UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluna: Maríla Ungaro de Oliveira

Orientador: José Ricardo de Albergaria- Barbosa

Ano de Conclusão do Curso: 2005

Assinatura do Orientador

TCC 197

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

Marila Ungaro de Oliveira

**Análise Histológica da Efetividade de substituto ósseo
associado ou não à membrana reabsorvível, no
tratamento de defeitos ósseos em tíbia de coelhos**

Monografia apresentada ao curso de
Odontologia da Faculdade de
Odontologia De Piracicaba –
UNICAMP, para obtenção do
Diploma de Cirurgião- Dentista

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria- Barbosa

Piracicaba

2005

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter me dado o Dom da Vida, e uma família maravilhosa.

Aos meus pais, Licínio e Arlete, modelos de vida, que sempre estiveram do meu lado e não mediram esforços para que todos os meus sonhos se realizassem. Eu amo muito vocês! Muito obrigada por tudo!

Ao meu irmão, Thiago, que amo muito, pela sua alegria, carinho, e companherismo nesta caminhada. Você é meu orgulho!

Às minhas avós, Luiza e Zobeide por sempre rezarem por mim e por estarem me proporcionando sempre momentos de alegria e felicidade e por terem me feito uma pessoa melhor.

A Marcela e o Giovani, que sempre me fazem rir com suas bricadeiras e peraltices!

Ao Alexandre, que sempre me apoiou nestes anos de jornada, pelo seu carinho e compreensão.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP por possibilitar a realização deste curso de graduação.

Ao Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa, pela paciência, que com seu jeito sempre de “bem com a vida” me orientou, me apoiou, sendo essencial para o meu crescimento profissional e humano.

Aos meus amigos, Fernanda, Renata, Carol, Ana Carolina, Tathiani, Luciane, Leandro e William que em pouco tempo demonstraram sincera amizade.

As minhas amigas, Anni e Norma, companheiras de República e que eu estimo muito, porque sem elas a FOP não seria a mesma.

SUMÁRIO

	p
Lista de abreviatura e expressões em latim.....	6
Lista de Figuras e Tabelas.....	7
Resumo	10
Introdução	11
Desenvolvimento	
Revisão de Literatura	14
Justificativa e Proposição	20
Metodologia.....	21
Resultados	24
Discussão dos Resultados	39
Conclusões	43
Referência Bibliográfica.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E PALAVRAS EM LATIM

R.T.G.=regeneração tecidual guiada

mm= milímetro

cm= centímetro

μ = micrômetro

mL= mililitro

%= por cento

Kg= quilograma

Fig.= figura

p.= página

v.= volume

H.E.= hematoxilina e eosina

et al.= e outros

PTFE-e= membrana de politetrafluoreto expandido

n= número

OP= osso pre existente

TC= tecido conjuntivo

ON= osso neoformado

F= teste F

LISTAS DE FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS

Fig1: Grupo I – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC). Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON)

Fig2: Grupo I – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC).

Fig3: Grupo II – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC). Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig4: Grupo II – 21 dias pós-operatório - Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig5: Grupo III – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC). Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig6: Grupo III – 21 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontrava se preenchido por trabéculas ósseas neoformadas(NO) circundadas por tecido conjuntivo(TC). Em algumas amostras notamos a presença da reação inflamatória

Fig7: Grupo IV – 21 dias pós-operatório - Notamos que o osso cortical pre-existente é caracterizado pela presença de corticais ósseas bem definidas, onde

observamos áreas de remodelação(ON), das margens e presença de tecido conjuntivo(TC)

Fig8: Grupo IV – 21 dias pós-operatório - No interior do defeito ósseo cirúrgico observamos a presença de tecido conjuntivo (TC) circundando trabéculas ósseas neoformadas(TC). A porção mais superior da cavidade apresenta uma área de neoformação óssea mais compacta(ON)

Fig9: Grupo I – 42 dias pós-operatório - margens do defeito cirúrgico existem áreas de remodelação óssea e toda a porção mais superior da cavidade se encontra recoberta por osso neoformado.

Fig10: Grupo I – 42 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontra se preenchida por tecido ósseo neoformado e com poucas apresentando tecido conjuntivo. Estes se apresentam com aspecto mais organizado e maduro

Fig11: Grupo II – 42 dias pós-operatório - O tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte da cavidade óssea cirúrgica, apresentando apenas algumas poucas áreas com a presença de tecido conjuntivo.

Fig12: Grupo II – 42 dias pós-operatório - A porção mais superior da cavidade apresenta resquícios de tecido conjuntivo, provavelmente originado a partir da membrana de colágeno que recobria a cavidade.

Fig13: Grupo III – 42 dias pós-operatório - A cavidade encontra-se preenchida por tecido ósseo neoformado de aspecto mais organizado e maduro. O tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte do defeito. Ainda é possível verificar a presença de restos do material implantado.

Fig14: Grupo III – 42 dias pós-operatório - notamos a presença de algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envolvidos pelas trabéculas ósseas neoformadas.

Fig15: Grupo IV – 42 dias pós-operatório - As margens deste tecido ósseo pré-existente apresenta áreas de remodelação e neoformação óssea, caracterizando atividade remodeladora.

Fig16: Grupo IV – 42 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontra-se preenchida em sua totalidade por tecido ósseo neoformado com características mais organizadas e maduras quando comparadas às do período anterior. É possível observar algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envolto pelo tecido ósseo neoformado

Tabela1: Médias e desvios padrão dos dados originais (não transformados) e resultado do teste de Tukey com nível de significância de 5% apresentando letras iguais ao lado de médias de grupos que não diferem significativamente entre si (comparação de grupos dentro do mesmo tempo)

Gráfico 1: Comparação de médias de formação óssea após 21 dias pós-operatórios dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre os grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância α de 5% ($\alpha = 0,05$).

Gráfico 2: Comparação média de formação óssea após 42 dias pós-operatórios dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre os grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância α de 5% ($\alpha = 0,05$).

RESUMO

No presente estudo analisamos histologicamente o efeito de um tipo de substituto ósseo, composto por pó de sulfato de cálcio hemi-hidratado de grau médio e solução diluente acelerador, associado ou não à membrana reabsorvível de colágeno, sobre o processo de reparação óssea em defeitos ósseos produzidos cirurgicamente. Para tanto, foram utilizados 12 coelhos da raça Nova Zelândia, onde, em cada tibia (direita e esquerda) foram confeccionadas duas cavidades ósseas cirúrgicas. As cavidades foram divididas em 04 grupos: Grupo I, onde os defeitos foram preenchidos por coágulo; Grupo II, onde a cavidade experimental foi preenchida com coágulo e revestida pela membrana reabsorvível de colágeno (BioMend® - Calcitek® - A Company of Sulzer Medical); Grupo III, em que tivemos a cavidade preenchida com o composto por pó de sulfato de cálcio hemi-hidratado de grau médio e solução diluente acelerador (Cap-Set® - Calcitek® - A Company of Sulzer Medical) e, Grupo IV, onde os defeitos foram preenchidos com o composto por pó de sulfato de cálcio hemi-hidratado de grau médio e solução diluente acelerador (Cap-Set® - Calcitek® - A Company of Sulzer Medical) e revestidos por membrana reabsorvível de colágeno (BioMend® - Calcitek® - A Company of Sulzer Medical). Os animais foram sacrificados nos períodos pós-operatórios de 21 e 42 dias e, após o sacrifício, as peças foram coletadas e preparadas pelo método de rotina para exame histológico e histométrico com hematoxilina de Harris e eosina aquosa 1%. Todas as lâminas foram examinadas por um único observador que atribuiu valores entre 1, 3 e 5 para cada intensidade dos eventos da regeneração óssea.

Após a análise dos resultados histológicos e estatísticos, podemos concluir que: os materiais testados influenciaram positivamente a neoformação óssea permitindo melhor preenchimento da cavidade óssea cirúrgica.

INTRODUÇÃO

Sabemos que o tecido ósseo responde com reabsorção quando recebe injúrias variadas, tais como as lesões periapicais, as periodontites, as implantodontites e os tumores, levando a defeitos em sua morfologia (LEONEL et al., 2003). Independentemente do tamanho da injúria, ela sempre desencadeia uma série de processos coordenados diretamente relacionados com a restauração do tecido danificado a um nível que seja o mais próximo do normal, sendo este fenômeno denominado de cicatrização (SHETTY & BERTOLAMI, 1997).

Durante a cicatrização dois processos distintos podem estar envolvidos: a regeneração e a reparação tecidual (LEONEL et al., 2003), sendo que o primeiro consiste na reposição das estruturas lesadas por células com morfofuncionalidade semelhante às que anteriormente existiam, enquanto que a reparação consiste na capacidade que os tecidos tem de repor as suas estruturas lesadas.

Na seqüência da reparação óssea estão envolvidos basicamente três mecanismos: osteogênese, osteocondução e osteoindução (KHARMANDAYAN, 1997). Sendo que a osteogênese é determinada por células osteoblásticas; a osteocondução por estruturas que servem de arcabouço à migração de células osteoblásticas e a osteoindução por substâncias que estimulam a diferenciação celular levando à produção de osso (MILLER et al., 1991).

Há muito tempo os defeitos ósseos resultantes de traumatismos, ressecções de tumores, infecções ou outra causa qualquer, vem sendo um dos problemas de difícil solução na ortopedia (IGNÁCIO et al., 1996), já que frequentemente essas lesões apresentam perda de tecido ósseo e migração de tecido conjuntivo para estes locais, ocasionando alterações da arquitetura e função correspondente (DAHLIN et al., 1998).

Na maioria dos casos, a primeira opção na reparação deste problema seria o uso de enxertos ósseos (IGNÁCIO et al., 1996).

Qualquer que seja o tipo, autólogo ou homólogo, eles apresentam a solução mais biológica para o problema (IGNÁCIO et al., 1996) já que é o que apresenta maior poder osteogênico e, quando disponível, provavelmente é o material de

escolha (BOYNE, 1973; DUPOIRIEUX et al., 1994). Entretanto, os autógenos têm as desvantagens de não ser inesgotável e sua obtenção exigir abordagem cirúrgica da área doadora, com todos os riscos inerentes de uma operação, tais como: perda excessiva de sangue, pneumotórax, infecção de ferida, dor, parestesia, cicatrizes e dificuldades de movimentação (IGNÁCIO et al., 1996; YAMAMOTO et al., 1993). Já no caso dos homólogos, os bancos de ossos são apenas uma esperança para a vasta maioria dos cirurgiões, pois estão disponíveis somente em grandes centros que disponham de estrutura necessária (IGNÁCIO et al., 1996).

Mesmo havendo dificuldades na obtenção e manipulação, os enxertos ósseos são rotineiramente utilizados para restaurar defeitos ósseos. Entretanto, os enxertos geralmente são reabsorvidos substancialmente, mas os enxertos cobertos com a membrana apresentaram-se mais ativos e exibindo uma menor perda de volume. Os resultados desse trabalho confirmaram o efeito osteopromotor da técnica da membrana, ao mesmo tempo em que sugere que a quantidade de osso necessária pode ser reduzida usando esse método (ALBERIUS et al., 1992).

MELCHER (1976) em uma de suas pesquisas, observou que os insucessos nos tratamentos de defeitos ósseos, ocasionados por doença periodontal, poderiam ser devido à invasão dos defeitos por tecidos com pequeno potencial de regeneração.

A partir desse e de alguns outros relatos, experimentos começaram a ser realizados, utilizando um novo princípio: regeneração tecidual guiada sobre regeneração óssea.

Este princípio biológico foi desenvolvido para regenerar tecidos periodontais destruídos por processos inflamatórios, e foi designada "regeneração tecidual guiada" (RTG). Ele baseia-se na hipótese de que as membranas biológicas impedem a participação das células do epitélio bucal e do tecido conjuntivo na cicatrização da ferida, deixando que as células do ligamento periodontal tenham prioridade.

LOPES (1999) avaliou a efetividade da membrana reabsorvível de colágeno (Biomend) e da membrana não reabsorvível de celulose (Gengiflex) no tratamento de defeitos ósseos tipo fenestração em tíbias de cães, onde concluiu que as membranas foram efetivas em promover a regeneração óssea nos períodos pós-operatórios de três a oito semanas; que os defeitos protegidos com membranas de colágeno mostraram um volume de tecido ósseo neoformado estaticamente superior aos defeitos tratados com membrana de celulose e também em relação aos defeitos controles em um período de três semanas.

PEREIRA (1999) avaliou a diferença entre o uso de membrana não reabsorvíveis (Gore tex) e reabsorvíveis (Atrisorb) em defeitos periodontais cirurgicamente criados em cães. Desta pesquisa, o autor concluiu que as membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis são igualmente efetivas em limitar a progressão apical do epitélio juncional e promover nova inserção em defeitos tipo deiscência em cães e, que a membrana reabsorvível promove maior área de regeneração óssea em defeitos tipo deiscência em cães, quando comparada à membrana não reabsorvível.

REVISÃO DE LITERATURA

A dificuldade em realizar tratamentos em defeitos ósseos estimulou diversas pessoas a pesquisarem como realmente o organismo reage aos enxertos (autógeno e homogêneo), além de procurarem métodos alternativos, como por exemplo: o emprego de biomateriais, ou seja, materiais sintéticos desenvolvidos para uso biológico, através de estudo na área de química, biologia, medicina, engenharia e odontologia (CARVALHO et al., 1997a).

Mais especificamente a classe odontológica tem tido nos últimos anos uma preocupação constante na busca de novos materiais biocompatíveis e inócuos aos organismos, voltados para a reconstrução e regeneração de defeitos ósseo, e que promovam leitos viáveis para receber implantes, pinos, redes metálicas, placas, parafusos e outros (ROBERTS et al., 1984; SCHIMITT-FOURNIE et al., 1989).

O tecido ósseo possui uma alta capacidade de reparação espontânea quando lesionado, repondo de um breve intervalo de tempo, toda a porção perdida (TAGA et al., 1997). No entanto, em alguns casos de defeitos ósseos, às vezes extensos, que não têm a capacidade de repararem-se espontaneamente, há a necessidade de profissionais utilizarem diversas técnicas cirúrgicas na tentativa de reparação da deficiência óssea (RESTREPO et al., 1998).

Os defeitos ósseos, normalmente, são resultantes de traumatismo, infecções, tumores e outras patologias, ou mesmo pela perda precoce dos elementos dentários (FIORELLINI & NEVINS, 1996). Estas deficiências ósseas sempre se constituíram em problemas de difícil solução em cirurgia buco-maxilo-facial (FIORELLINI & NEVINS, 1996; SIGURDSSON et al., 1996; TAGA et al., 1997; RESTREPO et al., 1998).

Para utilização clínica, o substituto ósseo ideal deve ser biocompatível, ter boas propriedades mecânicas e demonstrar osseoindução, ou pelo menos osseocondução (DUPOIRIEUX et al., 1994).

Atualmente não existe um material ideal, pois os ossos autógeno, liofilizado e desmineralizado e os biomateriais apresentam vantagens e desvantagens.

Os enxertos ósseos aparecem como a primeira opção para a maioria dos casos, qualquer que seja o tipo, autógeno ou homogêneo. Os autógenos têm as desvantagens de sua fonte não ser inegociável e sua obtenção exigir uma abordagem cirúrgica da zona doadora, com todos os riscos inerentes a uma cirurgia, tais como: perda excessiva de sangue, pneumotórax, infecção da ferida, dor, parestesia, cicatrizes e dificuldade de movimentação (YAMAMOTO et al., 1993).

Já os bancos de ossos homogêneos são disponíveis apenas nos grandes centros. Além do que as técnicas especializadas de preparo, usualmente requerem equipamentos, operações e manutenção complexos, nem sempre ao alcance da maioria dos cirurgiões (IGNÁCIO et al., 1996).

O entendimento da indução da formação óssea só foi possível a partir dos estudos de URIST, em 1965, que avaliou a neoformação óssea a partir de enxertos de diferentes preparações de osso congelado, seco e desmineralizado em sítios heterotópicos, mais precisamente em bolsas intramusculares de coelhos, ratos, camundongos entre outros, demonstrando assim a formação de tecido ósseo heterotópico e conseqüentes evidências a favor da osseoindução. Mas, só em 1972, quando REDDI & HUGGINS observaram, de forma seqüencial, a transformação dos fibroblastos em osteoblastos, em sítios heterotópicos, a partir do enxerto de matriz óssea desmineralizada do osso parietal e dos ossos longos de ratos adultos em bolsas de abdômen, tórax e púbis de ratos, é que foi possível se estudar detalhadamente a osseoindução.

Baseado nestes trabalhos de URIST (1965) e de REDDI & HUGGINS (1972) houve aumento do interesse de se avaliar diferentes tipos de materiais que possam atuar como substitutos ósseos (SHIGEYAMA et al., 1995). A substituição do tecido ósseo através de materiais artificiais ou sintéticos não obtinham um sucesso adequado por causa da não existência de propriedades osteogênicas e osteoindutivas (YAMAMOTO et al., 1993).

O aloenxerto ósseo liofilizado e desmineralizado tem como desvantagem a sua forma e origem. O tamanho de suas partículas limita a quantidade de aposição coronal do osso disponível em defeitos horizontais e qualquer pressão

leve do tecido pode deslocar o material enxertado (SHIGEYAMA et al., 1995). E ainda, devido ao seu alto custo e a dificuldade de obtenção de osso humano viável em quantidade, associado à proibição em vários países da comercialização de produtos de órgãos ou tecidos humanos, e da possibilidade de transmissão de doenças, foram lançados no mercado produtos sintéticos, com as mesmas finalidades (TAGA et al., 1997). Em virtude destas dificuldades, a ciência busca materiais que substituam o osso perdido, ou ainda técnicas que venham a possibilitar a formação do osso a partir de um substrato ósseo preexistente, como o uso de membranas, ou ainda de substâncias que induzam a formação óssea (BALHSI & MAGID, 1995).

Em virtude da limitação do osso autógeno e por outro lado da dificuldade de preparação dos ossos liofilizados e obtenção de proteínas ósseas morfogenéticas, restritas aos grandes centros, surge a necessidade de métodos alternativos, dentre os quais estão os biomateriais (IGNÁCIO et al., 1996). Os biomateriais são materiais sintéticos desenvolvidos para uso biológico, através de estudos nas áreas da Química, da Biologia, da Engenharia, da Medicina e da Odontologia (CARVALHO et al., 1997). Mais especificamente, os profissionais das áreas da odontologia têm tido nos últimos anos uma preocupação constante na busca de novos materiais biocompatíveis e inócuos no organismo, voltados para a reconstrução e reparo de defeitos ósseos, e que promovam leitos viáveis para receber implantes, pinos, redes metálicas, levantamento do assoalho do seio maxilar, preenchimento de alvéolos e outros procedimentos (ROBERTS et al., 1984; SCHIMITT-FOURNIE et al., 1989).

De acordo com IGNÁCIO et al., 1996, o biomaterial ideal deve ser biocompatível, não tóxico, não carcinogênico, estável química e biologicamente, o mais parecido possível com o tecido vivo de modo que o organismo o reconheça como parte de sua estrutura e não como corpo estranho agressor, que estimule a reparação tecidual normal além de versátil e de baixo custo.

Dentre os biomateriais empregados na área médico-odontológica destacam-se os metais, as cerâmicas e os polímeros (IGNÁCIO, 1995).

Apesar das dificuldades de obtenção e manipulação, os enxertos ósseos são rotineiramente utilizados para restaurar defeitos ósseos. Entretanto, um problema comum, porém bastante significativo, que é a perda progressiva do volume do enxerto devido à reabsorção, tem provocado reparações ósseas deficientes destes defeitos. A origem embriológica do tecido ósseo parece exercer um papel decisivo no grau de sucesso do enxerto. ALBERIUS, DAHLIN & LINDE (1992) analisaram o potencial da associação de membranas a enxertos ósseos endocondral e membranoso, em defeitos preparados em mandíbulas de ratos e, enxerto ósseo membranoso em calvária. Os resultados foram analisados macroscópica e histologicamente após o período pós-operatório de 12 semanas. As membranas possibilitaram deposição óssea em todos os defeitos. O osso intramembranoso incorporou-se as margens dos defeitos e, o enxerto endocondral apresentou-se coberto por uma fina cápsula de tecido conjuntivo. Os enxertos geralmente reabsorvem substancialmente, mas os enxertos cobertos com a membrana apresentaram-se mais ativos e exibindo uma menor perda de volume. Os resultados desse trabalho confirmaram o efeito osteopromotor da técnica da membrana, ao mesmo tempo em que sugere que a quantidade de osso necessária pode ser reduzida usando este método.

GOTTLOW et al. (1996) verificaram que as células provenientes do ligamento periodontal têm potencial para formar nova inserção, caso seja dado à essas células a oportunidade de povoar a ferida cirúrgica antes da penetração do tecido epitelial, protegendo o primeiro através de uma barreira mecânica.

A partir de então, uma série de experimentos passou a ser feitos, estudando a possibilidade da aplicação do princípio da regeneração tecidual guiada sobre a regeneração óssea.

Na última década, muitos trabalhos foram realizados com a finalidade de excluir células teciduais não desejáveis da ferida cirúrgica, através da utilização de uma barreira mecânica. Este princípio biológico foi desenvolvido para regenerar tecidos periodontais destruídos por processos inflamatórios, e foi designada "regeneração tecidual guiada" (RTG). Ele baseia-se na hipótese de que as membranas biológicas impedem a participação das células do epitélio bucal e do

tecido conjuntivo na cicatrização da ferida, deixando que as células do ligamento periodontal tenham prioridade.

Após o surgimento da regeneração tecidual guiada (R.T.G.), as barreiras não reabsorvíveis foram inicialmente utilizadas, no entanto, como estas necessitam de um procedimento subsequente de 4 a 6 semanas para sua remoção, surgiram investigações para se estudar a eficácia de membranas reabsorvíveis. Estas, por não necessitarem de um posterior procedimento de reentrada cirúrgica, representam um benefício para o paciente, além de eliminar um possível trauma sobre os tecidos localizados na área de reparação, que pode ocorrer no ato da remoção da barreira, o que poderia perturbar o processo de regeneração (REYNOLDS & BROWERS, 1996).

Lopes (1999) avaliou a efetividade da membrana reabsorvível de colágeno (Biomend ®) e da membrana não reabsorvível de celulose (Gengiflex ®) no tratamento de defeitos ósseos tipo fenestração em tíbias de cães, onde concluiu que as membranas foram efetivas em promover a regeneração óssea nos períodos pós-operatórios de três e oito semanas; que os defeitos protegidos com a membrana de colágeno (Biomend ®) mostraram um volume de tecido ósseo neoformado estatisticamente superior aos defeitos tratados com a membrana de celulose (Gengiflex ®) e também em relação aos defeitos controles no período de três semanas.

Em um outro trabalho, LUNDGREN *et al.*, (1992) testaram se uma membrana biodegradável poderia ser utilizada na reparação de defeitos ósseos em calvárias de coelhos, aplicando o princípio de regeneração tecidual guiada (R.T.G.). Em cada um dos animais foram confeccionados dois defeitos circulares de oito milímetros de diâmetro no meio dos ossos frontal e parietal. No animal 1, um dos defeitos foi coberto somente com retalho mucoperiosteal, sem a colocação da membrana (controle). O outro defeito (teste 1) foi protegido, nas superfícies interna e externa, como uma membrana biodegradável, não porosa, de ácido poliático (diâmetro- 10mm e espessura- 0,2 mm). No animal 2 ambos os defeitos (testes 2 e 3), tiveram suas superfícies interna e externa cobertas por um material mais rígido (copolímero de ácido láctico e carbonato de trimetileno). Seis meses

depois os animais foram sacrificados e as peças analisadas histologicamente. O defeito controle estava essencialmente ocupado por tecido mole, em contato direto com o tecido de dura-máter. Nos defeitos testes havia uma ponte contínua de osso estendendo se de uma extremidade a outra do defeito. Todavia, no defeito teste1, o osso neoformado não atingiu a mesma espessura do osso circundante, ao contrário dos demais defeitos testes.

PEREIRA(1999) avaliou a diferença entre o uso de membrana não reabsorvíveis (Gore tex) e reabsorvíveis (Atrisorb) em defeitos periodontais cirurgicamente criados em cães. Desta pesquisa, o autor concluiu que as membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis são igualmente efetivas em limitar a progressão apical do epitélio juncional e promover nova inserção em defeitos tipo deiscência em cães e, que a membrana reabsorvível promove maior área de regeneração óssea em defeitos tipo deiscência em cães, quando comparada à membrana não reabsorvível.

SATORU YAMADA *et al.* (2002) estudaram os efeitos de xenographic ósseo poroso (Bio-Oss) com uma membrana de colágeno na formação de um novo cemento e de um novo osso em um experimento de defeitos ósseos em cachorros. O controle foi feito em oito semanas em dois grupo: controle (regeneração óssea guiada com membrana de colágeno) e experimental (membrana de colágeno com enxerto poroso de osso mineral). A combinação de membrana de colágeno com material de enxerto ósseo poroso teve um resultado eficaz com a formação de um novo cemento e um novo osso.

JUSTIFICATIVA E PROPOSIÇÃO

A regeneração tecidual guiada e a regeneração óssea guiada são assuntos muito pesquisados hoje em dia na Odontologia, mas por outro lado não existem muitos trabalhos relacionados à reparação óssea, substitutos ósseos e enxertos ósseos com novos materiais que surgem e não são combinados com esse tipo de estudo.

Frente ao observado, o objetivo do trabalho é realizar experimentos relacionados à reparação óssea, substitutos ósseos e enxertos ósseos com novos materiais que estão surgindo, como o Cap-Set, utilizando também membranas de colágeno.

METODOLOGIA

Animais e anestesia

Foram utilizados no presente estudo 12 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, fêmeas, com idade variando entre 03 e 06 meses, que foram divididos em 03 grupos iguais e mantidos durante o período experimental com alimentação sólida e água ad litum.

Como meio de indução anestésica foi feita via intramuscular profunda injeção de 0,1 mL a cada 200g de peso vivo, da mistura de quetamina e xilazina em partes iguais (MASSONE, 1994).

Quinze minutos antes do emprego da associação anestésica injetamos atropina 0,50mg na dose de 0,08mg/ Kg, via subcutânea, com a finalidade de prevenir a bradicardia causada pela xilazina.

Membranas

Neste experimento utilizamos membrana reabsorvível de colágeno (Biomend, que é uma matriz não friável, fabricada a partir do tendão flexor bovino.) Sob microscopia eletrônica, em corte transversal, ela tem a forma de uma superfície plana, condensada e de aspecto texturizado. Ela é semi - oclusiva com poros 0,004µm.

Substitutos ósseos

Neste trabalho utilizamos um tipo de substituto ósseo, sendo um composto por pó de sulfato de cálcio hemi-hidratado de grau médio e solução diluente acelerador (Cap-Set).

Procedimento Cirúrgico

O procedimento cirúrgico foi realizado segundo protocolo descrito por JOHANSSON et al. (1991). No dia anterior a cirurgia todos os animais foram submetidos à tricotomia de ambos os membros inferiores, na área compreendida

entre a articulação tíbio- femural ao pé do animal. Foi feita anti-sepsia da área com solução tópica de polividona iodo a 10%.

Algumas horas antes da cirurgia os animais foram pesados para ser feito o cálculo das doses de anestésico e da solução de atropina que receberiam.

Após a anestesia realizamos a anti-sepsia por lavagem da área tricotomizada com solução tópica de polividona iodo 10% e a assepsia foi mantida em campos estéreis descartáveis.

Realizamos incisão de aproximadamente 4 cm na região correspondente a face medial da tíbia em seu terço proximal, com uma lâmina de bisturi nº 15 e montada em cabo de bisturi Barder- Parker nº 3. O tecido muscular subjacente foi separado por divulsão roma e afastado, expo se o periósteeo que também foi incisado, com a finalidade de dar início as perfurações (duas para cada tíbia), com diâmetro de 2,6mm.

Durante as perfurações ósseas, promovemos irrigação constante com soro fisiológico evitando se assim o superaquecimento ósseo. Após a realização das perfurações as cavidades superiores das tíbias direitas foram preenchidas por coágulo sanguíneo (Grupo I), as cavidades inferiores foram preenchidas por coágulo sanguíneo e recobertos por membrana de colágeno (GrupoII).

Nestes mesmos animais, as cavidades superiores das tíbias esquerdas foram preenchidas por Cap Set (Grupo III) e, as cavidades inferiores foram preenchidas por Cap Set e recobertas pela membrana de colágeno.

Posteriormente o periósteeo foi reposicionado e a sutura realizada por planos. Usamos para a sutura fio de nylon nº 4.0.

Todos os animais receberam Penicilina Benzatina em dose única de 01mL, por via intraperitoneal, segundo as recomendações do fabricante.

Os animais foram sacrificados com overdose endovenosa da mistura anestésica contendo quetamina e xilazina, nos períodos de 21 e 42 dias pós-operatórios, num total de 6 animais por período.

Método Histológico

As tíbias foram seccionadas para a remoção das partes contendo as perfurações cirúrgicas através de broca cilíndrica montada em alta rotação, acompanhada de irrigação abundante com soro fisiológico.

As peças foram fixadas em formol a 10% durante 24 horas, em temperatura ambiente, depois lavadas em água corrente por 12 horas e descalcificadas em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50% em partes iguais (solução de Morse), durante período de 52 dias. Ao final deste processo, cada fragmento ósseo contendo o defeito cirúrgico foi seccionado ao meio dividindo-o em duas partes iguais, cada uma contendo metade do defeito cirúrgico (Fig. 4), usando-se para isso lâmina de barbear. A seguir as amostras foram lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina seguindo-se a tramitação laboratorial de rotina.

Os cortes semi-seriados de 6 μ foram corados pela hematoxilina de Harris e eosina aquosa a 1% para análise em microscopia óptica.

Análise Histológica

Na análise histológica descritiva, foi avaliada a intensidade da reação inflamatória bem como a seqüência de eventos que envolveram a reparação óssea dos defeitos, tais como: necrose, hemorragia, atividade osteoclástica, presença de tecido conjuntivo, aposição de tecido ósseo neoformado, enfim, o padrão de regeneração óssea.

RESULTADOS

Análise Histológica

Período de 21 Dias

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por coágulo

O corte histológico deste grupo exibiram cavidades preenchidas por tecido conjuntivo circundado por trabéculas ósseas neoformadas. Ainda era possível observar discreta reação inflamatória.

Notamos formação óssea junto ao defeito ósseo criado cirurgicamente, porém ainda era possível observar uma grande quantidade de tecido conjuntivo circundando as trabéculas ósseas neoformadas que se dirigiam das paredes laterais do defeito para o seu centro. Sendo que junto as paredes laterais havia maior número de trabéculas ósseas neoformadas.

O limite entre a cavidade óssea cirúrgica e o osso pre-existente é ainda possível de ser observado, e caracterizado pela presença de duas corticais bem nítidas. No limite da cavidade, o osso pre-existente apresenta áreas de remodelação e o osso neoformado, sugerindo atividade remodeladora ativa e progressiva. (Figs. 1 e 2)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por coágulo e protegido pela membrana

Os animais apresentaram um comportamento semelhante ao grupo controle, sendo possível a identificação da região limite entre as paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica e as trabéculas ósseas neoformadas no interior do defeito. Notamos que o osso cortical pre-existente é caracterizado pela presença de duas corticais ósseas bem definidas, onde observamos áreas de remodelação, das margens.

No interior do defeito ósseo cirúrgico observamos a presença de tecido conjuntivo circundando trabéculas ósseas neoformadas.

A porção mais superior da cavidade apresenta resquícios de tecido conjuntivo, provavelmente originado a partir da membrana de colágeno que recobria a cavidade. (Figs. 3 e 4)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por substituto ósseo

Junto às paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica, o limite entre o defeito ósseo e o osso pre- existente é facilmente identificado e caracterizado pela presença de corticais ósseas bem nítidas. As margens deste tecido ósseo pre- existente apresentavam áreas de remodelação. (Figs. 5 e 6)

A cavidade óssea cirúrgica encontrava se preenchido por trabéculas ósseas neoformadas circundadas por tecido conjuntivo. Em algumas amostras notamos a presença da reação inflamatória. . (Figs. 5 e 6)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por substituto ósseo e protegidos pela membrana

Nos animais deste grupo é possível identificar a região limite entre as paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica e as trabéculas ósseas neoformadas no interior do defeito. Notamos que o osso cortical pre- existente é caracterizado pela presença de corticais ósseas bem definidas, onde observamos áreas de remodelação, das margens (Figs. 7 e 8)

No interior do defeito ósseo cirúrgico observamos a presença de tecido conjuntivo circundando trabéculas ósseas neoformadas. A porção mais superior da cavidade apresenta uma área de neoformação óssea mais compacta quando comparada com a região mais profunda do defeito. Entremeados às trabéculas notamos a presença de tecido conjuntivo. (Figs. 7 e 8)

Fig1: Grupo I – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC).Nota se o limite entre o osso pire existente (OP) e osso neoformado (ON)

Fig2: Grupo I – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC).

Fig3: Grupo II – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC). Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig4: Grupo II – 21 dias pós-operatório - Nota se o limite entre o osso pre existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig5: Grupo III – 21 dias pós-operatório - A cavidade cirúrgica encontra se preenchida por trabéculas ósseas neoformadas (NO) circundadas por tecido conjuntivo (TC). Nota se o limite entre o osso pire existente (OP) e osso neoformado (ON).

Fig6: Grupo III – 21 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontrava se preenchido por trabéculas ósseas neoformadas(NO) circundadas por tecido conjuntivo(TC). Em algumas amostras notamos a presença da reação inflamatória

Fig7: Grupo IV – 21 dias pós-operatório - Notamos que o osso cortical pre-existente é caracterizado pela presença de corticais ósseas bem definidas, onde observamos áreas de remodelação(ON), das margens e presença de tecido conjuntivo(TC)

Fig8: Grupo IV – 21 dias pós-operatório - No interior do defeito ósseo cirúrgico observamos a presença de tecido conjuntivo (TC) circundando trabéculas ósseas neoformadas(TC). A porção mais superior da cavidade apresenta uma área de neoformação óssea mais compacta(ON)

Período de 42 dias

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por coágulo

O limite entre as paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica e o osso neoformado ainda pode ser identificado, porém já não é tão nítido quando ao período anterior. Partindo das margens do defeito cirúrgico existem áreas de remodelação óssea e toda a porção mais superior da cavidade se encontra recoberta por osso neoformado. (Figs. 9 e 10)

A cavidade óssea cirúrgica encontra se preenchida por tecido ósseo neoformado e com poucas apresentando tecido conjuntivo. Estes se apresentam com aspecto mais organizado e maduro quando comparado ao período anterior. (Figs. 9 e 10)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por coágulo e protegido pela membrana

Neste grupo é possível observar o limite entre o osso pre- existente e o osso neoformado. Nesta região observamos áreas de remodelação óssea.

A cavidade óssea cirúrgica encontra se preenchida por tecido ósseo neoformado de aspecto mais organizado e maduro quando comparado com o do período anterior. O tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte da cavidade óssea cirúrgica, apresentando apenas algumas poucas áreas com a presença de tecido conjuntivo. (Figs 11 e 12)

A porção mais superior da cavidade apresenta resquícios de tecido conjuntivo, provavelmente originado a partir da membrana de colágeno que recobria a cavidade. (Figs 11 e 12)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por substituto ósseo

O limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado ainda é possível de ser observado. As margens deste tecido ósseo apresentam atividades de remodelação ósseas.

A cavidade encontra-se preenchida por tecido ósseo neoformado de aspecto mais organizado e maduro quando comparado à do período anterior. O

tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte do defeito. Ainda é possível verificar a presença de restos do material implantado. Também notamos a presença de algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envoltos pelas trabéculas ósseas neoformadas. (Figs. 13 e 14)

Grupo de defeitos ósseos preenchidos por substituto ósseo e protegidos pela membrana

Nas amostras deste grupo ainda podemos observar o limite entre as paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica e o osso neoformado e caracterizado por duas corticais ósseas bem definidas. As margens deste tecido ósseo pré-existente apresenta áreas de remodelação e neoformação óssea, caracterizando atividade remodeladora. (Figs. 15 e 16)

A cavidade óssea cirúrgica encontra-se preenchida em sua totalidade por tecido ósseo neoformado com características mais organizadas e maduras quando comparadas às do período anterior. É possível observar algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envolto pelo tecido ósseo neoformado. (Figs 15 e 16)

Fig9: Grupo I – 42 dias pós-operatório - margens do defeito cirúrgico existem áreas de remodelação óssea e toda a porção mais superior da cavidade se encontra recoberta por osso neoformado.

Fig10: Grupo I – 42 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontra se preenchida por tecido ósseo neoformado e com poucas apresentando tecido conjuntivo. Estes se apresentam com aspecto mais organizado e maduro

Fig11: Grupo II – 42 dias pós-operatório - O tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte da cavidade óssea cirúrgica, apresentando apenas algumas poucas áreas com a presença de tecido conjuntivo.

Fig12: Grupo II – 42 dias pós-operatório - A porção mais superior da cavidade apresenta resquícios de tecido conjuntivo, provavelmente originado a partir da membrana de colágeno que recobria a cavidade.

Fig13: Grupo III – 42 dias pós-operatório - A cavidade encontra-se preenchida por tecido ósseo neoformado de aspecto mais organizado e maduro. O tecido ósseo neoformado ocupa a maior parte do defeito. Ainda é possível verificar a presença de restos do material implantado.

Fig14: Grupo III – 42 dias pós-operatório - notamos a presença de algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envoltos pelas trabéculas ósseas neoformadas.

Fig15: Grupo IV – 42 dias pós-operatório - As margens deste tecido ósseo pré-existente apresenta áreas de remodelação e neoformação óssea, caracterizando atividade remodeladora.

Fig16: Grupo IV – 42 dias pós-operatório - A cavidade óssea cirúrgica encontra-se preenchida em sua totalidade por tecido ósseo neoformado com características mais organizadas e maduras quando comparadas às do período anterior. É possível observar algumas poucas áreas de tecido conjuntivo envolto pelo tecido ósseo neoformado

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Desdobramento do Preenchimento (Tempo)

Foi aplicada análise de variância. A variável de resposta avaliou a formação óssea e este efeito foi atribuído, no estudo, à utilização de grupos de preenchimentos diferentes e do tempo de formação óssea. A interação forneceu indícios de que houve efeito significativo dos fatores principais (tempo e preenchimento) sobre a formação óssea.

No desdobramento da interação preenchimento (tempo), isto é, preenchimento dentro do tempo, foram comparadas as diferenças observadas entre os grupos dentro de cada um dos tempos de maneira independente. O estudo se baseou no teste de Tukey, uma vez que foram comparados os grupos.

A tabela 1 ilustra o desdobramento de preenchimento

Tabela 1. Médias e desvios padrão dos dados originais (não transformados) e resultado do teste de Tukey com nível de significância de 5% apresentando letras iguais ao lado de médias de grupos que não diferem significativamente entre si (comparação de grupos dentro do mesmo tempo)

Grupo	N. Observados	21 dias		42 dias	
		Média	desvio padrão	média	desvio padrão
Grupo I	5	27,66b	3,77	39,86c	3,6
Grupo II	5	29,20b	1,96	42,86c	1,747
Grupo III	5	37,13a	2,7	56,53b	3,52
Grupo IV	5	37,86a	2,58	64,13a	2,92

De acordo com a Tabela 1 o comportamento dos grupos foi bastante distinto ao longo dos tempos estudados. Observamos que no tempo de 21 dias houveram dois grupos homogêneos: os grupos I e II que tiveram os defeitos

preenchidos por coágulo e que não apresentaram diferenças significantes entre si, porém diferindo dos outros dois grupos: que tiveram o defeito preenchido pelo substituo ósseo, que por sua vez, apresentaram médias não significativamente diferentes entres si. O Gráfico 1 ilustra a comparação entre as médias observadas no tempo de 21 dias de pós-operatório

Gráfico 1. Comparação de médias de formação óssea após 21 dias pós-operatório dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre os grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância α de 5% ($\alpha = 0,05$).

No tempo de 42 dias, por sua vez, observamos indícios de que o grupo IV (preenchimento do defeito ósseo com substituo ósseo e recoberto pela membrana de colágeno) apresentou média verdadeira significativamente maior que todos os demais grupos estudados. O grupo III apresentou média significativamente maior que as dos grupos I e II (coágulo e coágulo e membrana de colágeno, respectivamente).

Entre os grupos I e II não foram detectados indícios de diferenças entre as médias verdadeiras. O Gráfico 2 ilustra a comparação entre as médias observadas no tempo de 42 dias pós-operatórios

Gráfico 2. Comparação médias de formação óssea após 42 dias pós-operatórios dos quatro grupos estudados. Barras com a mesma cor não indicam existência de diferença estatística significativa entre os grupos de um mesmo tempo pelo teste de Tukey com nível de significância α de 5% ($\alpha = 0,05$).

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O interesse no estudo de materiais capazes de substituir o tecido ósseo tem aumentado nas profissões que compõem a área de saúde (IGNÁCIO et al., 1996), principalmente na odontologia, onde o surgimento de tratamentos com os implantes osseointegrados e uma maior conscientização da importância da reconstrução óssea nos pacientes submetidos mutiladores, tem levado a necessidade de se repor o tecido ósseo perdido com uma maior frequência.

Os enxertos ósseos apareceram como a primeira opção por representarem uma solução mais biológica para o problema (IGNÁCIO et al., 1996). Dentre estes, os melhores resultados são credenciados ao osso autógeno, e isto é justificado pela ausência de antigenicidade, mínima reação antiinflamatória, fácil revascularização, grande quantidade de células viáveis presentes, e alto potencial de osseocondução e osseoindução (Piatelli et al., 1996; Rabie & Lie Ken Jie, 1996; Restrepo et al., 1998; kawcak et al., 2000; Rabie & Chay, 2000). Todavia, sua fonte não é inesgotável e sua obtenção exige uma abordagem cirúrgica da zona doadora, com todos os riscos inerentes a uma cirurgia (Yamamoto et al., 1993).

O uso de substitutos ósseos tem tido uma maior aceitação nos últimos anos, inicialmente, em virtude de uma melhora da variedade e utilidade destes materiais. Outro incentivo para os substitutos do tecido ósseo tem sido a sua utilização nos pequenos procedimentos de ganho ósseo, realizados em cirurgias pré-protéticas e para a colocação de implantes osseointegrados. Nestas situações estes materiais podem evitar a remoção de osso autógeno ou complementar pequenos enxertos (Buckley, 1994).

Dentre estes substitutos ósseos compostos pelos não derivados do tecido ósseo temos: as cerâmicas (hidroxiapatita, tricálcio-fosfato), o vidro bioativo, o sulfato de cálcio, os polímeros, dentre outros. Estes biomateriais sintéticos foram desenvolvidos com objetivo de estimular e promover a regeneração óssea, evitando a utilização do enxerto ou mesmo minimizado seu uso (Ignácio et al., 1996). Nesta categoria destacamos as cerâmicas e os biopolímeros por

apresentarem, nos últimos anos, uma grande evolução científica (Garcia Jr., 2000). No intuito de avaliar os diferentes materiais, que vem sendo desenvolvidos para auxiliar a regeneração óssea, vários métodos de pesquisas de enxertos ósseos deve se barato, de fácil disponibilidade e manuseio e, também, apresentar uma região adequada de osso que permita o preparo de cavidades óssea de tamanho suficiente pra a realização da pesquisa.

Para Melloning & Nevins (1995) os efeitos os efeitos ósseos produzidos em tíbias de coelhos apresentaram-se como um bom modelo experimental em regeneração óssea guiada, uma vez que são menos propensos a fatores mecânicos e a suprimentos de sanguíneos.

Johner (1972) realizou estudos sobre reparos de orifícios criados com diâmetro de entre 0,1 e 1 mm em tíbia de coelhos. O autor relatou que a formação óssea no interior desses defeitos iniciou-se em dois dias sem a presença de atividades osteoclásticas e, que os orifícios pequenos com diâmetro na ordem de 0,2 mm foram concentricamente preenchidos com osso lamelar. Para os orifícios maiores é esperado a formação de estrutura de osso embrionário, onde sobre esta é depositado osso lamelar, com índice de crescimento a posicional de 2 microns por dia. Ao término de 4 semanas, o autor relatou que ambos os defeitos, pequeno e grande, foram preenchidos com osso compacto e que o liminar para a rápida extensão de osso embrionário consiste ao redor de 1mm para os orifícios criados no osso cortical do coelho. Isto indica que o osso não é capaz de atravessar espaços com largura maior que 1 mm por um único "salto osteogênico a distância". Porém não significa que os orifícios maiores permaneceram abertos por tempo indefinido, mas o preenchimento será mais demorado, indicando os defeitos com diâmetro de 2 e 5 mm persistirão por semanas e alguns meses, até que se dê por completo o processo de regeneração.

Neste estudo utilizamos cavidades cirúrgica circulares com diâmetro de 2,6mm, simulando defeitos ósseos e, permitindo preenchimento dos mesmos com coágulo ou coágulo mais membrana reabsorvível de colágeno ou substituto ósseo (Cap-set) mais membrana reabsorvível.de colágeno.

Estas cavidades ósseas cirúrgicas na tíbia de coelhos são modelos de estudos bastante úteis no estudo de regeneração óssea. Este tipo de defeito ósseo é facilmente reproduzível, simples de ser realizado, rápido, seguro e não requer estabilização.

Para Dahlin et al., (1993), o processo de reparação óssea pode ser influenciado por vários fatores, incluindo idade, estrutura do osso, vascularização e tamanho do defeito. Um sério obstáculo a este processo é a rápida formação de tecido conjuntivo frouxo no local. O crescimento deste tecido pode atrapalhar, ou mesmo impedir totalmente a osteogênese de um defeito em uma área de reparo ósseo.

Para Buser et al., (1995) as membranas são utilizadas com a finalidade de auxiliar na osteogênese. Estudos realizados por estes autores em diferentes modelos experimentais provaram que a barreira mecânica posicionada em contato direto com o tecido ósseo, e ultrapassando cerca de 3mm das bordas do defeito, era capaz de promover regeneração óssea.

O uso da membrana em nosso estudo teve como objetivo verificar se a mesma atendia ao princípio acima citado, de servir como uma barreira mecânica que não permitisse a formação de tecido conjuntivo que invaginasse para o interior da cavidade, fazendo com que a mesma apresentasse um aspecto côncavo na sua porção mais externa. Isto permitiu que ocorresse uma neoformação óssea antes da formação de tecido conjuntivo nesta área.

Em relação a neoformação óssea no interior da cavidade óssea cirúrgica nossos resultados demonstram que no período de 21 dias pós-operatório os grupos III e IV (Cap-set e Cap-set + membrana colágeno) apresentam melhores neoformações ósseas. Neste período pode se observar um efeito positivo sobre a regeneração ósseas, nos grupos que foram utilizados material de preenchimento, quando comparados aos grupos I e II (coágulo e coágulo + membrana de colágeno). Em todos os grupos a neoformação óssea ocorreu principalmente a partir das paredes laterais da cavidade óssea cirúrgica em direção ao centro da mesma.

No período de 42 dias pós-operatório observamos que tanto o Grupo IV (Cap-set + membrana de colágeno) quanto o Grupo III (Cap-set) apresentavam cavidades ósseas cirúrgicas praticamente preenchidas por tecido ósseo neoformado, embora ainda fosse possível observar pouquíssimas partículas desses materiais, circundadas por tecido óssea estatisticamente maior que todos os outros grupos. O grupo III foi estatisticamente maior que os grupos I e II (coágulo e coágulo + membrana de colágeno) que não apresentaram diferenças estatística significantes.

De forma geral, observamos através das análises histológica e histométrica que os materiais testados influenciaram positivamente na neoformação óssea dos defeitos melhorando-a quando comparado ao Grupo I e II.

CONCLUSÕES

Dentro do propósito deste estudo, e com base nos resultados obtidos podemos concluir que:

1. Historicamente, tanto grupo controle como grupo 1 quanto os grupos 2, 3 e 4 apresentaram o aumento da neoformação óssea ao tempo.

2. Os grupos III e IV apresentaram uma melhor neoformação óssea aos 21 dias pós-operatórios quando comparados aos grupos I e II

3. Aos 42 dias pós-operatório o grupo IV apresentou uma neoformação óssea estatisticamente maior que a de todos os outros grupos. o grupo III apresentou maior neoformação óssea quando comparado aos grupos I e II que não apresentaram diferenças estatística significantes.

4. Os materiais testados influenciaram positivamente a neoformação óssea permitindo melhor preenchimento da cavidade óssea cirúrgica

REREFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberius, P.; Dahlin, C.; Linde, A. – Role of osteopomotion in experimental bone grafting to the skull: a study in adults rats using a membrane technique. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 50:829,1992.
2. Buclet, M. – Bone substitutes. In: Selected readings in oral and maxillofacial surgery. University of Texas southwestern Medical center at Dallas, 1994.V.4.
3. Buser D. *et al* – Bone regeneration in membrane protected defects. *Int J Periodontics retorative dent*, 15:202-206,1995
4. Dahlin, C. *et al* – Healing of bone defects by the combination guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg.*, 81:672,1988.
5. Dahlin C. *et al* - Stimulation of early bone formation by the combination of an osteopromotive membrane technique and hyperbaric oxygen. *Scand J Plast Reconstr surg hand Surg*, 27(2): 103-108,1993
6. Dupoirieux L, Costes V, Jammet P, Souyris F: Experimental study on demineralized bone matrix (DBM) and coral as bone graft substitutes in maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 23:395,1994.
7. Garcia Jr., I.R. – Avaliação experimental de três diferentes tipos de implantes: polímero de mamona, polietileno de alta densidade – Medpor e matriz óssea bovina, no preenchimento de defeitos ósseos maxilares. Estudos histológico e histométrico em macacos. 2000. 73p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, Araçatuba – SP

8. Gottlow, J. *et al* – New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. *J Clin. Periodontal.*, 13: 604, 1986.
9. Hurley, J.V. & Ham, K.N. – The nature of the connective tissue defect produced by the aminonitriles. *British J. Experimental Pathol*, 40(3): 216, 1959
10. Ignácio; *et al* – Estudos sobre a aplicabilidade médica da poliuretana derivada da mamona. *Res. OrttHop.* 2: 10, 1996.
11. Johansson, C.B.; Sennerby, L.; Albrektsson, T. – A removal torque and histomorphometric study of bone tissue ractions to commercially pure titanium and vitallium implants. *Int J. oral Maxillofac. Implants.* 6: 437-441, 1991.
12. Johner, R Zur Knochenheilung in abhangingkeit von der defektgosse. *Helv Chir Acata*, 39: 409, 1972. Apud: Buser D. *et alli* – Bone regeneration in membrane protected defects. *Int J Periodontics restorative dent*, 15: 202-206, 1995.
13. Kawacak, C.E. *et al* – Comarison of bone healing by demineralized bone matrix and autogenous cancellous bone in horses. *Vet Surg*, 29(#): 218-226, 2000.
14. Lekovic, V.; Kenney, E.B.; Kovacevic, K.; Carranza , F.A. – Evalution of guided tissue regeneration in Class II furcation defects. A clinical reentry study .*J Periodontal.*, 60(12): 694-698, 1989.
15. Lopes, M.C.A. – Avaliação da efetividade das membranas de colágeno e celulose no tratamento de defeitos ósseos tipo fenestração associados a implantes dentais. Análise histológica, histométrica e biomecânica em cães. Piracicaba – SP, 1999, 141 p. [Doutorado – Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade de Campinas – Unicamp].

16. Lundgren, D. *et al* – Guided bone regeneration of cranial defects, using biodegradable barriers; na experimental pilot study in the rabbit. J Craniomaxillofac. Surg., 20(6): 257, 1992.
17. Massone, F. Anestesiologia veterinária. Farmacologia e técnicas. 2ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994, p 105-110.
18. Melcher, A.H. – On the repair of potential periodontal tissues. J. Periodontal, 47: 256,1976.
19. Mellonig, J.T.; Nevins, M . – Guided bone regeneration of bone defects associated with implants: an evidence-based outcome assessment. Int J Periodont rest Dent, 15(2): 168-185,1995
20. Morse, A. – formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. J. Dent. Res., 24: 143,1945.
21. Pereira, S.L.S. – Avaliação histological e histométrica do uso de membranas não reabsorvíveis em defeitos periodontais cirurgicamente criados em cães. Piracicaba – SP, 1999, 85p. [Doutorado – Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp].
22. piatteli, A. *et al* – Comparison of bone regeneration with the use of mineralized and demineralized freeze-dried bone allografts: a histological and histochemical study in man. Biomaterials 17(11): 1127-1131, 1996.
23. Pineda, L.M. *et al* – Bone regeneration with resorbable polymeric membranes. III. Effect of ply (L-lactide) membranes pore size on the bone healing process in large defects. J. Biomed Mater Res., 31:385, 1996.

24. Pontoriero, R.; Lindhe, J.; Nyman, S.; Karring, T.; Rosenberg, E.; Sanavi, F. – Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study. *J Clin. Periodontol.*, 15(4): 247-254, 1988.
25. Rabie, A.B.M.; Lie Ken Jie, R.K.P. – Integration of endochondral bone grafts in the presence of demineralized bone matrix. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 25(4): 311-318, 1996.
26. Rabie, A.B.M.; Chay, S.H. – Clinical applications of composite intermembranous bone. *Graft. Am J Orthod Dentofac Orthop*, 117(4): 375-383, 2000.
27. Restrepo, L.L.; *et al* – Avaliação de implantes de osso bovino liofilizado. *Ver. bras. Implant.* 4:8, 1998.
28. Reynolds, M.A.; Browsers, G.M. – Periodontal regeneration following surgical treatment. *Curr Op Period*, 3 : 126-139, 1996.
29. Taga, R.; *et al* – Reparo do defeito ósseo em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. *Rev. Bras. Implant.*; 3:13, 1997.
30. Yamamoto, T.T.; Kawakami, M.; Sakuda, M. – Defects of the rat premaxilla as a model of alveolar clefts for testing bone-inductive agents. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 51:887, 1993.