

UNIVERSIDADE POSITIVO
MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA CLÍNICA

ESTUDO EXPERIMENTAL COM O USO DE PELÍCULA ALTERNATIVA DE
TEFLON NÃO ABSORVÍVEL EM DEFEITO PERIODONTAL

ROBERTO NANAMI

Curitiba

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE POSITIVO

MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA CLÍNICA

**ESTUDO EXPERIMENTAL COM O USO DE PELÍCULA ALTERNATIVA DE
TEFLON NÃO ABSORVÍVEL EM DEFEITO PERIODONTAL**

ROBERTO NANAMI

Dissertação apresentada à Universidade Positivo como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, pelo programa de Mestrado Profissional em Odontologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Allan Fernando Giovanini

Co-orientador: Prof. Dr. João Cesar Zielak

Curitiba

2010

Dados Internacionais de catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da Universidade Positivo- Curitiba – PR

N174 Nanami, Roberto.

Estudo experimental com o uso de película alternativa de Teflon não absorvível em defeito periodontal / Roberto Nanami. — Curitiba : Universidade Positivo, 2010.

37 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Positivo, 2010.

Orientador : Prof. Dr. Allan Fernando Giovanini

1. Periodontia. 2. Regeneração tecidual guiada. I.

Título.

CDU

616.311.2-002



UNIVERSIDADE
POSITIVO

PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
E P E S Q U I S A

Programa de Mestrado Profissional em Odontologia Clínica

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 26 de fevereiro de 2010, considerou o candidato **ROBERTO NANAMI** aprovado.

PROF. DR. ALLAN FERNANDO GIOVANINI

PROF. DR. MARCO ANTONIO DE OLIVEIRA FILHO

PROFa. DRa TATIANA MIRANDA DELIBERADOR

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Rosa Elvira Nanami e Paulo Goro Nanami pelo apoio, carinho, amizade dentre todos esses anos e por contribuírem com minha formação moral.

AGRADECIMENTO

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

À todos os mestres que sem eles não estaria aqui.

Ao meu Orientador Allan Fernando Giovanini pelo apóio, paciência, companheirismo e sua vasta experiência e conhecimento em histopatológicos.

Ao Co-orientador Prof. Dr. João Cesar Zielak uma pessoa super amiga, que sempre me deixou à vontade e contribuiu com muita valia para a realização deste trabalho.

Aos demais Professores que colaboraram com a minha formação

A Prof. Dra. Tatiana Miranda Deliberador e seus conhecimentos em periodontia.

O Prof. Dr. Celso Yamashita e suas técnicas e estilo samurai com seus conhecimentos cirúrgicos.

Aos meus amigos queridos Paola Cristine Valença e Rodrigo Gomes pelo apoio a realizar este sonho.

Aos meus colegas do curso pela boa convivência e parceria Diogo Godoy Zanicotti, Fernanda Matsubara, Ulisses Almeida e Felipe Richuv.

Aos funcionários do biotério pela colaboração das cirurgias nos animais

Ao funcionário do laboratório de histopatologia Elieser

Nanami R. Estudo experimental com o uso de película alternativa de teflon não absorvível em defeito periodontal.[Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Positivo; 2010.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influencia do uso de película alternativa de teflon não absorvível para regeneração tecidual guiada em defeitos periodontais em ratos. Foram utilizados 20 ratos machos, adultos (*Rattus norvergicus*, WISTAR), divididos em 2 grupos com monitoramento morfológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura em 1, 3, semanas de acompanhamento pós operatório. Foi criado um defeito ósseo próxima a região mentoniana na mandíbula dos animais por meio de uma broca esférica, e o tratamento diferenciado a cada grupo foi; coágulo de sangue, película alternativa de teflon. Os resultados demonstraram mineralização em todos os casos analisados, contudo os espécimes que receberam teflon mostraram separação nítida dos tecidos reparadores entre a porção interna e externa do defeito, mas também demonstraram diferenças na aposição óssea e sentido das fibras colágenas contribuindo para um ineficaz reparo das fibras de sharpey.

Palavras-chave:

Biomaterial, Regeneração Tecidual Guiada, regeneração óssea

Nanami R. Estudo experimental com o uso de película alternativa de teflon não absorvível em defeito periodontal.[Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Positivo; 2010.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate an alternative film of teflon for the use as guided tecidual regeneration in periodontics defects in rats. It used 20 male, adult rats (*Rattus norvergicus*, WISTAR), that was divided in 2 different groups that was checked by light and electronic microscopy in 1, 3 post-operative weeks. A bone defect was created in the jaw of the animals with a spherical drill, and the treatment differentiated to each group was created; blood clot and alternative film of teflon as guided tecidual regeneration. The results demonstrated mineralization among all the groups analyzed, but specimens which received teflon demonstrated a clear separation between the internal and external portion of the defect, however it has demonstrated differences in the boné deposition and frame of the collagen distribution in this way contributing for an inefficacious repair of staple fibres of sharpey

Keywords:

Biomaterial; guided tissue regeneration; bone regeneration

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Regeneração Tecidual Guiada (RTG).....	03
2.2. Membranas	05
2.3. Politetrafluoretileno.....	07
3. PROPOSIÇÃO	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Amostragem	13
4.2. Procedimentos cirúrgicos.....	13
4.3. Procedimentos laboratoriais	17
4.4. Microscopia eletrônica de varredura.....	18
5. RESULTADOS	19
5.1. Microscopia de luz (coloração HE), controle (coagulo),1 semana	19
5.2. Microscopia eletrônica de varredura, controle (coagulo),1 semana.....	20
5.3. Microscopia de luz (coloração HE), controle (coagulo), 3 semana.....	21
5.4. Microscopia eletrônica de varredura, controle (coagulo), 3 semana.....	22
5.5. Microscopia de luz (coloração HE),película PTFE,1 semana.....	23
5.6. Microscopia de luz (coloração HE),película PTFE,1 semana.....	24
5.6. Microscopia de luz (coloração HE),película PTFE,3 semana.....	25
6. DISCUSSÃO.....	27
7. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A proposta do uso de barreiras físicas à base de materiais aloplásticos visa constituir um ambiente impermeável à migrações celulares indesejáveis, como epitélio e células do tecido conjuntivo, que possam comprometer o reparo e cicatrização tecidual. Para evitar tais condições, algumas alternativas como a regeneração tecidual guiada (RTG) já se encontram consagradas na literatura, e em geral vem obtendo resultados cirúrgicos satisfatórios (Usher, 1959; Scapini e Mathog, 1989; Pennisi, 1962).

A regeneração tecidual guiada consiste em um tratamento para defeitos ósseos em periodonto de inserção e proteção, onde por meio de uma barreira física (membrana) sobre o defeito periodontal, tenta-se proteger o tecido perirradicular impedindo que o tecido conjuntivo e o epitélio gengival entrem em contato com a superfície radicular dentária, contribuindo para um possível potencial osteogênico, cementogênico e fibrogênico e conseqüente regeneração do periodonto de inserção (Nyman, *et al.*, 1982; Gottlow, *et al.*, 1984; da Silva Pereira *et al.*, 2000; Maijzoub *et al.*, 1999).

Existem diversas membranas que podem ser utilizadas para a realização da RTG e podem ser classificadas em absorvíveis e não absorvíveis. O teflon (politetrafluoretileno - PTFE) é uma membrana não absorvível que apresenta algumas características ideais para sua utilização, como por exemplo, ser inerte e não desencadear reação inflamatória por ação de um corpo estranho. Contudo, uma de suas desvantagens é a realização de dois tempos cirúrgicos, um para a colocação da membrana e promoção do reparo periodontal e o segundo para a remoção da mesma (Schallhorn e McClain, 1988; Lekovic *et al.*, 1990).

Embora existam inúmeros trabalhos condizentes ao uso e a avaliação da influência isolada do Teflon, poucos estudos são descritos sobre defeitos periodontais por meio de uma análise histológica e por microscopia eletrônica de varredura sob ação de um composto de politetrafluoretileno isolado. O objetivo do trabalho foi analisar histologicamente e por microscopia eletrônica de varredura, o reparo tecidual periodontal utilizando uma película alternativa de teflon como RTG.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Princípios da Regeneração tecidual guiada (RTG)

Em 1976, Melcher ao avaliar o novo conteúdo celular que povoava a superfície radicular exposta, evidenciou a presença de diversos conteúdos celulares, dentre eles células do epitélio gengival, osteoblastos alveolar e fibroblastos derivados do ligamento periodontal. O autor enfatizou que a presença de células epiteliais poderia comprometer a regeneração periodontal, uma vez que essas células proliferariam e se acomodariam sobre a superfície radicular, o autor considerou que o tipo de cicatrização do defeito periodontal é determinado pelo primeiro tipo celular que repopulava a superfície radicular.

Em 1982, Nyman *et al.* utilizando-se da averiguação de Melcher (1976), propôs a utilização de uma barreira física de filtro millipore para recobrir a área cirúrgica de defeitos periodontais em macacos, com o objetivo de evitar a migração epitelial e conseqüente retração de área periodontal. Nascia-se neste período o conceito da regeneração tecidual guiada (RTG).

Gottlow *et al.* (1984) ainda baseando-se nos achados anteriores de Melcher (1976) e Nyman *et al.* (1982) sugeriram, após experimento e constatação histológica em defeitos em macacos, que algumas células derivadas do periodonto possuíam a capacidade de produzir satisfatório reparo tanto de cemento, como ligamento e osso. Contudo, os autores enfatizaram que para produzir um reparo satisfatório, as células derivadas do periodonto

deveriam entrar, primeiramente, em contato com a área do defeito produzido ou patológico gerando, desta forma, um maior interesse pelas chamadas barreiras ou membranas para a Regeneração Tecidual Guiada.

A RTG é uma técnica em que se utiliza barreira física biodegradável ou não, para que o coágulo sanguíneo formado no interior de um defeito cirúrgico não se disperse, nem seja povoado por células do epitélio ou pelo tecido conjuntivo derivado da lâmina própria no período pós-operatório ou no processo de reparo periodontal (Scantlebury, 1993). Este fato facilita a uma proliferação celular do ligamento periodontal na superfície radicular, permitindo a neoformação de um novo aparato de inserção periodontal do dente (osso alveolar, ligamento periodontal e cimento) (Gottlow, 1984; Becker *et al.*, 1987).

2.2 Membranas utilizadas em procedimentos de regeneração tecidual guiada - RTG

2.2.1 Tipos de membranas

Entre as membranas utilizadas nos procedimentos de RTG podem ser não-absorvíveis (1ª geração) ou absorvíveis (2ª geração). As membranas não-absorvíveis de maior utilização em procedimentos regenerativos são: celulose, politetrafluoretileno expandido. Uma vez que não são absorvíveis, estas membranas necessitam de um segundo tempo cirúrgico para sua remoção.

Já as membranas absorvíveis eliminam a necessidade da remoção cirúrgica e devem permanecer intactas o tempo suficiente para guiar os tecidos durante o reparo (Gottlow, 1993). Entre as membranas absorvíveis mais utilizadas na prática cirúrgica são: colágeno, polímeros derivados de ácido láctico e glicólico.

As membranas são biomateriais sintéticos ou naturais, com a função de complementar ou substituir uma estrutura viva que é fisiologicamente funcional, devendo ser biocompatível com o tecido que irá recebê-lo (Campos e Sipes, 1993).

Para uma eficiente ação das membranas utilizadas para a RTG é necessário que a mesma apresente algumas propriedades essenciais, dentre elas: necessidade de apresentar boa propriedade de atividade biológica e biocompatibilidade, ser capaz de promover exclusão celular evitando, desta forma, migração celular indevida, capacidade de constituir manutenção do espaço, desencadear integração à atividade tecidual e possuir facilidade de manuseio. A ausência de um ou mais fatores de exigência poderá ser a razão para o desempenho insatisfatório na regeneração de defeitos periodontais (Tatakis e Trombelli, 2000).

A concepção de uma membrana cuja topografia superficial faz-se capaz de repelir células epiteliais sobre o leito cirúrgico radicular e guiar ou estimular o crescimento de células ósseas, seria o modelo de membrana ideal. O desenvolvimento de tal membrana para a RTG poderia ser benéfico na aceleração da cicatrização e regeneração óssea, levando a resultados clínicos previsíveis e satisfatórios (Owen *et al.*, 2005 Augthun, 1995; Pineda *et al.*, 1996).

Para uma boa ação biológica, a utilização das membranas como biomaterial além de possuir uma boa capacidade seladora, deve possuir natureza química e física inertes, mecanicamente resistentes, deve ser passíveis de esterilização, não ser químico-fisicamente modificados pelo tecido humano e deve estar disponível em apresentação comercial viável e conveniente para a utilização clínica sem causar reações hipersensíveis, alérgicas ou carcinogênicas (Jakus *et al.*, 2008).

Quanto à escolha para a utilização de uma membrana para um tratamento de defeito periodontal, Barboza (1999), Machtei (2001) e Chen *et al.* (2003), preconizam que a utilização de membranas absorvíveis podem apresentar vantagens sobre as membranas não absorvíveis. Dentre os aspectos importantes para esta tese destaca-se o fato de que estas barreiras absorvíveis não criam pontos de estresse e não apresentam corrosão metálica como, por exemplo, os materiais metálicos, e ainda suprem a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para remoção da membrana.

Embora a ação biológica do PTFE cause controvérsia na literatura, este material passou a ser utilizado em associação a diversos materiais de preenchimento ósseo, apresentando até, resultados clínicos superiores àqueles obtidos com a técnica de regeneração tecidual guiada (RTG) não combinada a associação de enxertos ósseos com as mesmas (Schallhorn e McClain, 1988; Lekovic *et al.*, 1989; Anderegg *et al.*, 1991).

É digno de nota que existam alguns cuidados a serem tomados em relação às membranas usadas nas técnicas de RTG. Por exemplo, a espessura das mesmas deve ser diferente dependendo da sua hidratação, ou seja, estando secas deverá ser de 0,2 mm, quando úmidas devem apresentar 0,4 mm de espessura. Devem ser semipermeáveis

contendo poros de aproximadamente 0,004 μm . Este diâmetro é importante pois impede o trespassse de células epiteliais e conjuntivas, mas permitem a permeabilidade de nutrientes, moléculas e íons que constituem fatores essenciais para a neoformação óssea (Wang *et al.*, 1995).

Na periodontia, a utilização de polímeros como o teflon (PTFE) pode indicar um ganho de confiabilidade no tratamento de defeitos periodontais, porém poucas membranas atendem a todos os critérios necessários para a RTG. (Furukawa, 2000).

Nesta semântica, da Silva Pereira *et al.* (2000) utilizaram-se de cães para comparar, histológica e histomorfometricamente, a cementogênese na cicatrização de defeitos de deiscência dentárias tratadas com regeneração tecidual guiada. Para o delineamento do estudo, os pesquisadores utilizaram membranas não absorvíveis de PTFEe (e = expandido) bem como membranas absorvíveis de ácido polilático, comparados ao controle (somente retalho e raspagem). Os resultados encontrados pelos autores mostraram uma maior quantidade de tecido cementário nos sítios tratados com RTG, independente do tipo de membrana que foi utilizado, quando comparado com o controle. Embora o PTFEe tenha mostrado um resultado ligeiramente superior quando comparado ao grupo tratado com a membrana de ácido polilático, semelhanças estatísticas não permitiram quaisquer conclusões mais apuradas entre os materiais quanto a cementogênese, exceto na observação que membranas não absorvíveis podem resultar em um pouco mais de área óssea.

Segundo Cortellini e Tonetti (2000), o uso da RTG demonstra resultados favoráveis à regeneração periodontal quando aplicados aos defeitos de furca grau II. Para tal evidência, esses autores relatam um importante trabalho de Blumenthal, em 1993, que

reportou ganhos importantes do nível clínico de inserção horizontal e vertical do ligamento periodontal com uso de diferentes membranas de politetrafluoretileno-expandido (PTFEe), além de produzir um completo fechamento de furca em até 67% dos casos utilizado.

A eficácia da RTG por meio do uso de membrana de PTFEe foi averiguada histologicamente por Laurell *et al.* (2006), em *loci* que anteriormente apresentavam bolsas periodontais. Os autores evidenciaram que a dimensão e a composição do ligamento periodontal neoformado apresentavam reparo satisfatório após seis meses da cirurgia. Esses resultados foram delineados após comprovarem similar proporção de fibroblastos, vasos sanguíneos e fibras colágenas presentes nos ligamentos periodontais regenerados na pesquisa em comparação a ligamentos periodontais intactos.

Dahlin *et al.* (1988), destacou o conceito de regeneração tecidual guiada em osso, com o uso de membrana não absorvível de PTFEe na regeneração de defeitos ósseos corticais da mandíbula de ratos. Os autores observaram que defeitos recobertos por duas membranas, de maneira que o defeito ficasse entre as membranas, mostraram melhores resultados quanto à regeneração óssea, em contrapartida aos obtidos quando as membranas não foram utilizadas.

2.3 Politetrafluoretileno (PTFE)

O Politetrafluoretileno (PTFE) (figura 1) é considerado um dos mais inertes materiais conhecidos, pois uma cadeia de carbono extremamente longa e protegida por uma

densa cadeia de átomos de flúor. O mesmo apresenta-se como um composto que corresponde a um polímero de fórmula molecular $[-CF_2- CF_2-]_n$, altamente inerte, de baixa tensão superficial, hidro-repelente e insolúvel por componentes orgânicos e inorgânicos (Lekovic *et al.*, 1990).

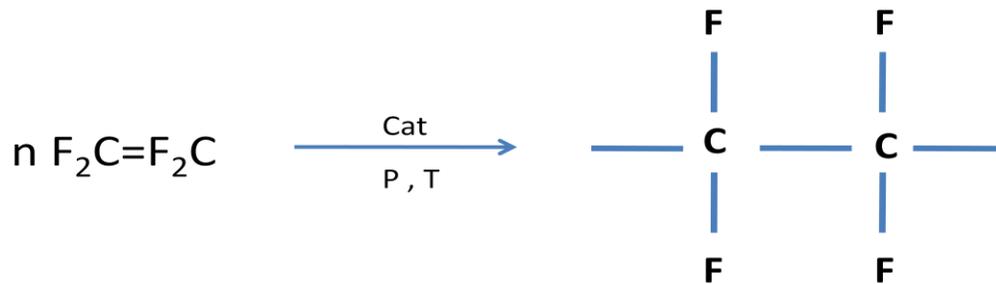


Figura 1 – Reação de formação do Teflon (politetrafluoretileno).

Segundo Ferreira *et al.* (2008), o politetrafluoretileno por possuir um alto ponto de fusão (acima de 250°C), não sofre alterações na autoclavagem, possui incomum tenacidade, é insolúvel a grande gama de solventes enzimáticos, possui resistência ao ataque químico, e um módulo de elasticidade ($E = 0,5 \text{ GPa}$) que se assemelha ao tecido fibroso e ósseo.

Nessa semântica, Patrocínio e Patrocínio (2001), descrevem que enxertos utilizando o PTFEe (politetrafluoretileno expandido) incitam uma colonização celular no mesmo, sem a formação de encapsulamento ou de reação de hipersensibilidade tipo IV. Sendo, portanto, o implante aloplástico de menor comprometimento enxerto-hospedeiro conhecido até o momento. Os autores ainda adicionam que o PTFEe traz vantagens por ser poroso, facilitar a migração celular, apresentar fácil manipulação, e ser bem tolerado pelo organismo humano.

2.3 Estudos em animais

Caffesse *et al.* (1994), criaram defeitos de furca Classe II em 9 cães, e avaliaram o efeito das membranas de ácido glicólico e ácido lático e membrana não absorvível de PTFE (GORE-TEX®) quanto a biocompatibilidade, características de reabsorção, e a capacidade de suporte de regeneração periodontal. Após seis meses de cicatrização, observou-se que as duas barreiras foram efetivas na prevenção da migração apical do epitélio juncional e na formação de tecido ósseo e nova inserção. O processo de absorção das membranas iniciou-se após quatro semanas de monitoramento, sendo que as mesmas ainda persistiam após a 24ª semana. Os autores não identificaram maiores diferenças na utilização deste tipo de membrana absorvível quando comparados grupo controle (coágulo).

Monteiro (2009) avaliou a biocompatibilidade do PTFE e polímero de poliuretano em implantes subcutâneos em ratos Wistar machos em 7, 14, 21, 28 e 70 dias pós-operatório. Para ambos os grupos, a primeira análise histológica mostrou a presença de moderado infiltrado inflamatório, que era predominantemente polimorfonuclear. Houve também presença de edema, que foi gradualmente substituído por tecido de granulação, culminando em uma cápsula fibrosa circundante aos materiais pesquisados. Os autores constataram que embora o PTFE e o polímero de poliuretano possam ser considerados como biocompatíveis, a degradação do material foi considerada lenta, fato que poderia comprometer o resultado do reparo quanto à restituição da morfostase tecidual.

Com a finalidade de comprovar a efetividade da membrana de PTFE, Crump *et al.* (1996), fez, por meio de análise histológica, a comparação da regeneração craniofacial

em 30 ratos utilizando três tipos de membrana como: a politetrafluoretileno expandido (PTFEe), politetrafluoretileno denso (PTFEed) e membrana absorvível de ácido poliático.

Os autores demonstraram que o grupo que foi tratado com a membrana de PTFEd exibiu maior neoformação óssea tanto na segunda quanto na terceira semana pós operatória, demonstrando um maior potencial no reparo de defeitos ósseos quando comparada a membrana de PTFEe, que também demonstrou ser mais efetiva que a de ácido poliático.

Por meio de análise histológica e radiográfica, Zhang *et al.* (2010), analisaram a ação de citotoxicidade e eficácia do PTFEe como uma membrana de regeneração óssea guiada respectivamente em região subcutânea de rato e modelo de defeito ósseo craniano em três períodos distintos (1, 4 e 8 semanas pós cirúrgica) e compararam os resultados com um nanocomposito de titânio/poliamida. Quanto ao efeito citotóxico, o PTFEe demonstrou intensa e densa cápsula conjuntiva circundando a membrana de PTFEe, que possuía um diâmetro maior que o compósito controle. Contudo, a eficiência osteogênica de ambos os materiais foram estatisticamente similares. Os autores sugeriram com os resultados que o PTFEe embora possua uma ação satisfatória como barreira, possui um efeito citotóxico duvidoso.

Kostopoulos e Karring (2000) analisaram por meio de análise histológica defeitos críticos (5 mm de diâmetro) na calvária de ratos recobertos com membrana de PTFEe. Os autores verificaram que a ocorrência da regeneração óssea completa ocorria em mais de 80% dos espécimes.

Azevedo-Neto et al. (2009), idealizou a utilização de película alternativa de PTFE em defeito periodontal não crítico em mandíbula de ratos. Para uma análise mais criteriosa

de sua ação, análise histológica foi confeccionada e monitorada num período de 1 e 3 semanas. Os pesquisadores identificaram que o PTFE causou uma reação tecidual inflamatória local maior que o controle, sendo também prejudicial ao reparo ósseo local. Os autores defenderam a tese que esta ação prejudicial poderia ser relacionada à maleabilidade do PTFE utilizado na pesquisa, uma vez que na maioria dos ratos tratados com o biomaterial, o PTFE se deformou e preencheu um volume considerável do defeito, comprometendo uma deposição linear de osso.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de análise histológica e microscopia eletrônica de varredura, a influência de uma película alternativa de teflon no reparo ósseo de defeitos periodontais não críticos criados na mandíbula de ratos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

O estudo foi realizado em 20 ratos machos, adultos (*Rattus norvegicus*, WISTAR), pesando entre 450 e 500 gramas, sem doença previa, com tempo de vida de aproximadamente 120 dias, e que permaneceram armazenados desde o nascimento em salas climatizadas no biotério da Universidade Positivo. Para o delineamento deste estudo, o dividimos em 2 grupos distintos: (1) grupo controle - que consistiu em um grupo sem inserção de biomaterial e sem utilização de membrana e (2) grupo teste – sem inserção de biomaterial mas com utilização de película alternativa de teflon como barreira de RTG.

Dois momentos cirúrgicos (subgrupo) foram avaliados para cada grupo, isto é, em 1 e 3 semanas pós cirúrgico, e cada subgrupo foi composto por 5 animais.

4.2 Procedimentos cirúrgicos

Todos os cuidados necessários para o controle de infecção foram tomados, tais como: esterilização de instrumentais em autoclave, e desinfecção de equipamentos auxiliares e uso de Equipamento de proteção individual pelo operador e auxiliar. A sedação do animal foi realizada no interior de uma câmara de vidro, por aproximadamente 2

minutos por meio de inalação de halotano, seguindo-se posteriormente a anestesia injeção via intraperitoneal com quetamina (40 mg/ Kg) e xilazina (5mg/ Kg).

Com auxílio de lâmina de bisturi nº. 15 (Duflex, Brasil), realizou-se uma incisão linear (figura 2) de aproximadamente 0,8 mm na mandíbula, do lado direito em região próxima ao forame mentoniano, acompanhando a raiz do incisivo inferior, com o extremo cuidado de não romper o colarinho cervical e os tecidos moles foram afastados.

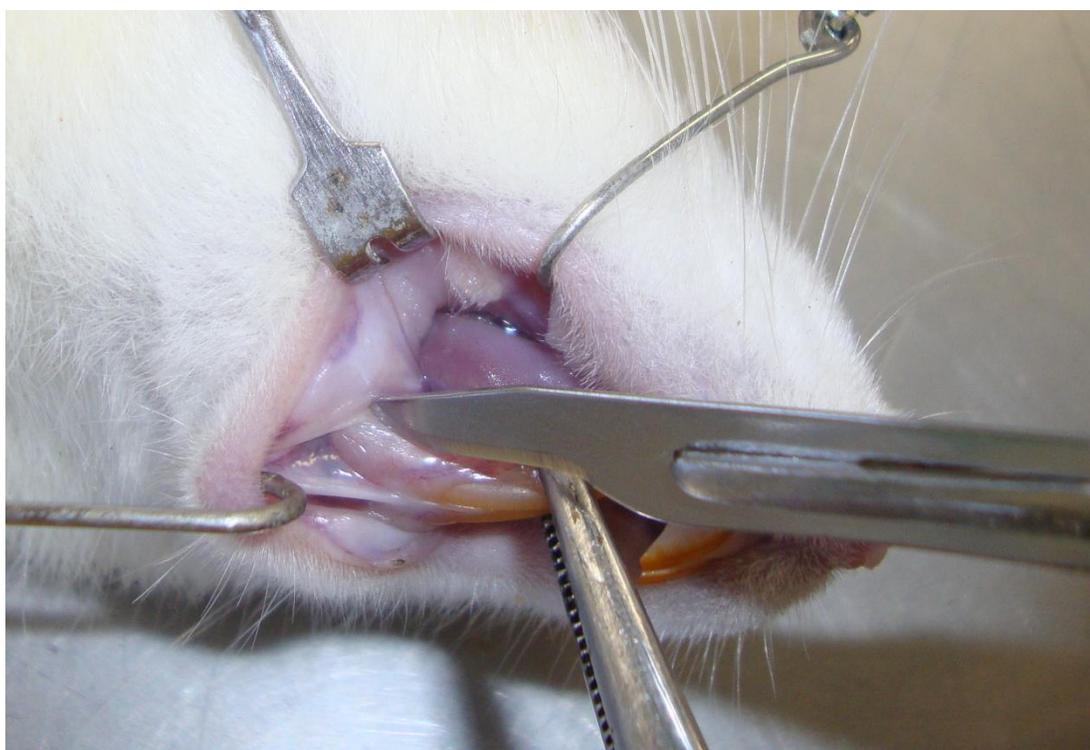


Figura 2 – Modelo experimental para incisão, afastamento e apreensão dos tecidos moles.

O defeito ósseo foi criado pela ação de uma broca esférica multilaminada carbide (Antilope, Suíça) de 3 mm de diâmetro, adaptada a um aparelho portátil de baixa rotação

(Dentec-405N, Brasil) sempre sob irrigação abundante de solução fisiológica (JP, Brasil), para evitar o sobre-aquecimento e conseqüente necrose tecidual. A limpeza do local foi realizada com gaze estéril (Telemad, Brasil), de modo a permitir uma boa visualização da superfície radicular do incisivo inferior (limite interno da lesão artificial).

O defeito exibiu profundidade de aproximadamente 2 mm até expor a região de ligamentos periodontais (figura 3), sendo posteriormente, coberto com uma película de película de Teflon (PTFE) (fita vedante Tigre, Rio Claro, Brasil), (figura 4) seguido por sutura no grupoteste (T). No grupo controle apenas sutura foi realizada.



Figura 3 – Defeito criado com exposição dos ligamentos periodontais.

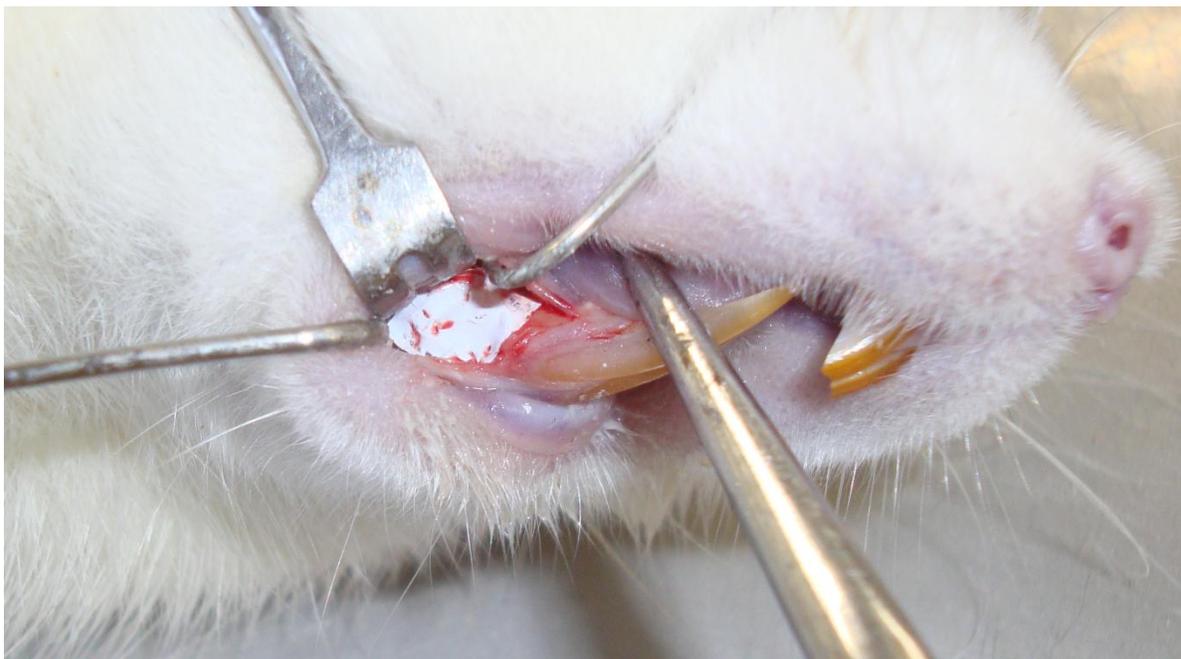


Figura 4 – Defeito coberto por membrana de politetrafluoretileno.

No pós-operatório foi administrado morfina (0.1-0.25 mg/Kg) por via intradérmica logo após a cirurgia para diminuição da dor até 24 horas (Flecknell, 1991), seguido por administração de analgésico paracetamol gotas (20 gotas/500 ml de água) com sabor de caramelo na água dos animais por 1 semana. Os animais foram mantidos em caixa plástica com alimentação e água até o momento da eutanásia (Fox *et al.*, 1984). A eutanásia dos animais foi realizada após a 1 e 3, semanas pós cirúrgico para cada grupo, em câmara de gás por meio de inalação de CO₂ (protocolo do biotério da Universidade Positivo) até a observação de que os animais pararam de movimentar-se. (Zahedi *et al.*, 1998; Bohning *et al.*, 1999) .

4.3 Procedimentos laboratoriais

A remoção das peças foi feita em bloco por intermédio de broca diamantada foi hemisseccionada a mandíbula dos ratos em duas peças. Após a secção mandibular na região do defeito, as peças cirúrgicas foram fixadas em uma solução de solução de Karnowsky modificado (0,03 de glutaraldeído em tampão 0,1 M cacodilato de sódio) por 48 horas.

Após a fixação, promoveu-se a remoção dos tecidos superficiais (tricotomia e parte da mucosa oral) das amostras seguindo-se para lavagem em água corrente e colocadas em tubos de incubação, contendo solução quelante para descalcificação (Kiernan, 1981): ácido fórmico a 20% aproximadamente 37° C em mesa agitadora acoplada ao pHmetro. O tempo de descalcificação foi de aproximadamente 5 dias. Após a descalcificação região do defeito foi hemi-seccionado ao meio (com o auxílio de uma lupa) por um único operador), dividindo a região anterior (próximo a coroa do dente) para microscopia de luz (ML) e a região posterior (próximo ao forame mentoniano para microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As peças da região anterior foram levadas ao banho histotécnico, para posterior parafinização e procedimentos de emblocagem.

Após emblocamento em parafina, cortes seriados transversalmente ao incisivo em região do defeito até o final da peça cirúrgica contida no bloco foram realizados em micrótomo (Leika, Alemanha). Todos os cortes apresentaram padrões da ordem de 5 µm de espessura. Após a microtomia, os cortes foram distendidos em banho histológico e

extendidos em lâminas de vidro. As lâminas com os cortes foram levadas à estufa a 45°C por duas horas para secagem. Após secos, os cortes foram submetidos a coloração convencional por HE (Hematoxilina e Eosina), e finalmente montadas com Entellan e lamínula (Kiernan, 1981).

4.4 Microscopia eletrônica de varredura

Antes de serem levadas ao microscópio, utilizando a lupa por um único operador realizaram-se incisões transversais nas peças posteriores, removendo a região sem o defeito, com intuito de deixar as peças menores. As amostras foram montadas em suporte específico e levadas ao metalizador para sua visualização pelo microscópio eletrônico de varredura (MEV) (XL30, PHILLIPS, Holanda).

5. RESULTADOS

As análises histológicas por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura foram descritas como tópicos distintos.

5.1 Microscopia de luz (coloração HE), controle (coágulo), 1 semana

Neste período ocorreu presença de tecido de granulação composto por processo inflamatório crônico linfo-plasmocitário, em permeio à organização perpendicular de fibras em relação à superfície radicular. Foi notória ainda áreas de tecido osteóide em permeio ao tecido de granulação. No grupo controle de uma semana observou-se também a presença de íntima relação entre tecido de reparo no leito cirúrgico e submucosa em todos os casos estudados (figura 5).

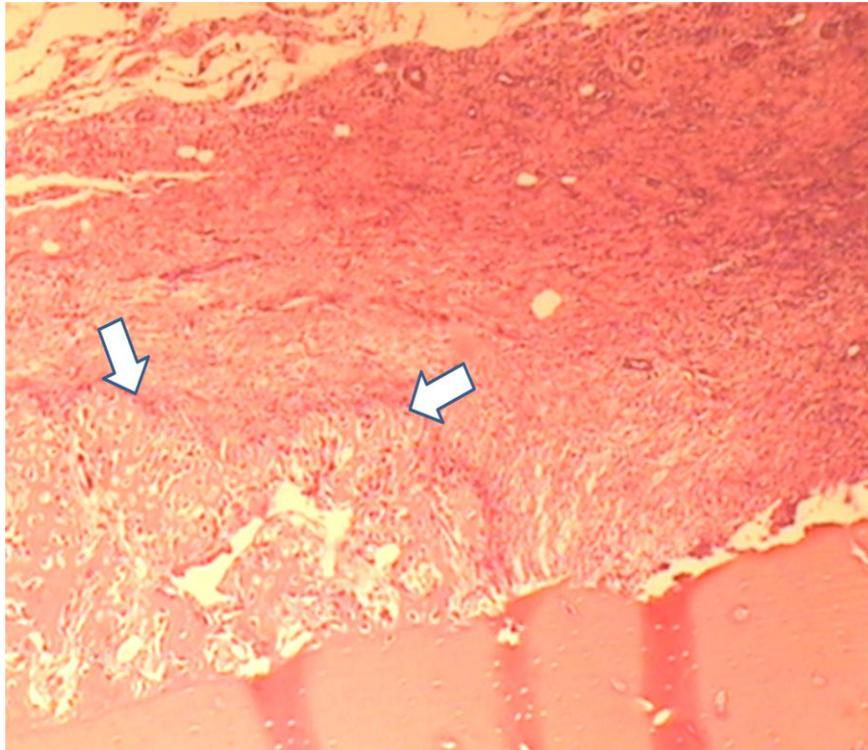


Figura 5 – Controle (1 semana). Micrografia em microscopia de luz revelando área de defeito com deposição de mineral (setas) em permeio a início de ossificação e tecido fibroso compatível com submucosa. (Hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

5.2 Microscopia eletrônica de varredura, controle (coágulo), 1 semana

Na região de defeito houve preenchimento por tecido cicatricial, com nítida distinção entre as áreas da inserção do ligamento e do reparo ósseo. Nestas últimas percebeu-se o aspecto de aposição em camadas, nas quais as fibras se apresentaram de forma reticular. Já nas áreas do ligamento verificou-se uma organização fibrilar com

predominância do sentido perpendicular inclinado (oblíquo) das fibras, semelhantemente à organização ligamentar original (sem defeito) (figura 6).

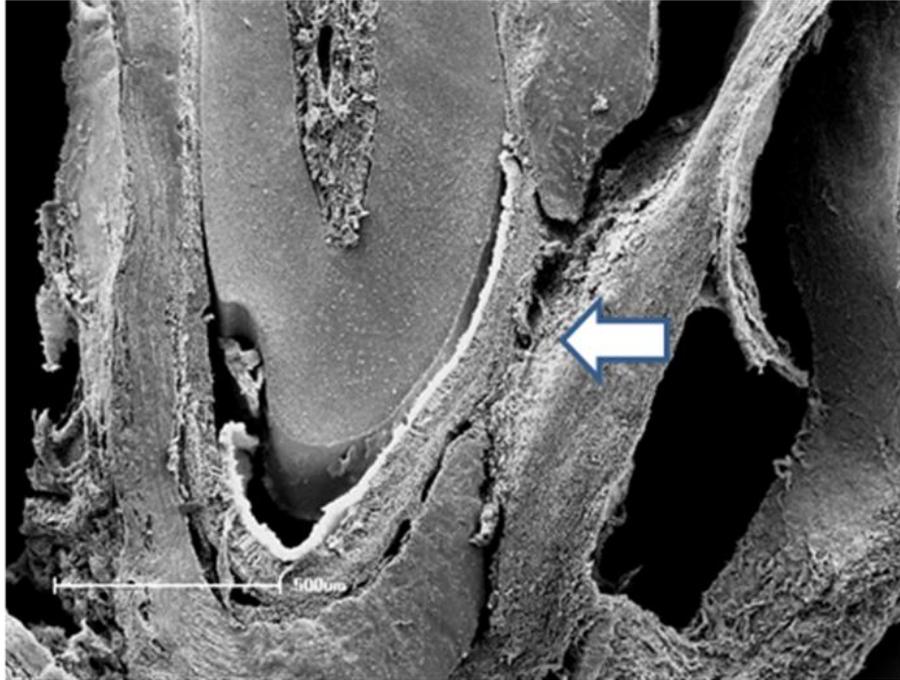


Figura 6 - Controle (1 semana). Verificar área de defeito com tecido fibroso não modelado (seta) e íntima comunicação entre leito cirúrgico e tecido da submucosa com discreta deposição de mineral nas bordas do defeito.

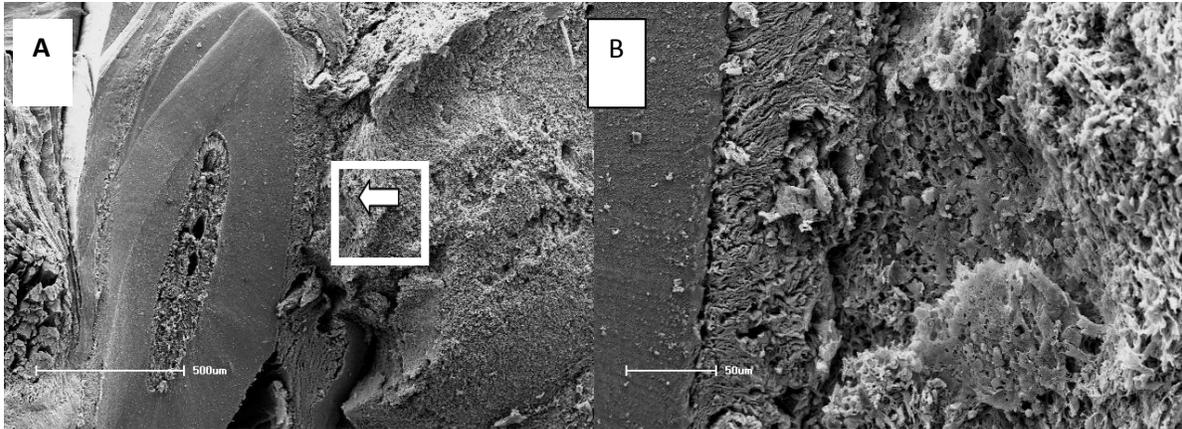


Figura 7 - Controle (1 semana). (A) Preenchimento do defeito com tecido cicatricial (seta). (B) Em detalhe, verificar disposição perpendicular (oblíquas) de fibras na região do ligamento e reticular na região do reparo ósseo.

5.3 Microscopia de luz (coloração HE), controle (coágulo), 3 semanas

Em 2/5 dos casos, após três semanas, foi verificado reparo ósseo suficiente para praticamente fechar os defeitos. O sentido do reparo ósseo seguiu de maneira centrípeta, isto é, na direção das bordas para o centro do defeito. Notou-se ainda a presença de tecido com processo inflamatório crônico disperso permeado por tecido de granulação (figura 8).

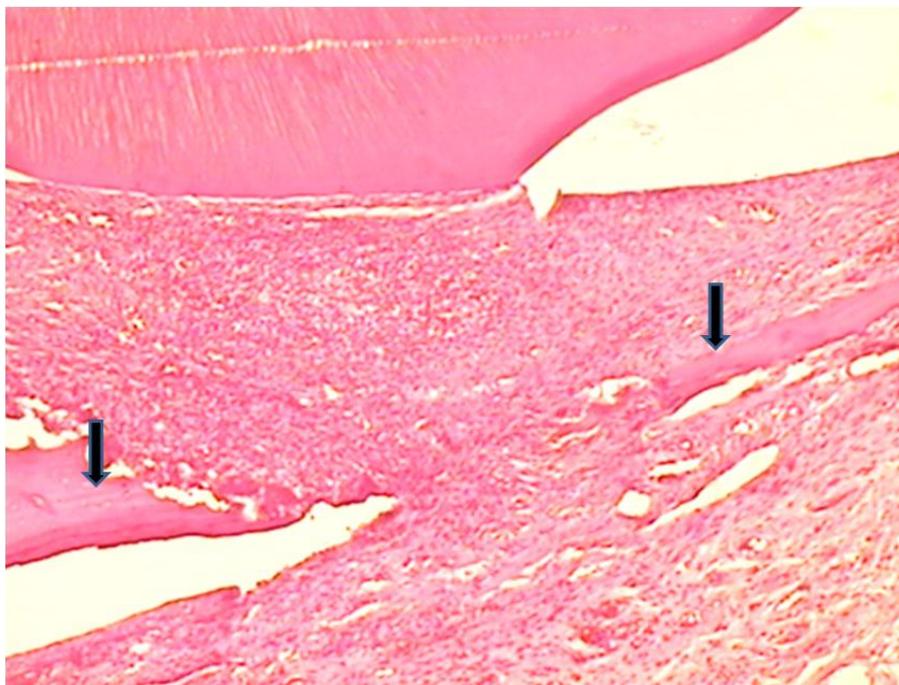


Figura 8 – Grupo Controle (3 semanas). Tecido de granulação e áreas demarcadas com setas em finas deposições ósseas, contudo sem haver o preenchimento completo do defeito. (hematoxilina e eosina, magnificação original 40×).

5.4 Microscopia eletrônica de varredura, controle (coágulo), 3 semanas

Na microscopia eletrônica de varredura pode-se observar que ocorreu reparo ósseo a partir das bordas. Além disto, verificou-se a re-inserção do ligamento periodontal com aspecto regenerativo (figura 9).

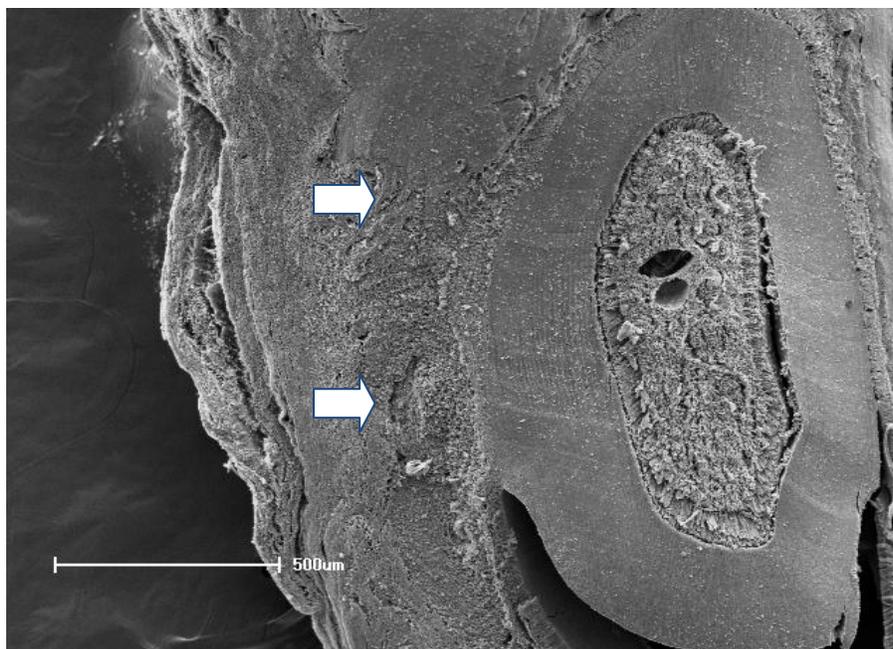


Figura 9 – Grupo Controle (3 semanas). Tecido de granulação e áreas de fino trabeculado ósseo demarcado (setas), sem haver o preenchimento completo do defeito.

5.5 Microscopia de luz (coloração HE), película PTFE experimental, 1 semana

Todas as amostras deste grupo evidenciaram intenso processo inflamatório crônico granulomatoso circundando a película que se estendia defeito adentro. Contudo, foi notória a diferença entre os componentes celulares na região interna do defeito e na região externa.

Na região interna havia proliferação osteoblástica evidente com matriz osteóide circundante, em permeio a intenso tecido de granulação. Na região externa do defeito foram verificados: um processo inflamatório crônico inespecífico em áreas ainda mais externas e um granulomatoso em íntimo contato com a película (figura 10).

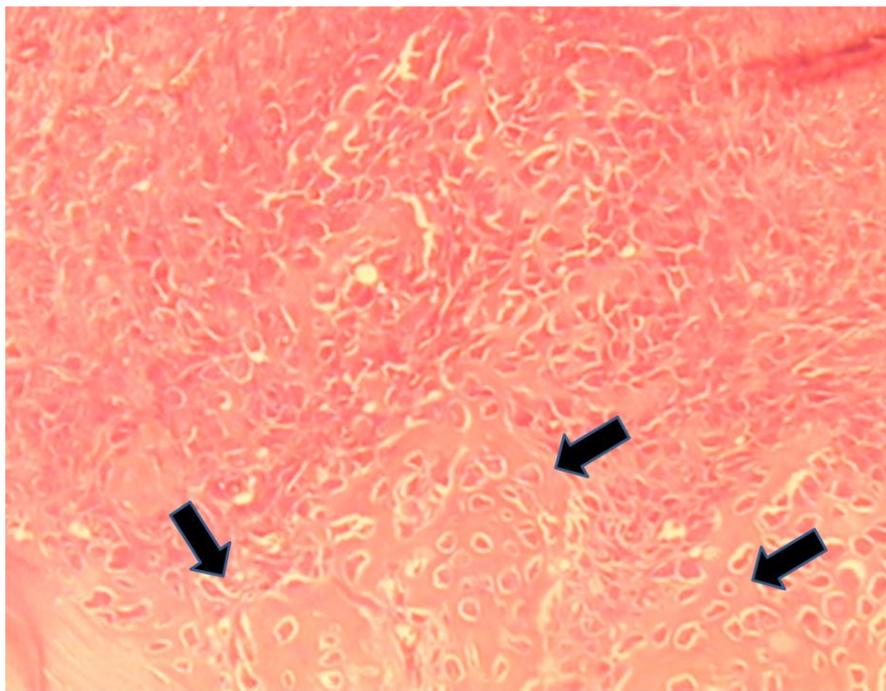


Figura 10 - Corte histológico da área de defeito revelando intensa deposição de tecido ósseo (seta) e celularidade compatível com osteoblasto (hematoxilina e eosina, magnificação original 100×).

5.6 Microscopia eletrônica de varredura, película PTFE experimental, 1 semana

Na microscopia eletrônica de varredura, a película de PTFE mostrou-se íntegra e eficaz como divisão de dois ambientes distintos, ou seja, exerceu função de barreira determinando uma região interna e outra externa, similarmente aos aspectos encontrados na microscopia de luz. Foi possível observar que a deposição das camadas de tecido cicatricial ocorreu paralela e aposicionalmente a partir da membrana. No entanto, na região interna do

defeito foi verificada a proliferação de fibras colágenas de forma difusa, sem a aparente organização das fibras de Sharpey, isto é, a inserção de tecido cicatricial sobre a superfície radicular, como já descrito, ocorreu de forma paralela (figura 11).

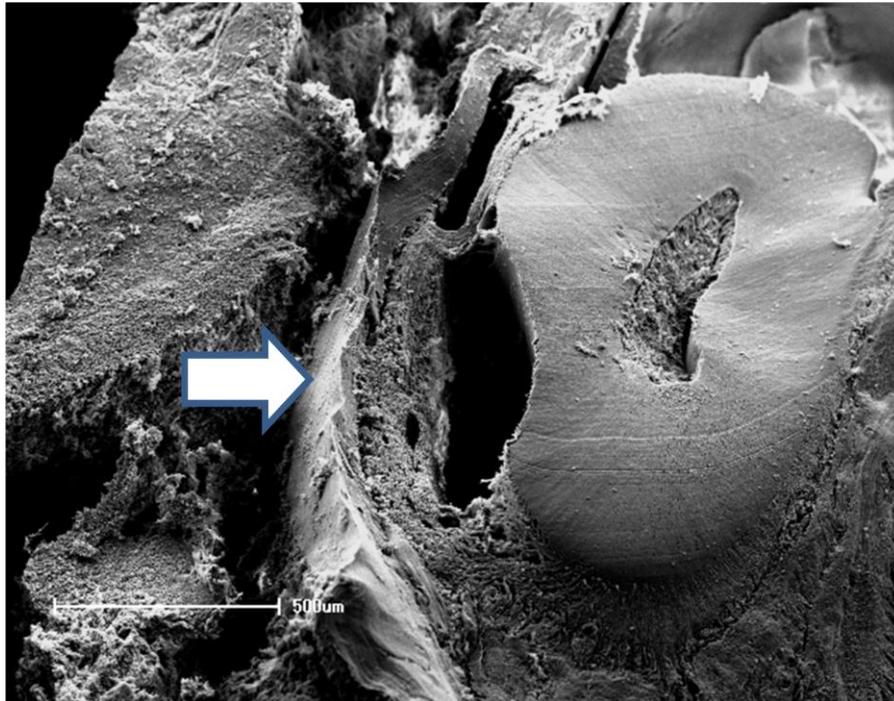


Figura 11 – Imagem capturada em microscopia eletrônica de varredura para teflon 1 semana.

Membrana separando área de leito cirúrgico (seta) e submucosa.

5.7 Microscopia de luz (coloração HE), película PTFE experimental, 3 semanas

Em 3 semanas foi verificado tecido ósseo presente no leito cirúrgico e fibras modeladas paralelas à película, contudo, e novamente, ainda sem exibir a inserção (perpendicular) usual de fibras na superfície radicular. Um discreto processo crônico de granulação ainda estava presente, além de exuberante processo granulomatoso próximo à superfície da película. As características do reparo puderam ser comparadas a uma ossificação intramembranosa (figura 12).

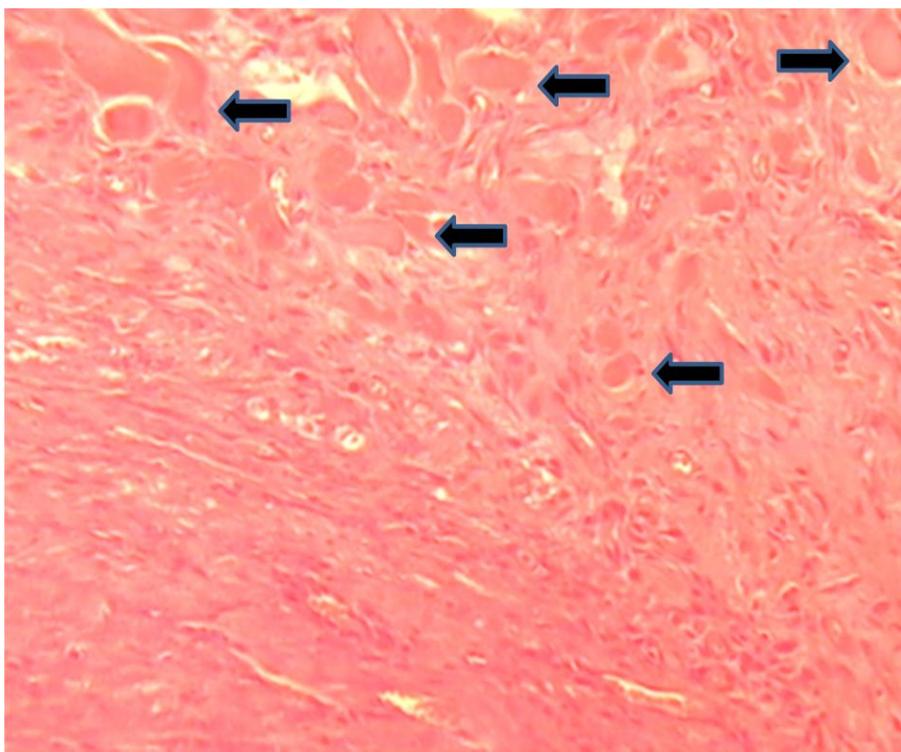


Figura 12 - Micrografia do leito cirúrgico revelando tecido conjuntivo denso não modelado, com deposição de matriz mineral (setas) mimetizando ossificação intramembranosa. (coloração hematoxilina e eosina, magnificação original 100×).

5.8 Microscopia eletrônica de varredura, película PTFE experimental, 3 semanas

Os aspectos ultraestruturais foram muito semelhantes aos da primeira semana, no entanto, uma deposição óssea internamente à película foi verificada, em posição e paralelamente à mesma.

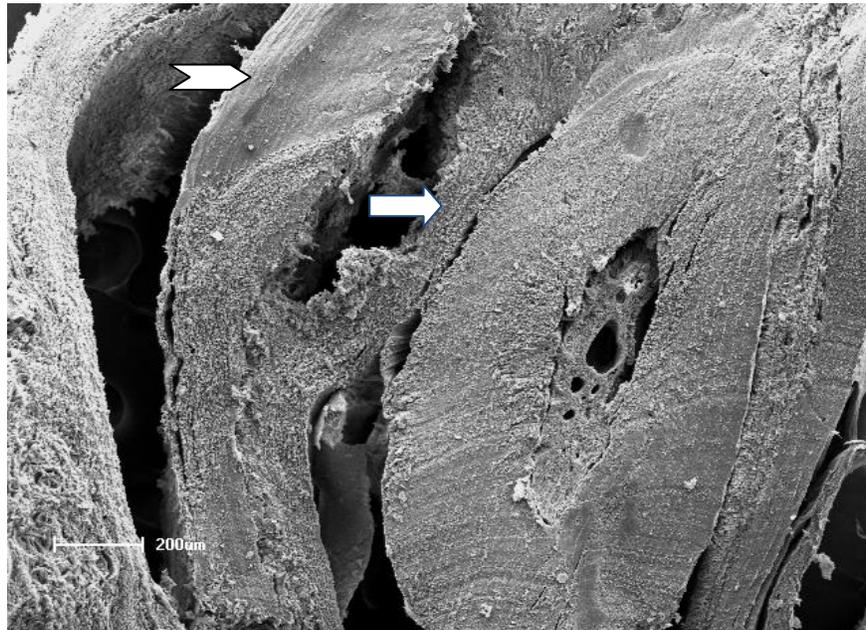


Figura 13 - Película PTFE experimental (3 semanas). Observar a inserção de fibras paralelas (seta) à superfície radicular, e deposição óssea adjacente à parte interna da película (cabeça de seta).

Tabela 1 – Resumo dos achados histológicos

	Controle	Teflon	Controle	Teflon
	1 semana	1 semana	3 semana	3 semana
Fechamento do defeito	Não houve	Não houve	Não houve	Não houve
Tipo de inflamação	PICLP	PICG	PICLP	PICG
Reparo ósseo nas bordas	Próximo ao ligamento	Adjacente à película	Próximo ao ligamento	Adjacente à película
Direção da inserção tecidual na superfície radicular	Perpendicular e/ou oblíqua	Paralela	Perpendicular e/ou oblíqua	Paralela

PICLP = Processo inflamatório crônico linfoplasmocitário.

PICG = Processo inflamatório crônico granulomatoso.

6. DISCUSSÃO

Pesquisas envolvendo animais de laboratório ainda nos dias atuais são muito utilizadas uma vez que, diferentemente das pesquisas *in vitro*, maximiza a ação de fatores de crescimento, ação inflamatória e nos dão maiores informações para o debate sobre a eficiência ou ineficiência de possíveis biomateriais. De fato, cada modelo ou espécie animal apresenta vantagens e limitações de acordo com o experimento e possíveis áreas a serem estudadas. A escolha de ratos como um modelo experimental de estudos apresenta algumas vantagens que devem ser consideradas, entre as quais se destaca a fácil manipulação, o baixo custo, e uma resposta tecidual rápida e eficiente uma vez que expressa condições gênicas e fontes embriológicas similares ao seres humanos, especialmente quando se trabalha nas regiões crânio-mandibulares. Assim sendo, inúmeros trabalhos sobre cicatrização e possível ação reparadora de defeitos ósseos periodontais utilizaram ratos como modelo experimental (Zielak *et al.*, 2007; Gordh *et al.*, 1997; Redondo *et al.*, 1997; Zahedi *et al.*, 1998), bem como o presente trabalho.

Neste estudo, por meio da utilização de uma broca esférica de 3 mm de diâmetro realizou-se um defeito cirúrgico intrabucal, de forma circular em osso, com comprometimento em ligamento periodontal e na superfície cemento-radicular, mimetizando um verdadeiro defeito periodontal (Brett *et al.*, 2002; Shimazu e Morishita, 2003). O modelo utilizado aqui não apresentou características de defeito crítico, o que obviamente interfere nos resultados do reparo ósseo. No entanto, dentre os modelos bucais de defeito crítico apresentados na literatura (Bosch *et al.*, 1998), existe um defeito de 5 mm de diâmetro em região posterior no ramo da mandíbula, o que permite seu acesso apenas

extrabucalmente. No modelo aqui apresentado, houve a preocupação em simular ao máximo uma situação clínica, em que o acesso é predominantemente intrabucal. Além disto, as funções normais de mastigação do animal não são comprometidas, e juntamente com a salivação se constituem em fatores de influência importante no estudo do reparo ósseo/perirradicular do complexo maxilo-mandibular (Zielak *et al.*, 2007).

Os resultados apresentados neste estudo revelaram diferenças importantes quanto a utilização da película alternativa de PTFE quando comparado ao controle. Uma das características importantes demonstradas neste trabalho foi a diferença na deposição óssea. Enquanto no grupo controle, observamos uma deposição fina e progressiva, a ponto de que a 3 semanas ocorreu formação óssea quase fechando o defeito não crítico, o grupo de teflon, demonstrou a presença de formação óssea exibindo maior espessura e intimamente aderida mas com bordas longínquas do defeito demonstrando um retardo no fechamento do defeito realizado.

Esses resultados podem ser comparados aos resultados descritos por Kostopouls e Karring (1994) que observaram a área de defeito residual no grupo de PTFE em experimento realizado em ratos. Na mensuração do defeito residual no período de 3 meses após a cirurgia foi demonstrada a presença de 71% do tamanho original do defeito nos grupos de membrana, enquanto 36%, para os espécimes do grupo controle. Após um período de 6 meses, esses valores foram reduzidos para 52% e 18%, no grupo da membrana e controle, respectivamente. Devido às diferentes metodologias, para avaliação do ganho ósseo, não é possível fazer uma comparação direta entre os dados de diferentes estudos.

Em estudo similar (Dahlin et al., 1988; Schenk et al., 1994; Ohnishi et al., 2000), revelaram que os defeitos do grupo controle apresentaram uma regeneração incompleta e sua cicatrização limitou-se a formação de um capuz ósseo na base do defeito. Segundo Schenk et al. (1994), esse “capuz” ósseo poderia selar as aberturas dos espaços medulares, que foram expostas cirurgicamente no momento da criação do defeito, fato que poderia explicar a fina deposição de tecido ósseo no grupo controle.

Um fato importante e que também auxiliaria na diferença da aposição óssea, poderia ser atribuída à interação entre a película de PTFE e o conteúdo celular osteoblástico. Um fato que poderia explicar essa íntima relação deve-se ao grau de porosidade da membrana uma vez que também é um fator que pode influenciar na presença do tecido conjuntivo interposto entre o osso e a própria membrana. Os poros e irregularidades na porção externa da membrana poderiam permitir a passagem e adesão de células e de pequenos vasos, enquanto a porção central da mesma possui propriedades oclusivas, impedindo desta forma a invasão de células do tecido conjuntivo. Essa assertiva torna-se verossímil à medida que em alguns sítios encontram-se fragmentos mineralizados no interior dos poros da membrana ou mesmo em regiões em que ocorre algum defeito na mesma. (Schenk et al., 1994).

Podemos sugerir também que a interação entre a película de PTFE ao conteúdo celular conjuntivo osteoblástico poderiam dar-se também pela quantidade de flúor contido na molécula do teflon. Billmeyer (1982) relata que os dois únicos tipos de ligações presentes na estrutura do PTFE são "C-C" e "C-F". Essas ligações covalentes são extremamente estáveis e muito difíceis de serem rompidas, contudo a presença do composto Flúor na molécula polimérica poderia desencadear uma interação intermolecular

por pontes de hidrogênio entre o polímero e as moléculas hidrogenadas da membrana das células conjuntivas (ABBAS, 2001), favorecendo assim a quimiotaxia e íntima adesão entre o conteúdo celular e o PTFE similar ao fato que ocorre no processo laboratorial de cultivo celular in vitro.

Este fator poderia contribuir não só para o desencadeamento da interação PTFE-osteoblasto, mas também para modificações entre teflon e fibroblastos resultando, conseqüentemente na alteração da disposição de fibras colágenas, impedindo desta forma a reconstituição de fibras de inserção periodontal. Esse fato ajudaria a explicar a intensa deposição de fibras colágenas de forma axial a membrana e possivelmente potencializando o efeito da fibrose frente a reação de corpo estranho desencadeado pelo PTFE apresentadas aqui pela inflamação granulosa que ocorreu apenas no grupo teste.

7. CONCLUSÃO:

As análises da microscopia tecidual nos ratos demonstraram que:

- 1- A película de teflon é uma barreira eficaz e separa eficientemente o ambiente do defeito e o tecido conjuntivo da lâmina própria e submucosa.
- 2- A película de teflon pode alterar a biologia do reparo, uma vez que a migração celular adere-se a película.
- 3- A película de teflon se comporta como um corpo estranho e junto as suas propriedades químicas podem inibir a formação de periodonto de inserção por alterar a direção de deposição destas fibras.
- 4- Sua maleabilidade impede de manter espaço desejável sobre o defeito para permitir a migração de periodonto de inserção.

REFERÊNCIAS

Abbas MN, Mostafa GA, Homoda AM. PVC membrane ion selective electrode for the determination of pentachlorophenol in water, wood and soil using tetrazolium pentachlorophenolate. *Talanta*. 2001 Sep 13;55(3):647-56.

Augthun M, Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S. Healing of bone defects in combination with immediate implants using the membrane technique. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995 Jul-Aug;10(4):421-8.

Anderegg CR, Martin SJ, Gray JL, Mellonig JT, Gher ME. Clinical evaluation of the use of decalcified freeze-dried bone allograft with guided tissue regeneration in the treatment of molar furcation invasions. *J Periodontol*. 1991 Apr;62(4):264-8.

Azevedo Neto RD, Lopes SK, Almeida U, Zielak JC, Deliberador TM, Giovanini AF, Pizzato E. Avaliação histológica de película alternativa para técnicas regenerativas: estudo experimental em mandíbula de ratos. *RSBO*. 2009 Mar;6(3):257-263.

Barboza EP. Clinical and histologic evaluation of the demineralized freeze-dried bone membrane used for ridge augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:3-9.

Becker W, Becker BE, Prichard JF, Caffesse R, Rosenberg E, Gian-Grasso J. Root isolation for new attachment procedures. A surgical and suturing method: three case reports. *J Periodontol*. 1987 Dec;58(12):819-26.

Becker W, Dahlin C, Becker BE, Lekholm U, van Steenberghe D, Higuchi K, et al. 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*. 1994 Jan-Feb;9(1):31-40.

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

Blumenthal NM. A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. *J Periodontol.* 1993 Oct;64(10):925-33.

Bohning BP, Davenport WD, Jeansonne BG. The effect of guided tissue regeneration on the healing of osseous defects in rat calvaria. *J Endod.* 1999 Feb;25(2):81-4.

Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg.* 1998 Jul;9(4):310-6.

Brett JA, Heimendinger J, Boender C, Morin C, Marshall JA. Using ethnography to improve intervention design. *Am J Health Promot.* 2002 Jul-Aug;16(6):331-40.

Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *J Periodontol.* 1994 Jun;65(6):583-91.

Campos L, Sipes E. Laparoscopic hernia repair: use of a fenestrated PTFE graft with endoclips. *Surg Laparosc Endosc.* 1993 Feb;3(1):35-8.

Chen CC, Chueh JY, Tseng H, Huang HM, Lee SY. Preparation and characterization of biodegradable PLA polymeric blends. *Biomaterials.* 2003 Mar;24(7):1167-73.

Cortellini P, Tonetti MS. Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontol.* 2000 Feb;22:104-32.

Crump TB, Rivera-Hidalgo F, Harrison JW, Williams FE, Guo IY. Influence of three membrane types on healing of bone defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996 Oct;82(4):365-74.

da Silva Pereira SL, Sallum AW, Casati MZ, Caffesse RG, Weng D, Nociti FH, Jr., et al. Comparison of bioabsorbable and non-resorbable membranes in the treatment of dehiscence-type defects. A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol.* 2000 Aug;71(8):1306-14.

Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg.* 1988 May;81(5):672-6.

Ferreira JN, Ko CC, Myers S, Swift J, Friction JR. Evaluation of surgically retrieved temporomandibular joint alloplastic implants: pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jun;66(6):1112-24.

Flecknell PA, Kirk AJ, Liles JH, Hayes PH, Dark JH. Post-operative analgesia following thoracotomy in the dog: an evaluation of the effects of bupivacaine intercostal nerve block and nalbuphine on respiratory function. *Lab Anim.* 1991 Oct;25(4):319-24.

Fox JL. Lab animal welfare issue gathers momentum. *Science.* 1984 Feb 3;223(4635):468-9.

Furukawa T, Matsusue Y, Yasunaga T, Shikinami Y, Okuno M, Nakamura T. Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly (L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures. *Biomaterials.* 2000 May;21(9):889-98.

Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* 1984 Sep;11(8):494-503.

Gordh M, Alberius P, Lindberg L, Johnell O. Bone graft incorporation after cortical perforations of the host bed. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997 Dec;117(6):664-70.

Jakus SM, Shapiro A, Hall CD. Biologic and synthetic graft use in pelvic surgery: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2008 Apr;63(4):253-66.

Kiernan TW, Luisada-Opper A, Ertel NH. Hepatic microsomal induction in rat liver: heterogeneity of response. *J Clin Pharmacol.* 1981 Jul;21(7):280-3.

Kostopoulos L, Karring T. Guided bone regeneration in mandibular defects in rats using a bioresorbable polymer. *Clin Oral Implants Res.* 1994 Jun;5(2):66-74.

Kostopoulos L, Karring T. Regeneration of the sagittal suture by GTR and its impact on growth of the cranial vault. *J Craniofac Surg.* 2000 Nov;11(6):553-61.

Laurell L, Bose M, Graziani F, Tonetti M, Berglundh T. The structure of periodontal tissues formed following guided tissue regeneration therapy of intra-bony defects in the monkey. *J Clin Periodontol.* 2006 Aug;33(8):596-603.

Lekovic V, Kenney EB, Carranza FA, Jr., Danilovic V. Treatment of class II furcation defects using porous hydroxylapatite in conjunction with a polytetrafluoroethylene membrane. *J Periodontol.* 1990 Sep;61(9):575-8.

Lekovic V, Kenney EB, Kovacevic K, Carranza FA, Jr. Evaluation of guided tissue regeneration in Class II furcation defects. A clinical re-entry study. *J Periodontol.* 1989 Dec;60(12):694-8.

Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis. *J Periodontol.* 2001 Apr;72(4):512-6.

Majzoub Z, Berengo M, Giardino R, Aldini NN, Cordioli G. Role of intramarrow penetration in osseous repair: a pilot study in the rabbit calvaria. *J Periodontol.* 1999 Dec;70(12):1501-10.

Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol.* 1976 May;47(5):256-60.

Monteiro AS, Macedo LG, Macedo NL, Balducci I. Polyurethane and PTFE membranes for guided bone regeneration: histopathological and ultrastructural evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009 Sep 21.

Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982 Jul;9(4):290-6.

Ohnishi T, Maruyama T, Higashi S, Awazu S. Blood-brain barrier transport of L-tyrosine Conjugates: a model study for the brain targeting using large neutral amino acid transport system. *J Drug Target.* 2000;8(6):395-401.

Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. *Biomaterials.* 2005 Dec;26(35):7447-56.

Patrocinio, LG, Patrocinio JA, Uso de enxertos em rinoplastia *International archives of otorrhinolaringol.* 2001;5(1)

Pennisi VR, Klabunde EH, Mc GM, O'Connor GB, Pierce GW, Faggella R. The use of Marlex 50 in plastic and reconstructive surgery. II. Clinical observations. *Plast Reconstr Surg Transplant Bull.* 1962 Aug;30:254-62

Pineda LM, Busing M, Meinig RP, Gogolewski S. Bone regeneration with resorbable polymeric membranes. III. Effect of poly(L-lactide) membrane pore size on the bone healing process in large defects. *J Biomed Mater Res.* 1996 Jul;31(3):385-94.

Redondo LM, Verrier Hernandez A, Garcia Cantera JM, Torres Nieto MA, Vaquero Puerta C. Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralised, frozen and fresh bone. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Jun;35(3):166-9.

Scantlebury TV. 1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1993 Nov;64(11 Suppl):1129-37.

Scapini DA, Mathog RH. Repair of orbital floor fractures with Marlex mesh. *Laryngoscope.* 1989 Jul;99(7 Pt 1):697-701.

Schallhorn RG, McClain PK. Combined osseous composite grafting, root conditioning, and guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1988;8(4):8-31.

Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994 Jan-Feb;9(1):13-29.

Shimazu A, Morishita M. Basic fibroblast growth factor induces the expression of matrix metalloproteinase-3 in human periodontal ligament cells through the MEK2 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Periodontal Res.* 2003 Apr;38(2):122-9.

Tatakis DN, Trombelli L. Gingival recession treatment: guided tissue regeneration with bioabsorbable membrane versus connective tissue graft. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):299-307.

Usher FC, Fries JG, Ochsner JL, Tuttle LL, Jr. Marlex mesh, a new plastic mesh for replacing tissue defects. II. Clinical studies. *AMA Arch Surg.* 1959 Jan;78(1):138-45.

Wang HL, O'Neal RB, MacNeil LM. Regenerative treatment of periodontal defects utilizing a bioresorbable collagen membrane. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 1995 Jun-Jul;7(5):59-66; quiz 8.

Zahedi S, Legrand R, Brunel G, Albert A, Dewe W, Coumans B. Evaluation of a diphenylphosphorylazide-crosslinked collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rats. *J Periodontol*. 1998 Nov;69(11):1238-46.

Zielak JC, Mathias AS, Giovanini AF, Mathias AL. Oral bone grafting in a rat model and the use of scanning electron microscopy for tissue morphology evaluation. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 2007;34:201-209.

Zhang J, XU Q, Huang C, MO A, LI J, ZUO Y. Biological properties of an anti-bacterial membrane for guided bone regeneration: an experimental study in rats *Clin Oral implants Research*. 2010 jan21(3):321-327.

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](#)