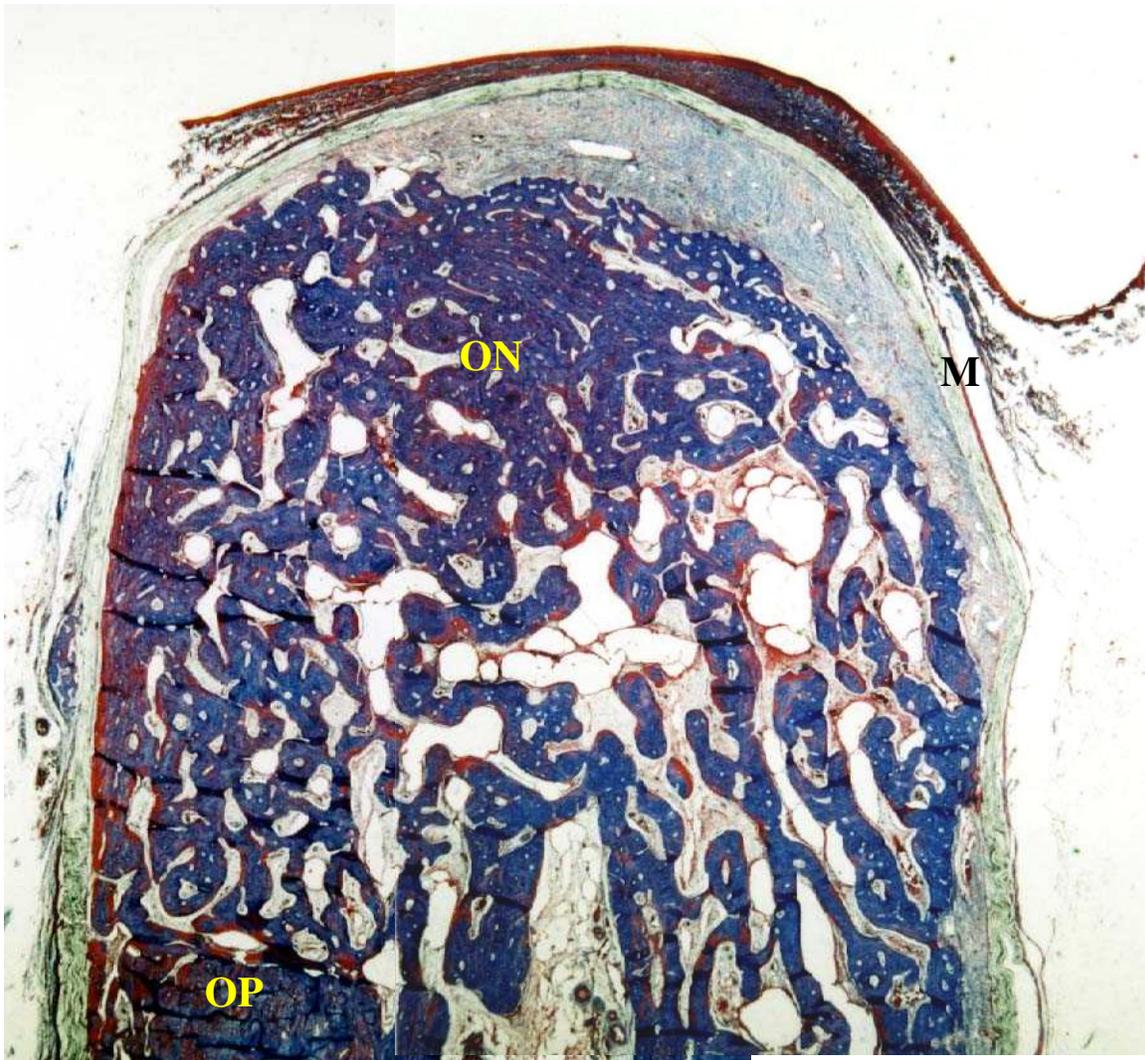


Figura 7- Fotomicrografia (vestibulolingual/ V-L) que ilustra o reparo do defeito ósseo em um animal do grupo teste. De forma geral, observa-se o preenchimento do defeito com um tecido ósseo neoformado (ON), que apresenta características de um tecido imaturo, i.e., rico em células e espaços medulares (•). O tecido conjuntivo (P) interposto entre a membrana (M) e o tecido ósseo neoformado apresenta-se com aspecto morfológico semelhante ao do periósteo. Note o limite (setas) entre o osso neoformado (ON) e o tecido ósseo pré-existente (OP). (Tricrômico de Masson, aumento de 3,12X)

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos que utilizaram o princípio da regeneração óssea guiada, visando à regeneração de defeitos ósseos demonstraram que a membrana promove o preenchimento ósseo do defeito, através da exclusão das células do tecido conjuntivo, permitindo apenas a migração de células com potencial osteogênico e angiogênico, para o interior do defeito (Dahlin *et al.*, 1988).

Essa observação foi confirmada no presente estudo, que se propôs a avaliar a regeneração óssea de defeitos criados na mandíbula de 9 cães, os quais foram tratados ou não, pelo princípio da regeneração óssea guiada.

As características dos defeitos ósseos neste experimento seguiram os padrões dos defeitos criados por Schenk *et al.* (1994), em um estudo pioneiro, que descreveu o padrão e a seqüência de passos da regeneração óssea de defeitos recobertos por membrana. Em 2 meses, o volume do defeito apresentava-se menor em relação ao momento de sua criação e, aos 4 meses, esse volume havia diminuído ainda mais, nos defeitos recobertos com as membranas de PTFE-e. Os defeitos recobertos com membranas com reforço, tiveram uma menor alteração do volume original. O tamanho do espaço criado pela membrana varia de acordo com as propriedades mecânicas da membrana, com a largura do rebordo e com a precisão do procedimento cirúrgico.

Sabendo-se que a quantidade de osso regenerado é limitada pelo espaço disponível sob a membrana (Dahlin *et al.*, 1991) e que o colapso parcial ou total da membrana é uma ocorrência freqüente, podendo ser considerada uma limitação da técnica, optamos pela estabilização da membrana com mini-parafusos, por vestibular e por lingual. A alternativa de escolha, entretanto, não foi suficiente para evitar o problema do colapso, da mesma maneira que no trabalho de Buser *et al.* (1993). A dureza inadequada da membrana, associada à morfologia e grande extensão do defeito ósseo, que levaram ao colapso parcial da membrana podem

explicar a ausência de diferença estatística, para o parâmetro largura de tecido ósseo neoformado, entre o grupo teste e controle. De maneira similar que no presente estudo, von Arx *et al.* (2001) compararam o ganho ósseo horizontal em diferentes níveis do defeito, que foram tratados apenas com osso autógeno e osso autógeno associado à membrana. O ganho ósseo horizontal na porção mais coronária dos defeitos tratados pela associação membrana e enxerto foi de $3,5 \pm 1,1$ mm, enquanto o grupo sem membrana ganhou apenas $1,5 \pm 1,6$ mm. A diferença, entretanto, não foi estatisticamente significativa.

Schenk *et al.* (1994) relataram uma porcentagem de preenchimento dos defeitos tratados com membrana de aproximadamente 55%, após 4 meses de cicatrização, enquanto trabalhos de Kostopoulos & Karring (1994), demonstraram um preenchimento de até 84%, de defeitos criados em ramos mandibulares de ratos. Fritz *et al.* (1994) obtiveram uma regeneração de até 90% de defeitos crônicos, criados na mandíbula de primatas, em um período de 12 meses. Esse alto percentual foi confirmado por Lang *et al.*, em um trabalho clínico, no qual a membrana foi mantida por um período de 6 a 8 meses, e um total de 90-100% do volume original foi preenchido por osso regenerado. Weng *et al.* (2000) obtiveram um preenchimento ósseo médio de 77,2% do espaço supraósseo criado pela adaptação de uma armação de titânio na mandíbula de primatas, a qual foi recoberta com uma membrana, enquanto a armação que foi recoberta apenas pelo periósteo, teve apenas 68,3% do seu volume preenchido por novo osso. A quantidade de osso regenerado obtida no trabalho de Schenk *et al.* (1994), quando comparada com os estudos supracitados, pode ser considerada baixa e provavelmente, poderia ter sido maior, se não tivesse sido relatado o colapso parcial das membranas.

Da mesma maneira, apesar do presente estudo ter alcançado resultados estatisticamente significantes em relação à área ($215,62 \pm 42,44$; $156,33 \pm 46,85$ mm²) e à altura ($11,59 \pm 1,83$; $8,64 \pm 1,42$ mm) do osso regenerado entre o grupo teste e o grupo controle, respectivamente, provavelmente uma diferença

maior entre os grupos poderia ter sido obtida, se não tivesse ocorrido também o colapso parcial das membranas em alguns dos defeitos.

Kostopoulos & Karring (1994) apresentaram a área de defeito residual, em experimento realizado em ratos. Aos 3 meses, o valor médio da área de defeito residual foi 71% do tamanho original do defeito, nos grupos sem membrana, e 36%, para os espécimes do grupo teste. Após um período de 6 meses, esses valores foram reduzidos para 52% e 18%, no grupo controle e teste, respectivamente. Devido às diferentes metodologias, para avaliação do ganho ósseo, não é possível fazer uma comparação direta entre os dados de diferentes estudos.

Em acordo com os demais trabalhos (Dahlin *et al.*, 1988; Schenk *et al.*, 1994; Ohnishi *et al.*, 2000), os defeitos do grupo controle apresentaram uma regeneração incompleta e sua cicatrização limitou-se a formação de um capuz ósseo na base do defeito. Segundo Schenk *et al.* (1994), esse capuz sela as aberturas dos espaços medulares, que foram expostas cirurgicamente, no momento da criação do defeito.

Um fato que chamou atenção nos espécimes do grupo teste foi a presença de uma faixa de tecido conjuntivo entre o osso neoformado e a superfície interna da membrana. Weng *et al.* (2000) afirma que este tecido conjuntivo é morfológicamente diferente do tecido conjuntivo, que preenche os defeitos do grupo controle e que suas fibras são mais curtas, mais finas e menos orientadas, que as dos sítios controle. A espessura desta faixa varia consideravelmente e normalmente apresenta-se mais larga nas porções mais centrais do defeito (Schenk, 1994).

De acordo com Hämmerle *et al.* (1995), em defeitos extensos, a zona de estabilidade biomecânica da membrana limita-se à região das paredes do defeito, enquanto a porção mais central está mais sujeita a pequenos movimentos, que impediriam a formação óssea. Entretanto, tem sido observada uma redução na largura da faixa de tecido conjuntivo posicionada entre a membrana e o tecido ósseo neoformado, à medida que se aumenta o tempo de manutenção da

membrana (Kostopoulos & Karring, 1994), o que é parcialmente explicado pela aposição óssea continuada pelo perióstio (Schenk, 1994). Buser *et al.* (1995), em um estudo em cães, mantiveram as membranas por um período de 15 meses e observaram que o osso regenerado estava em contato direto com a membrana.

Buser *et al.* (1990) verificaram a presença dessa faixa de tecido conjuntivo, quando a remoção precoce da membrana foi necessária em um dos pacientes do estudo. Após 3 meses, foi realizada uma outra cirurgia, para colocação de implantes e constatou-se que o tecido conjuntivo encontrava-se mineralizado e tinha a aparência de novo osso, demonstrando que a corticalização e o remodelamento do osso neoformado continua após a remoção da membrana (Ohnishi *et al.*, 2000).

O grau de porosidade da membrana também é um fator que pode influir na presença do tecido conjuntivo interposto entre o osso e a membrana. Os poros de 50 μm de diâmetro presentes na porção externa da membrana permitem a passagem de células e de pequenos vasos, enquanto a porção central da mesma possui propriedades mais oclusivas, para impedir a invasão de células do tecido conjuntivo. Em alguns sítios, pode-se encontrar osso dentro dos poros da membrana. Nas regiões onde a membrana é posicionada em íntimo contato com o osso pré-existente e fixada ao perióstio com mini-parafusos, pode-se observar o contato direto com o osso regenerado (Schenk *et al.*, 1994). Em alguns cortes do presente estudo, foi possível observar o íntimo contato do osso neoformado com a membrana, nas áreas onde a membrana foi fixada com mini-parafusos, e a faixa de tecido conjuntivo, na porção superior do defeito, que se apresenta com um aspecto morfológico semelhante ao perióstio.

O tempo ideal, para que haja uma completa regeneração óssea de diferentes tipos de defeitos é bastante discutido e está diretamente relacionado ao processo de maturação óssea.

No presente estudo, em que a membrana foi mantida por 4 meses, observou-se que a proporção de tecido mineralizado foi significativamente maior no grupo controle ($81,51 \pm 6,07$) que no grupo teste ($74,19 \pm 7,74$).

Weng *et al.* (2000), em um estudo em macacos, encontraram, após 4 meses uma porcentagem de tecido mineralizado de $80,0 \pm 3,6\%$ no grupo teste e $82,50 \pm 5,0\%$, no grupo controle. Essa diferença, entretanto, não foi estatisticamente significativa. Aos 3 meses, Buser *et al.* (1998) demonstraram uma porcentagem de 62,5% de osso mineralizado, em um trabalho realizado em porcos. A diferença entre os trabalhos acima citados pode ser explicada pelos diferentes tipos de defeitos, além dos diferentes modelos animais. Segundo Roberts (1988), quanto mais inferior a ordem filogenética a que pertence o animal, maior o potencial de regeneração espontânea dos seus tecidos. O remodelamento do osso cortical em coelhos é duas vezes mais rápido que em cães, e três vezes mais rápido que em humanos. A menor proporção de tecido ósseo mineralizado nos sítios do grupo teste, relatada no presente e em outros estudos, seria explicada por Schenk *et al.* (1994), como uma característica comum a esta fase da regeneração óssea. Aos 4 meses, a esponjosa primária está sendo substituída pela esponjosa secundária, a expensas de um intenso processo de reabsorção do trabeculado ósseo, o que leva a um aumento do tamanho dos espaços medulares, e conseqüente redução da densidade óssea.

Buser *et al.* (1995) comparou histometricamente o osso regenerado de sítios onde a membrana foi mantida por 15 meses, com o osso onde a membrana foi removida aos 6 meses. Observou-se que o osso dos sítios onde a membrana foi mantida por um tempo mais longo apresentava-se com uma cortical muito fina e o trabeculado ósseo bastante espaçado na porção central do defeito, enquanto no grupo, onde a membrana foi mantida por 6 meses, a cortical óssea era mais espessa e o osso esponjoso tinha uma maior densidade, quando comparada ao primeiro grupo. Além disso, concluíram que o osso regenerado apresenta o aspecto de um osso atrófico, enquanto não é submetido a nenhum tipo de carga funcional e que a colocação do implante estimula o processo de maturação óssea. Ohnishi *et al.* (2000) afirmaram que a membrana impede o processo de maturação óssea, por três fatores. Primeiro, a presença da membrana impede o contato do perióstio com o osso neoformado. Segundo, a formação óssea requer um rico

suprimento sanguíneo e, nos sítios com a membrana, o suprimento vem essencialmente dos espaços medulares. Finalmente, o estresse mecânico é essencial para a corticalização do osso neoformado, corroborando os achados de Buser *et al.* (1995).

Apesar dos resultados do presente estudo terem sido compatíveis com a grande maioria dos trabalhos sobre ROG, é importante destacar a dificuldade de manutenção dos animais após a cirurgia. A previsibilidade da cicatrização dos tecidos moles em animais é menor que em pacientes humanos, aos quais instruções pós-operatórias são dadas, para preservar a área da ferida cirúrgica. Além disso, uma vez que a maioria dos estudos demonstra benefícios com a utilização de membranas em relação à quantidade de tecido ósseo regenerado, o estudo de fatores locais e sistêmicos que possam influenciar os resultados alcançados inicialmente pela técnica de ROG passa a ser de fundamental importância para uma indicação adequada e previsível desta técnica.

7. CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais empregadas, foi possível concluir que :

- 1) A utilização de membranas não reabsorvíveis no tratamento de defeitos de rebordo alveolar implicou em significativos benefícios no reparo ósseo, no que diz respeito à quantidade de osso neoformado.
- 2) O tratamento de defeitos de rebordo alveolar com membranas não reabsorvíveis promove um retardo no processo de maturação óssea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. Bain CA. Smoking and implant failure-benefits of a smoking cessation protocol. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 Nov-Dec; 11(6): 756-59.
2. Becker W, Becker BE, Caffesse R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol*. 1994 Dec; 65(12): 1128-33.
3. Becker W, Becker BE, McGuire MK. Localized ridge augmentation using absorbable pins and e-PTFE barrier membranes: a new surgical technique case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1994 Feb; 14(1): 49-61.
4. Becker W, Dahlin C, Becker BE, Lekholm U, van Steenberghe D, Higuchi K, Kultje C. The use of e-PTFE barrier membranes for promotion around dental titanium implants placed into extraction sockets; a prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1994 Jan-Feb; 9(1): 31-40.
5. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker B. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membrane alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995 Mar-Apr; 10(2): 143-54.
6. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop*. 1983 Apr; (174): 28-42.
7. Buser D, Brägger U, Lang NP, Nyman S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clin Oral Implants Res*. 1990 Dec; 1(1): 22-32.
8. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedures in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1993; 13(1): 13-29.
9. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and membranes. *Periodontol 2000*. 1999 Feb; 19: 151-163.

* De acordo com a norma utilizada na FOP-Unicamp, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

10. Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes : a clinical study with 40 partially edentulous patients. **J Oral Maxillofac Surg.** 1996 Apr; 54(4):420-32.
11. Buser D, Dula K, Lang NP, Nyman S. Long-term stability of osseointegrated implants in bone regenerated with the membrane technique. 5-year results of a prospective study with 12 implants. **Clin Oral Implants Res.** 1996 Jun; 7(2): 175-83.
12. Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Schenk RK. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. **Clin Oral Implants Res.** 1998 Jun; 9(3): 137-50.
13. Buser D, Ingmarsson S, Dula K, Lussi A, Hirt HP, Belser UC. Long-term stability of osseointegrated implants in augmented bone: a 5-year prospective study in partially edentulous patients. **Int J Periodontics Restorative Dent.** 2002 Apr; 22(2): 109-17.
14. Buser D, Ruskin J, Higginbottom F, Hardwick R, Dahlin C, Schenk RK. Osseointegration of titanium implants in bone regenerated in membrane protected defects: a histologic study in the canine mandible. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1995 Nov-Dec; 10(6): 666-681.
15. Chiapasco M, Abati S, Romeo E. Clinical outcome of autogenous bone blocks or guided bone regeneration with e-PTFE membranes for the reconstruction of narrow edentulous ridge. **Clin Oral Implants Res.** 1999 Aug; 10(4): 278-88.
16. Dahlin C, Alberius P, Linde A. Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. **J Neurosurg.** 1991 Mar; 74(3): 487-91.
17. Dahlin C, Lekholm U, Becker W, Becker B, Higuchi K, Callens A, van Steenberghe D. Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using guided tissue regeneration technique: a multicenter prospective study. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1995; 10(3): 312-18.

18. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. ***Plast Reconstr Surg***. 1988 May; 81(5): 672-6.
19. Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. ***Int J Oral Maxillofac Implants***. 1989 Spring; 4(1): 19-25.
20. Diès F, Etienne D, Bou Abboud N, Ouhayoun JP. Bone regeneration in extraction sites after immediate placement of an e-PTFE membrane with or without a biomaterial. A report on 12 consecutive cases. ***Clin Oral Implants Res***. 1996 Sep; 7(3): 277-85.
21. Ellegard B, Baellum V, Karring T. Implant therapy in periodontally compromised patients. ***Clin Oral Implants Res***. 1997 Jun; 8(3): 180-88.
22. Fritz ME. The use of guided bone regeneration to fill large mandibular defects in monkeys: a pilot study. ***Int J Oral Maxillofac Implants***. 1994; 9: 644-52.
23. Fugazzotto PA. Guided bone regeneration in clinical practice: idealization of functional and esthetic endpoints. ***J Mass Dent Soc***. 1996 Spring; 45(1): 10-4.
24. Fugazzotto PA. Success and failure rates of osseointegrated implants in function in regenerated bone for 6 to 51 months: a preliminary report. ***Int J Oral Maxillofac Implants***. 1997 Jan-Feb; 12(1): 17-24.
25. Gelb DA. Immediate implant surgery: three-year retrospective evaluation of 50 consecutive cases. ***Int J Oral Maxillofac Implants***. 1993; 8(4): 388-98.
26. Hämmerle CH, Chiantella GC, Karring T, Lang NP. The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. ***Clin Oral Implants Res***. 1998 Jun; 9 (3): 151-62.
27. Hämmerle CH, Karring T. Guided bone regeneration at oral implant sites. ***Periodontol 2000***. 1998 Jun; 17: 151-75.
28. Hämmerle CHF, Olah AJ, Schmid J, Flückiger L, Winkler JR, Gololowski S, Lang NP. The biological effect of deproteinized bovine bone neof ormation on the rabbit skull. ***Clin Oral Implants Res***. 1997 Jun; 8(3): 198-207.

29. Hämmerle CHF, Schmid J, Lang NP, Olah AJ. Temporal dynamics of healing in rabbit cranial defects using guided bone regeneration. **J Oral Maxillofac Surg.** 1995 Feb; 53(2): 167-74.
30. Hämmerle CHF, Schmid J, Olah AJ, Lang NP. A novel model system for the study of experimental guided bone formation in humans. **Clin Oral Implants Res.** 1996 Mar; 7(1): 38-47.
31. Hermann JS, Buser D. Guided bone regeneration for dental implants. **Curr Opin Periodontol.** 1996; 3: 168-77.
32. Hurley LA, Stinchfield FE, Basset CAL, Lyon WH. The role of soft tissues in osteogenesis. **J Bone Joint Surg.** 1959; 41A: 1243-54.
33. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1996 Jan-Feb; 11(1): 55-66.
34. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney EB. Supracrestal bone formation around dental implants: an experimental dog study. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1995 Jan-Feb; 10(1): 23-31.
35. Jovanovic SA, Spiekermann H, Ritcher EJ, Ing D. Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscenced defect sites: a clinical study. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1992 Summer; 7(2): 233-45.
36. Karring T, Nyman S, Lindhe J, Sirirat M. Potential for root resorption during periodontal healing. **J Clin Periodontol.** 1984 Jan; 11(1): 41-52.
37. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. **J Clin Periodontol.** 1980 Apr; 7(2): 96-105.
38. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. **Clin Oral Implants Res.** 1994 Jun; 5(2) : 75-82.
39. Lang NP, Brägger U, Hämmerle CHF, Sutter F. Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration. I. Rationale, clinical procedures and 30-month results. **Clin Oral Implants Res.** 1994 Sep; 5(3): 154-63.

40. Lang NP, Hämmelerle CHF, Brägger U, Lehmann B, Nyman SR. Guided bone regeneration in jaw bone defects prior to implant placement. ***Clin Oral Implants Res.*** 1994 Jun; 5(2): 92-7.
41. Linde A, Thorén C, Dahlin C, Sandberg E. Creation of new bone by a osteopromotive membrane technique. An experimental study in rats. ***J Oral Maxillofac Surg.*** 1993 Aug; 51(8): 892-7.
42. Lorenzoni M, Pertl C, Polansky RA, Jakse N, Wegscheider WA. Evaluation of implants placed with barrier membranes. A retrospective study follow-up study up to five years. ***Clin Oral Implants Res.*** 2002 Jun; 13 (3): 274-80.
43. Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis. ***J Periodontol.*** 2001 Apr; 72(4): 512-16.
44. Mellonig JT, Nevins M. Guided bone regeneration of bone defects associated with implants: an evidence-based outcome assesment. ***Int J Periodontics Restorative Dent.*** 1995 Apr; 15(2): 168-85.
45. Mellonig JT, Triplett RG. Guided tissue regeneration and endosseous dental implants. ***Int J Periodontics Restorative Dent.*** 1993; 13(2): 109-19.
46. Nevins M, Jovanovic SA. Localized bone reconstruction as na adjunct to dental implant placement. ***Curr Opin Periodontol.*** 1997; 4: 109-18.
47. Nyman S. Bone regeneration using the principle of guided bone regeneration. ***J Clin Periodontol.*** 1991 Jul; 18(6): 494-98.
48. Ohnishi H, Fujii, Futami T, Taguchi N, Kusakari H, Maeda T. A histochemical investigation of the bone formation process by guided bone regeneration in rat jaws. Effect of PTFE membrane application periods on newly formed bone. ***J Periodontol.*** 2000 Mar; 71(3): 341-52.
49. Roberts WE. Bone tissue interface. ***Int J Oral Implantol.*** 1988; 5(1): 71-4.
50. Rominger JW, Triplett RG. The use of guided tissue regeneration to improve implant osseointegration. ***J Oral Maxillofac Surg.*** 1994 Feb; 52(2): 106-12.

51. Schenk RK D, Ross W, Hardwick MS, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane protected defects: a histologic study in the canine mandible. ***Int J Oral Maxillofac Implants***.1994 Jan-Feb; 9(1): 13-29.
52. Schenk RK. Bone regeneration: biologic basis. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK, editors. ***Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry***. Chicago: Quintessence Publishing; 1994: 49-100.
53. Schmid J, Hämmerle CHF, Stich H, Lang NP. Supraplant[®], a novel implant system based on the principle of guided bone regeneration. ***Clin Oral Implants Res***. 1991 Oct-Dec; 2(4): 199-202.
54. Seibert J, Nyman S. Localized ridge augmentation in dogs. A pilot study using membranes and hidroxyapatite. ***J Periodontol***. 1990 Mar; 61(3): 157-65.
55. Shanaman RH. A retrospective study of 237 sites treated consecutively with guided tissue regeneration. ***Int J Periodontics Restorative Dent***. 1994 Aug; 14(4): 293-301.
56. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membrane with or without early exposure during the healing period. ***Int J Periodontics Restorative Dent***. 1994 Jun; 14(2): 167-80.
57. Simion M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. ***Int J Periodontics Restorative Dent***. 1994 Dec; 14(6): 497-511.
58. Smukler H, Barboza EP, Burliss C. A new approach to regeneration of surgically reduced alveolar ridges in dogs: a clinical and histologic study. ***Int J Oral Maxillofac Implants***.1995 Sep-Oct; 10(5): 537-51.
59. Tonetti MS, Cortellini PG. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study. ***J Clin Periodontol***. 1995 Mar; 22(3): 229-34.
60. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric study in the canine mandible. ***Clin Oral Implants Res***. 2001 Jun; 12(3): 260-69.

61. Weng D, Hürzeler MB, Quiñones CR, Ohlms A, Caffesse RG. Contribution of the periosteum to bone formation in guided bone regeneration. A study in monkeys. ***Clin Oral Implants Res.*** 2000 Dec; 11(6): 546-54.
62. Zitzmann NU, Schärer P, Marinello CP. Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. ***J Clin Periodontol.*** 1999 Oct; 26(10): 673-682.
63. Zitzmann NU, Schärer P, Marinello CP. Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year prospective study. ***Int J Oral Maxillofac Implants.*** 2001 May-Jun; 16(3): 355-66.

ANEXOS

Tabela1- Médias individuais (por cão) e geral (mm) da altura de tecido ósseo neoformado nos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	8,73	10,45
3	8,20	11,84
4	7,23	10,98
5	8,62	9,14
6	8,40	15,51
9	11,95	11,98
10	7,74	11,07
11	8,26	11,74
Geral	8,64	11,59
DP	1,42	1,83

Tabela 2- Médias individuais (por cão) e geral (mm) da largura de tecido ósseo neoformado na base dos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	14,11	15,60
3	13,23	11,62
4	12,09	12,80
5	11,39	9,04
6	12,01	11,92
9	13,09	13,06
10	9,32	8,41
11	8,76	10,29
Geral	11,75	11,59
DP	1,88	2,34

Tabela 3- Médias individuais (por cão) e geral (mm) da largura de tecido ósseo neoformado na porção média dos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	13,79	14,26
3	12,65	11,43
4	9,65	11,77
5	10,84	9,33
6	10,22	8,35
9	12,62	12,39
10	7,79	8,60
11	8,37	10,27
Geral	10,74	10,80
DP	2,15	2,04

Tabela 4- Médias individuais (por cão) e geral (mm) da largura de tecido ósseo neoformado na porção coronária dos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	10,27	11,48
3	9,68	9,58
4	8,54	10,02
5	9,59	8,30
6	7,40	9,65
9	10,40	9,84
10	6,08	8,29
11	6,85	9,54
Geral	8,60	9,59
DP	1,65	1,01

Tabela 5- Médias individuais (por cão) e geral (mm²) da área de tecido ósseo neoformado dos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	189,92	250,08
3	174,40	223,52
4	129,06	201,05
5	161,59	144,22
6	140,22	271,46
9	243,84	248,89
10	98,10	173,00
11	113,54	212,77
Geral	156,33	215,62
DP	46,85	42,44

Tabela 6- Médias individuais (por cão) e geral (%) da proporção de tecido ósseo mineralizado dos defeitos do grupo teste e controle.

<i>Cão</i>	<i>Controle</i>	<i>Teste</i>
2	81,36	84,31
3	88,18	80,90
4	85,72	80,67
5	77,89	76,44
6	80,85	65,60
9	70,82	62,96
10	78,22	69,22
11	89,08	73,38
Geral	81,51	74,19
DP	6,07	7,74