

**EFEITO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA COM
MEMBRANA EXPERIMENTAL NA INCORPORAÇÃO DE
ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO EM FORMA DE BLOCO
OU PARTICULADO EM DEFEITOS ÓSSEOS CRÍTICOS:
ESTUDO EM RATOS**

Diogo Moreira Rodrigues, C. D.

Orientadores: Prof. Dra. Heloisa Carla Dell Santo Gusman

**Prof. Dr. Ronaldo Barcellos de
Santana**

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Federal do Rio de Janeiro como parte
dos requisitos para obtenção do
Grau de Mestre em Odontologia
(Periodontia).**

Rio de Janeiro

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

2006

RODRIGUES, Diogo Moreira. Efeito da regeneração óssea guiada na incorporação de enxerto ósseo autógeno em forma de bloco ou particulado em defeitos ósseos críticos: estudo experimental em ratos. Orientadores: Heloisa Carla Dell Santo Gusman e Ronaldo Barcellos de Santana. Rio de Janeiro: FO/UFRJ, 2006. Dissertação (Mestrado em Odontologia- Periodontia).

PROFESSORES ORIENTADORES

Heloisa Carla Dell Santo Gusman, D. Sc.

Doutora em Biologia Oral (Boston University)

Professor Adjunto de Endodontia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Ronaldo Barcelos de Santana, D. Sc.

Doutor em Biologia Oral (Boston University)

Professor Adjunto de Periodontia da Universidade Federal Fluminense

COORDENADOR DOS CURSOS PARA GRADUADOS

Eduardo Jorge Feres Filho, D.Sc.

FOLHA DE APROVAÇÃO

DIOGO MOREIRA RODRIGUES

**EFEITO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA NA INCORPORAÇÃO DE
ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO EM FORMA DE BLOCO OU PARTICULADO
EM DEFEITOS ÓSSEOS CRÍTICOS:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Odontologia (Periodontia).

COMISSÃO EXAMINADORA

**Prof. Dra. Daniela Bazan Palioto – Doutora em Clínica Odontológica
(Periodontia) – FO/USP – SP**

Prof. Dr. Carmelo Sansone – Doutor em Ciências Médicas (Harvard)

**Prof. Dra. Kátia Regina Hostílio Cervantes Dias – Doutora em Odontologia –
FO/USP -SP**

FICHA CATALOGRÁFICA

RODRIGUES, Diogo Moreira

Efeito da regeneração óssea guiada na incorporação de enxerto ósseo autógeno em forma de bloco ou particulado em defeitos ósseos críticos: estudo experimental em ratos /Diogo Moreira Rodrigues. Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia/UFRJ, 2006.

xvii, 38p.

Orientadores: Heloisa Carla Dell Santo Gusman

Ronaldo Barcellos de Santana

Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Odontologia/Periodontia, 2006

1. Regeneração óssea guiada. 2. Enxertos ósseos autógenos
3. Biomateriais. 4. Implantes ósseointegráveis 5. Ratos - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Faculdade de Odontologia Odontologia.
II . Título

Dedico este trabalho aos meus pais,
Fausto e Kátia, a minha irmã Yanna, pelo
apoio em todos os momentos, pelo
incentivo para buscar mais essa realização,
por me ensinar a ser persistente.

Dedico a todos os meus amigos, que me
ajudaram de maneiras diferentes a chegar
até aqui.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ronaldo Barcellos de Santana que foi o grande incentivador na realização deste mestrado e por toda a admiração pelo seu conhecimento , sua dedicação acadêmica e sua amizade.

À Prof. Dra. Heloisa Carla Dell Santo Gusman por ter se tornado uma grande orientadora e por todo o apoio fundamental nesta fase final.

Ao Prof. Dr Eduardo Jorge Feres Filho, exemplo de dedicação ao ensino e pesquisa, que me ensinou lições muito valiosas para toda a minha vida pessoal e profissional, meus sinceros agradecimentos.

Ao professor Carlos Alberto Brazil Barboza Júnior, que foi a primeira pessoa a me mostrar o caminho da Periodontia e por todo seus ensinamentos que levo pela vida.

Ao professor Herval Nunes Ramos Filho, que me me ensinou e ensina muito todos os dias.

À Profa. Anna Thereza Leão, ao Prof. Carmelo Sansone, Profa. Maria Cynésia Torres, pelos ensinamentos teóricos e pela compreensão.

Ao professor Dr. Carlos Nelson Elias por ter aberto as portas do Instituto Militar de Engenharia.

Aos colegas do Curso de Mestrado em Periodontia, Lorena, Nilo, Rodrigo, Flávia, Ramon, Rogério, Cristine, Suzane, Natasha e Celso, pelos bons momentos compartilhados.

Ao amigo Edgard que me ajudou muito em todos os momentos difíceis e que me dá a honra de trabalhar em conjunto.

Aos amigos do curso de Prótese do INCO 25, Michel, Adherbal e Fabrício, meu muito obrigado por toda a paciência e por todos os momentos alegres que passamos juntos.

Ao amigo Roberto, grande incentivador, que batalhou muito junto comigo pela realização deste trabalho.

A todos os professores da Periodontia da UFF, que foram muito importantes nesta caminhada e a todos os colegas do INCO 25.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia da UFRJ (em especial Dona Arlene).

RESUMO

RODRIGUES, Diogo Moreira. Efeito da regeneração óssea guiada na incorporação de enxerto ósseo autógeno em bloco ou particulado em defeitos ósseos críticos: estudo experimental em ratos.

Orientadores: Heloisa Carla Dell Santo Gusman e Ronaldo Barcellos de Santana. Rio de Janeiro: FO/UFRJ, 2006. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Periodontia).

O objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente o efeito da regeneração óssea guiada na incorporação de enxerto ósseo autógeno em bloco ou particulado. Material e métodos: 50 ratos Wistar adultos receberam, sob anestesia geral osteotomias bilaterais na região da calvária com uma broca trefina para criação de 2 defeitos críticos bicorticais de 5 mm de diâmetro. Os ratos foram divididos em 5 grupos com 10 animais cada. O defeito do lado direito, realizado em todos os animais, não foi preenchido em nenhum dos grupos, servindo de controle. Os defeitos do lado esquerdo foram recobertos no grupo 1 com uma membrana de politetrafluoroetileno (PTFE); no grupo 2 com enxerto ósseo autógeno particulado (EOAP); no grupo 3 com enxerto ósseo autógeno em bloco (EOAB); no grupo 4 com EOAP e recoberto com membrana de PTFE e no grupo 5 com EOAB e recoberto com membrana de PTFE. Cinco ratos de cada grupo foram sacrificados após 15 dias da cirurgia, enquanto que os outros cinco após 45 dias. As peças foram submetidas a procedimentos laboratoriais de rotina para avaliar qualitativamente a incorporação dos enxertos ósseos, quanto à formação óssea completa (3); formação óssea incompleta (2); e ausência de formação óssea. Resultados: os defeitos no grupo controle nos intervalos de 15 e 45 dias não demonstraram formação óssea completa. Os defeitos do grupo teste apresentaram formação óssea significativamente maior em relação aos do grupo controle. Como resultados gerais no grupo teste, o número de defeitos que apresentaram formação óssea no intervalo de 45 dias, foi significativamente maior em relação aos que não obtiveram formação óssea ($p=0,026$, Teste Exato de Fisher). O grupo 1 apresentou pequena porcentagem de fechamento completo dos defeitos nos dois intervalos estudados. Os grupos 2 e 3 obtiveram 40 e 60% de fechamento completo respectivamente; no intervalo de 45 dias, enquanto que os grupos 4 e 5 apresentaram 80 e 100%, respectivamente. Conclusões: dentro dos limites deste estudo foi demonstrado

que a regeneração óssea melhorou a incorporação do enxerto ósseo autógeno em bloco e do particulado.

ABSTRACT

RODRIGUES, Diogo Moreira. Effect of guided bone regeneration in the incorporation of bone autografts in block or particulate forms in critical size defects: experimental study in rats.

Thesis Advisers: Heloisa Carla Dell Santo Gusman and Ronaldo Barcellos de Santana. Rio de Janeiro: FO/UFRJ, 2006. Thesis (Master in Dentistry – Periodontology).

Objective: to histologically evaluate the guided bone regeneration effect in the incorporation of bone autografts in block or particulate forms. Materials & Methods: 50 adult male Wistar rats received, under general anesthesia, 2 bilateral parietal osteotomies by means of a 5mm diameter trephine bur. The animals were divided into 5 groups with 10 animals each. The right side bone defect (control) was not filled in any groups; the left side bone defect (test side) was covered with a PTFE membrane in group 1; group 2 was filled with particulate bone autograft (PBA); group 3 was filled with block bone autograft (BBA); group 4 was filled with PBA and covered by the PTFE membrane; group 5 was filled with BBA and covered by the PTFE membrane. Five animals in each group were euthanized 15 days after the surgery and the other five after 45 days. The specimens were subjected to routine laboratory procedures to histologically evaluate the degree of bone repair and ranked as (3) complete bone formation; (2) incomplete bone formation and (1) no bone formation. Results: the control side did not show bone formation and after 15 or 45 days, no defects presented complete closure. The test side in all groups showed statistically higher bone formation than the control group. The general results of the test group showed that the number of defects with bone formation was significant higher than the defects with no bone formation ($p=0,026$, Fisher's Exact Test). Group 1 showed only 20% of complete defect closure in both intervals. Groups 2 and 3 presented 40 and 60% of complete closure, respectively after 45 days. Groups 4 and 5, showed the highest percentage of complete closure, 80 and 100%, respectively. Conclusion: within the limits of this study was demonstrated that the guided bone regeneration positively influenced the incorporation of bone autografts in block or particulate .

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DTC	- defeito de tamanho crítico
EOAB	- enxerto osso autógeno em bloco
EOAP	- enxerto ósseo autógeno particulado
HE	- hematoxilina e eosina
MEV	- microscópio eletrônico de varredura
PTFE	- politetrafluoroetileno
ROG	- regeneração óssea guiada

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 (Página 8)-Fotografia digital da calvária do rato Wistar (A); (B) pêlo removido da região da calvária; (C) incisão de espessura total para exposição dos ossos da região da calvária; (D) fotografia dos ossos da calvária; (E) broca trefina para a realização dos defeitos ósseos críticos; (F) cinzel sendo utilizado para remover cuidadosamente os blocos ósseos.

Figura 2 (Página 9) – Fotografia digital dos defeitos ósseos críticos, onde DC corresponde ao defeito controle e DT ao defeito teste; (B) blocos ósseos mantidos em soro fisiológico

Figura 3 (Página 9)- Morfologia da folha PTFE (Teflon[®]); (A) fotografia digital, tamanho original; (B) fotomicrografia no MEV, 5000x.

Figura 4 (Página 10) – Fotografia digital do grupo 4, regeneração tecidual guiada e enxerto ósseo autógeno particulado (A); (B) regeneração tecidual guiada e enxerto ósseo autógeno em bloco; (C e D) fotografia da sutura no periósteo; (E) sutura na pele.

Figura 5 (Página 15) - Grupo controle 15 dias . (A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) e (C) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar nas setas a ausência de fechamento do defeitos em suas bordas; (D) Maior aumento (50x), observar na seta intensa formação de tecido conjuntivo em toda a região da ferida; (E) aumento de 50x , com intensa formação de tecido conjuntivo (seta); (F) maior aumento (100x), demonstrando o tecido conjuntivo neoformado na região.

Figura 6 (Página 16) – Grupo controle 45 dias de cicatrização. (A)Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar nas setas a ausência de fechamento do defeitos em suas bordas; Maior aumento (50x), observar nas setas em C,D e E intensa formação de tecido conjuntivo em toda a região da ferida.

Figura 7 (Página 17) – Grupo 1 (ROG) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) região em destaque em maior aumento (25x) fotomicrografia em microscópio, observar o colapso da membrana (M) na região do defeito com abundante formação de tecido conjuntivo (setas); (D) relação da membrana (M) com a borda do defeito, observar que não houve formação óssea; (E) região em destaque em maior aumento (100x), boa compatibilidade da membrana em relação aos tecidos (*).

Figura 8 (Página 18) – Grupo 1 (ROG) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico (25x), maior aumento da região em destaque; observar o colapso da membrana na região do defeito e a formação de tecido conjuntivo fibroso (setas); (C) maior aumento da região em destaque (50X) e ausência de formação óssea nas bordas do defeito (setas em C e D).

Figura 9 (Página 19) - Grupo 2 (EOAP) 15 dias. Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina aumento de 1x, as marcas azuis correspondem às bordas do defeito; (B) Fotomicrografia em microscópio óptico (20x), em azul as bordas do defeito, observar ausência de formação óssea; (C) o enxerto ósseo autógeno parece ter sido totalmente reabsorvido; (D) formação de tecido conjuntivo; (E) maior aumento da região em destaque (100x), observar ausência de formação óssea.

Figura 10 (Página 20) - Grupo 2 (EOAP) 15 dias. (A) fotomicrografia em microscópio óptico, hematoxilina e eosina, aumento de 25x. (B) região em destaque em maior aumento (1000x), observar neoformação óssea; (C) enxerto ósseo particulado viável, como demonstrado em maior aumento (400X) em D e E.

Figura 11 (Página 20) - Grupo 2 (ROG) 45 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x), observar o remodelamento nas partículas ósseas do enxerto (setas); (C) maior aumento da região em destaque (100x).

Figura 12 (Página 22) -. Grupo 3 (EOAB) dias .(A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em

microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, e observar a incorporação do enxerto ao leito receptor (* em B,C,D e E), neste intervalo

Figura 13 (Página 22) - Grupo 3 (EOAB) 45 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar a diminuição do volume do enxerto; (C) integração do enxerto com as bordas da ferida, fechamento completo; (D e E) maior aumento da região em destaque (50x); (F) maior aumento da região em destaque (100x), completa integração do enxerto com as bordas da ferida (*); (G) observar novo osso formado ao redor do enxerto (*); (H) vasos sanguíneos na região de neo-formação óssea (*), aumento de 400x da região em destaque.

14 (Página 23) - Grupo 4 (ROG + EOAP) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (40x) da região em destaque, observar a manutenção da membrana (M) em posição, sem o seu colapso sobre o defeito; (C), maior aumento (50X), relação da membrana (M) com as partículas do enxerto; (D) maior aumento (100X), observar que as partículas do enxerto ainda não remodelaram completamente; setas em D e E.

Figura 15 (Página 24) – Grupo 4 (ROG + EOAP) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar a relação da membrana com o enxerto (M); (C e D) maior aumento (50x) com o osso enxertado viável e integrado com as bordas da ferida; (E) aumento de 400x demonstrando células ósseas viáveis.

Figura 16 (Página 24) – Grupo 4 (ROG + EOAB) 45 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B, C e D) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, demonstrando completa integração das partículas ósseas com a região da ferida; (E) aumento de 100x

apresentando neoformação óssea (seta); (F) aumento de 50x, neoformação óssea próxima a região da membrana (M e setas); (G) aumento de 400x demonstrando a biocompatibilidade da membrana (M) com os tecidos adjacentes.

Figura 17 (Página 25) – Grupo 5 (ROG + EOAB) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, demonstrando a incorporação do enxerto na área da ferida; (C) aumento de 50x.

Figura 18 (Página 26) – Grupo 5 (ROG + EOAB) 15 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar o processo de remodelamento ósseo ao redor do enxerto, como demonstrado nas setas em B,C,D e E; (F) maior aumento da área em destaque 100x, observar presença de vasos sanguíneos, na região de neo-formação óssea.

Figura 19 (Página 26) – Grupo 5 (ROG + EOAB) 45 dias. (A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar o completo fechamento do defeito (setas); (C) maior aumento da região em destaque (50X) demonstrando intensa formação óssea (setas); (D) aumento de 100x demonstrando nova formação ao redor do enxerto a partir do perióstio e da dura-máter; (E) maior aumento da área em destaque (400x), com células ósseas aprisionadas nas lacunas (setas).

TABELAS

Tabela 1 (Página 12) – evolução do pós-operatório animais.

Tabela 2 (Página 13) – dados gerais da avaliação histomorfométrica do grupo teste.

Tabela 3 (Página 14) – formação óssea completa versus incompleta.

Tabela 4 (Página 14) – formação óssea completa versus incompleta após 45 dias.

Tabela 5 (Página 15) – dados gerais da avaliação histomorfométrica do grupo controle.

1. Introdução	1
2. Objetivo	2

3. Material e Métodos	6
3.1.Avaliação histológica	
3.2. Análise estatística	11
	12
4. Resultados	12
4. 1 Avaliação histológica	14
5. Discussão	27
6. Conclusões	32
7- Discussão	33

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO

A atrofia do rebordo alveolar, freqüentemente, causa problemas funcionais e estéticos, o que dificulta o tratamento protético-restaurador (DONOS et al, 2002a). Neste sentido, procedimentos para o aumento do rebordo alveolar representam a base para a reabilitação estética e funcional sobre implantes, uma vez que, o sucesso está diretamente relacionado à quantidade e à qualidade óssea (ESPOSITO et al,1998). Em função disto, diferentes técnicas para enxertia óssea foram desenvolvidas (PHEMISTER, 1914; MISCH et al, 1992;THOMPSON & CASSON, 1970) e este procedimento tornou-se um dos mais realizados na cirurgia reconstrutiva em toda a área médica.(ANTOUN et al, 2001).

Apesar de existirem muitos biomateriais disponíveis no mercado e do grande avanço nas pesquisas de engenharia tecidual (HU et al, 2006), o uso de enxertos ósseos autógenos continua representando o padrão ouro nos procedimentos para o aumento do rebordo alveolar (JENSEN et al, 1996; FONSECA et al,1980; PROUSSAEFS &

LOZADA, 2005). Ainda assim, há muito a ser desvendado sobre a complexa bioquímica e fisiologia do reparo ósseo (DAVIES & HOSSEINI, 2000).

O enxerto ósseo ideal deve ser osteoindutor, para estimular a osteogênese e osteocondutor, para funcionar como uma matriz que ofereça condições ideais para o crescimento de vasos sanguíneos e de células com potencial osteogênico.(PALLESEN et al, 2002).Os enxertos ósseos autógenos apresentam células osteogênicas viáveis, matriz extracelular e fatores bioquímicos que induzem a diferenciação de células ósseas (KHOURI et al, 1996)

A morfologia dos defeitos ósseos é uma variável importante para a seleção da técnica apropriada de reconstrução. Os enxertos podem ser usados na forma de blocos (MISCH,1997, MISCH et al, 1992; BUSER et al, 1996), particulados (NEVINS et al,1998; SIMION et al, 1994; 1998), ou como uma combinação de ambos (PROUSSAEFS,et al., 2002; 2003). Diferentes regiões são utilizadas como áreas doadoras, sendo as mais comuns: mandíbula, crista ilíaca, fíbula e calvária (JENSEN & SINDET-PEDERSEN, 1991). A origem embrionária (intra-membranosa ou endocondral) e a estrutura macroscópica (cortical ou medular, particulado ou em bloco) do enxerto foi discutida como importante fator para sua integração e cicatrização (PRADEL et al, 2005).

A incorporação dos enxertos ósseos depende de elementos proliferativos no periósteo, no endósteo, na medula óssea e, também, das células osteogênicas que possam estar viáveis no enxerto (WONG & RABIE, 1996), sendo sua sobrevivência determinada, em parte, pela velocidade e pelo grau de revascularização ocorrido na ferida cirúrgica (SCHMID et al, 1997).Outros importantes requisitos são a estabilidade do enxerto e, se

possível, a prevenção do crescimento de tecidos supra-periosteais na área receptora (SCHMID et al, 1994).

Estes últimos objetivos podem ser atingidos quando se utilizam membranas para recobrir o defeito ,seguindo o princípio da regeneração óssea guiada (DAHLIN et al, 1988; 1989; 1990; 1991; BUSER et al, 1991).Estas, previnem a migração de células dos tecidos moles adjacentes para o sítio, viabilizando menor reabsorção óssea e melhor incorporação dos enxertos (ALBERIUS et al, 1992; DONOS et al, 2002b; JARDINI et al, 2005; PALLESEN et al., 2002). Com a utilização de membranas, uma barreira física é criada, possibilitando que as células que participem da cicatrização sejam aquelas relacionadas à regeneração do tecido ósseo (NYMAN, 1991).

Existem muitos fatores que devem ser considerados no que tange ao material e ao desenho das membranas utilizadas para a regeneração óssea guiada. Além de biocompatíveis, devem possuir a capacidade de criar e manter espaço adequado para o volume necessário de osso a ser regenerado e serem fáceis de manusear, garantindo o selamento periférico adequado (LUNDGREN et al, 1997). As características da superfície também devem ser consideradas, principalmente em relação à porosidade (LUNDGREN et al, 1998). O material mais utilizado e melhor caracterizado na literatura é o politetrafluoretileno (HARDWICK et al, 1994).

Para uma correta avaliação dos resultados destes procedimentos e materiais disponíveis, visando sua utilização clínica, se faz necessário obter evidência histológica da habilidade de promover a cicatrização ou regeneração óssea. Neste contexto, os modelos animais são essenciais para a avaliação do comportamento do enxerto, antes de se realizar estudos em seres humanos (ENNEKING et al, 1975).

A quantidade de formação óssea é diretamente proporcional ao tamanho do defeito. Desta forma, um defeito ósseo para avaliação de cicatrização óssea deve apresentar tamanho suficiente para que não cicatrize espontaneamente. Nesta situação, pode-se testar corretamente o efeito de um enxerto ou de implante de biomateriais (SCHMITZ & HOLLINGER, 1986).

Um defeito ósseo que satisfaça este requisito é denominado defeito de tamanho crítico (DTC), que pode ser definido como a menor ferida intra-óssea em um determinado tipo de osso, que não cicatrize espontaneamente durante toda a vida do animal. O reparo deste tecido acontece, normalmente, com maior formação de tecido conjuntivo fibroso (HOLLINGER, 1993).

Os ratos constituem modelos animais interessantes, visto que podem ser produzidos em larga escala e possibilitam a utilização de pequena quantidade do material que se pretende testar (SCHMITZ & HOLLINGER, 1986). Animais jovens e de qualquer espécie apresentam atividade reparadora em defeitos ósseos com maior velocidade que animais adultos. Desta forma, é importante considerar que a avaliação da cicatrização destes defeitos seja realizada em animais adultos, já que, clinicamente os pacientes submetidos à terapia regenerativa e à instalação de implantes, são, na maioria das vezes adultos (MAROUF & EL-GUINDI, 2000).

Neste trabalho, utilizamos o modelo da calvária, o qual apresenta muitas similaridades com a região maxilofacial. Sob os aspectos morfológicos e embriológicos, a calvária se desenvolve a partir de um precursor membranosos, assim como os ossos da face. Anatomicamente ela consiste de duas corticais com pequena quantidade de osso esponjoso, sendo fisiologicamente semelhante a mandíbula atrófica. A cicatrização dos

defeitos ósseos na calvária pode ocorrer a partir das bordas dos defeitos, da dura-máter e do perióstio adjacente (MAROUF & EL-GUINDI, 2000).

2- OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o efeito da regeneração óssea guiada com membrana experimental na incorporação de enxerto ósseo autógeno em forma de bloco ou particulado.

3- MATERIAL E MÉTODOS

A membrana de politetrafluoretileno (GE Osmonics Labstore , USA) foi avaliada no Instituto Militar de Engenharia para verificar a viabilidade de seu emprego na regeneração óssea guiada em Odontologia. Esta foi submetida a diferentes testes para: caracterização mecânica (ensaio de tração), caracterização físico-química (espectroscopia no infra-vermelho, análise termogravimétrica, calorimetria diferencial de varredura), caracterização morfológica (microscopia eletrônica de varredura e rugosidade superficial) e ensaio de degradação “in vitro”. Com os resultados favoráveis obtidos nesta fase (BARRETO, 2006), a membrana foi aprovada para avaliação da regeneração óssea guiada em modelo animal.

Desta forma, este trabalho foi conduzido de acordo com as normas estabelecidas pelos “Princípios Éticos em Experimentação Animal”, do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA,1991) e realizado no Biotério do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense.

O modelo animal consistiu em 50 ratos Wistar, machos adultos, com 12 meses de vida, pesando em média de 350 a 400g. Estes foram distribuídos em gaiolas individuais em temperatura ambiente controlada de 25 graus Celsius e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro. Receberam ração controlada (Labina, Purina, Paulínia, SP, Brasil) e água *ad libitum*. Os animais foram sedados em câmara de vidro com éter etílico a 97% (Ecibra Produtos Químicos, Santo Amaro, SP, Brasil) durante 1 minuto e anestesiados com uma solução preparada na proporção de 1:1 de cloridrato de cetamina 50mg/kg (Ketalar, Laboratórios Pfizer, São Paulo, SP, Brasil) e xylazina 20 mg/kg (Rompun, Bayer, Rio de

Janeiro, RJ, Brasil). Após a anestesia, a tricotomia da região da calvária foi realizada,(Fig.1B) seguida da antissepsia da pele com solução de clorexidina a 0,2% (Perioxidin Gel, Glaxo Wellcome, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) . Após infiltração de anestésico local na região (Lidocaína com adrenalina 1:100.000,DFL Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), uma incisão de espessura total na linha mediana da região nasal até a região occipital foi realizada, seguida por cuidadoso descolamento da musculatura e do periósteo, até que ossos da região da calvária fossem expostos (Figs.1C e D). O passo seguinte consistiu na utilização de uma broca trefina com 5 mm de diâmetro (SIN, Sistema de Implantes, São Paulo, SP, Brasil), em baixa rotação (450 rpm) e sob irrigação constante com soro fisiológico estéril para criação de 2 defeitos críticos bilaterais com 5 mm na calvária (Figs 1E e F), segundo protocolo proposto por Bosch et al (1995). Os blocos ósseos foram removidos cuidadosamente com cinzel (Fedi, nº 2, Schwert, Tuttlingen, Alemanha), de modo a manter a integridade da dura-máter e do encéfalo (Figs 1F e 2A). Os blocos foram posicionados em soro fisiológico estéril em temperatura ambiente para serem posteriormente utilizados como blocos ou particulados (Fig 2B).

Os animais foram divididos em 5 grupos de 10 animais cada. Cada animal possuía um defeito controle , realizado no lado direito e um defeito teste do lado esquerdo sendo tratados das seguintes formas, por um único operador.

Controle : defeito realizado do lado direito, não preenchido com nenhum material nos 5 grupos (Fig 2C).

Grupo 1 – regeneração óssea guiada (ROG): defeito esquerdo foi coberto com membrana de PTFE (GE Osmonics Labstore, USA) com 7x7 mm de comprimento e largura (Fig. 2C e 3A).

Grupo 2 – enxerto ósseo particulado (EOAP): os blocos ósseos removidos do lado direito e esquerdo da calvária foram cuidadosamente particulados com pinça de Beyer (Schwert,Tuttlingen,Alemanha) caracterizando o enxerto ósseo autógeno particulado usado para preencher o defeito do lado teste (Fig 2D).

Grupo 3 – enxerto ósseo em bloco (EOAB): o bloco ósseo removido do lado direito da calvária foi transplantado para o defeito teste e caracterizou o enxerto ósseo autógeno em bloco (Fig 2E).

Grupo 4 – ROG + EOAP: preparado da mesma maneira que no grupo 2, o defeito teste foi preenchido com EOAP e recoberto com membrana de PTFE com 7x7 mm (Fig 4A).

Grupo 5 – ROG + EOAB: preparado da mesma maneira que no grupo 3, o defeito teste foi preenchido pelo EOAB e recoberto com membrana de PTFE com 7x7 mm (Fig 4B).

Procedimento cirúrgico

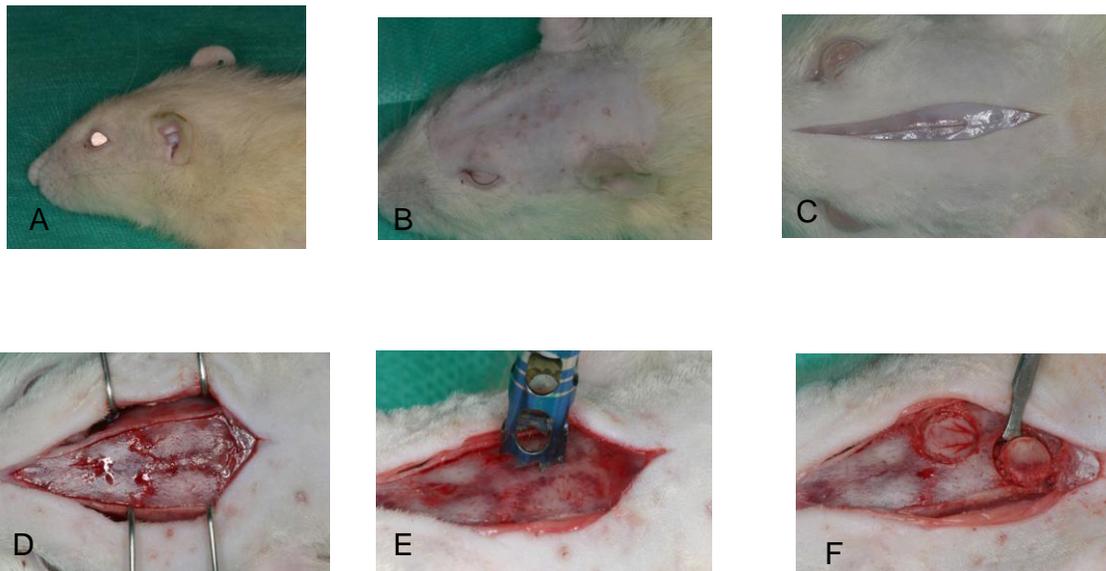


Figura 1-Procedimento cirúrgico. Fotografia da calvária do rato Wistar (A); (B) tricotomia da região parietal; (C) incisão de espessura total para exposição dos ossos da calvária. (D) Fotografia da região dos ossos da calvária; (E) broca trefina para realização dos defeitos ósseos críticos; (F) cinzel removendo os blocos ósseos.

Procedimento cirúrgico

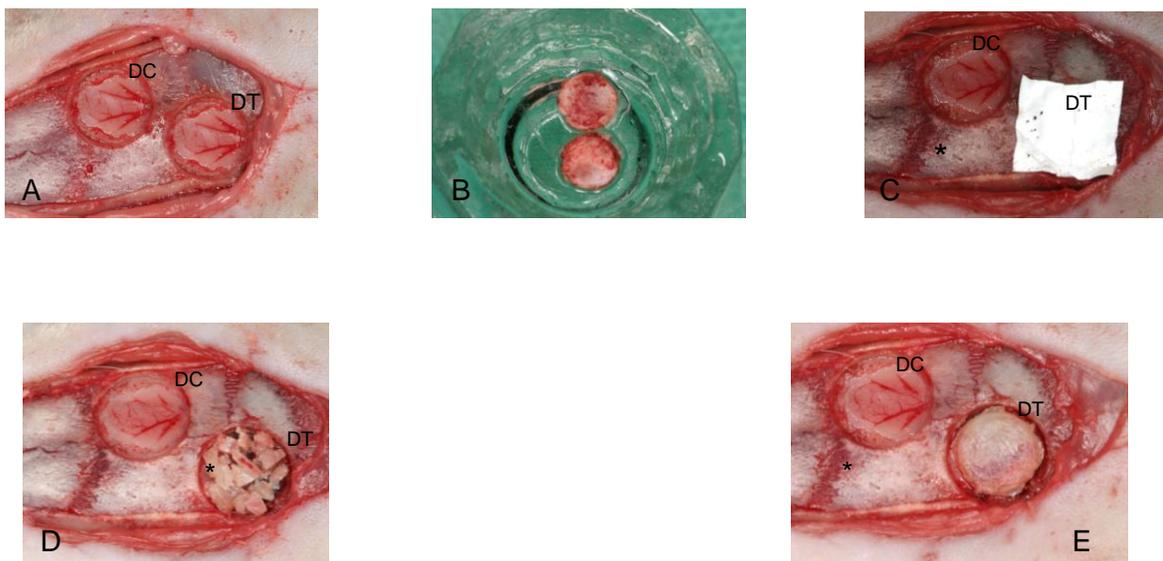


Figura 2 (A) Fotografia dos defeitos ósseos, onde DC corresponde ao defeito controle e DT ao defeito teste; (B) blocos ósseos mantidos em soro fisiológico estéril; (C) Defeito teste do Grupo 1 sendo coberto por membrana de PTFE (*); (D) Fotografia do grupo 2: enxerto ósseo autógeno particulado (*); (E) fotografia do grupo 5 :enxerto ósseo autógeno em bloco (*)

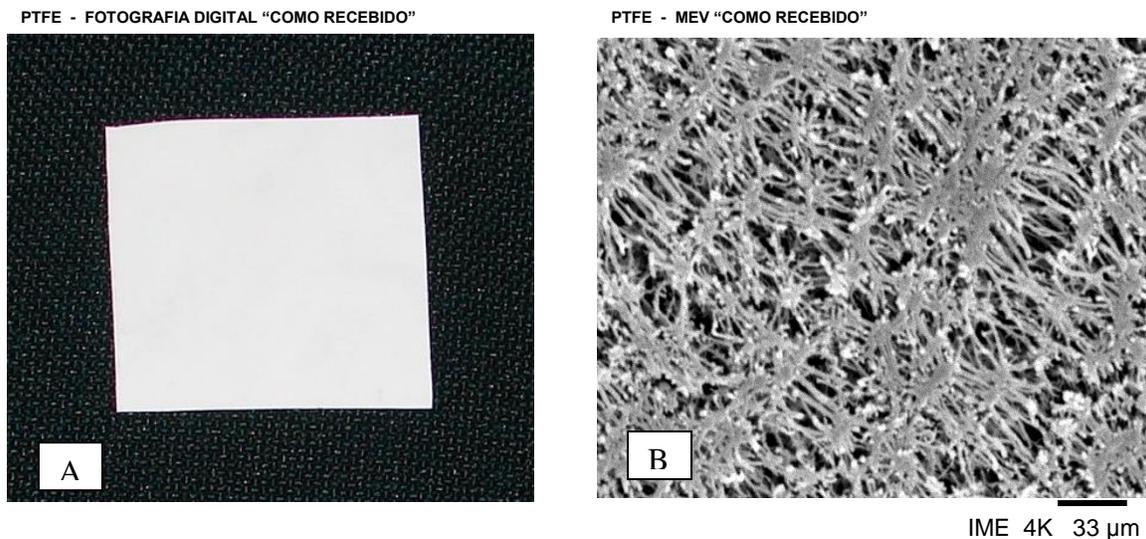


Figura 3 – morfologia da membrana PTFE em A , fotografia digital em tamanho original, em B, fotomicrografia no MEV, 4000x.

Os defeitos foram protegidos pelo reposicionamento dos tecidos moles (Figs.4C, D e E), sendo suturados por planos, com sutura do periósteo com fio de nylon 5-0 (Ethicon, Johnson & Johnson, Piscataway, New Jersey, USA), seguido por sutura da pele com fio de nylon 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São Paulo SP, Brasil). Imediatamente após a cirurgia, os animais receberam dose única de ampicilina (100mg/Kg, Laboratório Teuto Brasileiro SA, São Paulo SP, Brasil) e uma dose diária do anti-inflamatório tilatil (2mg/kg, Laboratório Roche, Rio de Janeiro RJ, Brasil) por 3 dias. Os animais foram observados diariamente com relação a sinais de inflamação, infecção, exposição da membrana ou do enxerto.

Procedimento cirúrgico

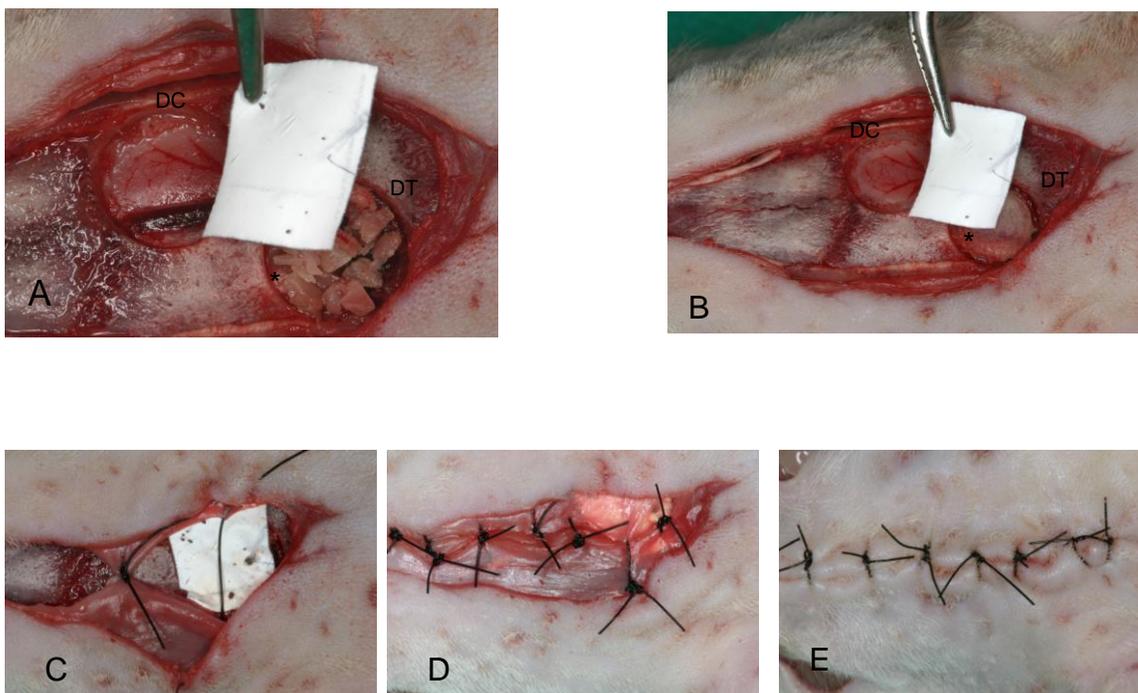


Figura 4 (A) fotografia do grupo 4 : regeneração óssea guiada e enxerto ósseo autógeno particulado (*); (B) grupo 5: regeneração óssea guiada e enxerto ósseo autógeno em bloco (*). Fotografia da técnica de sutura. (C e D) sutura no periosteio; (E) sutura na pele da região da calvária.

Cinco animais de cada grupo foram submetidos a eutanásia com dose letal de fenobarbital (Boehringer Ingelheim do Brasil, São Paulo, SP, Brasil) após 15 dias e os 5 animais restantes de cada grupo, 45 dias depois da cirurgia. A região da calvária foi retirada de forma cuidadosa para garantir a remoção dos tecidos moles supra-periosteais e do encéfalo. As peças foram mantidas em solução de paraformaldeído a 4% (Ecibra Produtos Químicos, Santo Amaro SP, Brasil) durante 15 dias para, depois, serem descalcificadas em solução de ácido fórmico a 50% (Ecibra Produtos Químicos, Santo Amaro SP, Brasil) e 20 % de citrato de sódio (Ecibra Produtos Químicos, Santo Amaro SP, Brasil), lavadas em água corrente e desidratadas em uma série concentrações de

álcool. As peças foram incluídas em parafina e cortes seriados a partir da porção central de cada defeito com 3 µm de espessura foram realizados. As lâminas foram então coradas com hematoxilina e eosina (HE).

3.1- AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

A leitura das estruturas histológicas foi realizada com auxílio do estereomicroscópio Nikon SMZ 645 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan), do microscópio Nikon Eclipse E 600 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) e as imagens foram captadas em formato digital na câmera DXM 1200F (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) acoplada aos microscópios. A histomorfometria semi-quantitativa foi realizada por dois histologistas previamente calibrados (Kappa), que desconheciam os tratamentos realizados. A avaliação baseou-se no critério de scores proposto por Dahlin et al (1991) e os resultados foram expressos em score (1) onde a maior parte do defeito consistia em tecido conjuntivo, score (2) representava formação óssea parcial, e score (3) formação óssea completa.

3.2- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Comparações inter-grupo foram realizadas com o teste de Wilcoxon. Avaliação intra-grupo e comparações inter-grupo dos efeitos do tempo de cicatrização foram realizados pelo teste exato de Fischer. Valores de $p < 0.005$, foram considerados

estatisticamente significantes. O pacote estatístico SPSS (versão 11,5 SPSS Inc, Chicago, IL, USA), foi utilizado para todos os cálculos estatísticos.

4- RESULTADOS

Clinicamente, todos os ratos se mantiveram bem e ganharam peso durante o experimento. Não foram observados efeitos colaterais dos procedimentos cirúrgicos, tais como: paralisia, convulsão, problemas respiratórios e sinais de dor. Não houveram sinais clínicos de rejeição das membranas e de infecção na área da ferida. Não ocorreu exposição dos defeitos ósseos criados, das membranas e dos enxertos após a remoção da pele para o processamento histológico (Tabela 1).

Tabela 1 - Evolução do pós-operatório dos animais

Tempo de cicatrização	15 dias (n=25)	45 dias (n=25)
Óbitos	0	0
Exposição do enxerto	0	0
Exposição da membrana	0	0

Análise global dos dados demonstrou que, dos 25 defeitos testes avaliados após 15 dias de cicatrização, 24% apresentaram fechamento completo, 32% fechamento incompleto, enquanto que os 44% restantes não apresentaram formação óssea. Nos 25 defeitos testes avaliados após 45 dias, 60% apresentaram fechamento completo, 24% fechamento incompleto, enquanto que os demais 16% não obtiveram formação óssea

considerável (Tabela 2). Os defeitos controles apresentaram formação óssea significativamente menor que os defeitos testes, nos dois intervalos estudados ($p=0,03$).

Tabela 2- Dados gerais da avaliação histológica do grupo teste

Grupo	formação óssea completa (3)		formação óssea incompleta (2)		ausência de formação óssea (1)	
	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)
1 (ROG)	20% (1)	20% (1)	0	20% (1)	80% (4)	60% (3)
2 (EOAP)	20% (1)	40% (2)	0	40% (2)	60% (3)	20% (1)
3 (EOAB)	20% (1)	60% (3)	40% (2)	40% (2)	40% (2)	0
4 (ROG + EOAP)	20% (1)	80% (4)	60% (3)	20% (1)	20% (1)	0
5 (ROG + EOAB)	40% (2)	100% (5)	40% (2)	0	20% (1)	0
Total	(n=25) 24% (6)	(n=25) 60% (15)	(n=25) 32% (8)	(n=25) 24% (6)	(n=25) 44% (11)	(n=25) 16% (4)

Nos defeitos testes, a formação óssea foi maior no intervalo de 45 dias, em relação à 15 dias ($p=0,03$, tabela 3) e o número de defeitos com formação óssea completa foi maior em relação ao número de defeitos com formação óssea incompleta no intervalo de 45 dias ($p=0,02$, tabela 4).

Tabela 3– Formação óssea versus ausência de formação

Grupo	Formação óssea 15 dias (Formação completa + 15 dias incompleta)	Ausência de formação óssea	Formação óssea 45 dias* (Formação completa + formação incompleta)	Ausência de formação óssea 45 dias
1	1	4	2	3
2	2	3	4	1
3	3	2	5	0
4	4	1	5	0
5	4	1	5	0
Total	14	12	21	4

O número de defeitos com formação óssea foi significativamente maior no intervalo de 45 dias ($p < 0,05$, teste exato de Fisher)

Tabela 4 - Formação óssea completa e formação óssea incompleta após 45 dias

Grupo	Formação óssea completa *	Formação óssea incompleta
1	1	1
2	2	2
3	3	2
4	4	1
5	5	0
Total	15	6

O número de defeitos com formação óssea completa foi significativamente maior ($p > 0,05$)

4.2- ANÁLISE HISTOLÓGICA

No grupo controle, nos dois intervalos estudados (15 e 45 dias), nenhum dos defeitos apresentaram formação óssea, com presença abundante de tecido conjuntivo frouxo na área submetida à cirurgia. Não foram observados sinais de danos à dura-máter, nem sinais de atividade inflamatória (Tabela 5, figs.5 e 6).

Tabela 5 -Dados gerais da avaliação histomorfométrica do grupo controle

Grupo	formação óssea completa (3)		formação óssea incompleta (2)		ausência de formação óssea (1)	
	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)	15 dias (n=5)	45 dias (n=5)
1	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (5)	100% (5)
2	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (5)	100% (5)
3	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (5)	100% (5)
4	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (5)	100% (5)
5	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (5)	100% (5)
Total	(n=25)	(n=25)	(n=25)	(n=25)	(n=25)	(n=25)
	(0)	(0)	(0)	(0)	100% (25)	100% (25)

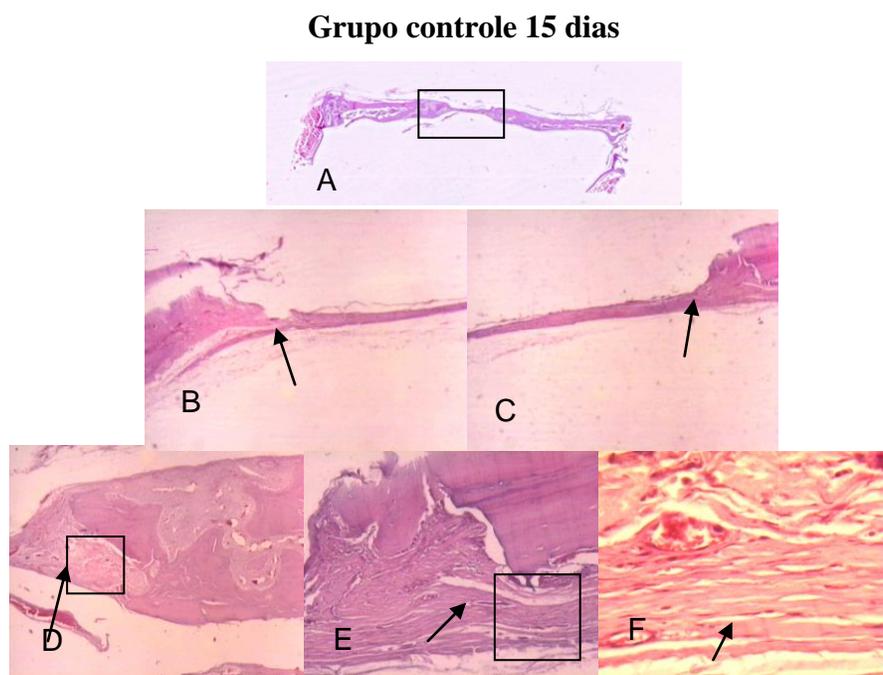


Figura 5.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) e (C) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar na setas a ausência de fechamento dos defeitos em suas bordas;(D) Maior aumento (50x), observar na seta intensa formação de tecido conjuntivo em toda a região da ferida; (E) aumento de 50x , com intensa formação de tecido conjuntivo (seta); (F) maior aumento (100x), demonstrando o tecido conjuntivo neoformado na região.

Grupo controle 45 dias

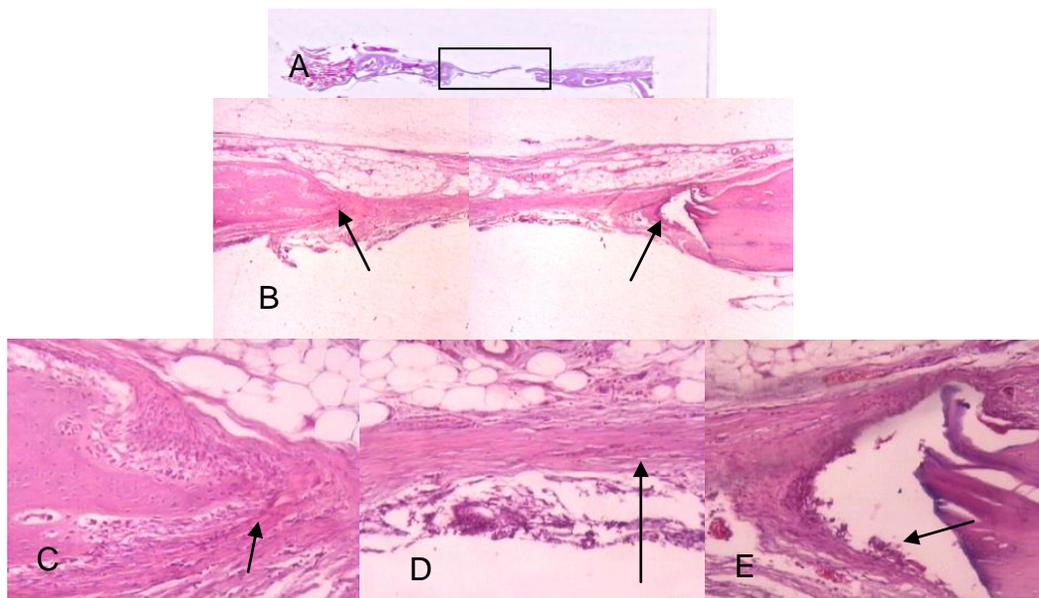


Figura 6 – Grupo controle 45 dias de cicatrização .(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar nas setas a ausência de fechamento do defeitos em suas bordas; Maior aumento (50x), observar nas setas em C,D e E intensa formação de tecido conjuntivo em toda a região do defeito.

No grupo 1(ROG), no intervalo de 15 dias apenas 20% dos defeitos apresentaram fechamento parcial, enquanto 80% não apresentaram formação óssea. Observou-se que a membrana provocou pouco infiltrado inflamatório e foi bem tolerada pelos tecidos . O material não foi capaz de se aderir aos tecidos moles, apresentando formação de tecido conjuntivo denso e dificultando a formação óssea , uma vez que houve seu colapso na região operada (Fig 7). Após 45 dias, 20% dos defeitos apresentaram formação óssea completa, enquanto 20% formação incompleta e 60% não formaram osso, com presença marcante de tecido conjuntivo(Fig.8)

Grupo 1 (ROG) 15 dias

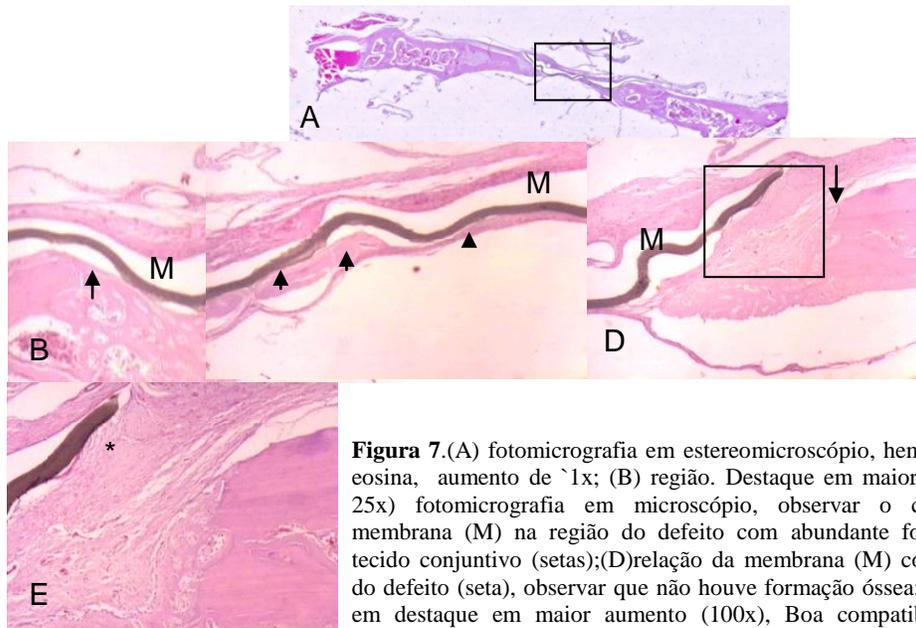


Figura 7.(A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) região. Destaque em maior aumento (25x) fotomicrografia em microscópio, observar o colapso da membrana (M) na região do defeito com abundante formação de tecido conjuntivo (setas);(D)relação da membrana (M) com a borda do defeito (seta), observar que não houve formação óssea; (E) região em destaque em maior aumento (100x), Boa compatibilidade da membrana em relação aos tecidos(*)

Grupo 1 (ROG) 45 dias

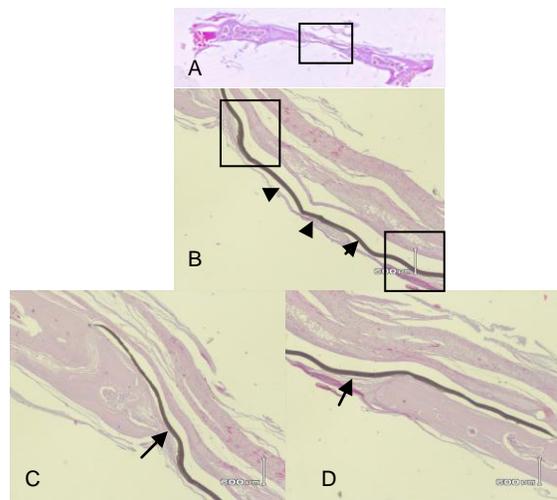


Figura 8 .(A) fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico (25x), maior aumento da região em destaque;observar o colapso da membrana na região do defeito e a formação de tecido conjuntivo fibroso (setas); (C) maior aumento da região em destaque (50X) e ausência de formação óssea nas bordas do defeito (setas em C e D).

No grupo 2 (EOAP), no intervalo de 15 dias apenas 20% dos defeitos apresentaram cicatrização completa após a realização do enxerto ósseo particulado, enquanto 20% apresentaram formação óssea parcial e 60% dos defeitos foram preenchidos com tecido conjuntivo abundante na região da ferida cirúrgica (Fig.9). Observou-se que o enxerto particulado mostrava-se viável em 2 dos defeitos tratados, com presença de tecido osteóide, osso medular e início do processo de remodelamento e reabsorção (Fig.10). No segundo intervalo de avaliação (45 dias) o osso enxertado se encontrava na fase de remodelamento, e 40% dos defeitos fecharam completamente, 40% demonstraram formação óssea incompleta e 20% dos defeitos apresentaram formação de tecido conjuntivo fibroso preponderante (Fig.11).

Grupo 2 (EOAP) – 15 dias

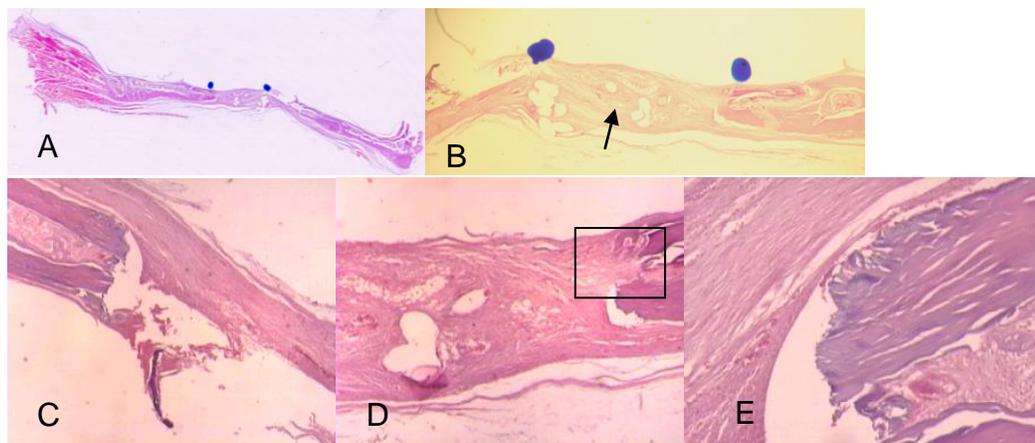


Figura 9. Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina aumento de 1x, as marcas azuis correspondem às bordas do defeito; (B) Fotomicrografia em microscópio óptico (20x), em azul as bordas do defeito, observar mínima formação óssea; (C) o enxerto ósseo autólogo parece ter sido totalmente reabsorvido; (D) formação de tecido conjuntivo; (E) maior aumento da região em destaque (100x), observar ausência de formação óssea na borda da ferida.

Grupo 2 (EOAP) 15 dias

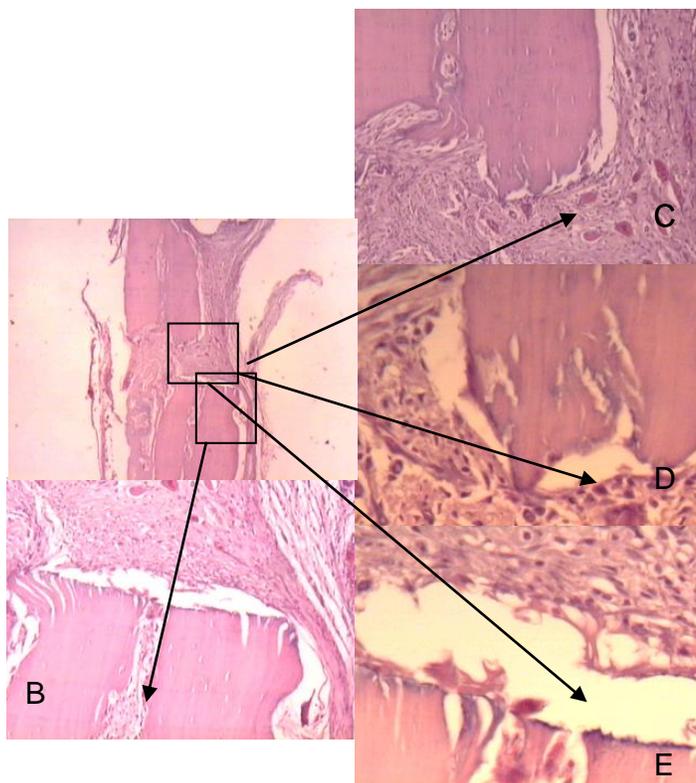


Figura 10. (A) fotomicrografia em microscópio óptico, hematoxilina e eosina, aumento de 25x.(B) região em destaque em maior aumento (100x), observar neof ormación óssea; (C) enxerto ósseo particulado viável, como demonstrado em maior aumento (400X) em D e E.

Grupo 2 (EOAP) 45 dias

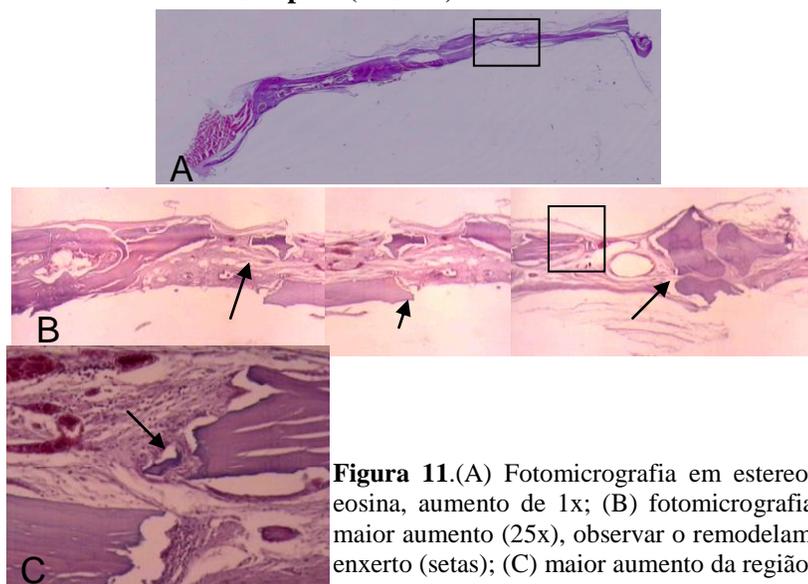


Figura 11.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x), observar o remodelamento nas partículas ósseas do enxerto (setas); (C) maior aumento da região em destaque (100x).

No grupo 3 (EOAB), no período de 15 dias, 20% dos defeitos apresentaram fechamento completo, 40% fechamento parcial, enquanto 40% foram preenchidos com tecido conjuntivo. Depósitos de tecido ósseo foram observados na superfície do enxerto e próximo as bordas do defeito(Figs.12 e 13).Em 1 defeito esta nova formação óssea promoveu a união do enxerto ao osso parietal. Após 45 dias, 60% dos defeitos fecharam completamente, enquanto os 40% restantes obtiveram formação óssea incompleta, com áreas de tecido conjuntivo interpostas entre o enxerto e osso. Foram observadas alterações na forma e no volume do enxerto (Fig.14).

Grupo 3 (EOAB) 15 dias

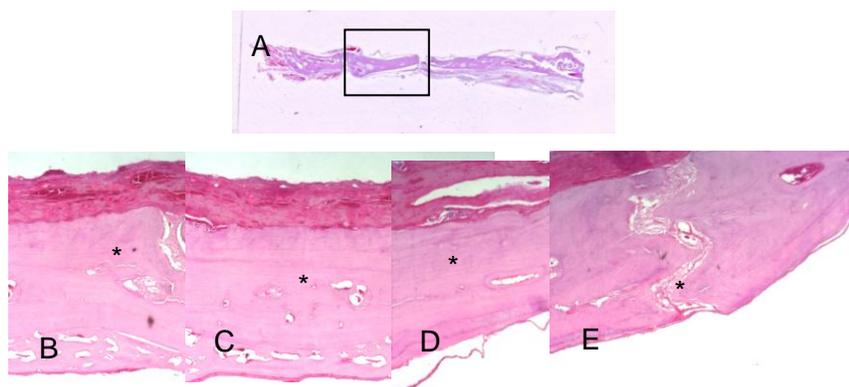


Figura 13.(A)Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, e observar a incorporação do enxerto ao leito receptor (* em B, C, D e E), neste intervalo.

Grupo 3 (EOAB) 45 dias

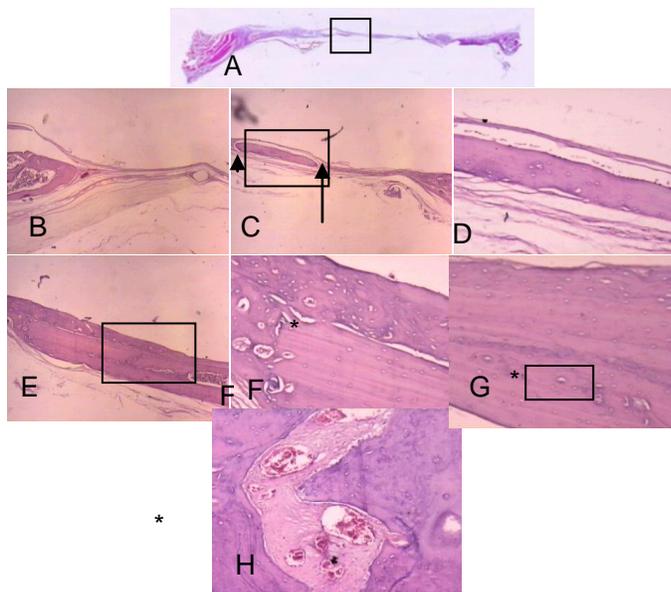


Figura 14.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x;(B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar a diminuição do volume do enxerto;(C) integração do enxerto com as bordas do defeito, fechamento completo;(D e E) maior aumento da região em destaque (50x); (F) maior aumento da região em destaque (100x), completa integração do enxerto com as bordas do defeito(*);(G) observar novo osso formado ao redor do enxerto (*); (H) vasos sanguíneos na região de neo-formação óssea (*), aumento de 400x da região em destaque.

No grupo 4 (ROG + EOAP) foi observado 15 dias após o procedimento cirúrgico que 20% dos defeitos apresentaram fechamento completo, 60% fechamento incompleto e 20% apresentaram formação preponderante de tecido conjuntivo. Nas áreas onde a membrana não ficou apoiada pelo enxerto, observamos menor formação óssea, com presença de tecido conjuntivo denso (Figs. 15 e 16). A utilização da membrana combinada ao enxerto ósseo autógeno particulado após 45 dias , resultou em 80% dos defeitos com fechamento completo, enquanto 20% dos defeitos apresentaram

cicatrização incompleta. Os fragmentos ósseos pareciam estar bem incorporados ao osso imaturo neoformado (Fig.17).

Grupo 4 (ROG +EOAP) 15 dias

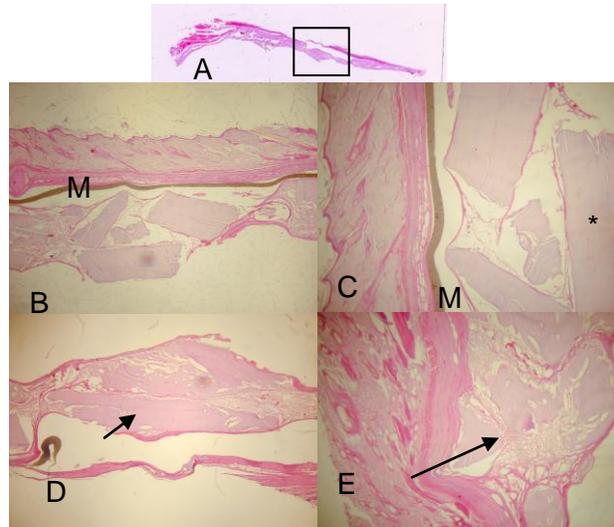


Figura 15.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (40x) da região em destaque, observar a manutenção da membrana (M) em posição, sem o seu colapso sobre o defeito; (C), maior aumento (50X), relação da membrana (M) com as partículas do enxerto; (D) maior aumento (100X), as partículas do enxerto ainda não remodelaram completamente (setas em D e E).

Grupo 4 (ROG+EOAP) 15 dias

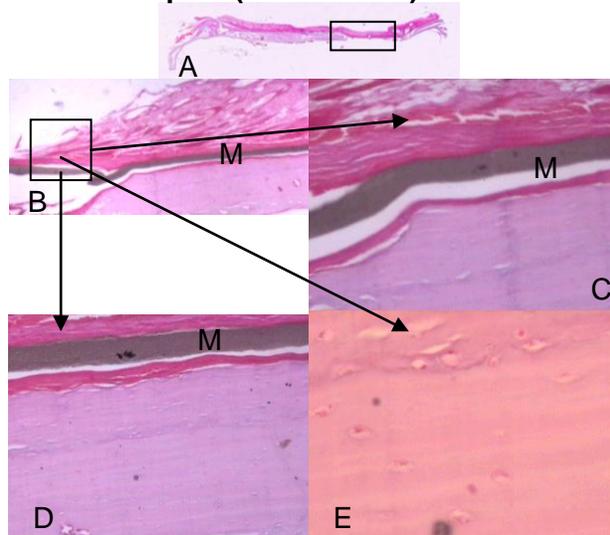


Figura 16.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar a relação da membrana com o enxerto (M); (C eD) maior aumento (50x) com o osso enxertado viável e integrado com as bordas da ferida; (E) aumento de 400x demonstrando células ósseas viáveis.

Grupo 4 (ROG+EOAP) 45 dias

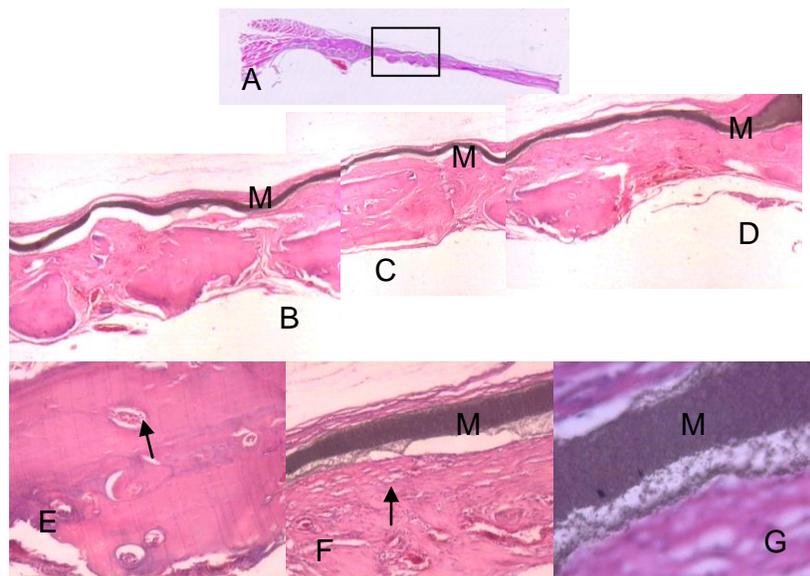


Figura 17.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B, C e D) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, demonstrando completa integração das partículas ósseas com a região da ferida; (E) aumento de 100x apresentando neoformação óssea (seta); (F) aumento de 50x ,neoformação óssea próxima a região da membrana (M e setas); (G) aumento de 400x demonstrando a biocompatibilidade da membrana (M) com os tecidos adjacentes.

No grupo 5 (ROG + EOAB), no intervalo de 15 dias 40% dos defeitos apresentaram fechamento completo, outros 40% fechamento incompleto enquanto 20% dos defeitos foram preenchidos com tecido conjuntivo (Figs. 18 e 19). No intervalo de 45 dias a utilização da membrana com o enxerto em bloco permitiu o fechamento completo em 100% dos defeitos, com os enxertos totalmente integrados com o osso adjacente. Atividade de remodelamento e a presença de osteócitos e osteoclastos no enxerto foram observadas, com a formação de novo osso evidente (Fig.20).

Grupo 5 (ROG+EOAB) 15 dias



Figura 18.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x;(B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, demonstrando a incorporação do enxerto na área da ferida; (C) aumento de 50x; (M) membrana.

Grupo 5 (ROG+EOAB) 15 dias

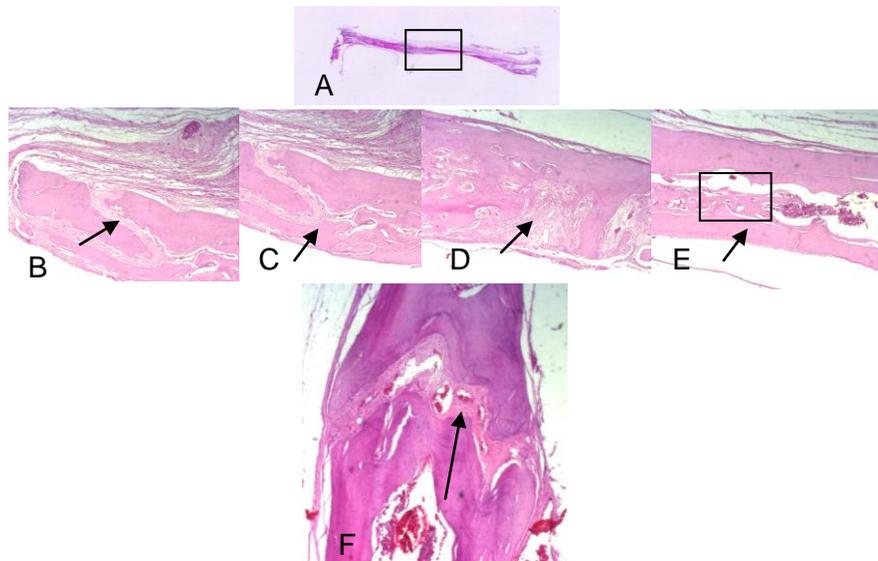


Figura 19.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x; (B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar o processo de remodelamento ósseo ao redor do enxerto, como demonstrado nas setas em B, C, D e E; (F) Maior aumento da área em destaque 100x, observar presença de vasos sanguíneos, na região de neoformação óssea.

Grupo 5 (ROG+EOAB) 45 dias

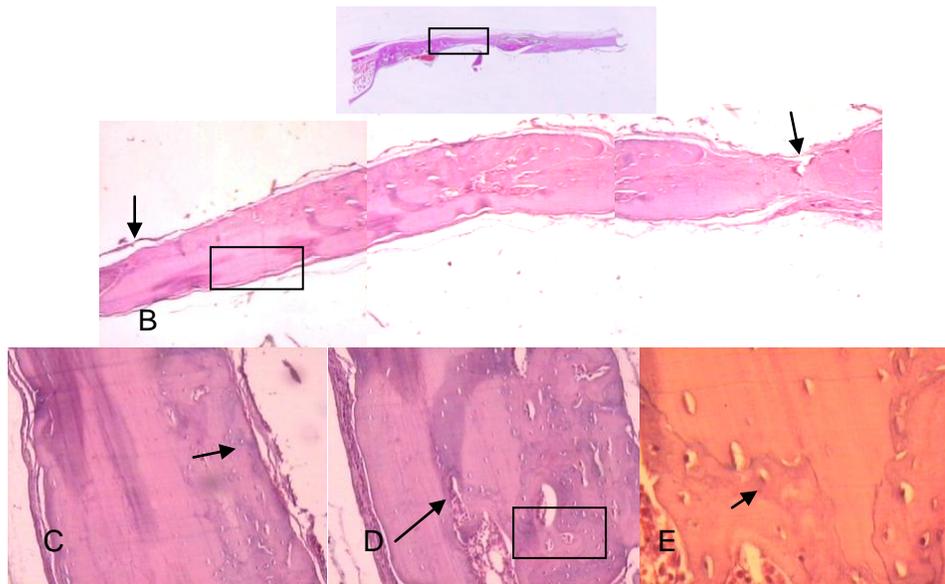


Figura 20.(A) Fotomicrografia em estereomicroscópio, hematoxilina e eosina, aumento de 1x;(B) fotomicrografia em microscópio óptico em maior aumento (25x) da região em destaque, observar o completo fechamento do defeito (setas); (C) maior aumento da região em destaque (50X) demonstrando intensa formação óssea (setas); (D) aumento de 100x demonstrando nova formação ao redor do enxerto a partir do perióstee e da dura-máter; (E) Maior aumento da área em destaque (400x), com células ósseas aprisionadas nas lacunas (setas)

5.-DISCUSSÃO

O principal objetivo na avaliação da cicatrização de defeitos ósseos críticos é a reconstituição na continuidade dos tecidos. Nos mamíferos, esta completa reconstituição corresponde a uma característica do tecido ósseo, enquanto que os demais tecidos apresentam formação de cicatriz (DAVIES & HOSSEINI, 2000). Desta forma, após a avaliação de 45 dias, a utilização de enxerto ósseo autógeno em forma de bloco ou particulado, recoberto com membrana de PTFE , parece ter chegado perto deste objetivo.

Os defeitos críticos na região da calvária dos ratos, quando comparados com outros defeitos experimentais, representam um modelo favorável para avaliar materiais para a regeneração óssea, uma vez que, são defeitos reproduzíveis e os processos de cicatrização estão bem caracterizados(BOSCH et al,1995). No entanto, como principais desvantagens devemos considerar, que existem diferenças importantes quando comparados à cavidade bucal em humanos, que possui um meio extremamente séptico, com movimentos totalmente diferentes aos encontrados na região da calvária.(BOSCH et al,1995).

Os resultados demonstraram que defeitos ósseos críticos (5mm de diâmetro) na região da calvária no grupo controle, não fecharam completamente no intervalo de 45 dias, estando de acordo com outros estudos que avaliaram defeitos ósseos críticos em modelos animais (SCHMITZ & HOLLINGER,1986; PALLESEN et al.,2002). Como possível explicação alguns autores (DAHLIN et al, 1988; KOSTOPOULOS & KARRING,1994; DONOS et al., 2004; PECORA et al.,1997) sugeriram a formação de

tecido mole na região, possa interferir na proliferação de células ósseas a partir das margens dos defeitos.

Os defeitos do grupo teste nos 2 intervalos avaliados, apresentaram maior formação óssea em relação ao grupo controle. A presença de tecido conjuntivo em áreas originalmente ocupadas por tecido ósseo, pode trazer problemas clínicos, como dificuldades na instalação de implantes (PECORA et al, 1997).

Este estudo demonstrou que nos grupos em que os enxertos ósseos autógenos foram recobertos com membrana de PTFE, houve maior quantidade de fechamento dos defeitos, melhorando o comportamento em relação aos grupos em que estes foram utilizados individualmente. Os enxertos dificultaram o colapso da membrana, como demonstrado por outros autores. (DAHLIN et al,1991; LINDE et al, 1980; MARDAS et al, 2003)

Alberius et al (1992), relataram que os enxertos autógenos em bloco da região mandibular, quando transplantados para a região da calvária de ratos e recobertos por membrana de PTFE-e apresentaram menor redução em seu tamanho inicial , quando cicatrizaram por um período de 12 semanas. Lyn et al (1990), demonstraram que esta reabsorção ocorre ao longo do tempo, não representando um processo linear, com as maiores perdas ocorrendo nos intervalos iniciais de cicatrização. Em nosso estudo foram também encontrados melhores resultados quando os enxertos ósseos em bloco foram recobertos com membrana de PTFE, fato que foi corroborado em estudos realizados também no ramo da mandíbula (DONOS et al.,2002 a,b,c; JARDINI et al.,2005; DE MARCO et al.,2005).

Fonseca et al (1980) demonstraram em macacos, após 8 semanas, que enxertos autógenos particulados eram difíceis de serem distinguidos histologicamente do osso da mandíbula. Dahlin et al (1991), demonstraram bons resultados após 12 semanas de avaliação em calvária de ratos de enxerto ósseo autógeno particulado removido da própria calvária e implantados em defeitos com 8 mm diâmetro. O grupo que apresentou maior percentagem de ganho ósseo foi o grupo que combinou este tipo de enxerto com a utilização de 2 membranas de PTFE-e . Em nossa investigação obtivemos bons resultados com apenas 1 membrana, provavelmente em virtude do defeito ser de menor tamanho. Não existe consenso na literatura quanto ao tamanho ideal das partículas do enxerto (PALLESEN et al,2002; BURWELL,1969), no entanto Springer et al (2004) ,demonstraram superioridade do enxerto particulado em relação ao moído no que diz respeito a contagem de células ósseas viáveis.

Apesar das dificuldades em se comparar com estudos em humanos, Chiapasco et al (1999), avaliaram o ganho ósseo em 30 pacientes que apresentavam espessura mínima para a instalação de implantes, onde 15 indivíduos (grupo 1) foram tratados com enxerto ósseo autógeno particulado recoberto por membrana de PTFE-e e os outros 15 (grupo 2) com enxerto ósseo em bloco. Na reentrada, após 6 a 8 meses o ganho ósseo do grupo1 foi de 2.7mm e do grupo 2 de 4.0mm. No modelo animal, os resultados do enxerto ósseo em bloco sem membrana foram um pouco piores que o enxerto ósseo particulado com membrana. Apesar de se citar na literatura que o enxerto ósseo autógeno particulado apresente maior potencial regenerativo quando comparado ao enxerto ósseo em bloco, em função de um processo de revascularização mais rápido (FONSECA et al,1980; PALLESEN et al,2002;SIMION et al,1998 ; NEVINS et al,1998), observamos em nosso

estudo que o enxerto ósseo em bloco foi superior no que tange ao fechamento completo do defeito, com ou sem a utilização de membrana.

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 guiada, como observado nos defeitos do grupo 1. Uma membrana deve ter rigidez suficiente para manter o seu espaço, entretanto deve também adaptar-se ao contorno ósseo sem apresentar recuperação elástica e retornar a sua forma original. Quanto mais completa a adaptação da membrana, mais completa será a regeneração (BUSER et al, 1990).

A presença de poros mínimos na estrutura da membrana testada parece ter influenciado na não ocorrência de aderência entre esta e o tecido conjuntivo e ósseo, o que é observado em membranas do tipo Gore-Tex , que quando avaliadas microscopicamente, demonstram invasão de tecido fibroso, o que auxilia na ancoragem da membrana em posição. Desta forma, esta aderência pode funcionar como um mecanismo de proteção , que melhora a estabilidade da membrana durante todo o período de osteogênese (MAROUF & EL GUINDI,2000). Neste trabalho, a membrana TefGen , que apresenta características superficiais semelhantes à utilizada neste estudo apresentou piores resultados no fechamento dos defeitos ósseos de 7mm na calvária de coelhos. Dos 6 defeitos avaliados no período de 8 semanas, nenhum apresentou fechamento completo, 1 apresentou fechamento incompleto, enquanto 5 defeitos cicatrizaram com predominância de tecido conjuntivo.

Bosch et al (1995), avaliaram em ratos com 6 meses de vida, o grau de fechamento de defeitos com 5mm de diâmetro na região da calvária, após a cobertura com 1 membrana de PTFE-e durante um período de 30 dias. Como resultados encontraram, nos 20 defeitos avaliados, fechamento parcial em 4 , completo em 1 e nos demais presença de tecido conjuntivo. Na presente investigação, no intervalo de 45 dias encontramos 3 defeitos com predominância de tecido conjuntivo, um defeito com fechamento incompleto e 1 defeito com fechamento completo, no grupo 1 que utilizou somente a membrana de PTFE.

A influência da porosidade das membranas na regeneração óssea apresenta estudos que defendem sua importância (LUNDGREN et al, 1998; AABOE et al,1998), enquanto outros afirmam que membranas totalmente oclusivas possam também, demonstrar resultados favoráveis.(SCHMID et al, 1994; LUNDGREN et al 1995). As comparações entre os diferentes estudos publicados na literatura são extremamente difíceis, porque, muitas vezes, são usados animais com diferentes idades, defeitos com diferentes tamanhos críticos, diferentes metodologias e intervalos de avaliação histológica.

6-CONCLUSÕES

Com as limitações deste estudo, podemos concluir que a utilização da membrana de PTFE melhorou a incorporação do enxerto ósseo autógeno particulado e em bloco , com resultado superior para este último.

7-BIBLIOGRAFIA

- AABOE, M. ; PINHOLT, E.M.; SCHOU, S.; HJORTING-HANSEN, E. Incomplete bone regeneration of rabbit calvarial defects using different membranes. **Clin Oral Impl Res** 1998;9:313-320.
- ALBERIUS, P.; DAHLIN, C. ; LINDE, A. Role of osteopromotion in experimental bone grafting to the skull: a study in adult rats using a membrane technique. **J Oral Maxillofac Surg**, 1992;50: 829-34.
- ANTOUN, H; SITBON, J.M.; MARTINEZ, H. ; MISSIKA, P. A prospective randomized study comparing two techniques of bone augmentation onlay graft alone or associated with a membrane. **Clin Oral Impl Res** 2001;12: 632-639.
- BARRETO, O. Caracterização e desenvolvimento de membrana de politetrafluoroetileno. Tese, Instituto Militar de Engenharia; 78 páginas, 2006
- BOSCH, C.; MELSEN, B. ; VARGERVIK, K. Guided bone regeneration in calvarial bone defects using polytetrafluoroethylene membranes. **Cleft Palate-Craniofacial Journal** ,1995;32:311-317.
- BURCHARDT, H. & ENNEKING, W.F. Transplantation of bone. **Surg Clin North Am** 1978, 58: 403-427.
- BURWELL, R.G. Recent advances in orthopaedics. Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1969 ,p 137.
- BUSER, D.; BRAGGER, U.; LANG, N.P.; NYMANN, S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. **Clin Oral Impl Res** 1990;1: p.22-32
- BUSER, D.; DULA, K.; HIRT, H.P.; SCHENK, R.K. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: A clinical study with 40 partially edentulous patients. **J Oral Maxillofac Surg** 1996;54:420-432.
- CHIAPASCO, M.; ABATI, S.; ROMEO, E., VOGEL, G. Clinical outcome of autogenous bone blocks or guided bone regeneration for the reconstruction of narrow edentulous ridges. **Clin Oral Implants Res** 1999;10:278-288.
- COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Princípios éticos na experimentação animal. **Referência eletrônica**. <http://www.cobea.org.br/ética.htm>3

DAHLIN, C. ; GOTTLOW, J.; LINDE, A..Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. **Scand J Plast Reconstr Hand Surg** 1990;24:19-23.

DAHLIN, C.; LEKHOLM, U.; LINDE, A.Induced bone augmentation at titanium implants using a membrane technique:A report on 10 fixtures followed 1 to 3 years after loading.**Int J Periodont Rest Dent** 1991;11:273-279.

DAHLIN, C. ; LINDE , A. ; GOTTLOW, J.Healing of bone defects by guided tissue regeneration.**Plast Reconstr Surg** 1988;81,672-676.

DAHLIN, C.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U.Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique. **J Oral Maxillofac Impl** 1989;4:25-29.

DAVIES,J.E. & HOSSEINI, M.M.Histodynamics of Endosseous Wound Healing,in **Bone Engineering**, Davies ed, Canada 2000;Chapter 1: 1-14.

DE MARCO, A.C.; JARDINI, M.A.N.; LIMA, A.P.A. Revascularization of autogenous block grafts with or without an e-PTFE membrane.**Int J Oral Maxillofac Implants** 2005;20: 867-874.

DONOS, N.; KOSTOPOULOS, L., KARRING, T. Alveolar ridge augmentation by combining autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes.An experimental study in the rat.**Clin Oral Impl Res** 2002a;13:185-191.

DONOS, N.; KOSTOPOULOS, L.; KARRING, T. Alveolar ridge augmentation using a resorbable copolymer membrane and autogenous bone grafts.An experimental study in the rat.**Clin Oral Impl Res** 2002b;13:267-268.

DONOS, N. ; KOSTOPOULOS, L. ; KARRING , T. Augmentation of the rat jaw with autogeneic cortico-cancellous bone grafts and guided tissue regeneration.**Clin Oral Impl Res** 2002c;13:192-202.

DONOS, N.; LANG, N.P. ; KAROUSSIS, J. K. ; BOSSHARDT, D.; TONETTI, M.; KOSTOPOULOS, L.Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects.**Clin Oral Impl Res** 2004;15: 101-111.

ENNEKING , W.F.; BURCHARDT, H.; PUHL, J.J. PIOTROWSKI, G. Physical and biological aspects of repair in dog cortical bone transplants.**J Bone Joint Surg Am** 1975;7:237-52.

ESPOSITO, M.; HIRSCH, J. M.; LEKHOLM, W. ; THOMSEN, P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants.II – Etiopathogenesis.**European Journal of Oral Sciences** 1998;106:721-764.

FONSECA, R. J. ; CLARK, P. J.; BURKES JR, J.; BAKER, R.D. Revascularization and healing of onlay particulate autologous bone grafts in primates.**J Oral Surg** 1980;38, 572-577.

HARDWICK ,R.; SCANTLEBURY, T.V.; SANCHEZ, R.;WHITELY, N.; ,Ambruster J.Membrane design criteria for GBR of the alveolar ridge.In: Buser D,Dahlin C,Schenck RK,editors.**GBR in Implant Dentistry**.Hong Kong:Quintessence;1994:101-136.

HOLLINGER, J.Strategies for regenerating bone of the craniofacial complex.**Bone** 1993;14:575-580.

HU, B.; NADIRI, A.; KUCHLER-BOPPS, A.; PERRIN-SCHIMTT, F.; PETERS H., LESOT, H.Tissue Engineering of tooth crown, root and periodontium.**Tissue Eng** 2006;12(8):2069-75.

JARDINI, M.A. ; DE MARCO, A.C. ; LIMA, L.A. .Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes:A histometric study in rats.**Oral Surg Oral Med Oral Pathol, Oral Radiol Endod** 2005;100:666-73.

JENSEN, S.S.; AABOE, M. ; PINHOLT, E.M. ; HJORTING-HANSEN, E., MELSEN, F.; RUYTER, J.E. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes.Int **J Oral Maxillofac Implants** 1996;11:55-66.

JENSEN, J.; SINDET-PEDERSEN, S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants for reconstruction of the severely atrophied maxilla.A preliminary report. **J Oral Maxillofac Surg** 1991;49:1277-1287

KHOURI, R.K.; BROWN, D.M.; KOUDSI, B.; DEUNE, G.; GILULA, L.A.; COOLEY, B.C.; REDDI, H.Repair of calvarial defects with flap tissue:role of BMPs and competent responding tissues.**Plastic Reconstr Surg** 1996;98-103

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

LUNDGREN , A.K. ; LUNDGREN, D. ; SENNERBY, L.A.T.; GOTTLAWS, J, NYMAN, S. Augmentation of skull bone using a bioresorbable barrier supported by autologous bone grafts.An Intra-individual study in the rabbit. **Clin Oral Impl Res** 1997;8:90-95.

LUNDGREN, A.K.; LUNDGREN, D.; TAYLOR, A.Influence of barrier occlusiveness on guided bone augmentation.An experimental study in the rat. **Clin Oral Impl Res** 1998;9:251-260.

LYN, K.Y. ; BARTLETT, S.P.; YAREMCHUK, M.J.; FALLON, M.; GROSSMAN, R.F.; WHITAKER,L.A.The effect of rigid fixation on the survival on onlay bone grafts:an experimental study .**Plastic and Reconstruct Surg** 1990;86:449-456.

MARDAS, N.; KOSTOPOULOS, L.; STAVROPOULOS, A.; KARRING ,T. Evaluation of a cell-permeable barrier for guided tissue regeneration combined with demineralized bone matrix.**Clin Oral Implants Res** 2003; 812-818.

MAROUF, H.A. & EL-GUINDI, H.M. Efficacy of high density versus semi-permeable PTFE membranes in na elderly experimental model.**Oral Surg Oral Méd Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2000;89:164-70.

MISCH, C.M. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement.**Int J Oral Maxillofac Implants** 1997;12: 767-776.

MISCH, C.M. ; MISCH, C.E.; RESNIK, R.R.; ISMAIL, Y.H. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphysis grafts for dental implants: A preliminary procedural report.**Int J Oral Maxillofac Implants** 1992;7:360-366.

NEVINS, M; MELLONIG, J.T.; REISER, G.M.; BUSER, D.A.Implants in regenerated bone:long term survival.**Int J Periodontics Restorative Dent** 1998,18:35-45

NYMAN, S.Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration.**J Clin Periodontol** 1991;18: 494-498.

PALLESEN, L.; SCHOU, S.; AABOE, M. ; HORTING-HANSEN, E.; NATTESTAD, A.; MELSEN, F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration.A histologic and stereologic study in rabbit calvarium.**Int J Oral Maxillofac Impl** 2002;17:498-506.

PECORA, G.; ANDREANA, S.;MARGARONE III, J.E.;COVANI,U. ; SOTTOSANTI, J.S.Bone regeneration with a calcium sulfate barrier.**Oral Sur Oral Med Oral Pathology Oral Radiol Endod** 1997;84:424-9.

PHEMISTER, D.B. The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituents.**Surg Gynecol Obstet** 1914;19:303-311.

PRADEL, W. ; TENBIEG, P.; LAUER , G. Influence of harvesting technique and donor site location on in vitro growth of osteoblastic cells from facial bone.**Int J Oral Maxillofac Implants** 2005;20: 860-866.

PROUSSAEFS, P. ; LOZADA, J.L.; ROHER, M.D. A Clinical and histologic evaluation of block onlay graft in conjunction with autogenous particulate an inorganic bovine mineral (Bio – Oss).A case report. **Int J Periodontics Restorative Dent** 2002;22:567-573.

PROUSSAEFS, P.& LOZADA, J. The use of intraorally harvested autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation: A Human study.**Int J Periodontics Restorative Dent** 2005;25: 351-363.

PROUSSAEFS, P.; LOZADA, J. L.; KLEINMAN, A. ; ROHER, M. The use of ramus autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation and implant placement.A pilot study. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2002;17:238-248.

PROUSSAEFS, P.; LOZADA, J.L.; KLEINMAN, A, ROHER, M. The use of titanium mesh in conjunction with autogenous bone graft and inorganic bovine mineral (Bio-Oss) for localized alveolar ridge augmentation. A human study.**Int J Periodontics Restorative Dent** 2003;23: 185-195.

SCHMID, J.; HÄMMERLE, C.H.F. ; OLAH, A.J.; LANG, N.P.Membrane permeability is unnecessary for guided generation of new bone.An experimental study in the rabbit.**Clin Oral Impl Res** 1994;5:125-130.

SCHMID, J.; WALKMANN, B. ; HÄMMERLE, C. H. , GOGOLEWSKY, S.; LANG, N.P. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration .A case report of a rabbit experiment. **Clin Oral Implants Res** 1997;8: 244-248.

SCHMITZ, J. P. & HOLLINGER, J. O. . The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions.**Clin Orthop Relat Res**, n205: p 299-308, 1986.

SIMION, M.; JOVANOVIĆ, S.A.; TRISI, P.; SCARANO, A.; PIATELLI, A. Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. **Int J Periodontics Restorative Dent** 1998;18:9-23.

SIMION, M.; TRISI, P.; PIATELLI A.Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants.**Int J Periodontics Restorative Dent** 1994;14:497-511.

SPRINGER, I.N.G.; TERHEYDEN, H.; GEIB, S.; HÄRLE, J.; HEDDERICH, J.; AÇYL, Y. Particulate bone grafts_ effectiveness of bone cell supply.**Clin Oral Implants Res** 2004;15:205-212.

THOMPSON, N.& CASSON, J.A. . Experimental Onlay Bone Grafts to the Jaws __ A preliminary study in dogs.**Plastic and Reconstructive Surgery**, 1970; 46:341-349.

WIDMARK G., ANDERSSON B., IVANOFF, C.J. Mandibular bone graft in the anterior maxilla for single-tooth implants. Presentation of a surgical method. **Int J Oral Maxillofacial Surg** 1997;26:106-9.

WONG, R.W.K. & RABIE, B.M. .A quantitative assessment of the healing of intramembranous and endochondral autogenous bone grafts. **Europ J Orthod**, 1996;21: 119-126.

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](#)