

REGENERAÇÃO GUIADA EM DEFEITOS ÓSSEOS INDUZIDOS
USANDO UMA MEMBRANA TOTALMENTE OCLUSIVA (AL₂O₃).
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.

**EDUARDO MACHADO VILELA
ANDREA THERESIA WERNTHALER**

**REGENERAÇÃO GUIADA EM DEFEITOS ÓSSEOS INDUZIDOS
USANDO UMA MEMBRANA TOTALMENTE OCLUSIVA (AL₂O₃).**
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.

**Projeto de Pesquisa apresentado à
PROP no Programa de Bolsas
Iniciação Científica da Universidade
Federal de Juiz de Fora, orientado
pelo professor Dr. Eduardo
Machado Vilela.**

**Juiz de Fora – MG
2002**

AGRADECIMENTOS:

- Ao departamento de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF
- Ao biotério do Centro da Biologia de Reprodução da UFJF
- À coordenação de Pesquisas da UFJF
- À Maxtron LTDA

SUMÁRIO:

1. Introdução.....	5
2. Revista de Literatura.....	7
3. Proposições.....	16
4. Material e Métodos.....	17
5. Resultados.....	20
6. Discussão.....	24
7. Conclusão.....	27
8. Referências Bibliográficas.....	28
9. Anexo I.....	34
10. Anexo II.....	36
11. Anexo III.....	38

1. INTRODUÇÃO

A regeneração óssea guiada (ROG) tem sido de grande valor nos últimos anos, somando consideravelmente nas áreas de cirurgia, periodontia e implantes.

Desde seu aparecimento em 1980 com Nyman et al.²¹ que seus princípios tem se firmado em trabalhos focalizando a fisiologia celular, o modus operandi e as propriedades das membranas utilizadas.¹⁻²⁶

A principal meta da regeneração óssea guiada é a utilização de um meio físico temporário que promova uma adequação no ambiente, necessário para que o organismo possa utilizar o seu potencial de regeneração natural e recuperar os tecidos perdidos e lesados.

A barreira aloplástica de óxido de alumínio (Alumina), tem como característica principal o isolamento tecidual totalmente oclusivo na regeneração tecidual guiada (RTG).

Este trabalho teve como objetivo principal verificar se a membrana totalmente oclusiva de Óxido de Alumínio cria condições favoráveis para a regeneração óssea. A importância deste trabalho é a pesquisa em cobaias de

materiais já usados na clínica , provendo informações voltadas para a fundamentação ultraestrutural das técnicas clínicas.

2. REVISTA DE LITERATURA:

Os princípios biológicos da regeneração guiada tiveram início nos anos 50 quando CAMPBELL & BASSETT (1956)⁵ e HURLEY (1959)¹⁷ utilizaram filtros de acetato de celulose microporosos para a regeneração de tendões e nervos. Em 1957, MURRAY²⁶ et al descreveram que para o direcionamento ósseo no interior do organismo são necessárias condições como: presença de coágulo sangüíneo, osteoblastos íntegros e um contato com o tecido vivo.

O princípio da Regeneração Guiada dos Tecidos (RGT) baseia-se na função desempenhada pelo periósteo no organismo, ou melhor, isolar o tecido ósseo do tecido mole adjacente, criando desta forma condições ótimas para a formação óssea.²¹

Em 1969, MELCHER²³ estudou a capacidade osteogênica do periósteo em ratos adultos e observou que se o mesmo fosse deslocado ou excisionado perdia esta característica. Em 1971²⁴ foi feita, pelo mesmo autor, uma experiência em ratos jovens e o deslocamento do periósteo não levava à perda da capacidade osteogênica, o que ele explicou como uma melhor atividade osteoblástica dos animais jovens.

A partir daí vários autores estudaram a RGT e utilizaram membranas de diferentes composições para promover uma formação tecidual cada vez mais previsível.

NYMAN et al. (1980, 1982)^{27,28} induziu em cachorros e macacos uma periodontite que levou à perda tecidual. Após limpeza e raspagem do dente afetado ele foi extraído e reimplantado em uma área edéntula da mandíbula. A parte radicular em contato com o tecido mole adjacente não mostrou uma regeneração tecidual, ao contrário da parte em contato com o osso, onde a formação de cemento e ligamento periodontal foram observados. Os autores ainda descobriram que uma superfície radicular, apesar de afetada por periodontite, não inibe a regeneração tecidual.

DAHLIN et al. (1988)⁸ realizaram uma experiência com ratos criando um defeito transósseo nos ângulos da mandíbula bilateralmente. Num dos lados da mandíbula, o defeito foi coberto bilateralmente com uma membrana de teflon e o outro serviu como controle. Exames histológicos, realizados após o período de três semanas, mostraram que em cinquenta por cento dos defeitos cobertos pela membrana houve regeneração e em seis semanas cem por cento destas amostras tinham sofrido uma regeneração óssea (RO) completa.

Os defeitos com ausência de membrana não mostravam RO, mesmo após doze semanas. Os autores ainda afirmaram que a migração dos tecidos moles adjacentes para dentro do defeito ósseo levava a um bloqueio da regeneração óssea.

Os mesmos autores inseriram em 1989⁹, na tíbia de coelhos, implantes e testaram a técnica da RO guiada, para gerar osso em torno de implantes de titânio.

Eles destacaram que isolando o defeito ósseo dos tecidos moles adjacentes, ocorria uma formação completa e seletiva de osso. As áreas dos implantes cobertas pela membrana mostraram um crescimento de osso novo significativo, indicando que a técnica da membrana seria um método cirúrgico reconstrutivo que poderia ser aplicado para criar osso em volta das roscas expostas dos implantes de titânio, em situação clínica.

A RGT foi também comprovada, no ano de 1990¹⁰, em defeitos transósseos na mandíbula de macacos. Observou-se que os defeitos em contato com o tecido conjuntivo não sofreram RO, mas os defeitos cobertos pela membrana estavam completamente preenchidos com osso após três meses de cicatrização.

FRITZ et al. (1994)¹³ pesquisaram o uso da RO guiada para preencher grandes defeitos mandibulares em macacos e obtiveram uma RO maior que 90%. Os exames radiológicos revelaram um ganho ósseo entre 544 e 733 mg. Este estudo evidenciou que quantidades significativas de osso podem ser produzidas em mandíbulas atroficas por RGT e que este osso regenerado apresenta uma maturação dinâmica normal.

SCHENK et al. (1994)³² realizaram um estudo histológico em mandíbulas de quatro cães para observar o tipo da regeneração óssea em defeitos protegidos por membranas de polytetrafluoretileno (PTFE). Após quatro meses o lado controle sem membrana apresentava uma regeneração óssea incompleta e o defeito persistia. O lado teste com membrana exibia uma regeneração bem melhor, mas o tempo não tinha sido ainda suficiente para promover uma regeneração

completa. Foi também comprovado que as diferentes etapas de maturação do osso na RGT se assemelham ao desenvolvimento e crescimento ósseo natural.

LUNDGREN et al. (1995)²² utilizaram uma membrana de titânio oclusiva para saber se a regeneração óssea pode ser observada fora das estruturas esqueléticas naturais. A barreira oclusiva foi posicionada na calota craniana, abaixo do perióstio de três coelhos. Desta maneira foi criado um espaço fechado que se limitava somente com o tecido ósseo adjacente. Após a fase de cicatrização de três meses as amostras foram sacrificadas e a região teste foi exisionada para uma avaliação histológica. Os resultados mostravam um preenchimento do espaço deixado pela membrana sem interferência de outros tipos de tecidos. Este estudo mostrou que a utilização de uma barreira oclusiva, firme e estável leva a uma regeneração óssea confiável até mesmo em locais onde nunca existiu osso.

BUSER et al. (1995)³ aplicaram o princípio da regeneração guiada dos tecidos (RGT) para aumentar o rebordo alveolar na mandíbula de três pacientes. Obtiveram resultados positivos na regeneração óssea após sete a nove meses. Em todos os casos pode-se observar um aumento significativo do rebordo. A qualidade e quantidade óssea obtida eram suficientes para o posicionamento de implantes nestas áreas. Os autores usaram osso autógeno e membrana de PTFE e chegaram a conclusão que a membrana preserva o enxerto de reabsorções pós-operatórias.

BUSER & DAHLIN et al. (1996)⁴ baseados numa revisão de estudos experimentais e evidências científicas confiáveis, determinaram que para a neoformação óssea ser completa pela RO guiada, deve-se encontrar condições seguras como: fonte de células osteogênicas, vascularização adequada, estabilidade

mecânica do local da ferida durante a cicatrização, espaço apropriado entre a membrana e superfície óssea de origem e a exclusão de tecido conjuntivo frouxo desse espaço.

LING (1998)²¹ afirma que a RGT com uma membrana não reabsorvível pode ser usada para o tratamento de várias lesões e tem um papel importante na implantodontia e estética. Na recessão do tecido marginal, em torno de implantes, em fendas palatinas e aumento ou correção do rebordo alveolar podem-se obter resultados positivos com a RGT.

Além das membranas, muitos autores utilizaram osso desmineralizado e outras substâncias osteogênicas para melhorar ainda mais a ROG.

KABAN & GLOWACKI (1981)¹⁸ investigaram materiais osteogênicos (osso liofinizado, osso desmineralizado e osso não desmineralizado) em defeitos na mandíbula de ratos. Eles concluíram que o osso desmineralizado levou a uma osteogênese mais rápida e de melhor qualidade do que os outros materiais utilizados.

GOTFREDSSEN et al. (1991)¹⁵ utilizaram enxerto de hidroxiapatita e uma membrana de polytetrafluoretileno (PTFE) para tratamento de defeitos ósseos em torno de implantes dentais de titânio em macacos. Dividiram as amostras em quatro grupos. No primeiro só utilizaram a membrana, no segundo preencheram o defeito com a hidroxiapatita e cobriram tudo com a membrana, no terceiro só usaram a hidroxiapatita e no quarto grupo nenhum material foi empregado.

Os defeitos cobertos com a membrana sem ou com a hidroxiapatita se encontraram totalmente preenchidos de osso, ao passo que aqueles tratados somente

com hidroxiapatita não sofreram formação óssea, obtendo resultado final semelhante ao grupo onde não foi utilizado nenhum material.

Em 1994, LANDSBERG et al.²⁰ utilizaram Descalcified Freeze-Dried Bone Allograft (DFDBA) com tetraciclina e uma membrana expandida de PTFE, durante quatro a seis meses, para o tratamento de defeitos ósseos em torno de implantes dentários intraósseos. Os autores idealizaram que se a membrana cobrisse o defeito durante o tempo previsto (4 - 6 meses) isso levava a uma regeneração óssea completa. Uma regeneração óssea parcial acontecia quando se retirava a membrana prematuramente.

BECKER et al. (1995)² compararam em seu estudo em mandíbulas de cães os resultados obtidos no emprego somente de membrana com aqueles nos quais foram utilizados a membrana juntamente com DFDBA e chegaram à conclusão que o uso da membrana com osso autógeno ou DFDBA produz melhores resultados aditivo às membranas.

CHEN et al.⁶ e MELLADO et al. (1995)²⁵ observaram em suas pesquisas com humanos que o emprego da membrana juntamente com DFDBA não levava a diferenças significativas na formação óssea entre os grupos.

LA FONTANA et al. (1997)¹⁹, em contrapartida, também empregando DFDBA juntamente com a membrana PTFE em humanos, observaram formação óssea em lesões periodontais com a membrana e sem a membrana.

SIMION et al. (1998)³³ pesquisaram o efeito do uso de DFDBA juntamente com a membrana em regeneração óssea vertical, em pacientes edêntulos com deficiência de osso mandibular. Após sete a onze meses puderam observar uma

porcentagem de ganho ósseo de 124% e chegaram à conclusão que a adição de DFDBA para o aumento vertical do rebordo alveolar tem efeito benéfico.

GORDH et al. (1998)¹⁴ também concluíram que há maior intensidade de remodelação óssea e melhor integração do enxerto com a membrana no seu estudo com crânios de coelhos em quais empregaram membrana de PTFE e enxerto ósseo para conseguir uma formação óssea adequada.

DE LEONARDIS et al. (1999)¹¹ observaram em um estudo comparativo, uma vez usando DFDBA junto com a membrana e outra, utilizando somente a membrana no tratamento de lesões de furca classe II. Eles concluíram que a associação adjunta de DFDBA e RGT leva a melhores resultados.

Em um estudo comparativo entre bovine derived xenograft (BDX) e DFDBA, RICHARDSON et al. (1999)³⁰ constataram que os dois materiais têm potenciais de osteoindução semelhantes e estatisticamente comparados não apresentavam diferenças no processo de reparo ósseo.

HALLE et al. (1999)¹⁶ utilizaram DFDBA e hidroxiapatita, preenchendo defeitos intraósseos em torno de implantes em mandíbulas de cachorros e constataram que os resultados com o DFDBA foram melhores, comparados aos casos em que se utilizou hidroxiapatita. A formação de tecido ósseo, quando se empregou hidroxiapatita, foi semelhante ao do grupo controle onde não foi utilizado nenhum material.

RODRIGEZ SANCHEZ et al. (2000)³¹ avaliaram microscopicamente a capacidade indutora da proteína morfogenética associada à matriz óssea bovina liofinizada no reparo de falhas ósseas provocadas em tíbias de ratos. Após 40 dias

observou-se o fechamento da falha com aumento na espessura da cortical e diminuição do canal medular.

ARAÚJO et al. (2000)¹ realizaram um estudo histológico de enxerto Xenógeno do osso anorgânico (Biobone[®]) em sua forma laminada, implantado previamente em lojas ósseas padronizadas em mandíbula de cão, tendo lojas controles para análise comparativa. Observaram que os diferentes estágios de neoformação óssea foram similares em ambos os grupos. Foi constatado ainda que as cavidades contendo Biobone[®] laminado apresentaram um infiltrado inflamatório de células gigantes de corpo estranho próximas ao material, indicando que esse apresentou certo grau de imunogenicidade.

ZIELAK et al. (2000)³⁴ chegaram à conclusão que a utilização de biocerâmica (Osteosynt[®]) e/ou osso bovino desproteinado (Biobone[®]) acelera os processos de reparo, contribuindo para a solução clínica de defeitos ósseos.

Alguns trabalhos já foram realizados com a membrana de óxido de alumínio (Alumina), que será empregada nesta pesquisa.

Em 1993, CRUZ et al.⁷ desenvolveram a membrana de óxido de alumínio (ALLUMINA[®] – Maxtron LTDA – Juiz de Fora – MG – Brasil) como fator físico, não reabsorvível, totalmente oclusivo, para regeneração óssea guiada dos tecidos (RGT). Esta membrana apresenta características de biocompatibilidade, histofilia (capacidade de adsorção de biomoléculas à sua superfície), aumento de rigidez e resistência progressiva (capacidade de criação de espaço) e textura superficial ideal (facilidade de aderência superficial tardia). Ela apresenta-se em três

espessuras: fina (indicada especificamente como isolante tecidual), média (isolamento e espaçamento) e grossa (espaçamento, arcabouço e proteção mecânica). Os autores ainda concluíram que não obtiveram resultados negativos nos procedimentos clínicos utilizando a membrana.

ORTIZ et al. (1999)²⁹ investigaram o comportamento da membrana de óxido de alumínio (ALLUMINA®), ao ser inserida por um período de seis meses, após a exodontia dos terceiros molares inferiores, em sete pacientes. Foram realizadas radiografias de análise digitais de imagens (morfometria) com a finalidade de se medir a densidade óssea formada. Concluíram que a Allumina® cumpriu as funções de barreira artificial, biocompatibilidade além de haver significativa melhora no rebordo alveolar.

DUTRA DE OLIVEIRA et al. (1999)¹² avaliando a RGT, utilizando a barreira física de óxido de alumínio, ALLUMINA®, observou a eficácia da mesma no tratamento em lesões de furca do tipo classe II em molares inferiores de humanos. Os pacientes em número de doze foram selecionados de acordo com aspectos gerais e locais, bem como uma avaliação quantitativa da doença periodontal a qual abordava parâmetros clínicos relativos a profundidade de sondagem, níveis clínicos e recessão gengival.

3. PROPOSIÇÕES:

Os propósitos da presente investigação foram:

- Avaliar se a membrana totalmente oclusiva cria condições favoráveis para uma condução previsível da RO de defeitos ósseos induzidos cirurgicamente.
- Avaliar se a membrana apresenta condições de manuseio favoráveis durante o ato cirúrgico.
- Avaliar se o osso formado somente com a membrana difere daquele em que foi empregado, além da membrana, o enxerto xenógeno de osso inorgânico bovino.
- Avaliar se ao usar o enxerto xenógeno do osso anorgânico há necessidade do uso da membrana.
- Avaliar se a neoformação óssea segue os padrões normais de maturação.

4. MATERIAL E MÉTODOS:

O material de estudo esteve baseado na análise microscópica do osso removido na região do ângulo da mandíbula de 36 ratos (*Rattus norvegicus* da variedade albina) de 5 meses com peso de 250-350 gramas. Os animais foram cedidos pelo Biotério do setor da Biologia de Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora e submetidos a procedimentos cirúrgicos que visaram a criação de defeitos transósseos extra-orais unilaterais de acordo com protocolo a seguir:

1. Anestesia dos animais (Anexo II, foto 1) com Ketamina (Ketamine®) e Xilazina (Rompum®). A dosagem foi calculada de acordo com o peso corporal de cada animal (Anexo I, Tabela 1).
2. Tricotomia da área a ser operada (região de ângulo da mandíbula do lado direito).
3. Anti-sepsia local realizada com álcool iodado (Anexo II, foto 2).
4. Incisão inicial linear cutânea de 2 cm com bisturi e lâmina nº 15 na região do ângulo da mandíbula (Anexo II, foto 3).
5. Divulsão do plano muscular por meio de tesoura (Metzenbaum) até o plano ósseo.

6. Afastamento dos tecidos moles mantido com auxílio de pinças e afastadores.
7. Incisão e descolamento do periósteo com rugina tanto do lado vestibular quanto lingual da mandíbula.
8. Defeito ósseo criado com uma broca trefina de 3 (três) milímetros de diâmetro externo, em baixa rotação, irrigada com solução fisiológica, trespassando o corpo mandibular (Anexo II, foto 4,5,6).
9. As amostras foram divididas em quatro grupos de nove animais (Anexo I, Tabela 2). No primeiro grupo foi sempre, o Controle, o defeito ósseo não foi coberto com a membrana de óxido de alumínio (ALLUMINA®) e também não foi preenchido com osso inorgânico bovino (OIB). No segundo grupo o defeito foi coberto somente com a membrana. Esta foi cortada durante o ato cirúrgico com uma tesoura pequena e curva no tamanho necessário para cobrir o defeito tanto pela vestibular quanto pela lingual, contornando a base da mandíbula (Anexo II, foto 7). A membrana não precisou ser fixada por meio de fios de sutura, pois apresenta a capacidade de adaptar-se ao osso ao ser brunida. No terceiro grupo além da colocação da membrana o defeito ósseo era preenchido com osso inorgânico bovino, este era manipulado com sangue local como agente hidratante e aglutinante em potes Dappen em partes iguais na mistura. No quarto grupo o defeito

- ósseo era somente preenchido com OIB. Neste caso o descolamento só era feito pela vestibular para garantir suporte lingual necessário para manter o material no local. Cada grupo foi dividido em três subgrupos de três amostras cada. O primeiro subgrupo foi sacrificado após três semanas, o segundo após seis e o terceiro subgrupo após nove semanas de preservação.
10. Ao final, fez-se a reposição dos tecidos moles e sutura com fio (Anexo II, foto 8); os animais foram mantidos somente a base de água até 24 horas após o término da cirurgia. Os animais eram alimentados até 5 dias com alimentação pastosa (ração de rato amolecida em água). Após deste período recebiam ração de rato normal.
 11. Após três, seis e nove semanas as amostras do terceiro, segundo e primeiro grupo eram sacrificadas, em uma câmara de éter etílico, respectivamente.
 12. Os animais sacrificados eram hemi-mandibulectomizados, e as mandíbulas processadas para o estudo histológico: imersão imediata em fixador (formol 10%). A descalcificação do material foi feita com ácido nítrico de 5 % e a coloração foi feita com Hematoxilina e Eosina
 13. A avaliação histológica foi feita no microscópio ótico pelo departamento de histologia do Centro de Ciências biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora.

5. RESULTADOS HISTOLÓGICOS:

5.1 Grupo Controle:

Observou-se nenhuma formação óssea neste grupo. Após 3 semanas o defeito ósseo induzido cirurgicamente foi invadido por tecido conjuntivo (Anexo III, foto 1), já após seis e nove semanas no mesmo local observou-se tecido muscular esquelético ocupando todo espaço criado (Anexo III, foto 2).

5.2 Grupos Membrana e Membrana com OIB (três semanas de proervação):

Estes grupos apresentavam predominantemente no local da perfuração osso esponjoso, com trabéculas ósseas delgadas com cerca de 2-3 camadas de osteócitos. Neste estágio observou-se ainda uma rica vascularização da área (Anexo III, foto 3). Além da neoformação óssea constatou-se ainda um espessamento perióstico. De permeio observou-se ocasionais células inflamatórias às custas de mononucleares e focalmente observaram-se células gigantes do tipo corpo estranho.

Houve um caso de abscesso, mas também neste caso observou-se espessamento perióstico e áreas de neoformação óssea.

Uma amostra, na qual empregou-se juntamente com a membrana o OIB, observou-se centralmente na área de perfuração tecido ósseo secundário neoformado, englobado por osso trabecular (Anexo III, foto 4).

5.3 Grupo Membrana (seis semanas de proervação):

Observou-se nas três amostras presença de osso secundário centralmente da área correspondente à perfuração, espessamento perióstico, proliferação e ilhas de tecido ósseo trabecular (Anexo III, foto 5).

5.4 Grupo Membrana com OIB (seis semanas de proervação):

A primeira amostra apresentava tecido ósseo secundário (Anexo III, foto 6), espessamento perióstico e ainda um discreto processo inflamatório. A lâmina referente à segunda amostra deste grupo apresentava um abscesso dentário com presença de neutrófilos, linfócitos e macrófagos. Observou-se também osso secundário em uma das extremidades da área de perfuração e cartilagem hialina (Anexo III, foto 7). Na lâmina correspondente à terceira amostra deste grupo observou-se um processo inflamatório acentuado pela inclusão de um pêlo alojado dentro da área operada. Neste caso não se observou nenhuma neoformação óssea, mas somente uma vasta área de necrose.

5.5 Grupo Membrana (nove semanas de proervação):

As lâminas referentes às duas primeiras amostras apresentavam tecido ósseo maduro neoformado, preenchendo toda área da perfuração (Anexo III, foto 8).

Nestes casos observou-se também discreto espessamento perióstico e focos de neoformação óssea intraperiosteal.

A lâmina da terceira amostra apresentava também tecido ósseo secundário, mas observou-se que o defeito ósseo não foi totalmente preenchido por este tecido. Além disso havia nas proximidades da área de perfuração um dente incluso no qual se observou um discreto infiltrado inflamatório com presença de histiócitos.

5.6 Grupo Membrana com OIB (nove semanas de proervação):

As lâminas das 3 amostras apresentavam tecido ósseo maduro neoformado, preenchendo toda área da perfuração. Além do discreto espessamento perióstico e focos de neoformação óssea intraperiosteal (Anexo III, foto 9), observou-se ainda um infiltrado inflamatório.

5.7 Grupo OIB (três semanas de proervação)

Na área de perfuração pôde-se observar tecido conjuntivo frouxo com grande número de elementos inflamatórios às custas de mononucleares com presença de células gigantes, englobando osso desvitalizado (Anexo III, foto 10). Observou-se também focalmente áreas de osso neoformado do tipo trabecular, mas não se constatou reação perióstica.

A lâmina da segunda amostra deste grupo a apresentava ainda intensa produção de tecido ósseo trabecular, envolvido por tecido conjuntivo e células inflamatórias.

5.8 Grupo OIB (seis e nove semanas de proervação)

Observa-se na área de perfuração uma solução de continuidade óssea. Presença de um infiltrado inflamatório às custas de linfócitos, histiócitos, macrófagos, fagocitando restos ósseos. Observa-se ainda uma proliferação fibroblástica e presença de tecido muscular esquelético atrófico (Anexo III, foto 11).

6. DISCUSSÃO

Existe uma grande importância de testar materiais que são ou serão empregados em humanos em animais para comprovar a sua eficiência cientificamente. Um trabalho realizado por DAHLIN (1988)⁸ em ratos, foi tomado como base para a realização deste. A metodologia é semelhante, com a diferença que os ratos usados na presente pesquisa eram de tamanho reduzido levando a uma redução do defeito transósseo de cinco milímetros para três de diâmetro e à impossibilidade da realização da experiência bilateralmente. Mas os resultados obtidos foram semelhantes, ou seja observou-se uma formação óssea nos grupos com a membrana; este resultado está de acordo com os trabalhos de 1989⁹ e 1990¹⁰ do mesmo autor e com o trabalho de SCHENK (1994)³².

A neoformação óssea observada seguiu o padrão natural de maturação, mostrando-se nas primeiras três semanas como osso primário, trabecular e após seis semanas já se observava um osso maduro, secundário, compacto. Este resultado foi encontrado também pelos autores FRITZ (1994)¹³ e SCHENK (1994)³².

Além da maturação óssea normal constatou-se que a membrana totalmente oclusiva cria condições favoráveis para a regeneração óssea. Isto está de acordo com LUNDGREN (1995)²² que mostrou em um estudo em coelhos que a utilização de uma barreira oclusiva, firme e estável leva a uma regeneração óssea confiável. A rica vascularização da área de neoformação óssea observada nos cortes histológicos está de acordo com as condições necessárias para haver uma regeneração óssea citadas pelos autores BUSER e DAHLIN (1996)⁴.

Nos grupos nos quais não se empregou a membrana não se observou nenhum tipo de formação óssea, e como DAHLIN (1987 e 1990)^{8,10} observou em seus trabalhos, o defeito ósseo criado foi totalmente invadido inicialmente por tecido conjuntivo e posteriormente tecido muscular esquelético.

Neste trabalho não se constatou nenhuma diferença entre a maturação óssea nos grupos nos quais se utilizou a membrana juntamente com o enxerto xenógeno e sem o enxerto. Este resultado está de acordo com os autores GOTFREDSEN (1991)¹⁵, CHEN (1995)⁶ e MELLADO (1995)²⁵, mas vários outros autores obtiveram resultados de maturação óssea melhor ao usar a membrana juntamente com o enxerto^{2,11,19} e obtiveram até uma formação óssea sem uso da membrana somente com o uso de um enxerto^{1,16,31}. Isto não foi observado neste trabalho pelo fato que o defeito ósseo criado não dava estabilidade ao enxerto. Por este motivo nossos resultados obtidos neste caso levavam à necessidade do emprego conjunto do enxerto com a membrana, para garantir a estabilidade do enxerto.

Contatou-se ainda que partículas de osso desvitalizado do enxerto xenógeno se encontravam englobadas por células gigantes no grupo no qual se usou o enxerto. Este mesmo resultado foi observado por ARAÚJO (2000)¹.

Durante o ato cirúrgico pôde se constatar um manuseio fácil e efetivo da membrana, que se adaptava perfeitamente ao osso. A membrana apresentava estabilidade suficiente, ou seja, ela deslocava do local predestinado, dispensando desta forma qualquer tipo de fixação extra. Isto está de acordo com os trabalhos de CRUZ (1993)⁷ e ORTIZ (1999)²⁹.

7. CONCLUSÃO

- A membrana totalmente oclusiva criou condições favoráveis para uma condução previsível da RO de defeitos ósseos induzidos.
- A membrana apresentou condições de manuseio favoráveis durante os procedimentos cirúrgicos de sua instalação.
- O osso formado somente com a membrana não se diferiu daquele em que foi empregado, além da membrana, o enxerto xenógeno de osso inorgânico.
- Ao usar o enxerto de osso bovino inorgânico houve necessidade do uso da membrana.
- A neoformação óssea seguiu os padrões normais de maturação óssea.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

-
1. ARAUJO A.C., MACHADO I.G., ISOLANA T.M.P. “Avaliação Histológica de Implantes de osso liofilizado bovino (Bio Bone Laminado) em Mandíbula de Cão” *Rev. BCI*, 7(25): 36-39, 2000.
 2. BECKER W, et al. “Variation in bone regeneration adjacent to implant augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts – Study in dogs”. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 10(2): 143-154: 1995.
 3. BUSER D., DULA K., BELSER U.C., HIRT H.-P., BERTHOLD H. “Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. surgical procedure in the mandible”. *Int J Periodont Rest Dent*, 15(1):11-29. 1995.
 4. BUSER D., DAHLIN C., SCHENK R.K. “Regeneração óssea guiada na Implantodontia”. *Quintessence editora Ltda.*, São Paulo, Primeira edição: 31-48. 1996.
 5. CAMPBELL JB., BASSETT CAL. “The surgical application of monomolecular filters (Millipore) to bridge gaps in peripheral nerves and to prevent neuroma formation”. *Surg Forum*, (7):570, 1959.

6. CHEN C.C., et al. "Evaluation of collagen membrane with and without bone grafts in treating periodontal intrabony defects." *J Peridontol*, 66(10): 838-847, 1995.
7. CRUZ M., CRUZ REIS C., CRUZ E SILVA V. "Utilização da Alumina (Al_2O_3) como membrana na regeneração guiada dos tecidos". *OM*, 20(6):6-13, 1993.
8. DAHLIN C., LINDE ^a, GOTTLOW J., NYMAN S. "Healing of bone defects by guided tissue regeneration". *Plastic and Reonstrutive Surgery*, 81(5):672-676, 1988.
9. DAHLIN C., SENNERBY L., LEKHOLM U., LINDE A., NYMAN S. "Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An Experimental Study in Rabbits". *Int J Oral Maxillofac Implants*, (4):19-25, 1989.
10. DAHLIN C., GOTTLOW J., LINDE A., NYMAN S. "Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique". *Scand J Plast Reconstr Hand Surg*, (24):13-19, 1990.
11. DE LEONARDIS D., GARG AK., PEDRAZZOLI V., PECORA GE. "Clinical evaluation of the treatment of class II furcation involvements with bioabsorbable barriers alone or associated with demineralized freeze-dried bone allografts". *J Periodontol*, 70(1):8-12, 1999.
12. DUTRA DE OLIVEIRA PA., SOARES DUTRA OLIVEIRA AM., BADEIA M. "Avaliação clínica da técnica de regeneração tecidual guiada utilizando

- uma barreira de óxido de Alumínio no tratamento de lesões de furca classe II em humanos: relato de 12 casos”. *Revista do CROMG*, 5(1):18-30, 1999.
13. FRITZ M.E., MALMQUIST J., KOTH D., JEFFCOAT M., HARDWICK R., BRASWELL L.D., LEMONS J. “The use of guided bone regeneration to fill large mandibular defects in monkeys: A Pilot Study”. *Int J. Oral Maxillofac Implants*, (9):644-652, 1994.
14. GORDH M. et al. “Osteopromotive membranes enhance onlay integration and maintenance in the adult rat skull.” *Int J Oral Maxillofac Surg*, 27(1): 67-73,1998.
15. GOTFREDSSEN K., WARRER K., HJORTING-HANSEN, KARRING T. “Effect of membranes and porous hydroxiapatite on healing in bone defects around titanium dental implants. Na experimental study in monkeys”. *Clin Oral Implants Res*, 2(4):172-8, 1991.
16. HALLE E., MEFFERT RM., HERMANN JS., MELLONIG JT., COCHRAN DL. “Comparision bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible”. *J Periodontol*, 70(5):526-35, 1999.
17. HURLEY AL., STINCHFIELD FE, BASSETT CAL, LYON WH. “The role of soft tissues in osteogenesis”. *J Bone Joint Surg*, (41^A): 1243, 1959.
18. KABAN LB., GLOWACKI J., “Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats”. *J Dent Res*, 60(7):1356-64, 1981.

19. LA FONTANA J., PINTO A.V.S., “O que devemos saber sobre osso desmineralizado seco-congelado?” *J Clin Periodontol*, 24(6): 355-365, 1997.
20. LANDSBERG CJ., GROSSKOPF A., WEINREB M. “Clinical and biologic observations of demineralized freeze-dried bone allografts in augmentation procedures around dental implants”. *Int Oral Maxillofac Implants*, (9):586-592, 1994.
21. LING LJ. “Current concept of guided tissue regeneration with non-absorbable membrane”. *J N Z Soc Perodontol*, (84):32-7, 1998
22. LUNDGREN D., LUNDGREN AK., SENNERBY L., NYMAN S. “Augmentation of intramembraneous bone beyond the skeletal envelope using a non-occlusive titanium barrier”. *Clin Oral Impl Res*, (6): 67-72, 1995.
23. MELCHER AH. “Role of the periosteum in repair of wounds of the parietal bone of the rat”. *Archs oral Biol*, (14):1101-9, 1969.
24. MELCHER AH., ACCURSI GE. “Osteogenic capacity of periosteal and osteoperiosteal flaps elevated from the parietal bone of the rat”. *Archs oral Biol*, (16):573-80, 1971.
25. MELLADO J.R., et al. “A comparative study of Periodontal membranes with and without descalcified freeze-dried bone allograft for the regeneration of interproximal intraosseous defects.” *J Periodontol*, 66(9): 751-755, 1995.
26. MURRAY G., HOLDEN R., POACHLAU W. “Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity”. *Am J Surg*, (93):385, 1957.

27. NYMAN S., KARRING T., LINDHE J., PLANTEN S. "Healing following implantation of periodontis-affected roots into gingival connective tissue" *J of Clin Periodontology* , (7):394-401, 1980.
28. NYMAN S., LINDHE J., KARRING T., RYLANDER H. "New attachment following surgical treatment of human periodontal disease". *J of Clin Periodontology*, (9): 290-6, 1982.
29. ORTIZ NB., MAJLUF MI., ZÁRATE GM. "Uso de la membrana Allumina® en la preservacion del reborde alveolar post- extraccion." *Trabalho de investigação para receber o título de cirurgião dentista*. Santiago-Chile, 1999.
30. RICHARDSON CR., MELLONIG JT., BRUNSVOLD MA., McDONNELL HT., COCHRAN DL. "Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft of the treatment of periodontal osseous defects in humans". *J Clin Periodontol*, 26(7):421-8, 1999.
31. RODRIGUEZ SANCHEZ M.P., MARZOLA C., TAGA R. "Avaliação microscópica em ratos (Wistar albinus) de implantes de matriz de osso bovinop liofilizado "Biograft" + Proteína Morfogenética + Membrana Reabsorvível de osso bovino liofilizado "Dentoflex"." *Rev. BCI*, 7(27):32-40, 2000.
32. 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*, (9):13-29, 1994.

33. SIMION M., JOVANOVIĆ AS., TRISI P., SCARANO A., PIATTELLI A.
“Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans.” *Int J Periodont Rest Dent*, (18):9-23, 1998.
34. ZIELAK J.C., ARAÚJO S.L., et al, “Estudo experimental do enxerto ósseo com biomateriais – Osteosynt e Biobone.” *Rev. BCI*, 7(27):69-73, 2000.

9. ANEXO I

Tabela 1: Dosagem da anestesia:

Ketamina

Peso Corporal (g)	Dosagem (ml)
250	0,46
260	0,47
270	0,49
280	0,50
290	0,52
300	0,54

Xilazina

Peso Corporal (g)	Dosagem (ml)
250	0,13
260	0,13
270	0,14
280	0,14
290	0,15
300	0,15

Tabela 2: Divisão dos grupos:

	3 semanas	6 semanas	9 semanas
Grupo Controle	3 (amostras)*	3	3
Grupo Membrana	3	3	3
Grupo Enxerto e Membrana	3	3	3
Grupo Enxerto	3	3	3

- *Rattus norvegicus* (250-300g)
- Total de amostras por Grupo: 9
- Total de amostras: 36

10. ANEXO II:

Foto 1:



Anestesia

Foto 2:



Anti-sepsia

Foto 3:



Incisão

Foto 4:



Área anatômica

Foto 5:



Trefina

Foto 6:



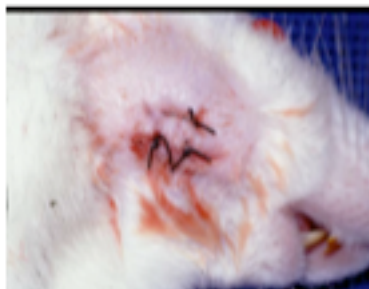
Defeito ósseo

Foto 7:



Colocação da membrana

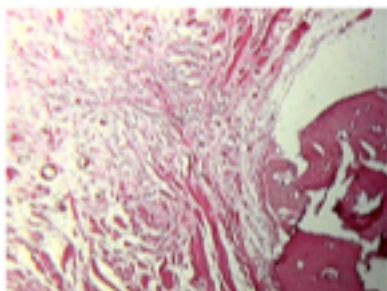
Foto 8:



Sutura

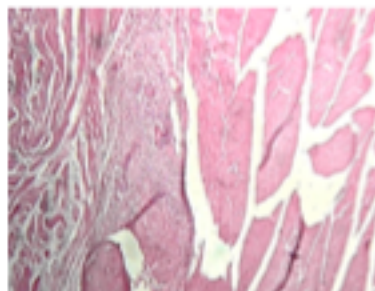
11. ANEXO III:

Foto 1:



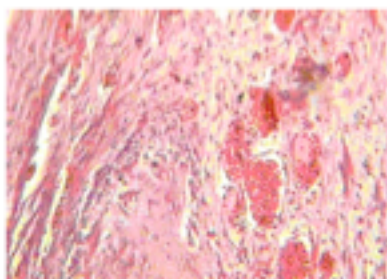
Aumento: 40X

Foto 2:



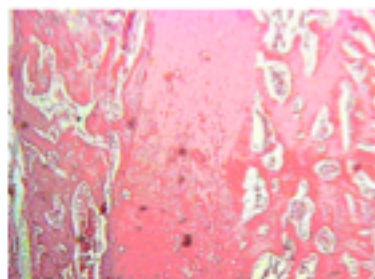
Aumento:40X

Foto:3



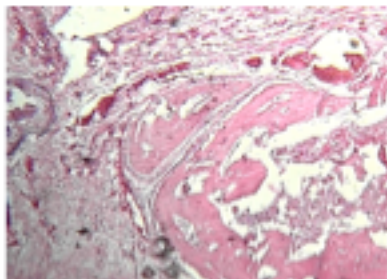
Aumento: 100X

Foto: 4



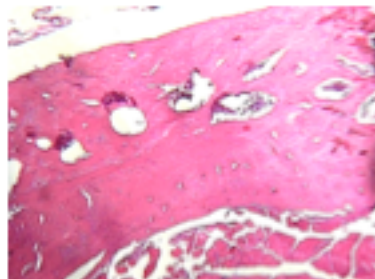
Aumento 40X

Foto 5:



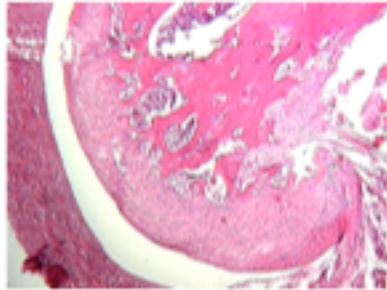
Aumento: 40X

Foto 6:



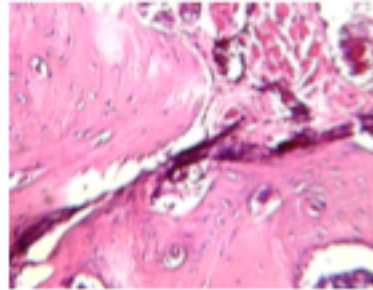
Aumento: 40X

Foto 7:



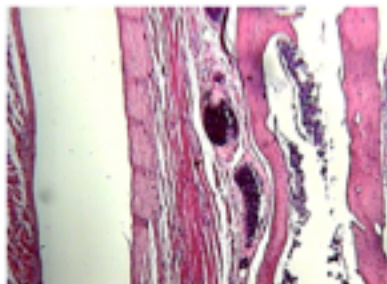
Aumento: 40X

Foto 8:



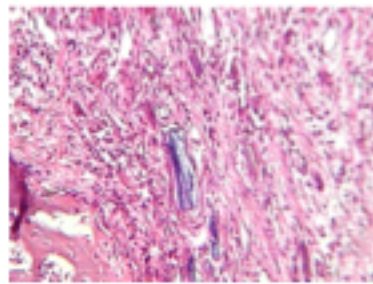
Aumento: 100X

Foto 9:



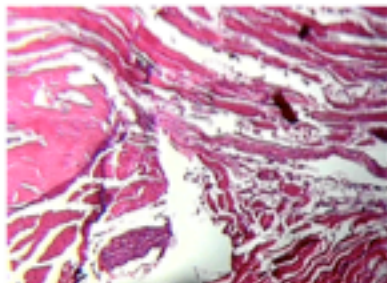
Aumento: 40X

Foto10



Aumento: 100X

Foto 11:



Aumento: 40X