

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
SECRETARIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

OSMAR CHAVES BARRETO

DESENVOLVIMENTO DE UMA BARREIRA FÍSICA DE POLI(TETRAFLÚOR-ETILENO) PARA APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA EM IMPLANTODONTIA.

**Rio de Janeiro
2006**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

OSMAR CHAVES BARRETO

**DESENVOLVIMENTO DE UMA BARREIRA FÍSICA DE
POLI(TETRAFLÚOR-ETILENO) PARA APLICAÇÃO EM
REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA EM IMPLANTODONTIA.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Co-orientador: Prof. Luís Cláudio Mendes – D.C.

Rio de Janeiro

2006

c2006

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 - Praia Vermelha

Rio de Janeiro - RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmар ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do autor e dos orientadores.

B273d Barreto, Osmar Chaves

Desenvolvimento de uma barreira física de poli(tetraflúor-etileno) para aplicação em regeneração óssea guiada em implantodontia./Osmar Chaves Barreto - Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2006.

90p. : il, graf., tab.

Dissertação (mestrado) - Instituto Militar de Engenharia, 2006.

1. Ciência dos Materiais: Polímeros. 2. Poli(tetraflúor-etileno) (PTFE). 3. Biomaterial. I. Desenvolvimento de uma barreira física de poli(tetraflúor-etileno) para aplicação em regeneração óssea guiada em implantodontia. II. Instituto Militar de Engenharia

CDD 620.192

617.695

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

OSMAR CHAVES BARRETO

**DESENVOLVIMENTO DE UMA BARREIRA FÍSICA DE
POLI(TETRAFLÚOR-ETILENO) PARA APLICAÇÃO EM
REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA EM IMPLANTODONTIA.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Co-orientador: Prof. Luís Cláudio Mendes – D.C.

Aprovada em 24 de abril de 2006 pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Carlos Nelson Elias – D.C. do IME – Presidente

Prof. Luís Cláudio Mendes – D.C. da UFRJ

Prof. Luís Henrique Leme Louro – Ph.D. do IME

Prof. Claudinei dos Santos – D.C. da Faenquil

Prof. José Mauro Granjeiro – Livre Docente da UFF

Rio de Janeiro
2006

À Deus, por ter me dado uma família maravilhosa e força para superar este obstáculo.

À minha esposa Tatiana Toledo de Sousa Barreto, minhas filhas Aline e Nathália, pela paciência e compreensão dispendidos ao longo da jornada de dedicação para realização deste trabalho, pois as mesmas são o pilar e a razão para que eu siga em frente na busca da formação e aprimoramento de novos conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos àqueles que me apoiaram, incentivaram e possibilitaram a oportunidade de obter irrefutáveis conhecimentos nesta digna Instituição.

À Deus, minha esposa e filhos, pois sempre estão comigo no meu coração. Tina, nunca esquecerei, quando você ficava acordada até tarde só para me dar força e eu não me sentir sozinho, eu te amo.

Aos meus pais, por contribuírem com minha formação moral.

À todos os meus mestres.

Com certeza, ao meu Orientador Dr. Carlos Nelson Elias, não só por ser possuidor de um conhecimento em Biomateriais irretocável, mas também, a pessoa que é, pois nos momentos mais difíceis, foi um grande amigo e confiou sempre em mim. Um grande exemplo de pesquisador a ser admirado e seguido. Obrigado. Prof. Elias por tudo.

Ao meu Co-orientador Dr. Luís Cláudio Mendes, do IMA-UFRJ, possuidor de conhecimento em polímeros invejável, e uma pessoa super amiga, que sempre me deixou à vontade e contribuiu com muita valia para a realização deste trabalho. Obrigado, Prof. Luis Cláudio.

Ao meu colega Diogo Moreira, CD, mestrando em Periodontia, na UFRJ, pois devo a ele a realização das cirurgias nos espécimes e análise histológica. Um grande camarada. Sucesso a você Diogo. Obrigado pela ajuda.

Aos meus colegas Dentistas e Engenheiros de mestrado em Ciência dos Materiais, IME – 2004.

Ao Cel. Karan, um grande amigo.

Ao Cel. Renato Macena, uma pessoa especial, um grande amigo.

Ao Ten.Cel. Bichara, grande professor e amigo.

À CAPES pelos recursos financeiros.

Aos técnicos de laboratórios do IME, em especial Leonardo, do laboratório de ensaios mecânicos e Joel, do laboratório de microscopia.

Aos técnicos de laboratórios do IMA-UFRJ

“São fúteis e cheias de erros as ciências que não
nasceram da experimentação, mãe de todo
conhecimento”.

LEONARDO DA VINCI

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	10
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS.....	14
LISTA DE SIGLAS.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVO.....	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Poli(Tetraflúor-Etileno)	19
3.1.1 Características do PTFE como Biomaterial	21
3.1.2 Adsorção de Proteínas na Superfície do PTFE	24
3.2 Degradação Polimérica.....	26
3.3 ROG (Regeneração Óssea Guiada)	27
3.3.1 Emprego Do PTFE Como Barreira Física Em ROG (Regeneração Óssea Guiada).....	31
3.3.2 Influência da Porosidade (Distância Internodal) Em Membranas de Poli(Tetraflúor-Etileno) Usadas Como Barreira Física em ROG (Regeneração Óssea Guiada)	33
3.3.3 Problemas Relacionados à Utilização de Membranas de Poli(Tetraflúor-Etileno) em Regeneração Óssea Guiada.....	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Material	36
4.2 Degradação in Vitro por Imersão EM SBF (Simulated Body Fluid).....	37
4.2.1 Preparação da Solução Salina de Fosfato Tamponada (SSFT) ou Simulated Body Fluid (SBF).....	39

4.2.2	Ensaio de Degradação do Ptfé	40
4.3	Grupos de Avaliação para Caracterização do Material.....	41
4.4	Diagrama de Bloco da Metodologia Empregada para Caracterização do Material.	42
4.5	Caracterização Mecânica do PTFE.....	43
4.5.1	Ensaio de Tração do PTFE.....	43
4.6	Análise no Mev do PTFE	45
4.7	Caracterização Física do PTFE	45
4.7.1	Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR)	45
4.7.2	Termogravimetria (TGA)	46
4.7.3	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	48
4.8	Análise da Rugosidade Superficial do PTFE	52
4.9	Procedimentos Cirúrgicos e Análise Histológica.....	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
5.1	Calorimetria Diferencial De Varredura.....	57
5.2	Termogravimetria.....	59
5.3	Espectrometria no Infravermelho.....	60
5.4	Rugosidade.....	61
5.5	Ensaio Tração.....	62
5.6	Mev do PTFE.....	67
5.7	Análise Dos Resultados dos Cortes Histológicos que Foram Realizados.....	73
6	CONCLUSÕES.....	78
7	SUGESTÕES.....	79
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIG. 1 Morfologia da folha PTFE (Teflon®) no estado “como recebido”, em A, fotografia digital, tamanho original, em B, fotomicrografia no MEV, 4000x.....37
- FIG. 2 A seta 1 indica o sentido do material "como recebido", a seta 2, indica o corte realizado no sentido longitudinal, a seta 3, o corte realizado no sentido à 45° da folha "como recebida" e a seta 4, o corte realizado transversalmente à folha "como recebida".....38
- FIG. 3 Equipamento para realização do “banho maria” do laboratório de.....
Biomateriais do IME usada na degradação das amostras de PTFE....39
- FIG. 4 Disposição das amostras de poli(tetraflúor-etileno) na caixa de aço inoxidável.....40
- FIG. 5 Ensaio de tração do PTFE, utilização de uma célula de carga de 20 N.43
- FIG. 6 Variação da microestrutura de um polímero semicristalino submetido à um ensaio de tração.....44
- FIG. 7 Exemplo de curva obtida no ensaio de TGA.....47
- FIG. 8 O parâmetro R_t representa a distância máxima entre os picos dos parâmetros de amplitude51
- FIG. 9 Representação do parâmetro R_a , o qual mede de a amplitude da rugosidade.51
- FIG. 10 Podemos observar no no 1, a tricotomia realizada a nível da região de calvária. Em 2, a incisão realizada com a finalidade de acesso ao tecido ósseo da região de calvária, em 3, realizado afastamento do tecidos moles e perióstio, e no 4 confecção dos defeitos ósseos possuindo 5,0 mm de diâmetro..... 52
- FIG. 11 Resultado obtido pelo ensaio de DSC, do PTFE não imerso em SBF.57
- FIG. 12 Resultado obtido pelo ensaio de DSC, do PTFE imerso em SBF.....58

FIG. 13	Resultado obtido pelo ensaio de TGA, em A, PTFE não-imerso em SBF e em B, PTFE imerso em SBF.....	59
FIG. 14	Resultado obtido pelo ensaio de FT-IR, em A, PTFE não-imerso em SBF, em B, PTFE imerso em SBF.....	60
FIG. 15	Perfil representativo da rugosidade superficial do PTFE antes da imersão em SBF.....	61
FIG. 16	Perfil representativo da rugosidade superficial do PTFE após imersão em SBF.....	62
FIG. 17	Tensão na ruptura <i>versus</i> grupo de amostras	65
FIG. 18	Alongamento na ruptura <i>versus</i> grupo de amostras	66
FIG. 19	Módulo de elasticidade <i>versus</i> grupo de amostras	66
FIG. 20	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção longitudinal, não-imersa em SBF.....	67
FIG. 21	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção 45°, não-imersa em SBF.....	68
FIG. 22	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção transversal, não-imersa em SBF.....	68
FIG. 23	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção longitudinal, após imersão em SBF.....	69
FIG. 24	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção 45°, após imersão em SBF.	69
FIG. 25	Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção transversal, após imersão em SBF.....	70
FIG. 26	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção longitudinal, não-imersa em SBF.	71
FIG. 27	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção 45°, não-imersa em SBF.	71
FIG. 28	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção transversal, não-imersa em SBF.	71

FIG. 29	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção longitudinal, imersa em SBF.....	72
FIG. 30	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção 45°, imersa em SBF.....	72
FIG. 31	Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção transversal, imersa em SBF.	73
FIG. 32	Inserção da membrana de PTFE, na região da calvária do rato do tipo wistar. Observa-se em 1, o acesso cirúrgico e os defeitos ósseos de 5 mm que foram realizados. Em 2, a colocação da membrana de PTFE 6X6 mm, em 3 e 4 é verificado a sutura dos tecidos moles.	74
FIG. 33	Observa-se indicada pela seta 1, a falha que ocorreu, onde houve o colapamento da membrana de PTFE, demonstrando que a osteogênese foi inadequada. Na seta 2, é observado o limite entre o osso compacto preexistente e a região de neoformação óssea. No quadro ampliado podemos observar grande quantidade de osteócito indicativos de osteogênese na fase inicial.....	76
FIG. 34	A seta 3 evidencia o espaço presente entre o tecido conjuntivo e a membrana de PTFE.....	77
FIG. 35	A seta 4 indica o tecido conjuntivo saudável em contato com a membrana de PTFE (biocompatibilidade).....	77

LISTA DE TABELAS

TAB. 1	Temperatura de fusão (T_m) e grau de cristalinidade (X_c) do PTFE não-imerso em SBF.....	58
TAB. 2	Parâmetros de rugosidade das amostras de PTFE antes e após a degradação.....	61
TAB. 3	Valores das propriedades mecânicas em tração das amostras de PTFE dos grupos avaliados.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

- DFDB - Demineralized Freeze-Dried Bone
- DSC - Differential Scanning Calorimetry (Calorimetria diferencial de varredura)
- FTIR - Espectroscopia no infravermelho
- GE - General Electric Inc.
- IGF-1 - Insulin growth factor
- MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão
- MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
- PDGF - Platelet derived growth factor
- PTFE - Poli(tetraflúor-etileno)
- ROG - Regeneração Óssea Guiada
- RTG - Regeneração Tecidual Guiada
- SBF - Simulated Body Fluid
- SC3p - proteína hidrofobin
- Teflon[®] - nome comercial do poli(tetraflúor-etileno)
- TGA - Análise Termogravimétrica
- T_g - temperatura de transição vítrea
- T_f - temperatura de fusão

LISTA DE SIGLAS

ASTM	American Society for Testing Materials
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
IMA	Instituto de Macromoléculas UFRJ
IME	Instituto Militar de Engenharia
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USA	United States of America

RESUMO

Um dos grandes problemas encontrado na Odontologia é o tratamento de defeitos ósseos. Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver técnicas cirúrgicas e melhorar a qualidade dos biomateriais que auxiliam na regeneração do tecido ósseo danificado ou que possam ser usados na substituição do mesmo. Para otimizar a regeneração são utilizadas membranas que servem como barreiras biológicas. Estas membranas controlam a competição de diferenciação do tecido conjuntivo frouxo e o tecido epitelial em relação ao tecido ósseo. A exclusão dos tecidos indesejáveis da região onde se deseja formar um tecido específico é o princípio básico da regeneração tecidual guiada.

O poli(tetraflúor-etileno) (PTFE), comercialmente conhecido por Teflon[®], é um polímero não absorvível e de grande interesse na área biomédica. O Teflon[®] é utilizado como membrana para barreira biológica em Odontologia quando se emprega a técnica de regeneração óssea guiada. Isto se deve à sua excelente biocompatibilidade, inércia química e também a sua baixa energia superficial que favorece principalmente nos eventos relacionados à osteogênese.

Atualmente, todas as membranas de Teflon[®] comercializadas no Brasil são importadas e possuem custo elevado. O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver uma membrana de poli(tetraflúor-etileno) para utilização como barreira biológica na técnica de regeneração óssea guiada em implantodontia. Foram realizados ensaios para determinar a resistência mecânica e a degradação das membranas. A simulação da degradação foi realizada pela imersão das amostras em solução de SBF (simulated body fluid). A resistência mecânica foi determinada em ensaios de tração antes e após imersão em SBF, em seguida as amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura, para se verificar os mecanismo de deformação. Foi realizado também a análise termogravimétrica, espectroscopia no infravermelho e análise de calorimetria diferencial de varredura antes e após imersão em SBF. Os ensaios “*in vitro*” foram complementados por procedimentos cirúrgico com a inserção do biomaterial (PTFE) em ratos do tipo Wistar a fim de se avaliar a análise histológica do biofilme em contato com a membrana.

Os resultados obtidos revelaram que o material PTFE, apresentou excelente biocompatibilidade, entretanto em relação ao ensaio “*in vivo*”, ocorreu falha da membrana de PTFE, devido à espessura de 0,05 mm do material, não conferindo ao mesmo, rigidez suficiente, na manutenção do arcação formado para facilitar a regeneração óssea adequada.

ABSTRACT

One of the greatest problems found in the Dentistry is regarding to the treatment of bone defects. Many works have been carried out with the objective to searching the development of techniques and biomaterials, that assist in the damaged bone regeneration or that they can be used for bone substitution. To optimize this regeneration membranes are used that serve as biological barriers. These membranes control the differentiation competition of the loose conjunctive tissue as well as the epithelial tissue regarding the bone. The exclusion of undesirable tissue from of the region where one wish to form a specific tissue basic principle of the guided tissue regeneration.

Polytetrafluorethylene (PTFE), commercially known as Teflon®, is a non-absorbable polymer which is of great interest in the biomedical area. Teflon® is used as membrane for biological barrier in dentistry when the technique of guided bone regeneration is applied. The PTFE has excellent biocompatibility, chemical inertia and a low superficial energy that favors mainly the events related to the new bone formation.

Currently all the commercialized membranes of Teflon® in Brazil are imported and they are expensive. The objective of this work was to evaluated a membrane of Polytetrafluorethylene to be use as biological barrier in the technique of guided bone regeneration in implantology. Many tests had been carried out to determine membranes mechanical properties and also their degradation. The degradation simulation was carried out by the immersing of the samples in PBS (phosphate-buffered saline solution). Prior to and after degradation, the samples were observed and analyzed by scanning electron microscopy. The mechanical resistance was determined by performing tensile test before and after degradation. In order to verify the deformation mechanism the samples were analyzed by SEM, Termogravimetric analysis (TGA), FTIR spectroscopy (FTIR) and DSC analysis before and after degradation simulation were also performed. "In vitro" test accompanied by surgical in the Wistar type rats procedures with the insertion of the biomaterial (PTFE) was carried out in order to evaluate the histological biofilm analysis of in contact with the membrane.

The obtained results revealed that the results had disclosed that material PTFE, presented excellent biocompatibility, however in ration "*In vivo*" test occurred imperfection of the PTFE membrane, due to thickness of 0,05 mm of the material, not conferring to exactly, enough rigidity, in the maintenance of scafold formed to facilitate adequate bone regeneration.

1 – INTRODUÇÃO

Os defeitos ósseos são tratamentos complexos encontrados na ortopedia, implantodontia e cirurgia buco-maxilo-facial. Uma das técnicas empregada é a regeneração óssea guiada (ROG). No entanto, muito pouco se conhece sobre regeneração, apesar dos avanços tecnológicos alcançados. Vários trabalhos foram desenvolvidos com a finalidade de aperfeiçoar as técnicas e melhorar os biomateriais existentes (Cruz et al, 1991). Ao longo dos últimos anos surgiram novos conceitos e materiais com a finalidade de aumentar o arsenal terapêutico dos profissionais que atuam diretamente com o tratamento de regeneração tecidual.

Nyman (1982) utilizou a “regeneração óssea guiada” (ROG), e se baseou na técnica de regeneração tecidual guiada descrita desde a década de 50 por Campbell e Bassett (1956). O princípio da técnica de regeneração considera a exclusão dos tecidos indesejáveis da região onde se deseja formar um tecido específico. A técnica é baseada no emprego de uma barreira física para impedir a entrada de fibroblastos nos defeitos ósseos, os quais dificultam o evento da osteogênese.

O poli(tetraflúor-etileno), comercialmente conhecido como Teflon[®], vem sendo utilizado com êxito como barreira, principalmente por apresentar extraordinárias características, dentre as quais podemos destacar, a inércia química e a biocompatibilidade.

2 - OBJETIVO

A barreira de PTFE é usada na forma de arcabouço para favorecer a osteogênese em aplicações nas áreas de implantodontia, periodontia e cirurgia buco-maxilo-facial. O objetivo deste trabalho foi avaliar uma barreira física de poli(tetraflúor-etileno), para utilização na técnica de regeneração óssea guiada em Implantodontia.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - POLI(TETRAFLÚOR-ETILETO)

O poli(tetraflúor-etileno) (PTFE) é um polímero originário da família dos fluoropolímeros. O PTFE foi descoberto por R.J. Plunkett em 1934, o seu monômero tetraflúor-etileno ($\text{CF}_2 = \text{CF}_2$) é obtido pela decomposição térmica na faixa de temperatura de 800 a 1000 °C do gás refrigerante F22 (diflúor-cloro-metano – CHClF_2).

Os dois únicos tipos de ligações presentes na estrutura do PTFE são "C-C" e "C-F". As ligações são extremamente estáveis e muito difíceis de serem rompidas. Uma ruptura nas ligações pode possibilitar a ocorrência de reações químicas. Na realidade, a ligação "C-F" é uma das mais fortes uniões encontrados entre os polímeros (Billmeyer, 1982). Isto induz uma resistência química extraordinária do PTFE. (Dattelbaum & Rae, 2004)

A estrutura do PTFE é extremamente diferente em relação aos outros polímeros. O átomo de flúor é muito maior que o átomo de hidrogênio e como resultado, a cadeia não é tão longa sendo forçada a um formato espiralado com os átomos de flúor empacotados firmemente ao redor das ligações de C-C centrais. Os átomos de flúor fornecem, então, uma capa protetora para as ligações C-C mais fracas e resultam na resistência química excepcional do PTFE.

A inércia química do PTFE é excelente devido à sua estrutura química, porém as alterações na estrutura podem ocorrer durante o processamento, ou por fusão, gerando perda das propriedades em alta temperatura.

A síntese do PTFE pode ser: (Mano & Mendes, 1999)

- Poliadição em emulsão. Monômero, persulfato de potássio, água, emulsificante, 40° C;
- Poliadição em suspensão. Monômero, peróxido ou azonitrila, água, espessante, 70° C.

Quanto às propriedades do PTFE destacam-se: (Mano & Mendes, 1999)

- O peso molecular está compreendido entre $10^5 - 10^6$;
- A cristalinidade é da ordem de 95%;
- Possui T_g (temperatura de transição vítrea) igual a 127° C;
- A T_m (temperatura de fusão) é de 327° C;

- É um polímero termoplástico, linear;
- Apresenta propriedades mecânicas elevadas;
- Possui baixo coeficiente de atrito;
- Apresenta baixa aderência;
- Possui resistência térmica e química excelentes.

Entre as diversas aplicações do PTFE destacam-se: (Mano & Mendes, 1999)

- Válvulas, torneiras, gaxetas, engrenagens anéis de vedação;
- Revestimentos antiaderentes para painéis, placas em geral, filamentos, componentes elétricos e eletrônicos;
- Biomateriais como fios de sutura; membranas para barreiras físicas em ROG; substituição de tecidos articulares.

3.1.1 - CARACTERÍSTICAS DO PTFE COMO BIOMATERIAL

A década de 1950, teve um marco importante em se tratando dos biomateriais poliméricos pois, pela primeira, vez foi empregado em humanos um polímero. Os resultados obtidos mostraram que ocorre uma resposta inflamatória satisfatória, comprovando a biocompatibilidade do polímero empregado. (Desilets et Al, 1990)

A escolha de um polímero para ser usado como biomaterial está relacionada diretamente com a aplicação desejada e, por conseguinte, às suas propriedades. Pode-se distinguir dois grandes grupos de aplicação dos polímeros: (i) aquela onde as características da superfície do material são predominantes e (ii) aquele em que as características da massa do material são essenciais. No primeiro grupo modifica-se a superfície do material para se otimizar a interação célula-polímero, podendo-se citar como exemplos, materiais que trabalham em contato com o sangue, onde se deseja uma atividade trombolítica mínima, e, em conseqüência, uma baixa adesão ao material ou, ao contrário, as situações da engenharia de tecidos onde a adesão das células ao polímero é a condição desejada. Rugosidade, energia superficial, lubrificação, capacidade de adsorção de proteínas, hidrosolubilidade e hidrofobicidade são características a serem avaliadas. As Propriedades físicas e mecânicas, tais como, densidade, elasticidade, tenacidade, módulo de elasticidade e permeabilidade são propriedades importantes dos biomateriais.

O PTFE é um polímero que possui alta biocompatibilidade evidenciada por sua resposta inflamatória seguida da encapsulação por tecido fibroso. (Shea J.J., F.Sanabria, Smith G.D., 1962)

O poli(tetraflúor-etileno) na forma de material microporoso foi desenvolvido em 1976 (Seymor,1992). Este é composto de nódulos sólidos de poli(tetraflúor-etileno) com fibras finas do mesmo material, formando uma microestrutura porosa variada.

O PTFE foi o primeiro material a ser empregado como barreira na técnica de regeneração óssea guiada. O poli(tetraflúor-etileno) é caracterizado como um

polímero que possui alta estabilidade em sistemas biológicos. Resiste bem a degradação gerada pelo hospedeiro e aos microrganismos e não gera respostas imunológicas. (Jung et al 2003)

A implantação do poli(tetraflúor-etileno) no organismo desencadeia uma resposta celular adequada. Inicialmente, ocorre um processo inflamatório, no qual atuam as células do exsudato humoral, provindas dos vasos danificados ao redor do biomaterial implantado. Neste momento, começa a proliferação celular em resposta à agressão tissular sofrida. O processo inflamatório desenvolvido no tecido de granulação fibroso é caracterizado pela prevalência de reações anabólicas na interface do polímero. Este processo é completado pela formação de um tecido fibroso rico em colágeno que encapsula o PTFE. (SlustisKii, L. I. , 1983)

A fase inicial da indução de inflamação representa um processo biológico que ocorre normalmente com a implantação do poli(tetraflúor-etileno). Inicialmente o poli(tetraflúor-etileno) induz um estímulo mecânico que simultaneamente induz a liberação de vários mediadores químicos originários de células, interstícios ou sangue. A seguir é iniciada a interação do poli(tetraflúor-etileno) com os macrófagos os quais, quando ativados, estimulam a síntese de deposição de colágeno e a formação de neovascularização.

A acumulação de leucócitos nos tecidos circundantes ao poli(tetraflúor-etileno) resulta da interação tecido-polímero implantado e do sangue circundante. (SlustisKii, L. I. , 1983)

Em trabalhos em que a interface PTFE/tecido foi caracterizada, observou-se que a camada tecidual, o biofilme, em contato com a membrana é não mineralizada

e rica em células e vasos, contendo fibras de colágeno irregularmente distribuídas. (Salonen et al.,1990). Verificou-se também a presença, em alguns casos de células osteogênicas e osso no interior dos interstícios da membrana de PTFE. Este comportamento foi associado ao organismo que busca a aproximação, adaptação e estabilidade entre a membrana de PTFE e o tecido vivo.

3.1.2 – ADSORÇÃO DE PROTEÍNAS NA SUPERFÍCIE DO PTFE

Salonen et al (1990) descreveu que o poli(tetraflúor-etileno) é bastante hidrofóbico e possui grande capacidade de realizar ligações com as proteínas.

Panchalingam et al (1993) relataram que à despeito da anti-adesividade que o poli(tetraflúor-etileno) possui, as proteínas ligam-se quase que instantaneamente à sua superfície. Zardeneta et al (1996) demonstraram que esta ligação se processa principalmente por via de interações hidrofóbicas.

Wosten et al (1994) verificaram que a adesão de bactérias e fungos à superfície do poli(tetraflúor-etileno) ocorre principalmente com a participação da proteína hidrofobin SC3p. Estudos comprobatórios realizados por Carballo et al (1991) ratificaram os estudos de Wosten, acrescentando ainda que o fibrinogênio, a albumina e a fibronectina influenciam diretamente na adesão de bactérias na superfície do poli(tetraflúor-etileno).

Van der Vegt et al (1996) relataram que a hidrofobicidade da superfície do poli(tetraflúor-etileno) muda com a adsorção de proteínas, fungos e bactérias, provavelmente devido à formação de uma bicamada.

A adsorção na superfície do poli(tetraflúor-etileno) de proteínas como fibrinogênio e fibronectina as quais possuem atividade trombogênica, foram investigada por Fabrizius-Homan & S.L. Cooper, 1991.

Fabrizius-Homan & S.L. Cooper (1991) relataram que as proteínas assim como o fator Von Willebrand também são adsorvidos, na superfície de poli(tetraflúor-etileno) recoberta com menos de 1% de fibrina. Os autores afirmaram ainda que quando o poli(tetraflúor-etileno) é exposto ao contato com sangue humano há adsorção preferencial de fibrinogênio.

Koveker et al (1988) realizaram um experimento com cão, no qual foi realizado um enxerto vascular de poli(tetraflúor-etileno). Ficou evidenciado que na superfície do PTFE ocorreu adsorção de fibrinogênio, sendo encontradas 570.000 moléculas/ μm^2 após 4 semanas e 220.000 moléculas/ μm^2 após 12 semanas. A diminuição da contagem do número de fibrinogênio foi causada pela deposição de múltiplas camadas de fibrinogênio.

Zardeneta et al (1996) demonstraram que a estrutura tridimensional do poli(tetraflúor-etileno) ligado às proteínas é influenciado pela forma de interação de adsorção. Como exemplo temos que o fibrinogênio adsorvido apresenta conformação biológica. Korobelnik (1999) acrescenta que esta conformação contribui para a biocompatibilidade do polímero após sua implantação no corpo humano. Shibl et al (1994) demonstraram que o fibrinogênio se esparrama e se propaga sobre a

superfície do poli(tetraflúor-etileno), para minimizar a energia livre interfacial e aumentar a interação proteína/superfície do biomaterial. Estes autores complementam ainda relatando que neste caso o fibrinogênio adsorvido possui um estado que previne o reconhecimento e a ligação aos receptores das plaquetas. Isto resulta em aumento da tromboresistência.

3.2 - DEGRADAÇÃO POLIMÉRICA

Fazendo-se uma analogia entre a degradação polimérica e a corrosão dos metais, pode-se dizer que, enquanto a corrosão possui uma natureza eletroquímica, a degradação polimérica possui natureza físico-química.

Os polímeros podem apresentar degradação por inchamento, por dissolução, por ruptura da ligação (cisão) ou intemperismo. Quando os polímeros estão expostos a líquidos, as formas principais de degradação são o inchamento e a dissolução. O inchamento ocorre quando o líquido ou soluto se difunde para o interior do polímero. As moléculas do líquido se ajustam e ocupam posições entre as moléculas do polímero, forçando a separação das macromoléculas, o que faz com que o polímero se expanda, aumente de volume. Tornando o material mais mole e dúctil. (Callister, 2001)

A dissolução ocorre quando o polímero é completamente solúvel no líquido, podendo ser considerado como parte do processo de inchamento. (Calister, 2001)

Os comportamentos do inchamento ou dissolução também são afetados pela temperatura, assim como pelas características da estrutura molecular . O aumento do peso molecular do polímero, o aumento dos graus de ligações cruzadas e da cristalinidade, e a diminuição da temperatura de emprego causam uma redução na taxa de deterioração dos polímeros.

Os polímeros podem apresentar degradação por um processo conhecido por cisão, o qual consiste no rompimento das ligações da cadeia molecular, causando separação de segmentos da cadeia e conseqüentemente levando à diminuição do peso molecular. Algumas das propriedades físicas e químicas dos polímeros podem ser afetadas de maneira adversa por este tipo de degradação. A ruptura pode resultar da exposição à radiação (feixes de elétrons, raios X, raios β , raios gama, radiação ultravioleta), ao calor (exposição à temperaturas elevadas), bem como de uma reações química devido ao contato com gases (exposição ao oxigênio, ozônio).

Qualquer tipo de degradação do polímero resultante da exposição em ambientes externos é considerada como degradação do tipo intemperismo.

3.3 – ROG (REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA)

O princípio da RTG (regeneração tecidual guiada) data de trabalho pioneiro da década de 50, realizado por Campbell e Bassett, onde a RTG baseava-se no isolamento do espaço anatômico de um determinado tecido para favorecer o crescimento de outro.

Campbell & Bassett (1956) descreveram a aplicação clínica de barreiras físicas, utilizando filtros laboratoriais (Millipore filter, França), no tratamento cirúrgico de lesões em nervos periféricos.

Murray et al (1957) estudaram o crescimento ósseo em cavidades isoladas por uma membrana plástica perfurada. Afirmaram que a presença de um coágulo sangüíneo, de osteoblastos hígidos e o contato com o tecido vital aumenta a resposta e o crescimento ósseo.

Boyne et al (1964) utilizaram filtros de acetato de celulose para corrigir defeitos alveolares em cães. Obtiveram bons índices de regeneração óssea com a utilização dos mesmos.

Kahnberg et al (1979) usaram membrana de Teflon® (PTFE) em um estudo com coelhos. A barreira foi usada subperiostealmente para corrigir defeitos na mandíbula. Os resultados mostraram que a membrana impedia a invasão do tecido conjuntivo fibroso e facilitava a regeneração óssea.

A técnica de regeneração tecidual guiada (RTG), foi aperfeiçoada em estudos experimentais pelos pesquisadores no início da década de 80, entre eles Karring e Nyman. Destes estudos surgiu a membrana (biomaterial), a qual era posicionada sobre a raiz dentária desnuda na busca de se obter nova inserção conjuntiva. Este princípio residia na prevenção do contato tanto do tecido conjuntivo quanto do epitelial gengival com a superfície radicular.

Nyman et al (1982) utilizaram uma barreira de acetato de celulose para isolar o tecido periodontal do tecido epitelial, com resultados satisfatórios. A barreira foi obtida

de partes recortadas de um filtro de medicamento com poros de 0,22 µm de diâmetro (Millipore filter, França).

Gottlow et al (1984) estudando o princípio da regeneração tecidual guiada em macacos, verificaram que quando havia um espaço amplo sob a membrana e adjacente à superfície radicular ocorria formação de osso. Esta observação sugere que o princípio da RTG pode ser aplicado com sucesso em regeneração óssea, criando um espaço isolado que pode ser invadido por células com capacidade de formação óssea proveniente do osso existente.

Dahlin et al (1993) realizaram estudo experimental com ratos, criando defeitos transmandibulares bilateralmente com 5 mm de diâmetro, e recobrando o sítio teste com uma membrana de Teflon[®] (PTFE) para permitir o crescimento somente de tecido proveniente do osso mandibular. O emprego desta técnica impediu a proliferação de tecido fibroso para o interior do defeito. O sítio controle foi deixado sem a colocação da membrana. No sítio teste, ocorreu a cicatrização óssea incompleta, tanto no exame visual das mandíbulas como nas preparações histológicas após 6 semanas. O sítio controle, porém apresentou defeito residual transmandibular, embora com menor diâmetro após 9 semanas, devido ao fato de que os tecidos circundantes invadiram o defeito, e impediram que as células responsáveis pela regeneração óssea preenchem o espaço do defeito. Após este trabalho foram realizados vários estudos que comprovaram a eficácia desta técnica.

Dahlin et al (1990) relataram, em um estudo com macacos, a correção de defeitos transósseos com membranas. Os resultados indicaram que a técnica foi

altamente eficiente na condução da osteogênese, enquanto o lado controle não obteve resultados satisfatórios.

Cruz et al (1991) empregaram membranas totalmente oclusivas de Allumina[®] (Al₂O₃) e obtiveram resultados satisfatórios.

Vários estudos foram propostos e obtidos resultados favoráveis frente à utilização desta técnica, entre eles podemos relacionar os seguintes estudos realizados:

- Regeneração óssea adjacente aos implantes, onde implantes dentários de titânio foram inseridos na tíbia de coelhos de modo que três ou quatro roscas coronais dos implantes ficassem expostas em um lado do implante (Dahlin et al, 1989). Neste caso nos locais dos testes os implantes foram cobertos com uma membrana de Teflon[®] (PTFE), enquanto no local controle os implantes ficaram descobertos. Após 06 (seis) semanas pode-se observar que nos locais testes ocorreu formação de novo osso o qual cobria completamente as roscas dos implantes expostos, enquanto as roscas dos implantes dos locais de controle estavam cobertos por tecido conjuntivo;
- Em instalações de implantes imediatos, Warrer et. al (1991) demonstraram o efeito da ROG na osteointegração dos implantes de titânio instalados nos alvéolos imediatamente após a extração em estudo experimental com macacos. Os locais dos testes foram cobertos com membrana de Teflon[®] (PTFE), enquanto os locais de controle permaneceram descobertos até o fechamento completo da ferida. Após 03 (três) meses de cicatrização, as análises histológicas dos locais testes

demonstraram uma completa regeneração óssea, porém quando houve exposição da membrana durante a cicatrização, foi observada menor regeneração óssea, e a parte coronal dos implantes não osteointegrou. Os locais de controle não osteointegraram.

Becker et al (1994) realizaram a comparação entre membrana de Teflon[®] (PTFE) e a combinação Teflon[®] com fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e osso desmineralizado congelado seco (DFDB). Após 18 semanas de cicatrização, a análise histológica revelou que somente a membrana de Teflon[®] (PTFE) e a membrana de Teflon[®] (PTFE) combinada com com fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) foram igualmente efetivas na promoção de um crescimento ósseo ao redor dos implantes. Já o emprego de osso desmineralizado congelado seco (DFDB) apresentou resultado altamente variável o resultado e não melhorou a eficácia das membranas.

3.3.1 – EMPREGO DO PTFE COMO BARREIRA FÍSICA EM ROG (REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA)

Nyman et al (1982) foram os primeiros pesquisadores a usar membranas em estudo para controlar a regeneração do periodonto. Baseados na teoria de que as células provenientes do ligamento periodontal são as únicas com potencial de diferenciar-se em cementoblastos, eles usaram membranas de PTFE para atuar como barreira e impedir a migração de fibroblastos da gengiva e células epiteliais

sobre a raiz desnuda permitindo o repovoamento seletivo pelas células do ligamento periodontal restante.

O emprego das técnicas de regeneração ósseas guiadas assistidas por membranas, neste caso por membrana barreira de PTFE, baseia-se na hipótese de que durante a cicatrização da ferida, as células adjacentes ao defeito ósseo migram para fazer a repopulação do defeito com a colocação desta membrana cobrindo o defeito previne-se mecanicamente a entrada de células do tecido conjuntivo, principalmente de fibroblastos, os quais proliferam mais rapidamente em relação aos odontoblastos.

Com relação aos neutrófilos, seu acúmulo constitui uma das principais características da reação inflamatória aguda. Com o decorrer do tempo o número destas células tendem a diminuir, cedendo lugar a outros componentes que caracterizam a fase crônica ou reparadora .

A principal célula produtora de colágeno, o fibroblasto, durante o processo inflamatório, é responsável pela produção de material orgânico a ser utilizado pelo organismo para a reparação. Com estas características, é esperado que o número destes aumente no início da reparação e depois diminua devido a própria maturação.

De acordo com Linde et al (1993), as principais características da membrana de PTFE utilizadas em ROG, são:

- Possuir propriedades oclusivas;
- Biocompatibilidade;
- Funcionar como suporte físico ao tecido mole circundante;

- Proteger a delicada rede vascular durante a organização do coágulo;
- Não deve apresentar micromovimentos.

Para criar e manter o espaço com geometria adequada, a membrana deve suportar seu próprio peso, resistir à pressão do tecido subjacente e suportar as forças externas, como a mastigação. O colapso da membrana elimina o espaço e prejudica a regeneração óssea.

Uma membrana deve ter rigidez suficiente para manter o espaço, entretanto, deve também adaptar-se ao contorno ósseo sem apresentar recuperação elástica e retornar a sua forma original. Quanto melhor a adaptação da membrana, mais completa será a regeneração. (Buser et al, 1990)

3.3.2 – INFLUÊNCIA DA POROSIDADE (DISTÂNCIA INTERNODAL) EM MEMBRANAS DE POLI(TETRAFLÚOR-ETILENO) USADAS COMO BARREIRA FÍSICA EM ROG (REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA)

Estudos como o de Zelin & Linde, 1996, relatam a importância da existência de porosidades nas membranas de PTFE, para favorecer os eventos envolvidos na osteogênese, permitir a entrada de osteoblastos oriundos do periósteo e nutrientes provindos do plasma. Porém várias técnicas têm empregado membranas sem porosidades (totalmente oclusivas) ou com presença de microporosidades da ordem de 0,22 μm , sendo realizada uma estimulação prévia no defeito ósseo, ocorre

difusão das células provindas do endóstio, indicando que as células presentes no interior do defeito ósseo irão promover a osteogênese. (Cruz et al, 1991)

O princípio da osteopromoção exige o emprego de uma barreira física, como uma membrana de PTFE, para controlar a movimentação das células do tecido conjuntivo (fibroblastos) e outras que interferem na osteogênese. (Linde et al 1993)

As células inflamatórias circundando o tecido, após o trauma, induz a ativação dos fatores de crescimento local e o transporte de nutrientes para o local, podendo causar um tamponamento, fato verificado por Linde (1993) com o emprego de membranas de PTFE de menor porosidade.

Membranas com distância internodal (porosidade) de 20-25 μm , integram-se ao tecido conjuntivo, este preenchimento das porosidades por tecidos moles tem o intuito de evitar a entrada de células para competir com formação óssea, e, também estabilizar a posição da membrana.

O crescimento do tecido conjuntivo e a sua inserção nas membranas porosas podem promover a mesma função exercida pelas fibras colágenas inseridas no cimento de um dente. Neste caso, não ocorre a inserção do tecido conectivo na barreira, o epitélio migra rapidamente ao redor do implante, formando uma cavidade que isolar o corpo estranho.

3.3.3 – PROBLEMAS RELACIONADOS À UTILIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE POLI(TETRAFLÚOR-ETILENO) EM REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA

Os problemas mais freqüentemente relacionados ao uso de membranas de PTFE, em ROG, são: colapso total ou parcial da membrana e exposição da membrana por deiscência do tecido mole levando à infecção local.

Os tratamentos de ROG com membrana de PTFE que mais levam às falhas são encontrados em pacientes que apresentam altos níveis de patógenos periodontais. (Ling et al, 2003)

Uma complicação freqüente observada na aplicação da membrana de PTFE em conjunto com implantes é a sua exposição e subsequente infecção. (Jung, Hämmerle, 2003)

Tempro & Nalbadian (1993) realizaram estudos com membranas de PTFE. Analisaram no MET e efetuaram cultura bacteriana. Os resultados mostraram que nos casos em que as membranas apresentavam exposição na cavidade oral entre 1 a 3 mm foram observados microrganismos impregnados à membrana, entre eles o: *A. actinomycetemcomitans* ou *Porphyromonas gingivalis*, os quais não respondem à tratamentos de antibioticoterapias convencionais.

Quando ocorre a exposição das membranas de PTFE durante o período de cicatrização em ROG, ocorre o acúmulo de bactérias, gerando resultados pobres das regenerações. (Ling et al, 2003)

Tonetti et al (1995) descreveram que todos os pacientes fumantes um ano após a colocação de membranas de PTFE apresentavam as membranas expostas na cavidade oral, levando a um processo infeccioso.

A remoção precoce da membrana pode afetar a cicatrização e a regeneração, ou seja ocorre redução na quantidade de osso formado. Contudo, após quatro a seis semanas, a natureza do tecido regenerado já está determinada. (Becker, 1994)

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – MATERIAL

No presente trabalho foram usadas amostras comerciais de PTFE, poli(tetraflúor-etileno), fabricado pela empresa GE e adquirido junto ao seu fabricante a GE Osmonics Labstore - USA. O material foi recebido na forma de folha fina enrolada, com cor branca opaca, possuindo 0,05mm de espessura e distância internodal (porosidade) nominal de 0,22 μm . Foram realizados testes para avaliar a viabilidade do emprego na odonologia deste material como membrana e barreira física, com base no protocolo dos princípios biológicos preconizados pela técnica de ROG (regeneração óssea guiada) proposta por Dahlin C, Linde A et al (1993).

O material adquirido na forma de “folha” será doravante designado “como recebido”. Mostra-se na Figura 1 a morfologia do material como recebido. Observa-se em A, uma fotografia digital do material “como recebido”. Em B, uma fotomicrografia realizada no MEV com aumento de 4.000X. Onde verifica-se uma grande quantidade de porosidade, o que facilita a migração das células para o local do defeito.

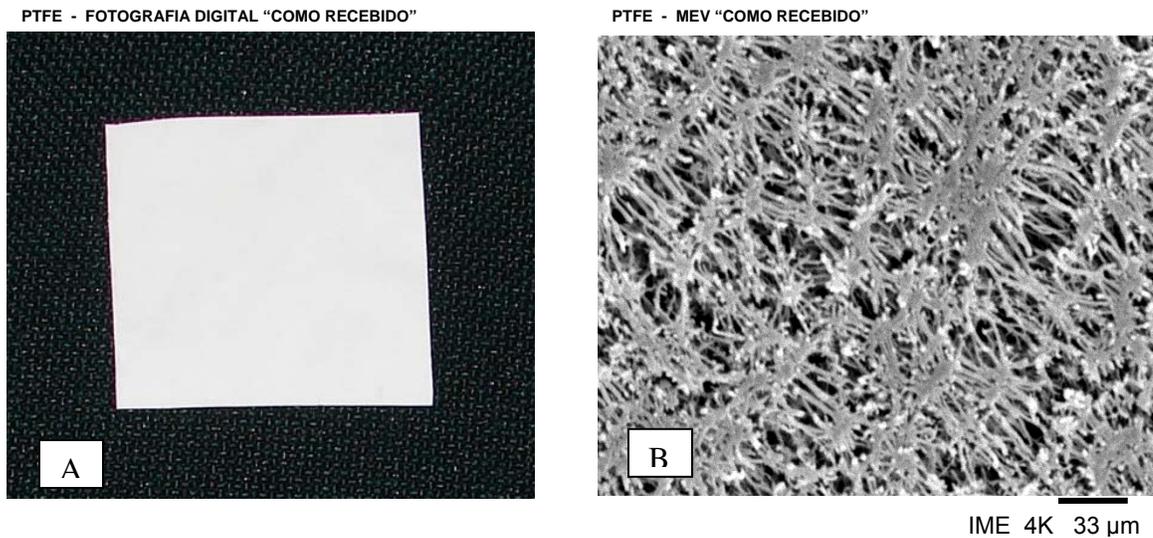


FIG. 1 - Morfologia da folha PTFE (Teflon[®]) no estado "como recebido", em A, fotografia digital, tamanho original, em B, fotomicrografia no MEV, 4000x.

4.2 - DEGRADAÇÃO IN VITRO POR IMERSÃO EM SBF (SIMULATED BODY FLUID)

Do rolo de PTFE foram cortadas amostras em 3 direções: na direção longitudinal da folha, à 45° da direção longitudinal, e perpendicular à direção do comprimento da folha. Conforme mostrado na Figura 2.

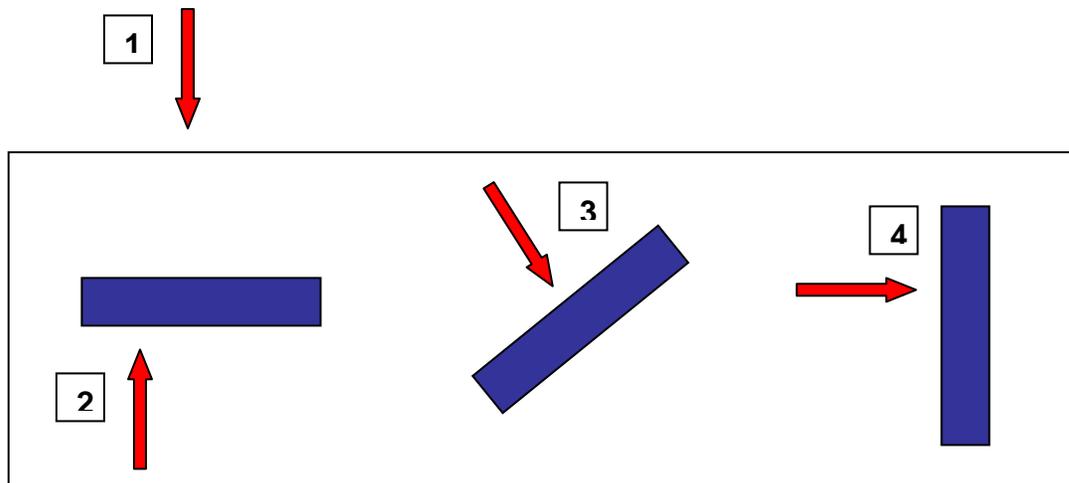


FIG. 2 – A seta 1 indica o sentido do material “como recebida”, a seta 2, indica o corte realizado no sentido longitudinal, a seta 3, o corte realizado no sentido à 45° da folha “como recebida” e a seta 4, o corte realizado transversalmente à folha “como recebida”.

As amostras de Poli(tetraflúor-etileno) após terem sido cortadas com 25 mm x 5 mm foram imersas em solução salina de fosfato tamponada (SSFT) também conhecida por simulated body fluid (SBF), para análise da degradação. As amostras permaneceram por 6 (seis) semanas à temperatura de 39°C, em “banho Maria” no equipamento apropriado do laboratório de Biomateriais do IME conforme mostrado na Figura 3. O pH da solução foi mantido em $7,4 \pm 0,2$, o qual é um valor representativo do pH do sangue humano.



FIG. 3 – Equipamento para realização do “banho maria” do laboratório de Biomateriais do IME usada na degradação das amostras de PTFE.

4.2.1 – PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO SALINA DE FOSFATO TAMPONADA (SSFT) OU SIMULATED BODY FLUID (SBF)

A solução tampão foi preparada com a dissolução em 1 litro de água destilada de 1,72 gramas de fosfato di-ácido de potássio (KH_2PO_4 – P.M. 136,09 g/mol), 8,15 gramas de fosfato ácido de potássio (K_2HPO_4 – P.M. 174,18 g/mol), ambos fornecidos pela empresa ISO FAR, e de 90,04 gramas de cloreto de sódio PA (NaCl – P.M. 58,45 g/mol) fornecido pelo laboratório J.T. Baker. Os componentes foram pesados em uma balança digital de alta precisão (Ainsworth, modelo AA-160). Ao todo foram utilizados 4 bechers com diferentes

volumes, onde 3 deles serviram para diluir cada um dos sais e um recebeu os sais anteriormente diluídos, no qual adicionou-se água destilada até que se completasse 1 litro de solução. A solução foi armazenada em um vasilhame de 1,5 litros. Todos os recipientes, tanto de preparo quanto de armazenamento da solução, foram previamente lavados com água destilada.

4.2.2 – ENSAIO DE DEGRADAÇÃO DO PTFE

As amostras foram armazenadas em uma caixa de aço inoxidável, previamente autoclavada, contendo no seu interior 8 divisões conforme mostrado na Figura 4.

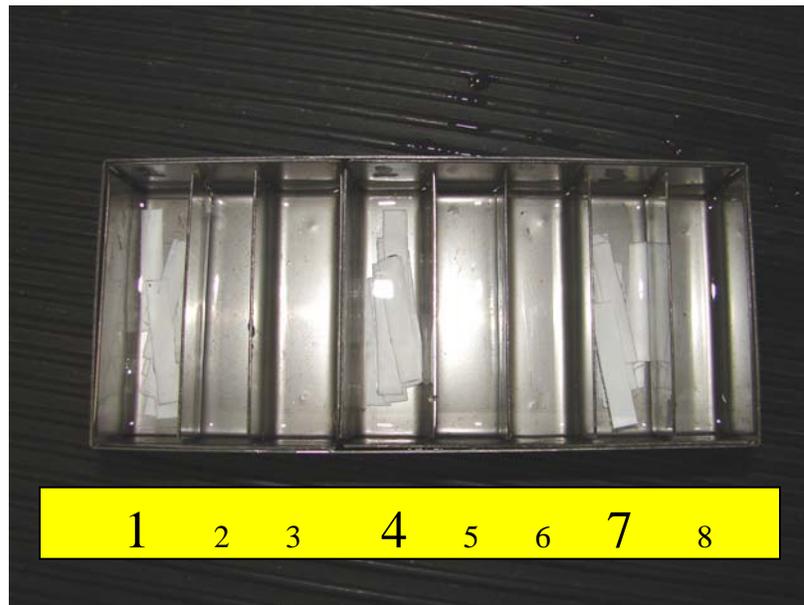


FIG. 4 – Disposição das amostras de Poli(tetraflúor-etileno) na caixa de aço inoxidável.

As amostras foram colocadas nas divisões de número 1, 4 e 7, no sentido da esquerda para a direita, sendo as amostras alocadas da seguinte maneira:

- Posição 1 – 10 amostras de (PTFE) “como recebido”, com cortes realizados paralelos ao sentido longitudinal da folha de PTFE;
- Posição 4 – 10 amostras de (PTFE) “como recebido”, com cortes realizados a 45° ao sentido longitudinal da folha de PTFE;
- Posição 7 – 10 amostras de (PTFE) “como recebido”, com cortes realizados perpendicular ao sentido longitudinal da folha de PTFE.

Após a colocação das amostras na caixa de aço inoxidável, esta foi preenchida com solução SBF, fechada e lacrada com fita crepe, para não haver mistura entre a água do “banho maria” e o SBF dentro caixa. Permanecendo a caixa inox imersa em “banho maria” durante 06 (seis) semanas.

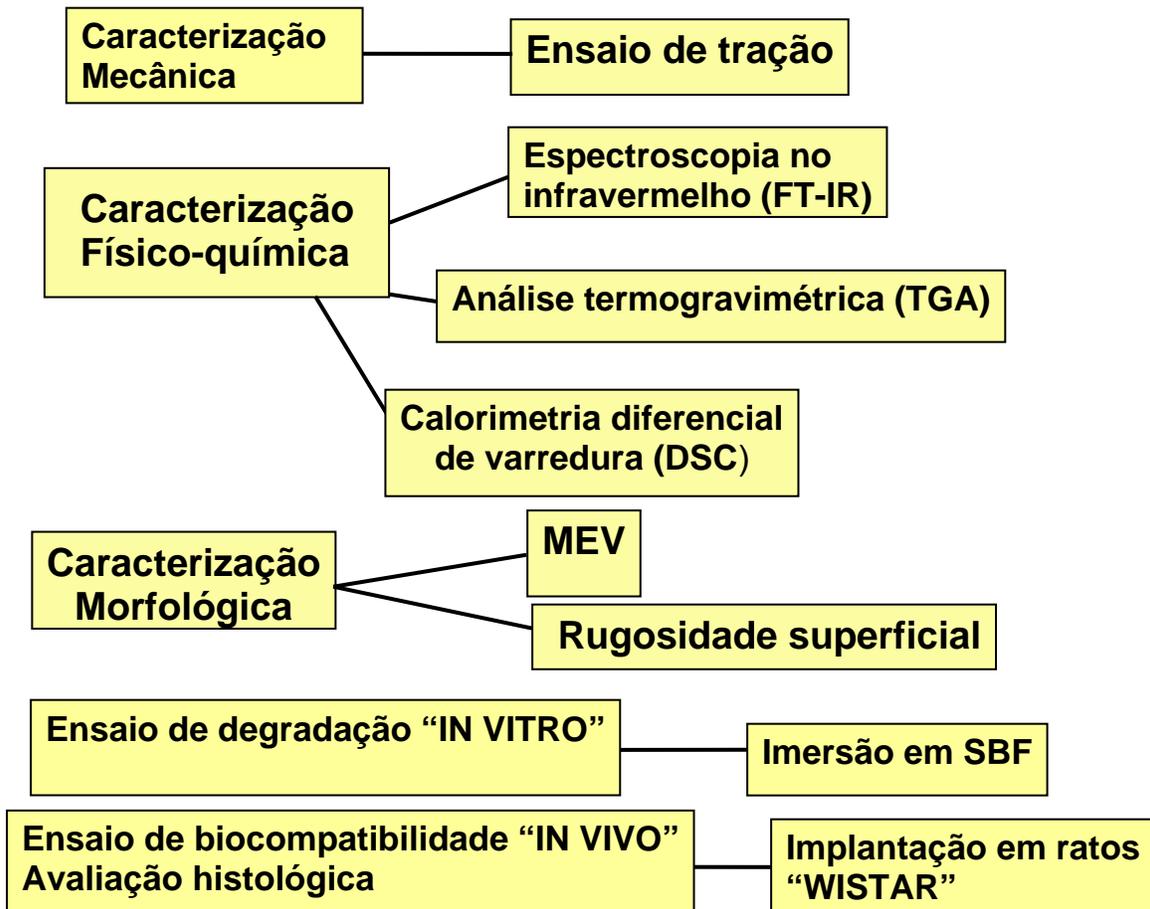
4.3 – GRUPOS DE AVALIAÇÃO PARA CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL.

As amostras foram divididas em seis grupos:

- 1º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes ao sentido longitudinal da folha, “como recebido”;
- 2º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes a 45° do sentido longitudinal da folha, “como recebido”;
- 3º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes perpendiculares do sentido longitudinal da folha, “como recebido”;
- 4º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes ao sentido longitudinal da folha e submetidos à degradação em SBF;

- 5º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes a 45º ao sentido longitudinal da folha e submetidos à degradação em SBF;
- 6º grupo – 04 corpos-de-prova confeccionados com cortes perpendiculares ao sentido longitudinal da folha e submetidos à degradação em SBF.

4.4 – DIAGRAMA DE BLOCO DA METODOLOGIA EMPREGADA PARA CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL.



4.5 - CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DO PTFE

4.5.1 – ENSAIO DE TRAÇÃO DO PTFE

Todos os grupos das amostras foram submetidos ao ensaio de tração, o qual foi realizado à temperatura ambiente, em uma máquina Universal de ensaios (Emic, modelo DL10000) segundo a norma ASTM D882.

Para a realização do ensaio de tração empregou-se um aparato constituído de uma célula de carga de 20 N, conforme mostrado na Figura 5.



FIG. 5 - Ensaio de tração do PTFE, utilização de uma célula de carga de 20 N.

Calister (2001) propôs que durante a tração os polímeros apresentam variação da morfologia, o que para fins de estudos pode ser dividido em estágios.

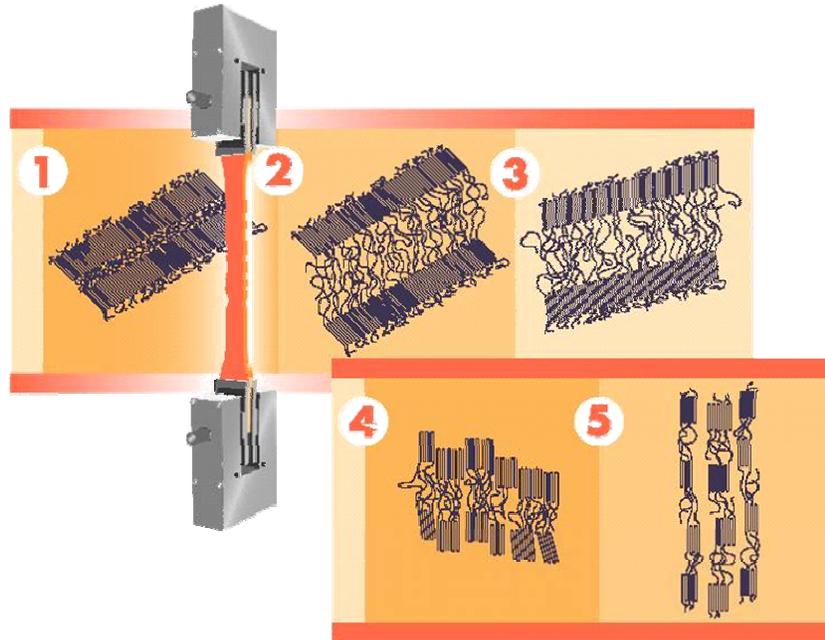


FIG. 6 - Variação da microestrutura de um polímero semicristalino submetido à um ensaio de tração.

Mostra-se na Figura 6 o esboço da variação da microestrutura de um polímero semicristalino submetido à um ensaio de tração, conforme a proposta de Calister. Pode-se observar no estágio 1, duas lamelas com cadeias dobradas adjacentes e o material amorfo interlamelar antes da deformação. Em 2, mostra-se que ocorre o alongamento das cadeias de ligação amorfas durante o primeiro estágio de deformação. Em 3, ocorre a inclinação das dobras da cadeia

lamelar durante o segundo estágio. Em 4, há a separação de segmentos dos blocos cristalino durante o 3º estágio. Finalmente em 5, a orientação dos segmentos de bloco e cadeias de ligação com o eixo de tração no estágio final da deformação.

4.6 – ANÁLISE NO MEV DO PTFE

As amostras dos diferentes grupos antes e após os ensaios de tração foram analisadas no MEV (JEOL modelo JSM 5800 LV) para caracterizar a morfologia superficial, avaliar a possível degradação com a imersão em solução SBF e verificar a morfologia após o ensaio.

4.7 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO PTFE

As amostras antes e após a degradação foram submetidas à análise para avaliar as possíveis alterações físicas do PTFE. Foram realizadas as análises de espectroscopia no infravermelho, termogravimetria e calorimetria diferencial de varredura.

4.7.1 – ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FT-IR)

O objetivo da realização da espectroscopia de absorção no infravermelho (IV) foi determinar os grupos funcionais do material e analisar a influência da degradação do PTFE com a imersão em SBF. Cada grupo absorve uma frequência característica de radiação na região do IV. Com o gráfico de

intensidade de radiação versus frequência, obtido no espectograma de IV, é possível caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido, o que permite correlacionar com a degradação apresentada pelo material.

Foi utilizada uma amostra de PTFE “como recebido” e outra após imersão em SBF , ambas em forma de tira, medindo 5 x 25 mm. Para o ensaio foi utilizado o equipamento espectrofotômetro Perkim-Elmer, modelo 1720x.

4.7.2 – TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

A análise termogravimétrica é utilizada para determinar a resistência à degradação térmica dos materiais. Esta técnica é baseada na mudança de massa da amostra em função da temperatura. O material é aquecido num intervalo de temperatura selecionado, sendo controladas a taxa de aquecimento e a atmosfera. O registro gráfico é representado por uma curva de perda de massa pela temperatura ou tempo. O número de etapas de degradação do material é conseguido pelo registro da derivada da curva termogravimétrica, conforme exemplo mostrado na figura 7.

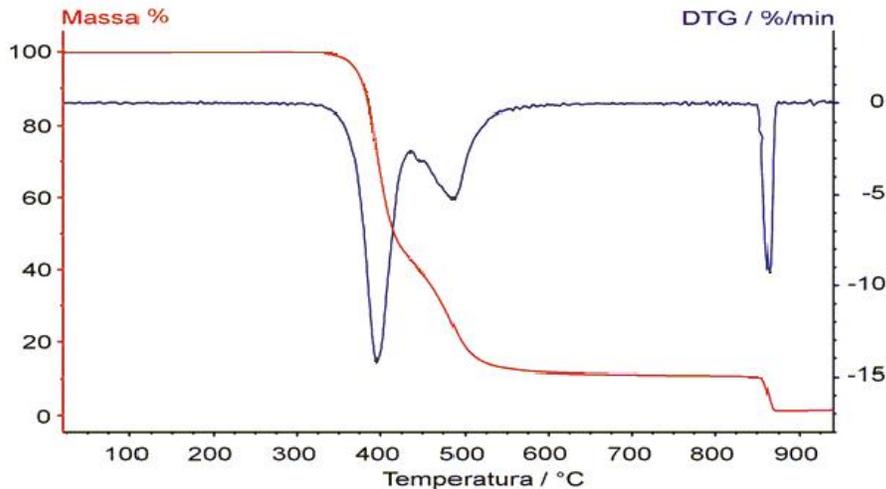


FIG. 7 – Exemplo de curva obtida no ensaio de TGA

A ordenada é apresentada usualmente em percentual de massa wt%, ao invés da massa total, proporcionando assim uma fácil comparação do comportamento dos materiais com base nas várias curvas normalizadas.

Ocasionalmente, o resultado do ensaio é apresentado em uma curva peso versus temperatura em função do tempo. Isto permite a verificação aproximada da taxa de aquecimento, mas é menos conveniente para propósitos de comparação com outras curvas.

Dentre as inúmeras aplicações existentes da termogravimetria destacam-se:

- * Análise da corrosão de materiais em várias atmosferas;
- * Avaliação da degradação térmica oxidativa de substâncias poliméricas;
- * Estudo da decomposição térmica ou pirólise de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos;
- * Quantificação da destilação e evaporação de líquidos;

- * Determinação da pressão de vapor e entalpia de vaporização de aditivos voláteis;
- * Análise das propriedades magnéticas como temperatura Curie (suscetibilidade magnética).

Foi utilizada uma amostra de PTFE “como recebido” e outra após imersão em SBF, ambas pesando 10 mg. A amostra “como recebida” foi colocada sob nitrogênio, sendo a mesma aquecida de 0 a 800° C, à taxa de 20° C/min, o mesmo ocorrendo com a amostra que foi imersa em SBF. Para o ensaio foi utilizado o analisador termogravimétrico TGA-51.

4.7.3 - CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura é utilizada na determinação de propriedades térmicas de polímeros tais como temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão cristalina (T_m), temperatura de cristalização (T_c), etc., medindo-se o fluxo de calor liberado pela amostra num determinado intervalo de temperatura. O aparelho contém 2 compartimentos individuais dispostos sobre uma base altamente condutora, geralmente de platina. Em um compartimento foram colocadas cápsulas contendo as amostras analisadas e no outro uma outra cápsula contendo a amostra de referência, aquecidas simultaneamente. Como referência foi utilizada uma cápsula vazia. Cada variação da amostra é registrada obtendo-se um sinal proporcional à diferença de capacidade térmica da amostra e da referência. Da curva térmica foram determinados a T_m e o grau de cristalinidade (X_c). A T_m foi determinada considerando o máximo do pico de

fusão. O grau de cristalinidade foi calculado considerando a razão entre a área do pico de fusão da amostra (ΔH - J/g) e o valor de ΔH do PTFE 100% cristalino, indicado pela literatura (J Brandrup - 1999).

Dentre as inúmeras aplicações da DSC destacam-se:

- * Determinação da capacidade calorífica;
- * Quantificação da condutividade térmica;
- * Controle de qualidade de produção;
- * Determinação da pureza dos materiais, cerâmicos e poliméricos;
- * Obtenção dos parâmetros para determinar pontos críticos do diagramas de fase;
- * Quantifica entalpia das transições;
- * Determinação do grau de cristalinidade;
- * Intervalo de fusão.

Foi utilizada uma amostra de PTFE “como recebido” e outra após imersão em SBF, ambas pesando, em torno de 9 mg. A amostra “como recebida” foi colocada sob nitrogênio, sendo a mesma aquecida de 40 a 400° C, à taxa de 10° C/min, sendo deixado à temperatura de 400°C por 1 minuto, equivalente ao primeiro aquecimento, em seguida o material foi resfriado de 400 a 40°C, à taxa de 200°C, mantido por 40°C por 10 minutos. Foi realizado o segundo aquecimento de 40 a 400°C, à taxa de 10°C/min. O mesmo foi realizado com a amostra que foi imersa em SBF. Para o ensaio foi utilizado Calorímetro Perkin-Elmer, DSC-7.

4.8 – ANÁLISE DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO PTFE

Os parâmetros de rugosidade quantificam os níveis das imperfeições que a superfície apresenta, assim como a orientação das irregularidades.

As amostras confeccionadas em forma de tiras de PTFE, medindo 5 x 25 mm, foram analisadas utilizando-se para este fim um rugosímetro ótico a laser (Mahr GmbH, Brauweg 38 Gottingen, Germany). Foram medidos os parâmetros abaixo.

R_a - Média aritmética dos valores absolutos de todos os pontos medidos no perfil;

R_q - Média da raiz quadrada dos valores;

R_z - Valor médio das alturas dos cinco picos mais altos e das profundidades dos cinco mais profundos vales;

R_t - Profundidade total da rugosidade;

A rugosidade superficial é descrita em termos de amplitude, distribuição espacial e parâmetros híbridos. Os parâmetros de amplitude descrevem a altura vertical das irregularidades individuais e são medidos tanto em 2D quanto em 3D. Como exemplo de parâmetros que medem propriedades tridimensionais temos o valor de R_a , R_q , R_z e o R_t , este é a distância máxima entre os picos dos parâmetros de amplitude, cujo valor está representado na Figura 8.

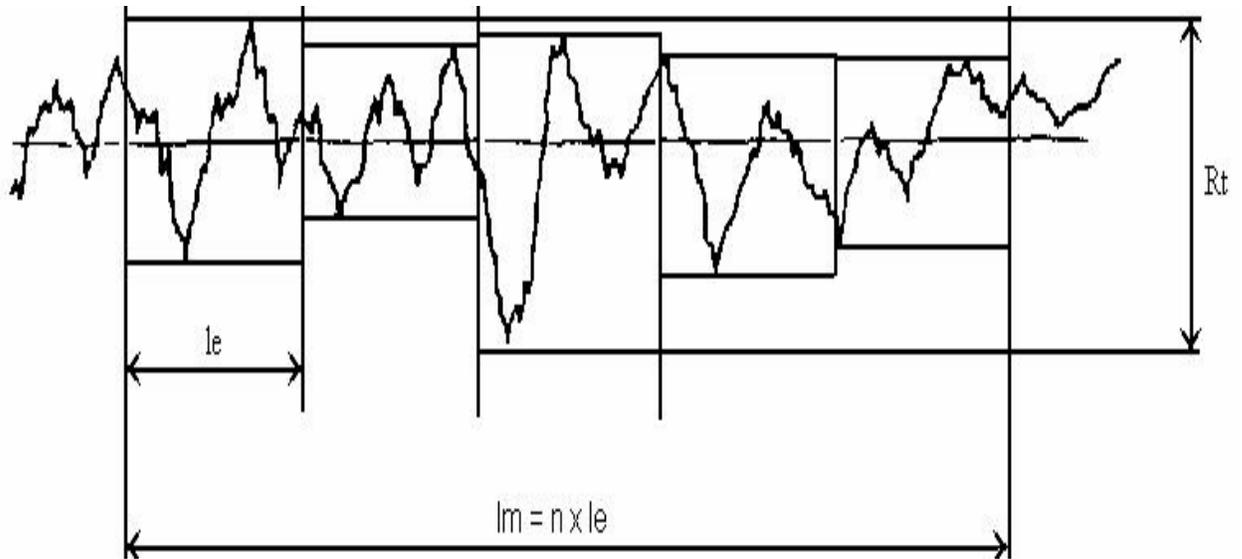


FIG. 8 – O parâmetro R_t representa a distância máxima entre os picos dos parâmetros de amplitude

Na Figura 9, podemos observar o parâmetro de amplitude R_a , que representa a média aritmética de todos os picos obtidos no ensaio de rugosidade.

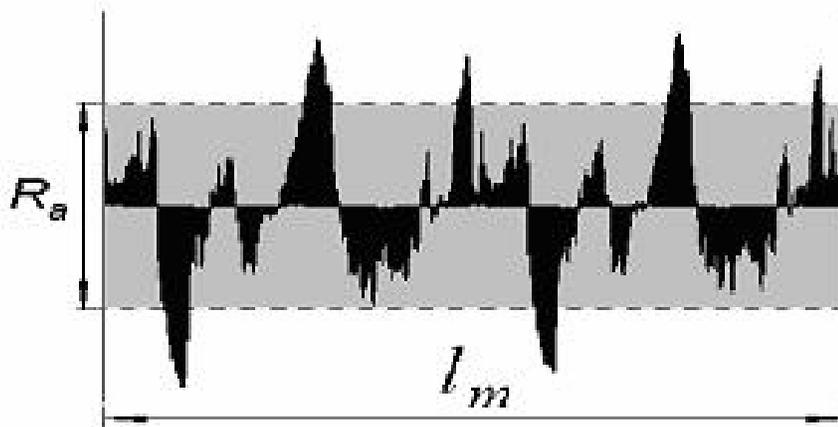


FIG. 9 - Representação do parâmetro R_a , o qual mede de a amplitude da rugosidade.

4.9 - PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E ANÁLISE HISTOLÓGICA

Os ensaios “*in vivo*” para avaliar a biocompatibilidade do material foram realizados com 10 ratos “Wistar” machos com 12 meses de vida. As cobaias foram mantidas de acordo com o protocolo aprovado pelo comitê de ética (Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense). Os procedimentos desta pesquisa obedeceram às recomendações e orientações éticas e legais especificadas para experimentação animal (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1980).

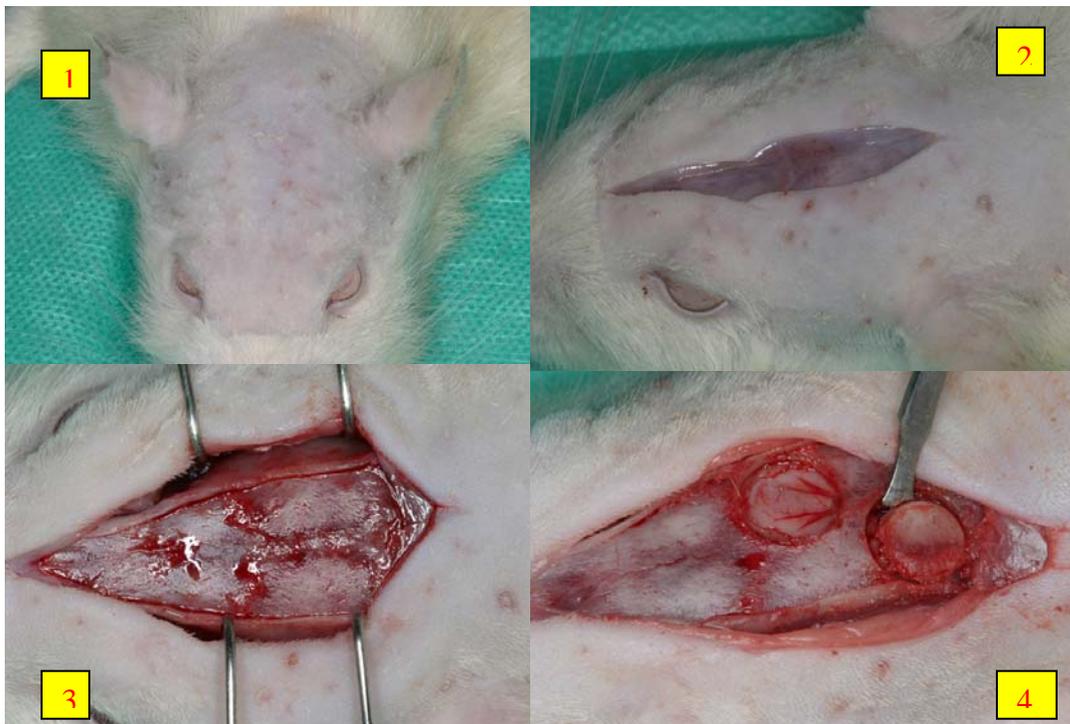


FIG. 10 – Podemos observar no nº 1, a tricotomia realizada a nível da região de calvária. Em 2, a incisão realizada com a finalidade de acesso ao tecido ósseo da região de calvária, em 3, realizado afastamento do tecidos moles e periósteo, e no 4 confecção dos defeitos ósseos possuindo 5,0 mm de diâmetro.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos no Biotério do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, em gaiolas de polipropileno apropriadas para este fim, com dimensões de 49x34x16 cm, sendo mantidos individualmente após o procedimento cirúrgico. As gaiolas permaneceram forradas

com raspa de madeira seca (maravalha), que era totalmente substituída diariamente, para garantir as condições de higiene necessárias ao bem estar e saúde dos animais. O fotoperíodo foi controlado eletronicamente com intervalos de dia/noite de 12 horas. A temperatura da sala foi mantida entre 21 e 23°C. A alimentação constituiu-se de água *ad libitum* e ração apropriada (Purina _ Labina).

As gaiolas foram marcadas com etiquetas, nas quais constava o grupo ao qual pertenciam os animais e seu respectivo número, facilitando a identificação.

Para a inserção das amostras, os animais foram sedados em câmara de vidro com éter etílico a 97% (Ecibra) durante 1 minuto e anestesiados com solução padrão de mistura de 8:1 de Ketamina 50mg/ml (Ketamin, Ketalar) e xylazina 20 mg/ml(Rompun, Bayer). Após o procedimento cirúrgico os animais receberam antibiótico em dose única por via intra-muscular (Ampicilina, 100mg p/kg, Laboratório Teuto) e anti-inflamatório seguindo o mesmo protocolo (Tilatil, 2 mg/kg, Laboratório Roche) .

O ato cirúrgico consistiu em tricotomia e desinfecção com solução de clorexidina a 2%, incisão na linha média através da pele e perióstio da calvária, que se estendia da região nasofrontal até a protuberância occipital externa, com o rebatimento de um retalho de espessura total. O próximo passo correspondeu na utilização de uma broca trefina de 5,0 mm (SIN), que foi adaptada em contra-ângulo em motor cirúrgico com irrigação abundante com soro fisiológico, para criação de 2 defeitos ósseos críticos bicorticais em cada metade do osso parietal.

Após a utilização da trefina os 2 blocos ósseos com formato de disco foram cuidadosamente removidos da calvária dos animais com auxílio de um

instrumento (cinzel de Ochsenein, número 2, Hu-Friedy), para que a dura-mater ficasse exposta sem nenhuma perfuração, e mantidos em soro fisiológico estéril.

Os animais foram sacrificados 15 dias após a cirurgia. O sacrifício foi realizado em câmara de vidro com éter etílico por 5 minutos. Os animais foram decapitados e a mandíbula removida. A peça foi mantida em paraformaldeído 4%, durante 15 dias. Neste momento após excisão dos tecidos moles da cabeça, a maxila foi removida através de dissecação com auxílio de lâmina de bisturi (número 15, Paramount), tesoura cirúrgica e pinça dente de rato. Foram realizados cortes nos planos sagital e frontal com disco diamantado (Intensiv _ Superflex), em baixa rotação e sob refrigeração, para evitar o aquecimento. A peça final obtida correspondia somente a região da calvária que foi processada. As peças dissecadas e identificadas foram separadas com lâmina de bisturi em lado controle e teste e mantidas em solução de paraformaldeído a 4%. Após a fixação foram lavadas abundantemente em água corrente e imersas no reagente descalcificador, obtido a partir da solução à base de ácido fórmico a 45% e outra à base de citrato de sódio a 20 %, ambas utilizando água destilada. O reagente descalcificador foi preparado juntando-se partes iguais destas soluções. Cada peça foi armazenada em frasco esterilizado, contendo uma quantidade de reagente descalcificador correspondente a 20 vezes o seu volume, por um período médio de 3 semanas. A solução era renovada a cada 72h e os frascos mantidos em um agitador 10 h/dia. Para confirmar a total remoção do cálcio, foi realizado o teste de punção com agulha no tecido duro, a partir da terceira semana de descalcificação, com intervalos de 3 dias, até que a agulha fosse introduzida sem resistência.

Uma vez alcançado o ponto ideal de descalcificação, as peças foram lavadas em água corrente durante 24 h, com a finalidade de remover a solução ácida das mesmas.

As peças descalcificadas foram submetidas a parafinização lenta, promovida por seguidos banhos de xilol-parafina, nas proporções de 2:1, 2:2, e parafina pura com duração de 2 horas. Cada fragmento era, então, incluído em parafina fundida. Antes da solidificação, o fragmento era posicionado no centro da parafina, de acordo com o sentido dos cortes que seriam obtidos posteriormente.

As peças foram aparadas com lâminas apropriadas, até que tivessem 5 mm de parafina de cada lado, com paralelismo entre os lados. Cortes seriados com 4 µm de espessura na porção mais central das peças foram feitos no micrótomo rotativo de precisão.

As fitas de interesse eram levadas ao cristalizador, sendo distentidas e montadas em lâminas para microscopia. A seguir, estas lâminas eram colocadas em posição vertical, para escorrer a água e, posteriormente, levadas a uma estufa a 40° C, para evaporar a umidade e favorecer a aderência, onde permaneciam cerca de 24 h. Uma vez retiradas da estufa, foram colocadas em xilol (Merck), para desparafinização. Constatada a diafanização era iniciado o processo de hidratação, no qual o xilol era removido com banhos sucessivos de álcool absoluto (Reagen) e, em seguida, porcentagens decrescentes de álcool a 90%, 70% e 40%, até que se chegasse a água destilada.

Os cortes hidratados eram submetidos à coloração por hematoxilina e eosina. Foi utilizada a coloração de hematoxilina durante 5 minutos, sendo o excesso

removido em água corrente. Em seguida, as lâminas eram mergulhadas rapidamente em uma solução de ácido clorídrico a 1%, diluído em álcool a 70%. As lâminas eram colocadas em água corrente por tempo suficiente para que os cortes se tornassem azulados. Era, então, utilizada a eosina por 3 minutos, o que tornou rosado os tecidos. Após a coloração, era feita nova desidratação através de porcentagens crescentes de álcool, até chegar ao álcool absoluto, quando as lâminas eram submetidas a três banhos de xilol. Por fim, foram cobertas com lamínulas montadas com bálsamo do Canadá natural (Reagen), estando, finalmente, prontas para exame ao microscópio óptico.

Os espécimes foram analisados em microscopia ótica. A leitura das estruturas histológicas foi realizada com auxílio do microscópio (Nikon Eclipse E 600). Após digitalização das imagens, as lâminas foram avaliadas no software Image Pro Plus quanto para determinar distância entre as bordas iniciais da ferida; distância final entre as bordas da ferida formação de ponte óssea sob a membrana de PTFE.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados dos ensaios de calorimetria de varredura diferencial, termogravimetria, espectrometria no infravermelho, rugosidade, ensaio de tração, microscopia eletrônica de varredura e análise histológica, realizadas nos diversos grupos de amostras, serão apresentados em grupos separados.

5.1 - CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA

Nas Figuras 11 e 12, as curvas calorimétricas das amostras, antes e após a imersão em SBF, apresentaram-se semelhantes. Mostra-se na Tabela 1, que em ambos os casos, foi encontrado um pico de fusão em torno de 326°C, característico de poli(tetra-flúor etileno) (PTFE) resultado semelhante foi obtido por Mano & Mendes, 1999. Não houve alteração no grau de cristalinidade (X_c) cujo valor ficou em torno de 24%. Assim, não foram observadas mudanças no material devido à imersão em SBF.

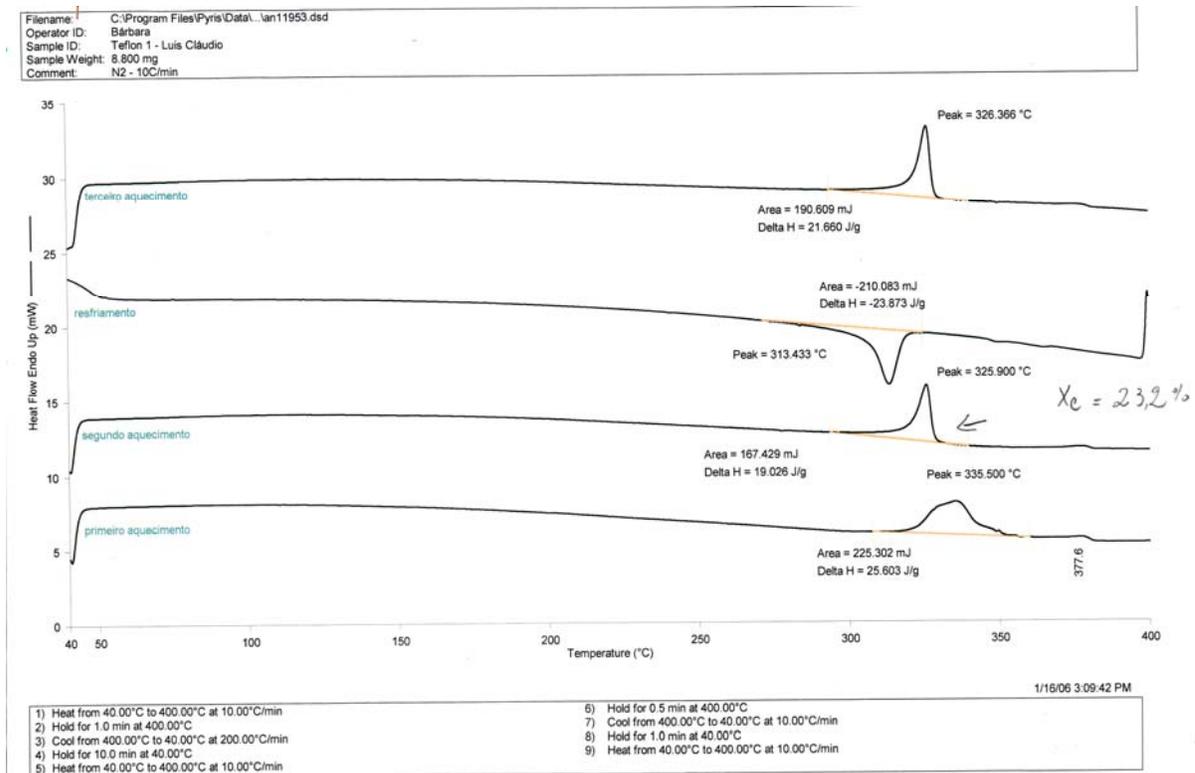


FIG. 11 – Resultado obtido pelo ensaio de DSC, do PTFE não imerso em SBF.

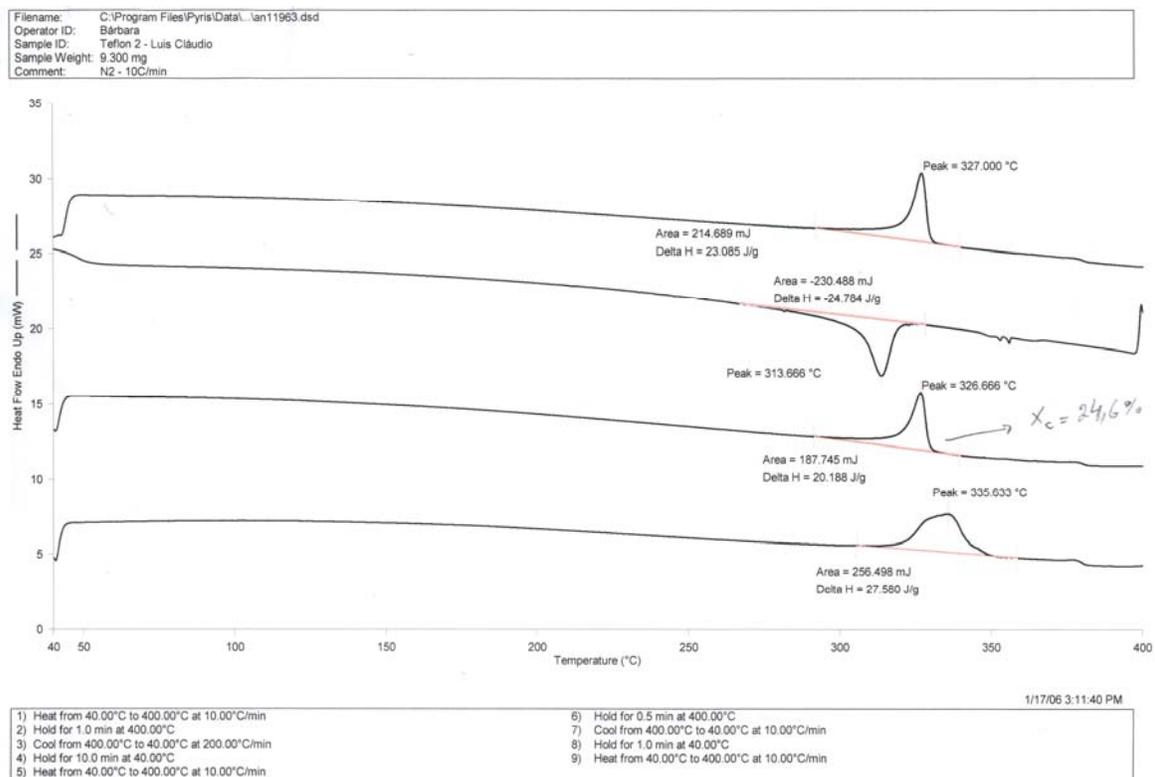


FIG. 12 – Resultado obtido pelo ensaio de DSC, do PTFE imerso em SBF.

TAB. 1 - Temperatura de fusão (T_m) e grau de cristalinidade (X_c) do PTFE não-imerso em SBF.

PTFE	T_m (°C)	X_c (%)
	325,9	23,2
	326,6	24,6

5.2 - TERMOGRAVIMETRIA

Na figura 13, as curvas termogravimétricas das amostras, antes e após a imersão em SBF, apresentaram-se semelhantes. Em ambos os casos, a degradação ocorreu em um único decaimento, cujo início aconteceu em torno de 500°C e terminou em cerca de 650°C, corroborando os resultados de DSC, Não foram observadas variações na estabilidade térmica do material devido à imersão em SBF.

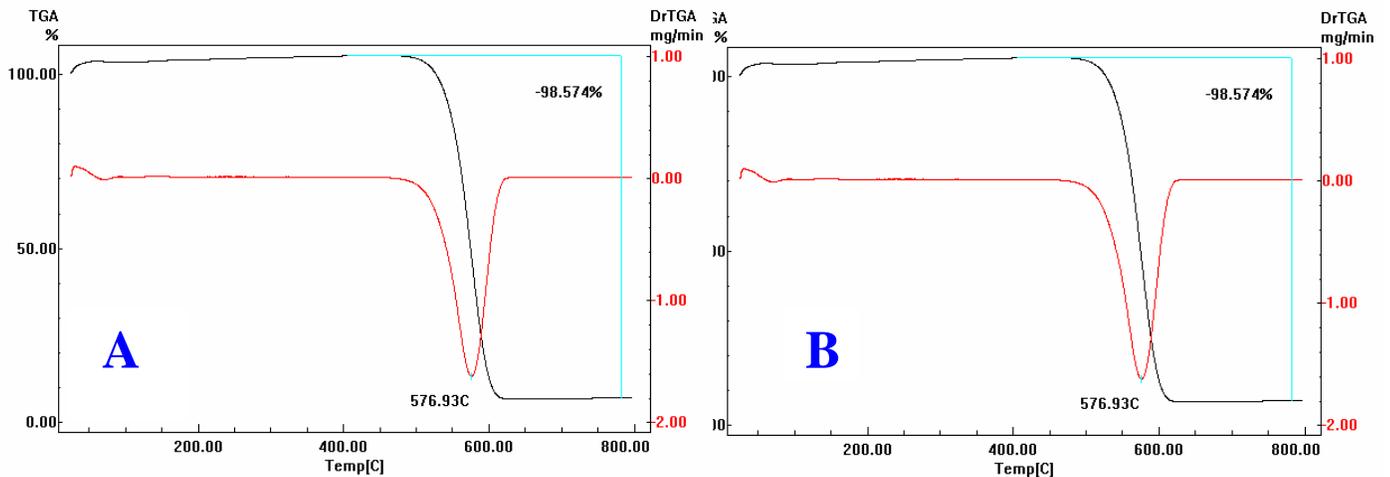


FIG.13 - Resultado obtido pelo ensaio de TGA, em A, PTFE não-imerso em SBF e em B, PTFE imerso em SBF.

5.3 - ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO

Na Figura 14, as curvas espectrométricas das amostras, antes e após a imersão em SBF, apresentaram-se semelhantes. Em ambos os casos, foram encontrados mais de 10 picos diferentes. Porém a indicação mais importante foi detectado pela absorção próximo à 1200 cm^{-1} , onde ficou evidenciado a presença de forte ligação de CF_2 , ratificando achado realizado por Moynihan, (1959).

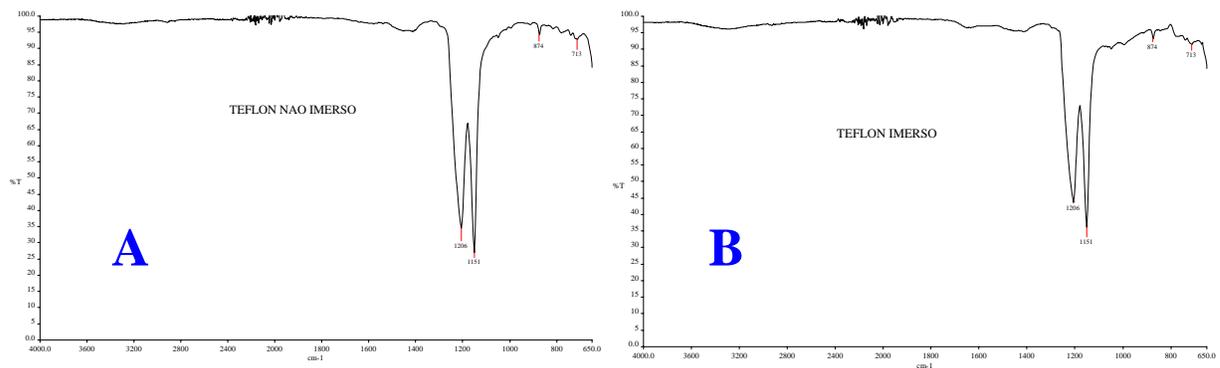


FIG. 14 - Resultado obtido pelo ensaio de FT-IR, em A, PTFE não-imerso em SBF, em B, PTFE imerso em SBF.

5.4 – RUGOSIDADE

Na Tabela 2 são mostrados os parâmetros de rugosidade das amostras e nas Figuras 15 e 16 são mostrados os perfis representativos de rugosidade das amostras de PTFE antes e após a degradação em SBF.

TAB. 2 - Parâmetros de rugosidade das amostras de PTFE antes e após a degradação

AMOSTRA	R_a (μm)	R_q (μm)	R_z (μm)	R_t (μm)
PTFE 1	$0,53 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,03$	$3,45 \pm 0,16$	$4,18 \pm 0,26$
PTFE 2	$0,50 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,03$	$3,25 \pm 0,19$	$3,95 \pm 0,17$

PTFE 1 amostra antes da imersão em SBF; PTFE 2 amostra após imersão em SBF.

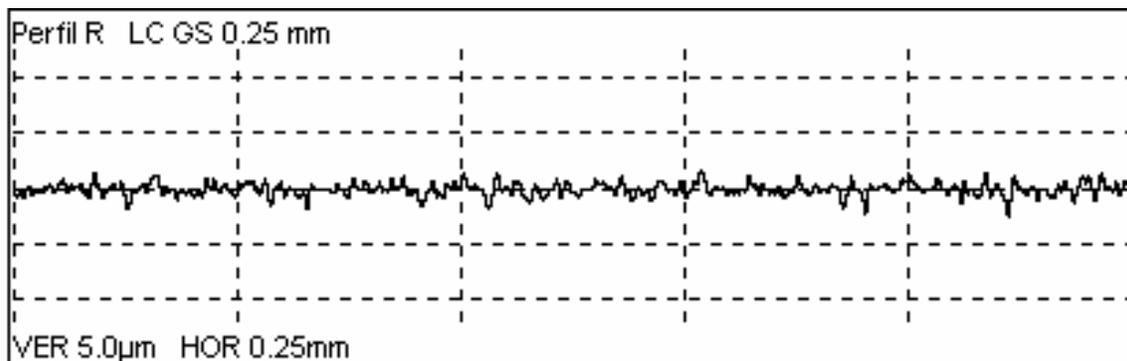


FIG. 15 - Perfil representativo da rugosidade superficial do PTFE antes da imersão em SBF.

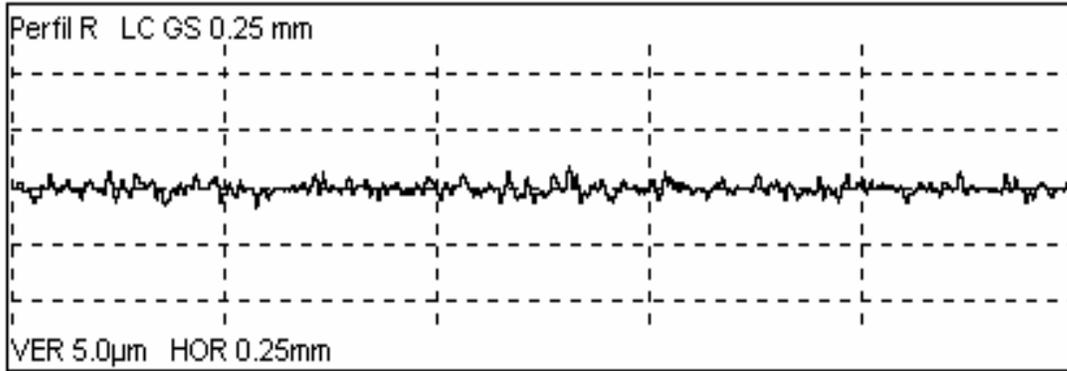


FIG. 16 - Perfil representativo da rugosidade superficial do PTFE após imersão em SBF.

Comparando-se os resultados dos parâmetros Ra, Rq e Rz, das amostras imersas em SBF com as no estado como recebidas (Tabela 2) pode-se observar que os valores são semelhantes. Inidicando que com a imersão não há degradação.

Conclui-se portanto que ao colocar em contato com a solução de SBF, que simula o emprego em hospedeiro humano, a amostra de PTFE, em se tratando de rugosidade superficial, não sofre alterações significativas..

5.5 – ENSAIO TRAÇÃO

Na Tabela 3 estão apresentados os valores das propriedades mecânicas dos 6 grupos de amostras de PTFE obtidos no ensaio de tração, representando aquelas antes da imersão (1-3) e depois da imersão (4-6).

TAB. 3 - Valores das propriedades mecânicas em tração das amostras de PTFE dos grupos avaliados.

AMOSTRA PTFE (GRUPOS)	Direção de Corte	Módulo de elasticidade (MPa) *	Tensão na ruptura (MPa)*	Alongamento na ruptura (%)*
1**	LONGITUDINAL	93,81 ± 2	21,85 ± 1,7	68,50 ± 2,7
2**	45°	19,1 ± 7,6	8,9 ± 0,6	223 ± 17
3**	TRANSVERSAL	32,2 ± 3,7	10,16 ± 0,6	179,6 ± 2,5
4***	LONGITUDINAL	135,5 ± 14	21,7 ± 3,3	58,8 ± 9
5***	45°	35,1 ± 6	9,9 ± 0,8	153 ± 12
6***	TRANSVERSAL	35,1 ± 5	11,7 ± 1,6	131 ± 18

* média de 4 corpo-de-prova; ** PTFE antes da imersão em SBF; *** PTFE após imersão em SBF

Comparando-se os resultados mecânicos do grupo de amostras antes da imersão em SBF (1-3), verificou-se que a amostra inicial era biorientada. Os parâmetros mecânicos dependeram da direção de corte. O módulo de elasticidade e a tensão na ruptura foram maiores para as amostras cortadas na direção longitudinal, seguidos das amostras cortadas na direção transversal e a

45°, respectivamente. O alongamento na ruptura apresentou comportamento inverso ao mostrado pelas outras propriedades avaliadas em virtude da razão de estiramento da amostra inicial ser cerca de 3 vezes maior na direção longitudinal em relação à transversal. Isso indica que a amostra cortada a 45° é mais dúctil que aquela cortada na direção longitudinal. Estes resultados mostraram que as amostras testadas eram anisotrópicas.

Em relação aos resultados mecânicos do grupo de amostras após a imersão em SBF (4-6), observou-se comportamento similar ao das amostras não imersas, considerando-se a direção do corte. É importante ressaltar que houve uma significativa mudança nos valores de módulo de elasticidade das amostras cortadas nas direções longitudinal e 45° onde foi observado um aumento de valor de módulo de elasticidade obtido com as mesmas amostras, não imersas. Para justificar tal comportamento, isto é melhoria da propriedade mecânica, deveria ocorrer, por exemplo, um aumento significativo de cristalinidade, porém os resultados de DSC não corroboraram esta hipótese. Outra possibilidade seria a ocorrência de mudanças cristalográficas no PTFE. De acordo com (Brown & Dattebuam 2005, Macturk et. al. 1996), o PTFE é um polímero semicristalino que apresenta um comportamento complexo de mudança de fase cristalina. Os autores observaram que no intervalo de 19-30°C ocorre a transformação na estrutura cristalina, passando da forma triclinica para a forma hexagonal e que acima de 30°C ocorre uma outra mudança cristalina, descrita como pseudo-hexagonal. Segundo Callister (2001), o sistema triclinico apresenta menor simetria de estrutura cristalina em relação ao sistema

hexagonal. Neste trabalho, as amostras foram imersas durante 6 semanas a 39°C. Este tratamento poderia ter causado alteração no sistema cristalino da amostra, isto é, passando de triclínico para hexagonal e assim ser o responsável pelo aumento da propriedade mecânica do PTFE, após imersão.

Para melhor visualização das diferenças observadas nas propriedades mecânicas das amostras, foram traçados gráficos de colunas contendo os valores de módulo de elasticidade, tensão na ruptura e alongamento na ruptura versus grupo de amostras (1-3 não-imersas e 4-6 imersas em SBF), mostrados nas Figuras 17, 18 e 19.

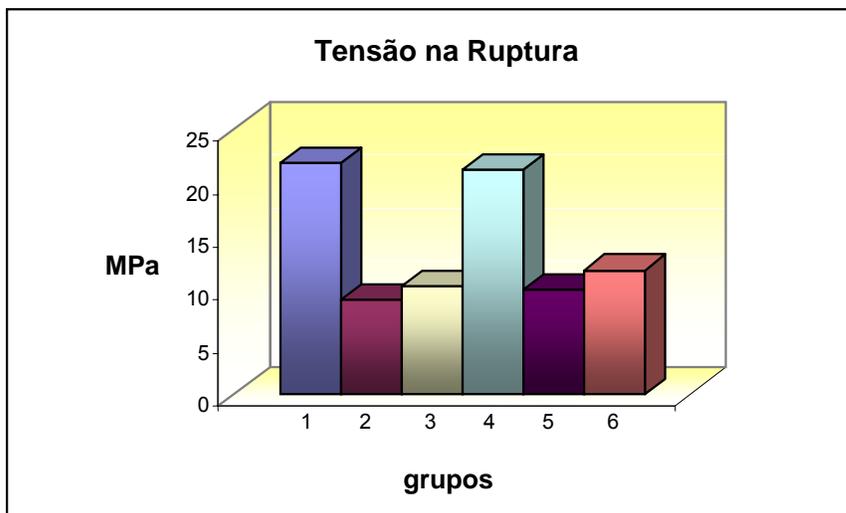


FIG. 17 – Tensão na ruptura *versus* grupo de amostras

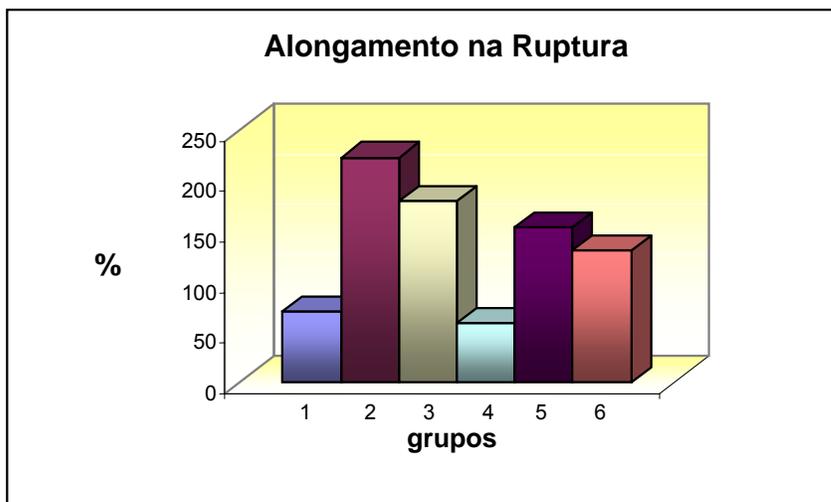


FIG. 18 – Alongamento na ruptura *versus* grupo de amostras

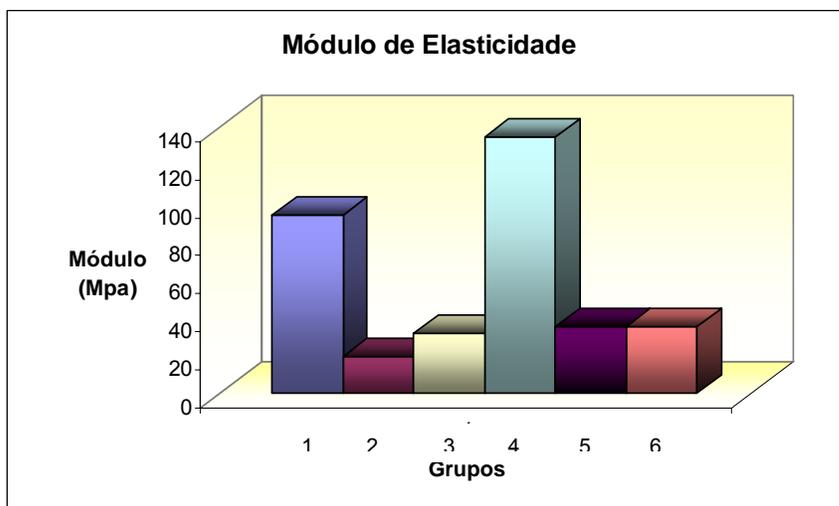


FIG. 19 – Módulo de elasticidade *versus* grupo de amostras

5.6 – MEV DO PTFE

As morfologias superficiais das amostras dos grupos foram analisadas antes e após os ensaios de tração, cujos resultados são a seguir descritos.

As fotomicrografias mostradas nas Figuras 20 a 22 referem-se às amostras “como recebidas” antes do ensaio de tração com os cortes realizados na direção longitudinal, 45° e transversal, respectivamente. Na figura 20, pode-se observar a presença de porosidade acentuada do PTFE, nota-se também os nódulos interconectados por fibras do material. Estas fibras estão dispostas em maior quantidade no sentido longitudinal. Na figura 21, as fibras apresentam-se alinhadas à 45°, em relação ao sentido longitudinal do corpo-de-prova. Na figura 22, as fibras estão à 90° em relação ao sentido longitudinal do corpo-de-prova.

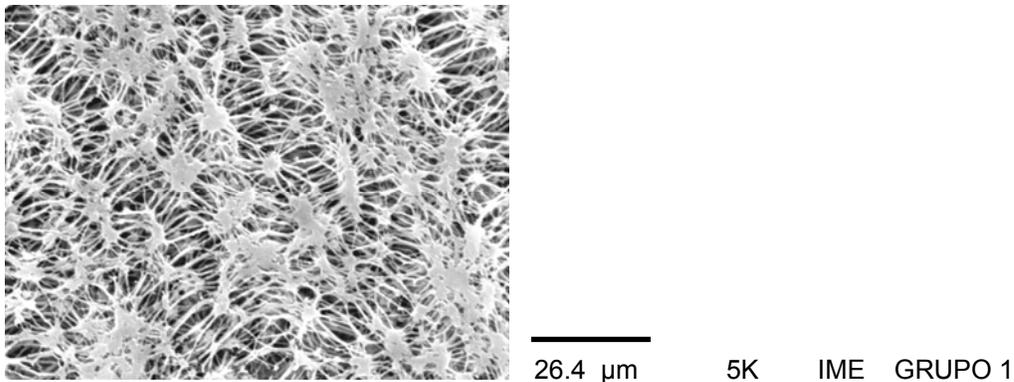
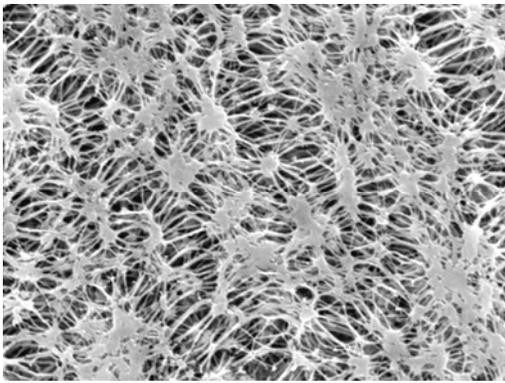


FIG. 20 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção longitudinal, não-imersa em SBF.



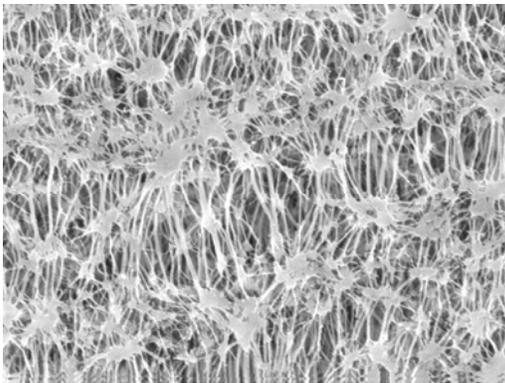
26.4 μm

5K

IME

GRUPO 2

FIG. 21 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção 45°, não-imersa em SBF.



26.4 μm

5K

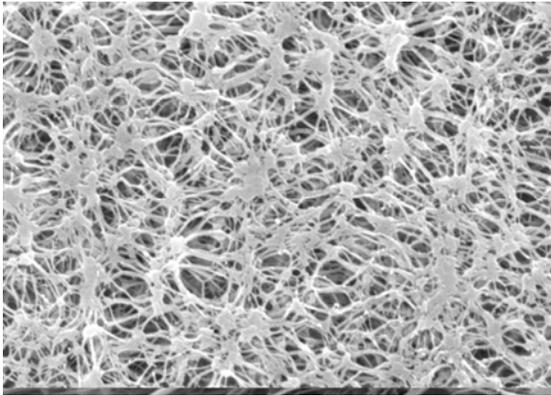
IME

GRUPO 3

FIG. 22 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção transversal, não-imersa em SBF.

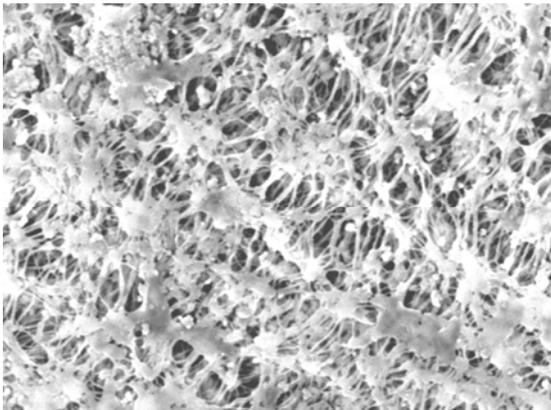
As Figuras 23 a 25 representam as amostras imersas em SBF antes do ensaio de tração. As fotomicrografias não apresentaram diferença significativa em relação àquelas no estado “como recebida”. A presença de nódulos de PTFE conectados por fibras de PTFE, foi evidenciado em todas as fotomicrografias. Não ficou evidenciada mudança na sua morfologia após o ensaio de degradação em SBF. Na figura 23, pode-se observar a presença de porosidade acentuada do PTFE, nota-se também os nódulos interconectados por fibras do material.

Estas fibras estão dispostas em maior quantidade no sentido longitudinal. Na figura 24, as fibras apresentam-se alinhadas à 45° , em relação ao sentido longitudinal do corpo-de-prova. Na figura 25, as fibras estão à 90° em relação ao sentido longitudinal do corpo-de-prova.



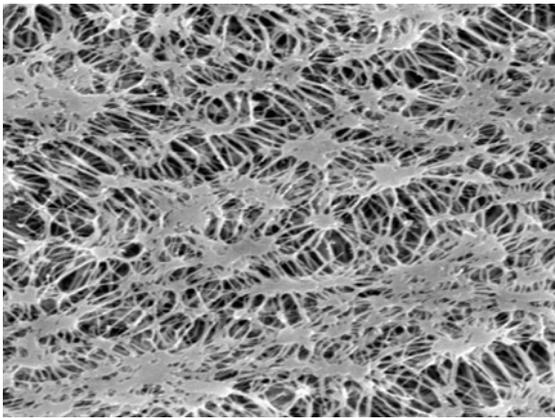
26.4 μm 5K IME GRUPO 4

FIG. 23 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção longitudinal, após imersão em SBF.



26.4 μm 5K IME GRUPO 5

FIG. 24 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção 45°, após imersão em SBF.



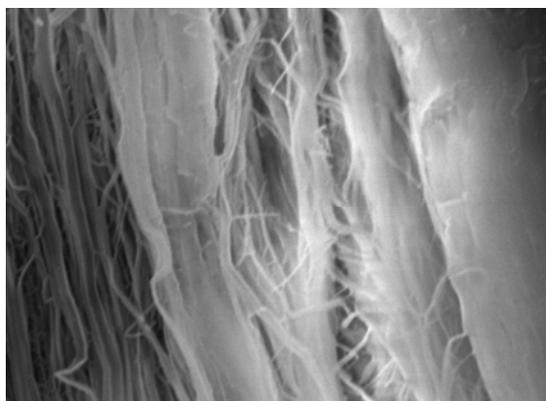
26.4 μm

5K

IME GRUPO 6

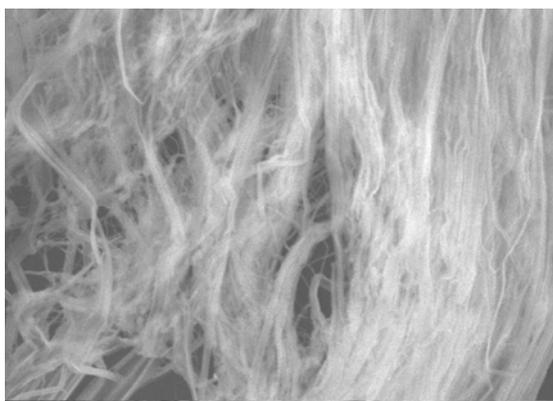
FIG. 25 – Fotomicrografia da amostra de PTFE cortada na direção transversal, após imersão em SBF.

Pode-se observar que a morfologia das amostras após o ensaio de tração não foi significativamente diferente em relação às amostras como recebidas. Na figura 26, pode-se observar o alinhamento das cadeias moleculares no sentido em que foi aplicada a força durante a realização do ensaio de tração. Na figura 27, mesmo a maioria das fibras apresentarem dispostas no sentido à 45° , pode-se observar também, o alinhamento das cadeias moleculares no sentido em que foi aplicada a força, ou seja, no sentido axial ao corpo-de-prova. Na figura 28, mesmo a maioria das fibras apresentarem dispostas no sentido transversal, pode-se observar também, o alinhamento das cadeias moleculares no sentido em que foi aplicada a força, ou seja, no sentido axial ao corpo-de-prova.



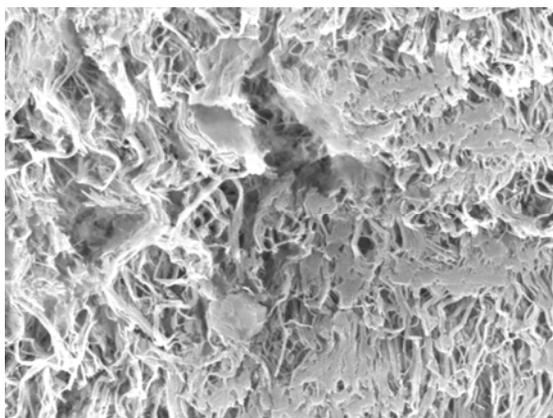
26.4 μm 5k IME GRUPO 1

FIG. 26 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção longitudinal, não-imersa em SBF.



26.4 μm 5K IME GRUPO 2

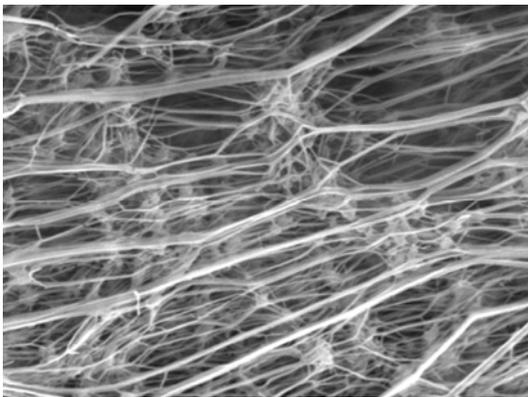
FIG. 27 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção 45°, não-imersa em SBF.



26.4 μm 5K IME GRUPO 3

FIG. 28 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção transversal, não-imersa em SBF.

Nas figuras 29 a 31, estão representadas as fotomicrografias do PTFE após ensaio de tração, do material que foi imerso em SBF. Em todas as figuras, as fotomicrografias apresentaram comportamento semelhante aos grupos apresentados pelo PTFE “como recebido”.



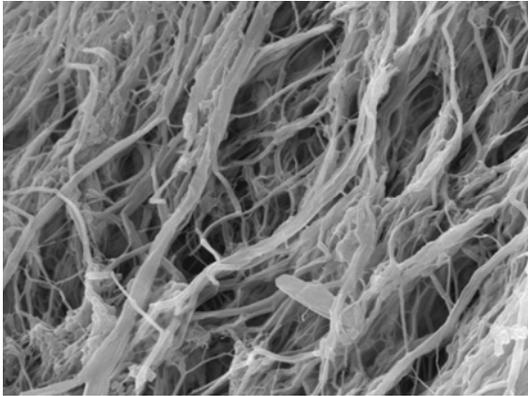
26.4 μm 5K IME GRUPO 4

FIG. 29 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção longitudinal, imersa em SBF.



26.4 μm 5K IME GRUPO 5

FIG. 30 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção 45°, imersa em SBF.



26.4 μ m 5K IME GRUPO 6

FIG. 31 – Fotomicrografia da amostra de PTFE após ensaio de tração, cortada na direção transversal, imersa em SBF.

5.7 - ANÁLISE DOS RESULTADOS DOS CORTES HISTOLÓGICOS QUE FORAM REALIZADOS

Na figura 32 são observados em 1, os defeitos ósseos já confeccionados, possuindo diâmetro de 5 mm, após realizado acesso cirúrgico através dos tecidos moles inclusive periósteo. Em 2, observa-se a colocação da membrana de PTFE medindo 6X6 mm. Em 3 e 4 são observadas as suturas realizadas nos tecidos moles.

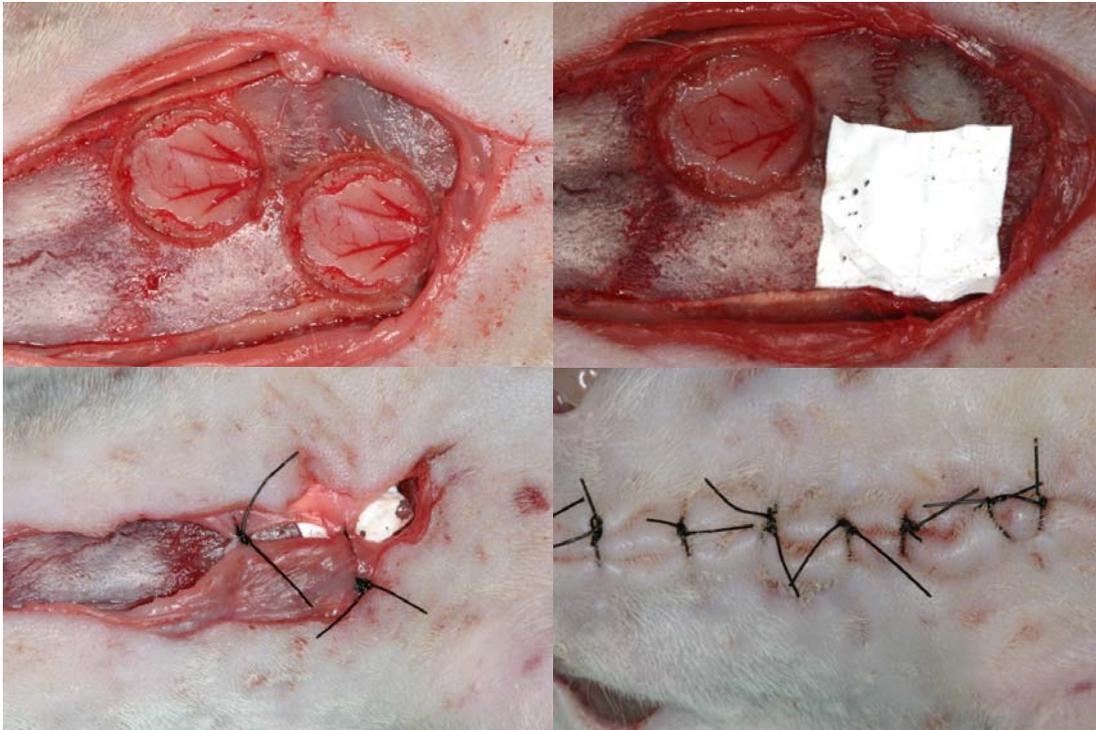


FIG. 32 – Inserção da membrana de PTFE, na região da calvária do rato do tipo wistar. Observa-se em 1, o acesso cirúrgico e os defeitos ósseos de 5 mm que foram realizados. Em 2, a colocação da membrana de PTFE 6X6 mm, em 3 e 4 é verificado a sutura dos tecidos moles.

O PTFE foi utilizado como membrana, especificamente com função de barreira, cuja finalidade foi promover a osteogênese. Porém, como o material utilizado possuía uma espessura de 0,05 mm, ficou evidenciado que em relação aos princípios propostos por Dahlin C, Linde A et al (1993), o material não cumpriu todos os requisitos necessários. Este comportamento pode ser atribuído principalmente devido à espessura ser insuficiente para apresentar resistência ao dobramento e formar arcabouço para que houvesse a promoção da osteogênese de maneira satisfatória, fato este destacado pela seta de nº 1 da Figura nº 33, para evitar este comportamento, sugere-se neste caso que seja usada uma membrana com espessura de pelo menos cinco vezes a que foi

usada no presente trabalho, ou seja, 0,25 mm. A seta nº 2 da Figura nº 33 , indica o limite entre o osso neoformado (porção inferior à seta), e o osso preexistente (porção superior à seta). Nota-se no quadro que foi ampliado que a letra “O” sinaliza a presença de grande de osteócitos indicativo de osteogênese em fase inicial. A seta nº 2 indica que mesmo ocorrendo a osteogênese sua mensuração não foi favorável, devido ao problema relacionado à espessura da membrana. A seta nº 3, na Figura 34 indica que existem espaços entre o biomaterial e o tecido conjuntivo. Apesar do material apresentar biocompatibilidade, o aumento da estabilidade da membrana garante melhor contato com o tecido conjuntivo. A existência de espaçamento favorece à eventos de processo infeccioso. A membrana com microporosidade de 0,22 µm, facilita a remoção no segundo ato cirúrgico, porém autores como Linde, indicam que a porosidade ideal é de 20-25 µm para que o tecido conjuntivo penetre na mesma, e forme uma adesão semelhante a que ocorre na interace fibras do ligamento periodontal e cimento. Entretanto não fica descartada a possibilidade de se utilizar a membrana com microporosidade de 0,22 µm, porém a mesma deve possuir a espessura já mencionada de 0,25 mm. A seta nº 4, na Figura 35 indica o local que a existe tecido conjuntivo saudável sem a presença de reação de corpo estranho e ou processo inflamatório agudo, tendo em vista o corte histológico verificado ter sido obtido a partir do animal sacrificado com 15 dias após a inserção da membrana de PTFE, afasta-se a hipótese de se encontrar células, como neutrófilos indicativo de processo inflamatório agudo. No corte também não fica evidenciado a presença de linfócitos, demonstrando que o

processo não apresenta resposta de corpo estranho. Isto se deve ao PTFE, possuir excelente inércia química o que lhe confere uma extraordinária biocompatibilidade.

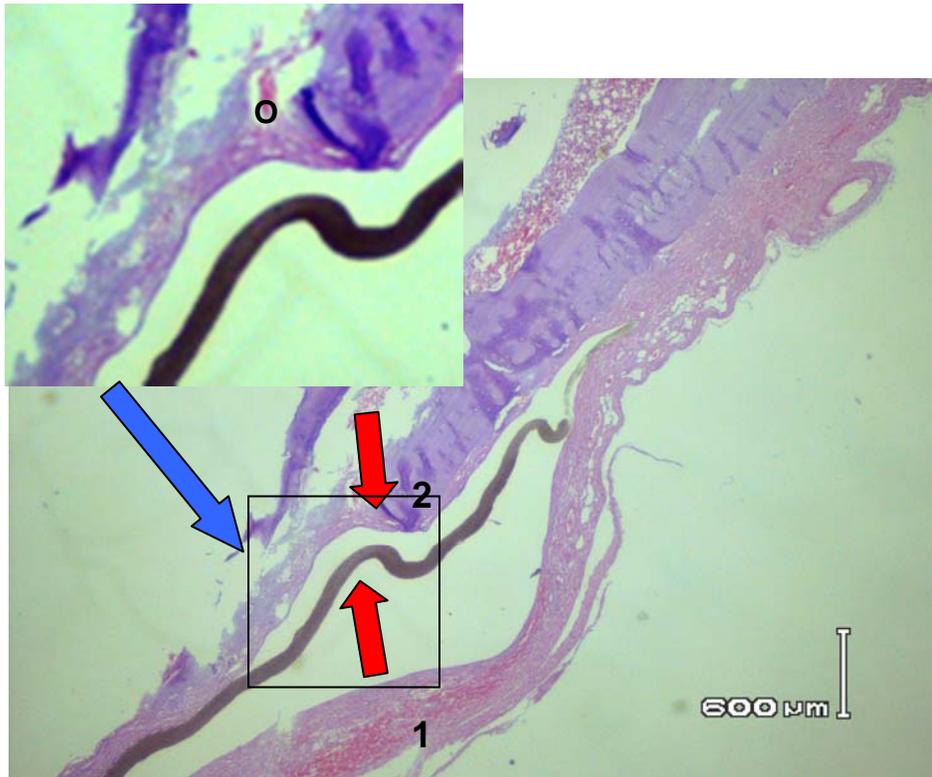


FIG. 33 – Observa-se indicada pela seta 1, a falha que ocorreu, onde houve o colapamento da membrana de PTFE, demonstrando que a osteogênese foi inadequada. Na seta 2, é observado o limite entre o osso compacto preexistente e a região de neoformação óssea. No quadro ampliado podemos observar grande quantidade de osteócito indicativos de osteogênese na fase inicial.



FIG. 34 – A seta 3 evidencia o espaço presente entre o tecido conjuntivo e a membrana de PTFE.



FIG. 35 – A seta 4 indica o tecido conjuntivo saudável em contato com a membrana de PTFE (biocompatibilidade)

6 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no seguinte trabalho, mostram que:

- 1) Os resultados obtidos pela análise histológica confirmou a excelente biocompatibilidade que o material apresenta;
- 2) O material utilizado no presente trabalho apresentou deficiência em relação à aplicação da técnica de ROG, regeneração óssea guiada, pois a membrana de PTFE utilizada possui uma espessura de 0,05 mm, o que levou ao colapso da mesma durante o procedimento de sutura dos tecidos moles;
- 3) A porosidade de 0,22 μm , que a membrana apresenta, contribuiu para a facilidade de sua remoção para análise histológica, porém justamente pela ausência de aderência ao tecido conjuntivo, ocorreu micromovimentos da membrana, levando à instabilidade da mesma;
- 4) Para a preparação da membrana, devido à anisotropia mecânica evidenciada pelo resultado do ensaio tração, deve-se realizar o corte do material no sentido longitudinal ao rolo recebido, pois neste sentido há maior resistência mecânica;

7 - SUGESTÕES

Ficou evidenciado que a espessura da membrana utilizada não foi suficiente para manter o espaço da ferida cirúrgica, uma sugestão seria utilizar uma espessura de 0,25 mm, ou seja, cinco vezes a que foi utilizada.

Foi observado que a inserção do PTFE pelo período de 6 semanas a 39°C, no hospedeiro, leva a transformação de fase, passando o PTFE de uma estrutura cristalina triclinica, ou seja, menos simétrica, para uma estrutura pseudo hexagonal, mais simétrica, portanto sugere-se que a melhora das propriedades mecânicas da membrana de PTFE evidenciadas pelos resultados obtidos pelo ensaio de tração tenha ocorrido pela transformação de fase descrita.

Para confirmação do exposto no parágrafo anterior, sugere-se a realização de ensaio de difração de Rx.

Quanto à porosidade observa-se na literatura trabalhos como os de Linde & Zelin, 1996, que a porosidade entre 20 e 40 μm , apresenta bom resultado, pois entre estes valores ocorre a integração tecidual, levando à estabilidade da membrana.

Realizar trabalhos futuros avaliando a histomorfometria de tecido ósseo para a técnica de ROG, utilizando membranas com porosidade de 20 μm e 40 μm .

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARZILAY I, GRASER GN, CATON J, SCHENKLE G. **Immediate implantation of pure titanium threaded implants into extraction sockets.** J Dent Res: 67: 234. 1988.

BARZILAY I, GRASER GN, IRANPOUR B, NATIELLA JR. **Immediate implantation of a pure titanium implant into an extraction socket: report of a pilot procedure.** Int J Oral Maxillofac Implants: 6: 277–284. 1991.

BECK LS, DEGUZMAN L, LEE WP ET AL. **TGF- β 1 induces bone closure of skull defects.** J Bone Miner Res; 6: 1257-1265. 1991.

BECKER W, BECKER BE, POLIZZI G, BERGSTRÖM C. **Autogenous bone grafting of bone defects adjacent to implants placed into immediate extraction sockets in patients: A prospective study.** Int J Oral Maxillofac Implants: 9: 389–396. 1994.

BECKER W, DAHLIN C, BECKER BE, LEKHOLM U, VAN STEENBERGHE D, HIGUCHI K, KULTJE S. **The use of e-PTFE barrier membranes for bone promotion around titanium implants placed into extraction sockets: a prospective multicenter study.** Int J Oral Maxillofac Implants: 9: 31–40. 1994.

BECKER W, LEKHOLM U, DAHLIN C, BECKER B, HIGUCHI K, VAN STEENBERGHE D. **Immediate placement of titanium implants into fresh extraction sockets protected by e-PTFE membrane barriers. A clinical multicenter study.** Int J Oral Maxillofac Implants: 9: 31–40. 1994.

BECKER W, DAHLIN C, LEKHOLM U, BERGSTROM C, VAN STEENBERGHE D, HIGUCHI K, BECKER BE. **Five-year evaluation of implants placed at extraction and with dehiscences and fenestration defects augmented with ePTFE membranes: results from a prospective multicenter study.** Clin Implant Dent Relat Res: 1: 27–32. 1999.

BILLMEYER F.W. **Textbook of Polymer Science**, New York. NY, 1982.

BOYNE P.J. **Regeneration of alveolar bone beneath cellulose acetate filter implants.** J Dent Res, V 43, 827-831. 1964.

BRÄGGER U, HÄMMERLE CHF, LANG NP. **Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration. II. A crosssectional study comparing the clinical outcome 1 year after immediate to standard implant placement.** Clin Oral Implants Res: 7: 268–276. 1997.

BRANEMARK P-I, HANSSON B-O, ADELL R ET AL. **Osteointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period.** Stand J Plast Reconstr Surg (Suppl.); 16: 1-132. 1977.

Brunelle D. J. **Makromolekular Chemie**, New York, 1993.

BUSER D, BRÄGGER U, LANG NP, NYMAN S. **Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration.** Clin Oral Implants Res: 1: 22–32. 1990.

BUSER D, DULA K, HIRT HP, SCHENK RK. **Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes. A clinical study in 40 partially edentulous patients.** Int J Oral Maxillofac Surg: 54: 420–432. 1996.

BUSER D, DULA K, LANG NP, NYMAN S. **Long-term stability of osseointegrated implants in bone regenerated with the membrane technique.** Clin Oral Implants Res: 7: 175–183. 1996.

CALLISTER, W. D., **Materials Science and Engineering – an Introduction**, 4^a ed, New York: John Wiley & Sons, 2001.

CAMPBELL J.B., BASSETT C.A.L. **The Surgical application of monomolecular filters (Millipore) to bridge gaps in peripheral nerves and to prevent neuroma formation.** Surg Forum, V 7, 570-580. 1956.

CARBALLO J., FERREIROS C.M., CRIADO M.T. **Influence of blood proteins in the in vitro adhesion of Staphylococcus epidermidis to teflon, polycarbonate, polyethylene and bovine pericardium.** Rev. Esp. Fisiol. 47:201-208. 1991.

CHEN ST, DAHLIN C. **Connective tissue grafting for primary closure of extraction sockets treated with an osteopromotive membrane technique: surgical technique and clinical results.** Int J Periodontics Restorative Dent: 16: 348–355. 1996.

CRUZ M., REIS C.C., SILVA V.C. **Utilização da Allumina® (Al₂O₃) como filtro biológico na regeneração guiada dos tecidos.** Odontol Mod. V18, N 5, p 20. 1991.

DAHLIN C, LINDE A, ROCKERT H. **Stimulation of early bone formation by the combination of an osteopromotive membrane technique and hyperbaric oxygen.** Stand J Plast Reconstr Hand Surg; 27: 103-108. 1993.

DATTELBAUM D.M, BROWN E.N. **The role of crystalline phase on fracture and microstructure evolution of polytetrafluoroethylene (PTFE).**

Polymer 46, 3056-3068. 2005.

DATTELBAUM D.M., RAE P.J. **The properties of poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) in compression.** Polymer 45. 7615-7625. 2004.

DAYRENS ET AL. **Aspecte actuel de l'inflammation. Le processus inflammatoire.** Sem. Hop. Paris, 56, 791 – 96.1980.

DESILETS ET AL. **Fundamental aspects of polymer biocompatibility with bone.** Polymer, Mt. Eng., 62: 719-722. 1990.

FABRIZIUS-HOMAN D.J., COOPER S.L. **A comparison of the adsorption of three adhesive proteins to biomaterial surfaces.** J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 3:27-47. 1991.

GOTTLOW J., NYMAN S., KARRING T., LINDHE J. **New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration.** J Clin Periodontol, V 11, N 8, 494-503. 1984.

HEDNER, E, LINDE A. **Bone morphogenetic protein (BMP) implant in rat mandibular defects, covered by osteopromotive membranes.** Eur J Oral Sci; 103: 236-241. 1994.

J BRANDRUP, E.H. **Physical constants of fluoropolymers.** Polymer Handbook, pag. V.31, John Wiley – New York. 1999.

JUNG R.E, HÄMMERLE C.H.F. **Bone augmentation by means of barrier membranes.** J. Periodontol 2000, v.33, 36-53. 2003.

KAHNEMBERG K.E. **Restoration of mandibular jaw defects in the rabbit by subperiosteally implanted Teflon mantle leaf.** J Oral Surg, V 8, N 6, 449 – 456. 1979.

KOROBELNIK J.F., D'HERMIES F., DUCOURNEAU D., LEGEAS J.M., CHAUVAUD, HOANG-XUAN D. T., G RENARD. **e-PTFE as scleral buckling episcleral implants: An experimental and histopathologic study.** J. Biomed. Mater. Res. 48:807-813. 1999.

KOVEKER G.B., BURKEL W.E, GRAHAM L.M., WAKEFIELD T.W, STANLEY J. **Endothelial cell seeding of expanded polytetrafluoroethylene vena cava conduits: effects on luminal production of prostacyclin, platelet adherence, and fibrinogen accumulation.** J. Vasc. Surg. 7:600-605. 1988.

LINDE A, ALBERIUS P, DAHLIN C, BJURSTAM K, SUNDIN Y.
Osteopromotion. A soft tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. J Periodontol; 64: 1116 - 1128. 1993.

LINDE A, HEDNER E. **Recombinant bone morphogenetic protein enhances bone healing, guided by osteopromotive e-PTFE membranes.** An experimental study in rats. Calcif Tissue Int; 56: 549-553. 1995.

LINDE A, THOREN C, DAHLIN C, SANDBERG E. **Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: an experimental study in rat.** J Oral Maxillofac Surg; 51: 892-897. 1993.

LING L. J. ET AL. **The influence of membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: Clinical and microbiological aspects.** J Periodont. Res., 38, 57-63. Blackwell Munksgaard. 2003.

MACTURK K.S., EBY R.K., FARMER B.L. **Kinetic aspects of the IV-II phase transformation in PTFE.** Polymer; V 37, N 22, 4999-5003. 1996.

MANO & MENDES, **Introdução a polímeros,** Edgard Blücher Ltda, Rio de Janeiro, 1999.

MANO, E. B. **Polímeros como Materiais de Engenharia**, Edgard Blücher Ltda,
Rio de Janeiro, 1991.

MOYNIHAN RE. **The molecular structure of perfluorocarbon polymers. Infrared studies on polytetrafluoroethylene.** J Am Chem Soc; 81: 1045-50. 1959.

MURRAY G, HOLDEN R, ROACHLAU W. **Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity.** Am J Surg, V 93, 385-389. 1957.

NYMAN S, LINDHE J, KARRING T, RYLANDER D. **New attachment following surgical treatment of human periodontal disease.** J Clin Periodontol, V 9, N 4, 290 – 296. 1982.

PANCHALINGAM V., POON B., HUO H.-H., SAVAGE C.R., TIMMONS R.B., EBERHAR R.C. **Molecular surface tailoring of biomaterials via pulsed RF plasma discharge.** J. Biomater. Sci. Polm. Edn. 5:131-145. 1993.

SALONEN J.I., PERSSON G.R. **Migration of epithelial cells on materials used in guided tissue regeneration.** J. Periodontal Res. 25:215-221. 1990.

SANDBERG E, DAHLIN C, LINDE A. **Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats.** J Oral Maxillofac Surg; 51: 1106 - 1114. 1993.

SEYMOUR, R. B. **Polymer and Chemistry: An Introduction**, 3rd edition, Marcel Dekker, Inc. New York, 1992.

SHEA JJ ET AL. **Teflon piston operation for otosclerosis.** Arch. Otololatyngol., 76, 516-521. 1962.

SHIBL A.M., RAMADAN M.A., TAWFIK A.F. **Differential inhibition by clindamycin on slime formation, adherence to teflon catheters and hemolysin production by Staphylococcus epidermidis.** J. Chemother. 6:107-110. 1994.

SLUTSKII, L. I. **Contemporary ideas about the role of connective tissue in reparative reactions (biochemical an mechanochemical aspects of the problem)**, in Pharmacological Regulation of Regeneration (G. L Bilitck, ed.) Yoshkar-Ola , pp. 15-26. 1983.

TAKATA ET AL, **Migration of osteoblastic cells on vários guided bone regeneration membranes.** Clin. Oral Impl. Res 13, 332-338. 2001.

TEMPRO P. J., NALBADIAN J. **Colonization of retrieved polytetrafluoroethylene membranes: morphological and microbiological observations.** J. Periodont. 64: 164-168. 1993.

TONETTI M.S. ET AL. **Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in intrabony defects. A preliminary retrospective study.** J. Clin Periodontol, 22, 229-234. 1995.

VAN DER VEGT W., VAN DER MEI, H.C. WOSTEN H.A., WESSELS J.G., BUSSCHER H.J. **A comparison of the surface activity of the fungal hydrophobin SC3p with those of other proteins.** Biophys. Chem. 57:253-260. 1996.

WOSTEN, H.A. SCHUREN F.H., WESSELS J.G., **Interfacial self-assembly of a hydrophobin into an amphipathic protein membrane mediates fungal attachment to hydrophobic surfaces.** EMBO J. 13:5848-5854. 1994.

WOZNEY JM. **The bone morphogenetic protein family and osteogenesis.** Mol Reprod Dev; 32: 160-167. 1992.

WILLIAMS J.G., **Fracture Mechanics of Polymers**, John Wiley & Sons, New York, 1987.

ZARDENETA G., MUKAI H., MARKER V., MILAM S.B., **Protein interactions with particulate Teflon: implications for the foreign body response.** J. Oral Maxillofac. Surg. 54 :873-878. 1996.

ZELLIN G, GRITLI-LINDE A, LINDE A. **Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes. An experimental study in rats.** Biomaterials; 16: 601-609. 1995.

ZELLIN G, LINDE A. **Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats.** Biomaterials V.17, N.07, 695 - 702. 1996.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)