

ALBANIR GABRIEL BORRASCA

Análise do processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas preenchidas com osso autógeno e recobertas por membrana de matriz óssea homogênea e de politetrafluoretileno em ratos.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba - Unesp, para a obtenção do Grau de “Doutor em Odontologia” - Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho

Co-orientadora: Profa. Dra. Alessandra Marcondes Aranega

ARAÇATUBA - SP

- 2011 -

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

B737a Borrasca, Albanir Gabriel.
Análise do processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas preenchidas com osso autógeno e recobertas por membrana de matriz óssea homogênea e de politetrafluoretileno em ratos / Albanir Gabriel Borrasca. – Araçatuba : [s.n.], 2011
49 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho
Coorientador: Profa. Dra. Alessandra Marcondes Aranega

1. Transplante autólogo 2. Regeneração tecidual guiada
3. Transplante ósseo

Black D7
CDD 617.64

Dedicatória

A Deus, por estar sempre ao meu lado dando-me força, paciência e iluminando meu caminho..

Aos meus pais, Ivani e Albanir "in memoriam", pelo amor, compreensão e dedicação, vocês foram os responsáveis diretos pela minha educação e formação. Muito obrigado por vocês sempre acreditarem em mim!

Eu amo vocês!

Ao meu irmão, André, um ser humano especial, exemplo de luta e confiança em Deus, uma alma maravilhosa. Obrigado pelo estímulo e presença nas dificuldades e conquistas.

A minha irmã, Silvana in "memoriam" ,pelo grande amor e carinho que nos sempre dedicou.

A minha noiva e futura esposa Táisa, por todo o seu amor, apoio e compreensão, especialmente nos momentos de ausência. Você foi muito importante para a conquista de mais esta vitória.

Eu te amo e te admiro muito!

*Obrigado por me fazer
tão feliz!*

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador, Professor Doutor **Oswaldo Magro Filho**, pela convivência, ensinamentos e principalmente pela amizade, confiança e pela oportunidade de convivência, muito obrigado.

À minha orientadora, Professora Doutora **Alessandra Marcondes Aranega**, pela grande amizade, carinho, compreensão e ajuda incansável. Exemplo de determinação, competência, dedicação e amor à pesquisa. Sua disposição para o ensino, contribuindo marcantemente para a minha formação. Muito obrigado pela paciência e confiança em mim depositada e por ter acreditado em mim e ter me proporcionado a realização de um grande sonho.

Você é muito especial! Essa vitória é nossa.

Ao Professor e amigo **Doutor Idelmo Rangel Garcia Júnior**, um exemplo de equilíbrio e humildade. Agradeço-lhe por ter me acolhido, pela confiança em mim depositada e pelos ensinamentos valiosos que contribuem para o meu crescimento profissional e pessoal. Muito obrigado pelo aprendizado e pela oportunidade de convivência.

Ao Professor e grande Mestre, **Professor Doutor Edmur Aparecido Callestini**, a serenidade como orienta seus alunos lhe é peculiar. Muito obrigado pela amizade, conselhos e por seus ensinamentos, os quais foram fundamentais para a minha formação. Você mora no meu coração. "Bons professores educam para uma profissão, professores fascinantes educam para a vida" (Augusto Cury)

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial pela oportunidade de aprendizado.

Às Faculdades Adamantinenses Integradas – FAI na figura de meus professores e queridos amigos de graduação, essa conquista também é de vocês, pois foi aí que tudo começou.

Ao professor Michel Saad Neto. O senhor é um exemplo concreto e marcante do que é “ser professor”. Muito obrigado pela oportunidade de convivência, conselhos e disponibilidade.

Aos professores do Departamento de Cirurgia: Professoras Ana Paula e Daniela e ao novo professor e amigo Francisley, muito obrigado a todos pela oportunidade de convivência e ensinamentos.

Ao professor Celso K. Sonoda, um exemplo de como ser professor, muito obrigado por sempre estar disponível e pronto a ajudar. Muito obrigado pela oportunidade de convívio.

Ao professor e amigo Eleonor Álvaro G. Jr. Obrigado pelos bons momentos e conhecimentos transmitidos. Uma grande alma.

Ao aluno e amigo Tarik, muito obrigado pela ajuda e paciência para com este trabalho e com a minha pessoa.

Aos colegas do Curso de pós-graduação pela amizade, aprendizado e convivência: Jéssica Lemos Gulinelli, Thallita Pereira Queiroz, Camila Benez Ricieri, Marcos Heidy Guskuma (Marcão), Abrahão, Rodolfo, Leandro de Carvalho Cardoso, Walter Betoni Junior, Thaís Silveira Rodrigues e a

nova geração Fernando, Jonatas, Pedro Ivo, Heloisa e Pamela. Obrigado pelos momentos agradáveis compartilhados.

Não poderia esquecer da nossa querida Cleide, meu muito obrigado pela ajuda nos momentos de dificuldade. Você é muito especial para mim.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Dirce, Gilmar, Bernadete, Antônia, Paulo e Tininha, pela colaboração, carinho e indispensável auxílio durante a realização deste estudo.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Unesp: Ana Cláudia, Izamar, Cláudio, Ivone, Cláudia, Luzia, Marina, Ana Paula, Fernando e Cláudio Junior, pela atenção e disposição com que nos atendem.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Unesp: Valéria e Diogo que sempre nos auxiliam com boa vontade e alegria.

Epígrafe

.... *"A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás; mas só pode ser vivida olhando-se para a frente."*

Soren Kierkegaard.

Lista de Abreviaturas

%	Porcentagem
g	Gramma
M	Mol
pH	Potencial de hidrogênio iônico
mg	Miligramma
dl	Decilitro
ml	Militro
nº	Número
mm	Milímetros
UI	Unidade Internacional
HE	Hematoxilina e eosina
AT	Área total
AON	Área de osso neoformado
Ptfe	Politetrafluoroetileno
IC10	Cavidade preenchida por enxertos sem membrana aos 10 dias
IIMH10	Cavidade preenchida por enxerto e recoberta por membrana homogéna aos 10 dias
IIIMX10	Cavidade preenchida por enxerto e recoberta por membrana de ptfe aos 10 dias
IC60	Cavidade preenchida por enxerto e sem recobrimento por membrana aos 60 dias
IIMH60	Cavidade preenchida por enxerto e recoberta por membrana homogéna aos 60 dias
IIIMX60	Cavidade preenchida por enxerto e recoberta por membrana de ptfe aos 60 dias

Sumário

Ficha catalográfica	02
Resumo	11
Abstract	11
1 Introdução	12
2 Proposição	12
3 Material e Método	13
4 Resultados	15
4.1 - Figuras resultados histológicos	47
4.2 - Tabela resultado estatístico	40
5 Discussão	19
6 Conclusão	21
Referências	22
Anexos	25
Anexo A - Certificado do Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEA)	26
Anexo B - Normas para publicação	27
Anexo C - Ilustrações da fase cirúrgica da metodologia experimental	30
Anexo D - Ilustrações da análise histométrica	34
Anexo E - Tabelas estatísticas	40
Anexo F - Figuras Histológicas	46

Análise do processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas preenchidas com osso autólogo e recobertas por membrana de matriz óssea homogênea e de politetrafluoretileno em ratos.

Process of bone repair of surgical cavities filled out with autogenous bone and covered by a membrane of homogenous bone matrix and polytetrafluoroethylene in rats.

Albanir Gabriel Borrasca¹/Alessandra Marcondes Aranega²/Osvaldo Magro Filho³

¹Aluno de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

²Professora Assistente Doutora do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

³Professor Doutor do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

RESUMO

Proposição: O objetivo deste trabalho foi avaliar, qualitativa e quantitativamente, o comportamento da membrana de matriz óssea homogênea desmineralizada e conservada em glicerina e membrana de Pte no processo de reparo ósseo de cavidades cirúrgicas preenchidas com osso autógeno realizadas em tíbias de ratos. **Material e Métodos:** Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, com aproximadamente 250 gramas divididos em três grupos: o grupo I (Controle-sem membrana), grupo II (membrana homogênea) e grupo III (membrana de pte). Após tricotomia, anestesia e antissepsia foi realizada uma incisão longitudinal nas regiões antero-laterais de cada tibia. Após exposição das tíbias, duas cavidades cirúrgicas de 2mm de diâmetro foram preparadas com trefina em baixa-rotação refrigerada, uma no membro posterior esquerdo e outra no membro posterior direito, sendo a primeira preenchida com o osso autógeno particulado coletado durante a realização das duas cavidades e recobertas pelas membranas utilizadas no estudo. Aos 10 e 60 dias pós-operatórios os animais foram eutanaziados e as peças obtidas foram processadas laboratorialmente para a realização de cortes semi-seriados com seis micrômetros de espessura e corados pela hematoxilina e eosina para análise histomorfométrica. **Resultados e Conclusão:** A membrana homogênea mostrou-se biocompatível e cumpriu sua função e em termos de área óssea neoformada as membranas obtiveram desempenho semelhantes.

PALAVRAS-CHAVE transplante homólogo, transplante autólogo, regeneração tecidual guiada

ABSTRACT

Purpose: The aim of this study was to evaluate the behavior of membrane of a demineralized homogenous bone matrix and preserved in glycerin and the Pte membrane in the process of bony repair of surgical cavities filled out with autogenous bone accomplished in tibias rats. **Materials and Methods:** Sixty male rats weighing approximately 250 g were selected and assigned to two groups, as follows. Group I (without membrane), Group II (homogenous membrane) and Group III (Pte membrane). After anesthesia, shaving and antiseptis, a longitudinal incision was made in the anterolateral areas of each tibia. After exhibition of the tibias, two surgical cavities of 2mm of diameter were prepared with trefina in refrigerated low-rotation, one in the left posterior member, other in the right subsequent member, being the first filled out with particulate autogenous bone collected during the accomplishment of the two cavities and covered with the membrane. Ten and sixty days postoperatively, the animals were euthanized and the anatomical pieces were submitted to routine laboratorial processing and serially sectioned to obtain 6- μ m-thick sections, which were stained by hematoxylin and eosin for histomorphometric analysis. **Results and Conclusions:** The homogenous membrane proved to be biocompatible and fulfilled its function and in terms of bone area formation membranes had similar performance.

KEYWORDS: , homologous transplantation, autologous transplantation, guided tissue regeneration.

INTRODUÇÃO

A procura por um substituto ósseo capaz de suprir às exigências físico-biológicas para a reconstrução de defeitos ósseos causados por fatores traumáticos, patológicos e ou fisiológicos tem sido um dos grandes desafios da área médico-odontológica nos últimos tempos. Diversas são as possibilidades relatadas na literatura, dentre elas podemos citar os enxertos autógenos intra e extra-buciais, os enxertos alógenos, xenógenos e os implantes aloplásticos, sem ou com a utilização de membranas para regeneração óssea guiada^{1,2}.

Em função da superior compatibilidade tecidual, o melhor material para reconstrução dos defeitos ósseos é o enxerto ósseo autógeno por apresentar resposta inflamatória mínima, angiogênese e osteogênese em períodos mais recentes, além de possuir propriedades osteoindutivas^{3,4,5}.

Visando minimizar a reabsorção do enxerto, manter ou aumentar o contorno ósseo e prevenir a migração ou a proliferação de tecidos menos especializados para área em processo de reparação óssea,^{9,10} têm sido empregadas membranas de diversos materiais, reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, sendo a biocompatibilidade uma das características mais almejadas para sua escolha.^{6,7}

Tecido ósseo de origem bovina e humana têm sido atualmente desmineralizados, conservados^{8,9} e comercializados em várias formas para a correção dos defeitos ósseos em cirurgia e traumatologia buco-maxilo-facial^{10,11,12}. Há uma crescente procura pelos enxertos alógenos, fornecidos em diversas formas e arquiteturas, como enxertos corticais, medulares ou ambos. Tais enxertos possuem características de osteocondução e de osteoindução, conforme o modo de preparação e conservação e apresentam como vantagem a ausência de dano ao sítio doador, a otimização do tempo cirúrgico e podem ser obtidos sem limitação de quantidade de material^{10,11,12}.

O processo de obtenção da matriz óssea, através de ciclos de desmineralização, assegura a conservação do conteúdo protéico e impossibilita a sobrevivência de microorganismos patogênicos, preocupação importante nos dias atuais, já que a esterilização ou a desinfecção por meio de gases, radiações, calor seco ou úmido interfere na qualidade do tecido a ser implantado^{13,14}. A conservação também possui fundamental importância na proteção celular e na manutenção da vitalidade do tecido e a glicerina parece ser um procedimento eficiente, seguro e passível de ser realizado em qualquer centro, mesmo com poucos recursos técnicos e financeiros¹⁵.

Pelo crescente uso de preparados ósseos de origem homogêna, torna-se relevante avaliar, o processo de reparo ósseo de área enxertada com osso autógeno seguida de proteção com membrana de matriz óssea homogêna e comparando esta com a membrana de politetrafluoroetileno.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da membrana

Para a obtenção da membrana foram utilizados 20 animais saudáveis, não incluídos no grupo experimental que foram sacrificados com dose excessiva de anestésico vinte e três dias antes do procedimento. Os roedores doaram suas calvárias, e os ossos foram levados para o ciclo de desmineralização por ação do ácido clorídrico (HCl) a 0,4 mol durante 48 horas, em temperatura variando entre 5° e 10° graus centígrados. A solução descalcificadora foi trocada a cada 24 horas²⁸. Posteriormente, as calvárias foram lavadas por um período de 24 horas com água destilada corrente e cortadas ao meio, na sutura sagital, para obtenção de duas hemi-calotas. Com o auxílio de 2 cilindros ajustáveis, as hemi-calotas foram prensadas e suas corticais, internas e externas, separaram-se, resultando em quatro membranas com aproximadamente 5µm de espessura, as quais foram armazenadas em um recipiente estéril, contendo glicerina a 98% por um período de 20 dias antes da implantação sob a temperatura de 5 a 7 graus centígrados²⁸.

Animais e procedimento cirúrgico

Após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus Araçatuba, foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, com peso aproximado de 250 gramas, alimentados com ração sólida (Ração Ativada Produtor-Anderson & Clayton S. A.) e água à vontade, exceto nos períodos de jejum. Os animais foram divididos em grupo IC10/IC60 (Grupo I com a cavidade preenchida por enxertos ósseos e sem recobrimento por membrana aos 10 e 60 dias), grupo IIMH10/IIMH60 (Grupo II com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana homogênea aos 10 e 60 dias) e grupo IIIMX10/IIIMX60 (Grupo III com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana sintética de PTFe aos 10 e 60 dias).

A anestesia geral foi realizada com injeção intramuscular de Cloridrato de Xilazina (Coopazine – Coopers Brasil Ltda) e Cloridrato de Cetamina (Vetaset - Fort Dodge), nas dosagens de 0,03mL e 0,07mL para cada 100g de peso corporal, respectivamente. Após tricotomia e antissepsia com uma lâmina de bisturi nº 15, foi realizada uma incisão linear no sentido longitudinal em cada membro posterior estendidas até o periósteo, permitindo o deslocamento e afastamento dos tecidos. Com trefina de 2 mm acoplada em baixa-rotação e sob refrigeração com soro fisiológico foi preparada uma cavidade cirúrgica no membro posterior direito de aproximadamente 2mm de diâmetro e o osso coletado pela trefina foi particulado e armazenado em soro-fisiológico. Da mesma forma, outra cavidade foi preparada no membro inferior esquerdo e o osso coletado foi também particulado e armazenado. A cavidade cirúrgica do membro esquerdo foi preenchida com os ossos previamente removidos e recobertos pelas membranas. Os tecidos foram reposicionados e suturados com pontos interrompidos simples por meio de fio de nylon 5.0, estabilizando a musculatura e a membrana.

No pós-operatório imediato, cada animal recebeu dose única pela via intramuscular de 0,2 ml de Penicilina G-benzatina (Fort Dodge Saúde Animal Ltda).

O animais foram eutanaziados aos 10 e 60 dias pós-operatórios por dose excessiva do mesmo anestésico utilizado no procedimento cirúrgico e as peças foram fixadas em formaldeído a 10%.

Preparação dos espécimes e avaliação histomorfométrica

As tíbias obtidas foram submetidas ao processamento laboratorial de rotina para a obtenção de cortes semi-seriados no sentido longitudinal da peça com seis micrômetros de espessura e corados pelas técnicas da hematoxilina e eosina (HE) e Tricrômico de Masson para análise histológica e histométrica. Na análise histológica, parâmetros morfológicos foram descritos qualitativamente no processo de reparo como: revascularização, reabsorção e remodelação do enxerto, presença de células ósseas, osteogênese a partir da borda do defeito, reabsorção ou incorporação da membrana sobre os enxertos ósseos e sobre o osso pré-existente e neoformado.

Para análise histométrica seguiu-se a metodologia de Esteves (2005), na qual utilizou-se o “software” ImageLab 2001 (Diracom 3). Para a captura das imagens dos cortes histológicos, utilizou-se de uma câmera digital (JVC TK-1270 Color Vídeo Câmera) acoplada a um microscópio (Carl Zeiss – Axiolab) conectado ao computador, num aumento de 4 vezes. O corte histológico mais centralizado foi selecionado, no sentido longitudinal do defeito cirúrgico de cada animal. Para a análise histométrica, foi realizada a individualização e delimitação da área do defeito correspondente à região da cortical da tíbia. Esta área foi denominada Área Total (AT). Dentro da Área Total (AT), realizou-se a delimitação das áreas correspondentes ao osso neoformado, de cuja subtração da área total obteve-se área de osso neoformado (AON). Sempre usando os recursos do “software” Imagelab, procedeu-se ao cálculo da Área Total (AT) anteriormente delimitada, transferindo os valores medidos para uma “Planilha de Cálculos”, sendo o valor da Área Total (AT) considerado como 100% da área total analisada. A seguir, o cálculo da área de Osso Neoformado (AON), anteriormente delimitada, também foi realizada, transferindo os valores medidos para outra “Planilha de Cálculos”. O valor de AON foi calculado como uma porcentagem de AT, da seguinte forma:

Medida de AT = 100% da área analisada

↓

$$\text{AON\%} = \frac{100 \times \text{AON}}{\text{AT}}$$

Os valores de AON de cada animal foram usados para o cálculo das médias e dos desvios-padrões de cada grupo.

Análise estatística

Para análise estatística dos dados obtidos na análise histométrica, conforme metodologia preconizada por Melo (2002), inicialmente foi aplicado a cada grupo experimental o Teste de Aderência à Curva Normal através do programa SigmaStat. Com a distribuição amostral normal, o teste selecionado foi a Análise de Variância seguida do teste de Mann-Whitney. Por outro lado, com a distribuição anormal, o teste a ser aplicado foi o de Kruskal-Wallis. Os grupos, controles e tratados, nos tempos de 10 e 60 dias pós-operatórios, com suas feridas preenchidas por enxerto sem membrana, por enxerto com membrana Homóloga e pelo enxerto com membrana sintética, foram avaliados todos separadamente.

Os cálculos foram realizados pelo programa estatístico SigmaStat “software”:

RESULTADOS HISTOLÓGICOS

RESULTADOS 10 DIAS

- **IC10 (Grupo I com a cavidade preenchida por enxertos ósseos e sem recobrimento por membrana aos 10 dias):** Superficialmente na área estudada, cápsula fibrosa delgada, contendo fibras colágenas dispostas paralelamente ao longo eixo da tíbia, fibroblastos, alguns vasos sanguíneos e discreto número de células inflamatórias podem ser vistos na maioria dos espécimes. Abaixo da cápsula, no interior da loja cirúrgica, observam-se trabéculas ósseas imaturas, com amplos espaços intertrabeculares. Alguns fragmentos de tecido ósseo, correspondentes aos enxertos ósseos, podem ser identificados. O tecido conjuntivo entre as trabéculas são bem vascularizados, com numerosos feixes de fibras colágenas, ainda em organização, elevado número de fibroblastos e moderado número de células inflamatórias, sendo estas constituídas especialmente por macrófagos e linfócitos. Junto às bordas do tecido ósseo neoformado observam-se numerosos osteoblastos e intensa aposição óssea. Em todos os espécimes estudados, o enxerto ósseo encontra-se revascularizado e incorporado sendo encontrada discreta atividade osteoclástica em suas bordas. A neoformação óssea adjacente às bordas dos enxertos ósseos é caracterizada por trabéculas ósseas finas e imaturas. O espaço intertrabecular nessa região medular é amplo e com grande quantidade de vasos sanguíneos. (Anexo F – fig. 01)
- **IIMH10 (Grupo II com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana homogênea aos 10 dias):** Superficialmente, a membrana óssea homogênea delgada recobre todo o defeito ósseo criado e contém, em seu interior, alguns espaços sendo invadidos por tecido conjuntivo bem vascularizado, com numerosos feixes de fibras colágenas em organização, elevado número de fibroblastos e intenso número de células inflamatórias, sendo estas constituídas especialmente por macrófagos e linfócitos. Algumas pontes de união óssea entre a membrana e o trabeculado ósseo podem ser identificadas, sendo a união predominantemente aposicional, apesar das áreas de reabsorção existentes. Adjacente e abaixo da membrana, no interior da loja cirúrgica, cuja porção corresponderia à cortical da tíbia, observam-se trabéculas ósseas imaturas unidas aos enxertos ósseos e entremeadas por amplos espaços intertrabeculares ocupados por tecido conjuntivo bem vascularizado, com feixes de fibras colágenas em organização, elevado número de fibroblastos ao lado de moderado número de células inflamatórias, especialmente linfócitos e macrófagos. Em todos os espécimes estudados os enxertos ósseos encontram-se revascularizados e incorporados. São discretas as áreas que apresentam alguma atividade osteoclástica junto aos enxertos. Junto às bordas do tecido ósseo neoformado observam-se numerosos osteoblastos, na maioria dispostos paralelamente as suas margens. (Anexo F – fig. 02)

- **IIIMX10 (Grupo III com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana sintética de PTFe aos 10 dias):** Uma membrana recobre todo o defeito ósseo criado e abaixo da mesma há delgada camada de tecido conjuntivo contendo fibras colágenas dispostas paralelamente à membrana. Abaixo dessa camada, há a formação de trabéculas ósseas imaturas justapostas aos enxertos ósseos e entremeadas por amplos espaços intertrabeculares ocupados por tecido conjuntivo bem vascularizado, da mesma forma que no grupo da membrana homogênea. Em todos os espécimes estudados os enxertos ósseos encontram-se revascularizados e incorporados, com pequena atividade osteoclástica e numerosos osteoblastos agrupados, com seus núcleos globosos e alguns deles sendo aprisionado pela matriz osteóide, indicando intensa atividade osteoblástica na região. (Anexo F – fig. 03)

RESULTADOS 60 DIAS

- **IC60 (Grupo I com a cavidade preenchida por fragmentos ósseos e sem recobrimento por membrana aos 60 dias):** A presença de enxertos possibilita a identificação rápida da área trefinada uma vez que todos os espécimes apresentam seus enxertos ósseos ainda em processo de remodelação. Quase todos os fragmentos ósseos encontram-se unidos à cortical, mesmo os que invadem o interior do canal medular. Os enxertos ósseos parecem proporcionar um aumento de espessamento da cortical trefinada, embora ainda estejam sendo remodelados. Grandes espaços medulares, contendo células hematopoiéticas, próprias do canal medular, preenchem a região óssea analisada, sugerindo que o acréscimo em área óssea não é acompanhado pelo acréscimo obtido na espessura da cortical trefinada. (Anexo F – fig. 04)
- **IIMH60 (Grupo II com a cavidade preenchida por fragmentos ósseos e recoberta por membrana homogênea aos 60 dias):** A membrana óssea recobre toda a região analisada e se encontra incorporada ao tecido ósseo neoformado. Na maioria dos casos há formação de um espaço entre a membrana e o osso adjacente, sendo preenchido por células próprias do canal medular. A membrana permanece aderida às bordas do defeito ósseo bem como ao leito neoformado abaixo desta. Há presença de espaços trabeculares amplos abaixo da membrana, com tecido conjuntivo bem organizado e sem sinais de inflamação aguda. Apesar de ser possível observar o aparente aumento na espessura óssea da tíbia, há ainda persistentes e amplos espaços medulares na área óssea neoformada, se comparado ao grupo controle, Apesar da membrana óssea homogênea ser incorporada à área óssea neoformada, áreas de sua reabsorção podem ser identificadas. Os enxertos ósseos apresentam-se unidos e incorporados à área óssea neoformada e à membrana. (Anexo F – fig. 05)

- **IIIMX60:(Grupo III com a cavidade preenchida por coágulo sanguíneo e recoberta por membrana de ptfe aos 60 dias.):** Resultados semelhantes são comparados ao grupo anterior, sendo observado discreto atraso no processo de remodelação, quando comparado ao grupo controle. Superficialmente, a membrana sintética recobre toda a região analisada, estando justaposta a uma delgada camada de osso neoformado e sem indícios de desintegração. Apenas abaixo de suas extremidades é visto um delgado tecido conjuntivo fibroso. Abaixo dessa camada, há persistentes e amplos espaços intertrabeculares contendo células hematopoiéticas, próprias do canal medular. Como no grupo anterior, os enxertos ósseos apresentam-se unidos e incorporados entre si e à área óssea neoformada. (Anexo F – fig. 06)

RESULTADOS HISTOMÉTRICOS E ESTATÍSTICOS

RESULTADOS HISTOMÉTRICOS – Anexo E

Os valores numéricos das áreas mineralizadas foram submetidos à aderência a curva normal, e posteriormente os grupos enxerto sem membrana (Tabela 01), enxerto com membrana Homógena (Tabela 02) e enxerto com membrana sintética (Tabela 03) 10 e 60 dias submetido ao teste de T, onde somente o grupo enxerto com membrana homogênea passou pela variância, mostrando que não houve grande mudança no grupo dos 10 aos 60 dias assim a membrana homogênea simulava uma cortical óssea que atrasou o reparo quando comparado aos outros grupos; os demais gerando um resultado de significância estatística no teste de variância; assim como os grupos enxerto sem membrana e enxerto com membrana sintética 10 e 60 dias submetido ao teste de Mann-Whitney; no entanto, os grupos novamente foram submetidos ao teste de Normalidade, considerando individualizar os tempos. (Tabelas 04 e 05)

No teste de inter-relação entre grupos de mesmo tempo em 10 e 60 dias, o teste aplicado foi o de Kruskal-Wallis, os grupos enxerto com membrana homogênea e enxerto com membrana sintética no tempo 60 dias falharam e se mostraram estatisticamente significante, indicando a necessidade de analisar separadamente os dados destes grupos. (Tabela 06)

O resultado indica que os grupos com membrana apresentaram atraso na quantidade de osso neoformado; o grupo de membrana homogênea apresentou logo aos 10 dias maior quantidade de osso neoformado e lenta substituição até aos 60 dias; o grupo de enxerto com membrana sintética aos 60 dias apresentou uma média correspondente ao osso neoformado (AON) maior que a do grupo homogênea.

DISCUSSÃO

Barreiras do tipo e-PTFE são consideradas o padrão ouro da técnica de ROG. Por se tratar de uma barreira não reabsorvível, exige um segundo procedimento cirúrgico para sua remoção. Com a intenção de eliminar esta segunda etapa cirúrgica, foram desenvolvidas barreiras reabsorvíveis ou absorvíveis; porém este argumento não é sustentado nos casos em que a instalação do implante depende de regeneração previa do osso e, portanto, um segundo tempo cirúrgico se torna inevitável.

O reparo de defeitos ósseos é um bom modelo para estudo da regeneração óssea, pois qualquer lesão óssea ativa a regeneração local pela liberação de fatores de crescimento e indutores¹⁶. Tal processo depende das fases de revascularização, incorporação, substituição e remodelação para o restabelecimento da arquitetura do osso hospedeiro¹⁷. Sabe-se que o melhor material para reconstrução dos defeitos ósseos é o enxerto ósseo autógeno e quando este é utilizado na forma particulada^{18,19,20,21} é rapidamente revascularizado por liberar uma quantidade maior de fatores de diferenciação e crescimento nos estágios iniciais da regeneração. Por outro lado, exibe uma atividade osteoclástica mais intensa, resultando em uma maior reabsorção, quando comparado ao enxerto em bloco²². A maior limitação de sua particulação é a instabilidade imediata de seus fragmentos, pois a imobilidade do enxerto dificilmente é obtida quando não há proteção com barreiras biológicas ou com paredes ósseas²⁰.

A incorporação dos enxertos ósseos em todos os espécimes analisados associada ao desenvolvimento de um trabeculado bem organizado ao redor dos fragmentos ósseos implantados demonstram que a reparação torna-se mais favorável e rápida com o uso dos enxertos ósseos autógenos, embora tais diferenças não possam ser apontadas com significância estatística.

A técnica da regeneração óssea guiada pode ser aplicada com sucesso na reparação de defeitos ósseos ao redor de implantes dentais e reconstruções alveolares²³, porém quando as membranas são instaladas objetivando o aumento vertical dos defeitos, frequentemente invaginam ou colabam devido à pressão gerada pelos tecidos moles sobre elas, sendo a característica de resistência à pressão não observada nas membranas absorvíveis porém presente nas membranas de Ptf^e²⁴.

Diante disso, em tais circunstâncias, as membranas são instaladas sobre algum material de preenchimento²⁵ capaz de promover suporte para resistir à pressão exercida pelos tecidos moles sobre elas²⁶, o que, no caso deste trabalho, optou-se pelo preenchimento das cavidades pelo enxerto autógeno particulado, por ser este considerado o mais ideal dentre outros tipos de enxertos ou implantes. Verificou-se que em todos os grupos as membranas mantiveram suas posições, não colabaram e foram incorporada por osso neoformado, fato este que descarta a hipótese de que a membrana possa estar sendo expulsa ou isolada do leito receptor.

A associação de material de enxertia nos procedimentos de ROG parece favorecer os resultados. Isto, provavelmente, não somente pelas propriedades osteogênicas e osteocondutoras dos enxertos, mas também pelas suas propriedades físicas mantenedora de espaço e estabilizadora da ferida²⁷

Nos períodos iniciais da reparação, algumas áreas das membranas apresentaram espaços, ou áreas em reabsorção, porém, em muitos pontos houve a formação de pontes ósseas ligando-as ao trabeculado ósseo neoformado. Em suas bordas, as membranas foram incorporadas ao osso pré-existente. Em períodos tardios, grande parte das membranas foram incorporadas ao trabeculado ósseo neoformado, e parcialmente foram reabsorvidas, sendo substituídas por osso neoformado ou por espaços medulares podendo significar atraso no processo de ossificação. Enfim, as membranas não provocaram reação inflamatória intensa ou reações tipo corpo estranho que gerassem sua expulsão, ao contrário, notou-se aumento da espessura óssea da tíbia quando comparado ao grupo sem membrana corroborando com outros estudos ²⁷. Como foram empregadas em cavidades ósseas não foi possível determinar seu potencial osteoindutor, pois as cavidades seriam, de qualquer forma, preenchidas por osso. Por outro lado, a formação de espaços medulares abaixo destas, comprometeu o ganho de volume ósseo interno na cortical da tíbia o que parece ser uma desvantagem nesse período estudado, apesar de tais espaços ainda estarem em processo de remodelação óssea.

Há até quem defenda o poder de osteoindução da matriz óssea homogênea desmineralizada²⁸, o que nos leva a concordar que é necessário o estudo dessa membrana em área que normalmente não contém osso para responder à dúvida do caráter osteoindutivo da membrana, porém o fato da membrana ter sido submetida ao ácido clorídrico e à glicerina, provavelmente, tornou-a mais biocompatível com relação às membranas sintéticas estudadas pela literatura e até mesmo ao enxerto homogêneo sem qualquer tratamento²⁹

Nos casos onde não há necessidade da remoção da membrana ou de um segundo tempo operatório para a abordagem da área regenerada, o uso da membrana homogênea poderia ser melhor indicada que a membrana de PTFE, desde que novas pesquisas atestem resultados semelhantes entre elas ou superiores para a membrana homogênea, sendo tais pesquisas realizadas com metodologias mais específicas, incluindo novas regiões, outros animais, condições de forças e instalação de implantes .

CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados pelo presente estudo, pode-se concluir que:

1. A membrana homogênea desmineralizada mostrou ser biocompatível na forma empregada, cumprindo satisfatoriamente o princípio da regeneração óssea guiada;
2. Ambas as membranas obtiveram desempenhos semelhantes com relação ao reparo ósseo em tíbia de ratos, embora proporcionassem seu atraso.
3. A membrana homogênea mostrou-se ser de absorção lenta

REFERÊNCIAS

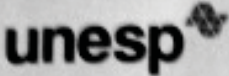
1. Ruedi TP, Basset CAL: Repair and remodeling in milipore isolated defects in cortical boné. *Acta Anat.* 1967, v 68, 509-531.
2. Dahlin C: Scientific background of guided bone regeneration. In: Buser, D. *Guided bone regeneration – In: Implant Dentistry.* Chicago, Quintessence Publishing Co, Inc, p 31-48, 1994
3. Bell WH: Current concepts of bone grafting. *J. Oral Surg.*, v.26, n.2, p.118-24, 1968.
4. Stroud SW, Fonseca RJ, Sanders GW, Burkens Jr EJ: Healing of interpositional autologous boné grafts after total maxillary osteotomy. *J. Oral Surg.*, v.38, n.12, p.878-85, 1980.
5. Fonseca RJ, Clark PJ, Burkes Jr EJ, Baker RD: Revascularization and healing of onlay particulate autologous bone grafts in primates. *J. Oral Surg.*, v.38, n.8, p. 572-7, 1980.
6. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994 Jan-Feb;9(1):13-29
7. Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *J Periodontol.* 1993 Nov;64(11 Suppl):1157-65. Review
8. Feighan JE, Davy D, Prewett AB, Stevenson S. Induction of bone by a demineralized bone matrix gel: a study in a rat femoral defect model. *J Orthop Res.* 1995 Nov;13(6):881-91
9. Vail TB, Trotter GW, Powers BE. Equine demineralized bone matrix: relationship between particle size and osteoinduction. *Vet Surg.* 1994 Sep-Oct;23(5):386-95
10. Ono I, Gunji H, Kaneko F, Saito T, Kuboki Y. Efficacy of hydroxyapatite ceramic as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein. *J Craniofac Surg.* 1995 May;6(3):238-44
11. Dupoirieux L, Costes V, Jammet P, Souyris F. Experimental study on demineralized bone matrix (DBM) and coral as bone graft substitutes in maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1994 Dec;23(6 Pt 2):395-8.
12. Lytle JL. Freeze-dried demineralized bone in dental implant reconstruction. *J Calif Dent Assoc.* 1994 May;22(5):47-51. Review.
13. Marx RE, Carlson ER: Tissue banking safety: caveats and precautions for the oral and maxillofacial surgeon. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Dec;51(12):1372-9.
14. Mellonig JT, Prewett AB, Moyer MP. HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol.* 1992 Dec;63(12):979-83.
15. Pigossi N. Implantação de dura-máter homogêna conservada em glicerina. Estudo experimental em cães. *Arq Cirurg Clin Exp.* 1964. 27. P.213-47
16. Schenk RK. Regeneração óssea: bases biológicas. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. *Regeneração óssea guiada na implantodontia.* São Paulo, Quintessence, 1996, p. 49-100.

17. Anderson et al. End point results of processed heterogenous, autogenous and homogenous bone transplants in the human: a histologic study, clinical orthopedics. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1964.
18. Hislop WS, Finlay PM, Moos KF. A preliminary study in to the uses anorganic bone in oral and maxillofacial surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1993 v.31, p 149-153
19. 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.* 1989 v.4 p.19-25.
20. Rissolo AR, Bennet J. Bone grafting anf its essential role in implant dentistry. *Dent Clin North Am.* 1998 v42, n. 1 p.91-116.
21. Zide MF. Autogenous bone harvest and bone compacting for dental implants. *Compendium.* 2000 v.21, n 7. P. 585-90.
22. Pallesen L, Aaabo M, Hjorting-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 rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002 v.17 n.4 p. 498-506.
23. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium dental implants in dehisced defect sites: a clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1992 v.7 p.233-245.
24. Hämmerle CH, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol 2000.* 2003;33:36-53.
25. Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk R. Evaluation of filling material in membrane protected bone defects. *Clin Oral Implants Res.* 1998 v.9 p.137-50.
26. Schliephake H, Dard M, Planck H, Hierlemann H, Stern U. Alveolar ridge repair using resorbable membranes and autogenous bone particles with simultaneous placement of implants: An experimental pilot study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000 v.15 p. 364-73.
27. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, Taylor A, Gottlow J, Nyman S. Bone augmentation at titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier: an experimental study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res.* 1997 v.8 n.2 p.82-89
28. Rangel-Garcia IJ. Implante homogêno de matriz óssea desmineralizada no espaço subcutâneo dorsal e alvéolo dental: Estudo histológico em ratos. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 1997.
29. Aabo M. Incomplete bone regeneration of rabbit calvarial defects using different membranes. *Clin Oral Implants Res.* 1998. v. 9 n.5 p. 313-320.


Anexos

Anexo A -

Certificado do Comitê de Ética na Experimentação Animal
(CEEA)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "**ANÁLISE DO PROCESSO DE REPARO ÓSSEO DE CAVIDADES CIRÚRGICAS PREENCHIDAS COM OSSO AUTÓGENO E RECOBERTAS POR MEMBRANA DE MATRIZ ÓSSEA HOMÓGENA E DE POLITETRAFLUORETILENO EM RATOS**" sob responsabilidade do **Prof. Dr. Albanir Gabriel Borrasca** e colaboração de **Osvaldo Magro Filho, Alessandra Marcondes Arenga e Roberta Okamoto** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA "ad referendum" protocolo número 003325.

Araçatuba, 26 de Maio de 2009

Tereza Cristina Cardoso da Silva
Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA-FOA/UNESP

Anexo B –

Normas para publicação de artigo em Revista

The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants

Author Guidelines

Submit manuscripts via JOMI's online submission service:

www.manuscriptmanager.com/jomi

Manuscripts should be uploaded as a PC Word (doc) file with tables and figures preferably embedded at the end of the document. *No paper version is required.*

Acceptable material.

Original articles are considered for publication on the condition they have not been published or submitted for publication elsewhere (except at the discretion of the editors). Articles concerned with reports of basic or clinical research, clinical applications of implant research and technology, proceedings of pertinent symposia or conferences, quality review papers, and matters of education related to the implant field are invited.

Number of authors.

Authors listed in the byline should be limited to four. Secondary contributors can be acknowledged at the end of the article. (Special circumstances will be considered by the editorial chairman.)

Review/editing of manuscripts.

Manuscripts will be reviewed by the editorial chairman and will be subjected to blind review by the appropriate section editor and editorial staff consultants with expertise in the field that the article encompasses. The publisher reserves the right to edit accepted manuscripts to fit the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency, subject to the author's final approval.

Adherence to guidelines.

Manuscripts that are not prepared according to these guidelines will be returned to the author before review.

MANUSCRIPT PREPARATION

- The journal will follow as much as possible the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Group) in regard to preparation of manuscripts and authorship (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126:36–47). See www.icmje.org.
- **Manuscripts** should be double-spaced with at least a one-inch margin all around. Number all pages. Do not include author names as headers or footers on each page.
- **Title page.** Page 1 should include the title of the article and the name, degrees, title, professional affiliation, and full address of all authors. Phone, fax, and e-mail address must also be provided for the corresponding author, who will be assumed to be the first-listed

author unless otherwise noted. If the paper was presented before an organized group, the name of the organization, location, and date should be included.

- **Abstract/key words.** Page 2 of the manuscript should include the article title, a maximum of 300-word abstract, and a list of key words not to exceed 6. Abstracts for basic and clinical research articles must be structured with the following sections: (1) Purpose, (2) Materials and Methods, (3) Results, and (4) Conclusions. Abstracts for all other types of articles (ie, literature reviews, clinical reports, technologies, and case reports) should not exceed 250 words and need not be structured.
- **Introduction.** Summarize the rationale and purpose of the study, giving only pertinent references. Clearly state the working hypothesis.
- **Materials and Methods.** Present materials and methods in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.
- **Results.** Present results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize only important observations.
- **Discussion.** Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or Results section. Relate observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations.
- **Conclusions.** Link the conclusions with the goals of the study but avoid unqualified statements and conclusions not adequately supported by the data. In particular, authors should avoid making statements on economic benefits and costs unless their manuscript includes the appropriate economic data and analyses. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, but clearly label them as such.
- **Acknowledgments.** Acknowledge persons who have made substantive contributions to the study. Specify grant or other financial support, citing the name of the supporting organization and grant number.
- **Abbreviations.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
- **Trade names.** Generic terms are to be used whenever possible, but trade names and manufacturer name, city, state, and country should be included parenthetically at first mention.

REFERENCES

- All references must be cited in the text, numbered in order of appearance.
- The reference list should appear at the end of the article in numeric sequence.
- Do not include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.
- Avoid using abstracts as references.
- Provide complete information for each reference, including names of all authors (up to six). If the reference is to part of a book, also include title of the chapter and names of the book's editor(s).

Journal reference style:

Johansson C, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit: A 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1987;2:69-75.

Book reference style:

1. Skalak R. Aspects of biomechanical considerations. In: Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T (eds). *Tissue-Integrated Prosthesis: Osseointegration in Clinical Dentistry*. Chicago: Quintessence, 1985:117-128.
2. **ILLUSTRATIONS AND TABLES**

- All illustrations must be numbered and cited in the text in order of appearance.
- Illustrations and tables should be embedded in a PC Word document.
- All illustrations and tables should be grouped at the end of the text.
- Original slides or high-resolution images must be sent to the Publisher's office upon acceptance of the article.
- *Note that article acceptance is pending the receipt of acceptable original art.*

Black & white—Submit three sets of high-quality glossy prints. Should the quality prove inadequate, negatives will be requested as well. Photographs should be unmounted and untrimmed.

Radiographs—Submit the original radiograph as well as two sets of prints.

Color—Color is used at the discretion of the publisher. No charge is made for such illustrations. Original slides (35-mm transparencies) must be submitted, plus two sets of prints made from them. When a series of clinical images is submitted, tonal values must be uniform. When instruments and appliances are photographed, a neutral background is best.

Drawings—Figures, charts, and graphs should be professionally drawn and lettered large enough to be read after reduction. High-resolution (at least 300 dpi) laser-printed art is acceptable (no photocopies, please); also provide electronic file if possible.

Electronic Files—May be accepted if original figures (as specified above) are unavailable. Resolution must be at least 300 dpi; files saved in .tiff or .eps format are preferred.

Legends—Figure legends should be grouped on a separate sheet and typed double-spaced.

MANDATORY SUBMISSION FORM

The Mandatory Submission Form (published in issues 1 and 4 and accessible at www.quintpub.com) must be signed by all authors and faxed to the JOMI Manuscript Editor (630 736 3634)

PERMISSIONS AND WAIVERS

- [Permission of author and publisher](#) must be obtained for the direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that does not belong to the author.
- Waivers must be obtained for photographs showing persons. When such waivers are not supplied, faces will be masked to prevent identification.
- Permissions and waivers should be faxed along with the Mandatory Submission Form to the JOMI Manuscript Editor (630 736 3634).

REPRINTS

If reprints are desired, they may be ordered from the publisher. Authors receive a discount of 40% on quantities of 100 or 200 reprints.

Anexo C -

ANEXO C: Ilustrações da fase cirúrgica da metodologia experimental



Fig. 1 - Ratos machos com peso corporal aproximado de 250 gramas.



Fig. 2 - Cloridrato de Xilazina e cloridrato de Cetamina.



Fig. 3 - Anestesia por via intramuscular.



Fig. 4 - Membro posterior tricotomizado e antissepsia realizada.



Fig. 5 - Incisão.



Fig. 6 - Afastamento tecidos e exposição da tibia.



Fig. 7 - Cavidade na tibia direita utilizada como área doadora

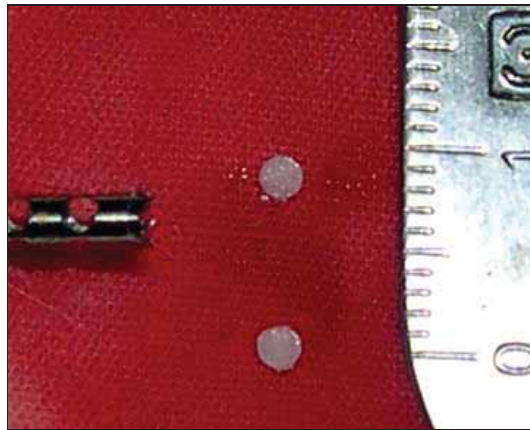


Fig. 8 - Enxertos obtidos.



Fig. 9 - Cavidade na tíbia esquerda preenchida com enxerto particulado.



Fig. 10 - Membrana acomodada e devidamente estabilizada.



Fig. 11 - Sutura finalizada.



Fig. 12 - Penicilina G benzatina (20.000 U.I.).

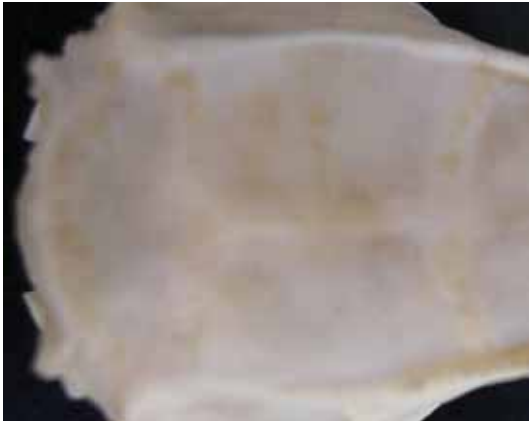


Fig. 13 - Calvária de animais doadores para o grupo II após completa remoção de tecido mole circunvizinho.



Fig. 14 - Calvária para grupo II devidamente recortada e processada.



Fig. 15 - Cilindros de precisão ajustáveis utilizados para a realização da “clivagem” das corticais internas e externas da calvária



Fig. 16 - Membrana utilizada no grupo III.

Anexo D -

ANEXO D - Ilustrações da análise histométrica



Fig. 1 - Equipamento utilizado na captação das imagens histológicas. Câmera digital (JVC TK-1270 Color Vídeo Câmera) acoplada ao microscópio Carl Zeiss (AxioLab) e conectada ao computador.

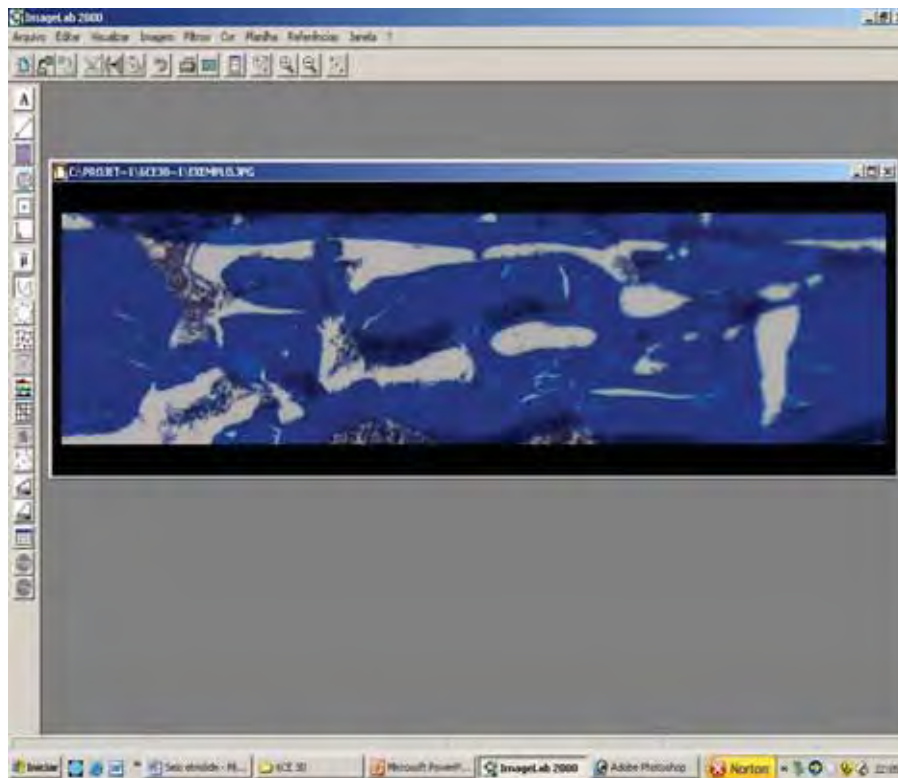


Fig. 2 - Programa ImagLab 2000. Fotomicrografia da região do defeito cirúrgico.

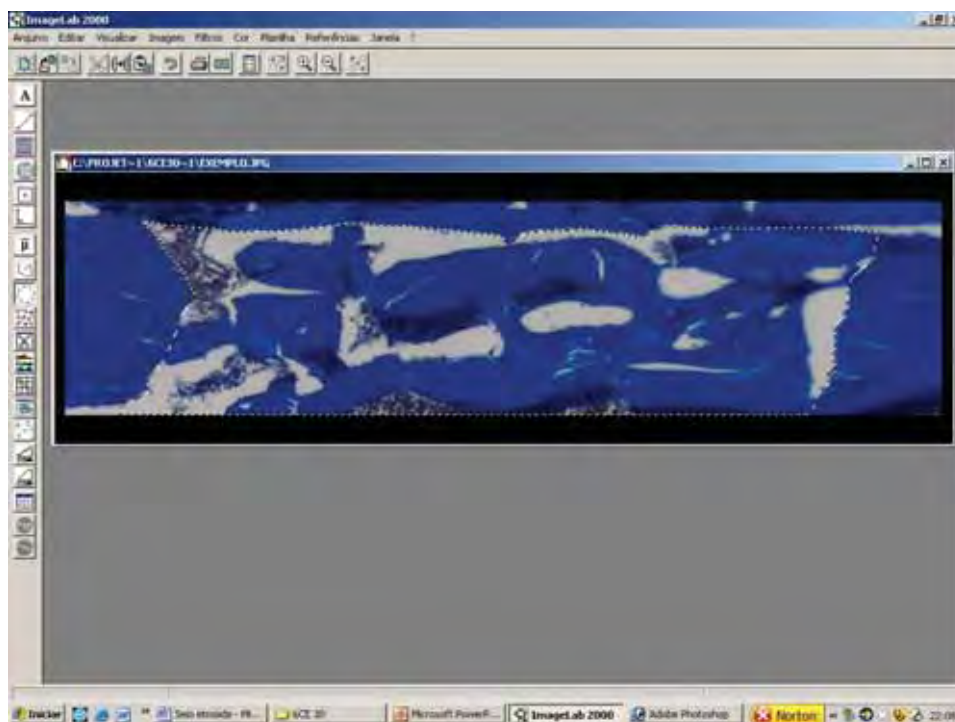


Fig. 3 - Seleção da Área Total (AT) do defeito cirúrgico.

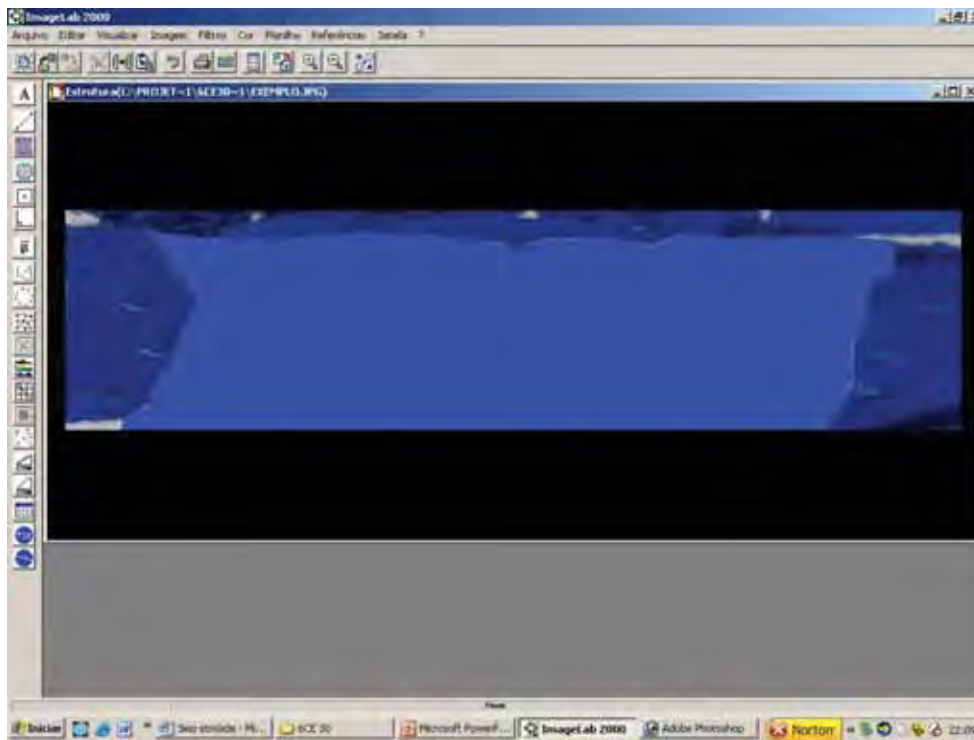


Fig. 4 - Seleção da Área Total (AT) do defeito cirúrgico.

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
4	Altura		% de região:		67.6%						
5	455		na imagem:		Área total da imagem						
6											
7			Densidade	#	44.944						
8	Altura		ótica média	G	72.083						
9	1.000000		das áreas	B	135.971						
10			marcadas	Módulo	83.993						
11											
12	MORFOMETRIA		ABSORÇÃO DE COH			Densidade	DIÂMETROS		CENTRO DE MASSA		
13	Perímetro	Faixa de forma	R	G	B	da estrutura	Diâm. Transv.	Diâm. Maior	Diâm. Menor	X	Y
14											
15	4257.854	0.000	26034502.000	41836308.000	78416024.000	83.993	0.000	1647.000	413.000	0.000	0.000
16	4257.854	#DIV/0!	26034502.000	41836308.000	78416024.000	83.993	#DIV/0!	1647.000	413.000	#DIV/0!	#DIV/0!
17	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
18	4257.854	0.000	26034502.000	41836308.000	78416024.000	83.993	0.000	1647.000	413.000	0.000	0.000
19	4257.854	0.000	26034502.000	41836308.000	78416024.000	83.993	0.000	1647.000	413.000	0.000	0.000
20	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
21	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
22											
23											
24											
25											
26	Perímetro	Faixa de forma	R	G	B	Densidade	Diâm. Transv.	Diâm. Maior	Diâm. Menor	X	Y
27	4257.854		26034502.000	41836308.000	78416024.000	83.993		1647.000	413.000		
28											
29											
30	Planilha de Cálculos										
31											
32											
33											
34											
35											
36											
37											
38											

Fig. 5 - Planilha de dados do programa exibindo o valor percentual referente à Área Total (AT) anteriormente selecionada.

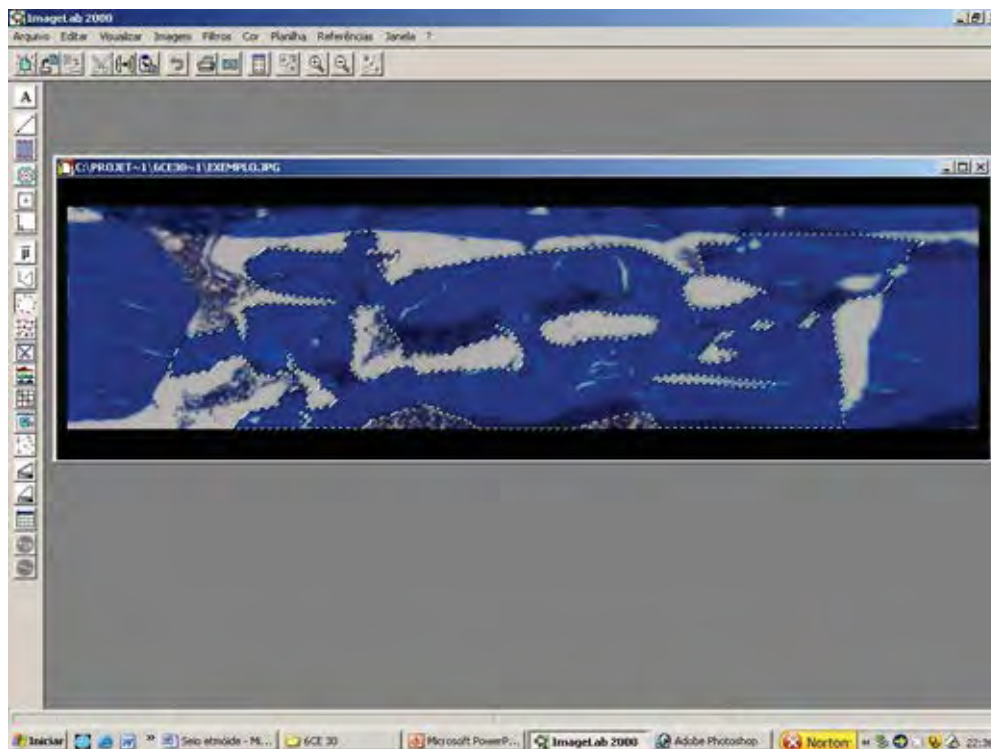


Fig 6- Seleção da área de tecido ósseo Neoformado (AON)

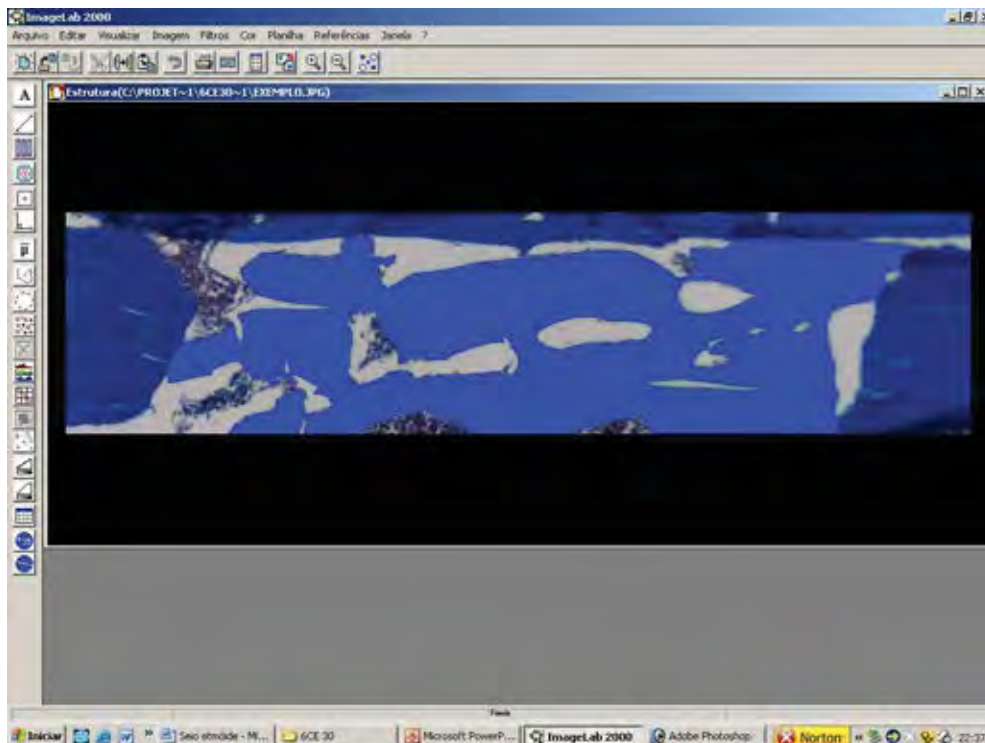


Fig. 7 - Seleção da área de tecido ósseo neoformado (AON)

Imagetab 2000

Arquivo Editar Visualizar Imagens Filtros Cor Planilha Referências Janela 7

Imagetab(C:\PROJET~1\6CC3B~1\002*PLO.JPG)

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
4	Áreas			Este segões:	47,4%						
5	45%			em relação a:	área total da imagem						
7				Densidade	R	0,679					
8	Áreas			ótica média	G	43,499					
9	1,000000			das áreas	B	177,657					
10				masculas	Média	59,348					
12	MORFOMETRIA		ABSORÇÃO DE COR			Densidade	DIÂMETROS		CENTRO DE MASSA		
13	Perímetro	Fator de forma	R	G	B	Diam. Transv.	Diam. Mass	Diam. Menor	X	Y	
14											
15	9152,071	0,000	2800413,000	17708748,000	51974732,000	59,348	0,000	1557,000	407,000	0,000	0,000
16	9152,071	#DIV/0!	2800413,000	17708748,000	51974732,000	59,348	#DIV/0!	1557,000	407,000	#DIV/0!	#DIV/0!
17	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
18	9152,071	0,000	2800413,000	17708748,000	51974732,000	59,348	0,000	1557,000	407,000	0,000	0,000
19	9152,071	0,000	2800413,000	17708748,000	51974732,000	59,348	0,000	1557,000	407,000	0,000	0,000
20	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
21	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
22											
23											
24											
25											
26	Perímetro	Fator de forma	R	G	B	Densidade	Diam. Transv.	Diam. Mass	Diam. Menor	X	Y
27	9152,071		2800413,000	17708748,000	51974732,000	59,348		1557,000	407,000		
28											
29											
30											
31											
32											
33											
34											
35											
36											
37											
38											

ImagemLab 2000

Arquivo Editar Visualizar Imagens Filtros Cor Planilha Referências Janela 7

ImagemLab 2000

Arquivo Editar Visualizar Imagens Filtros Cor Planilha Referências Janela 7

Fig. 8- Planilha de dados do programa exibindo o valor percentual referente à Área Óssea Neoformada (AON) anteriormente selecionada.

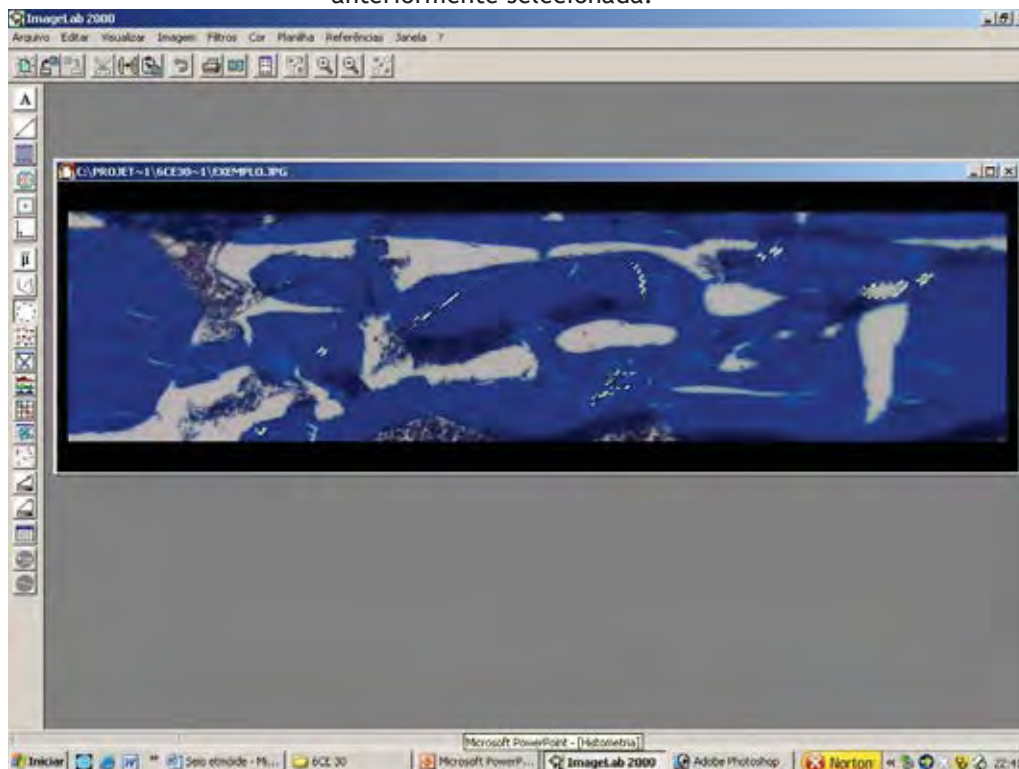


Fig. 9 - Seleção das áreas correspondentes aos espaços intertrabeculares (EI)

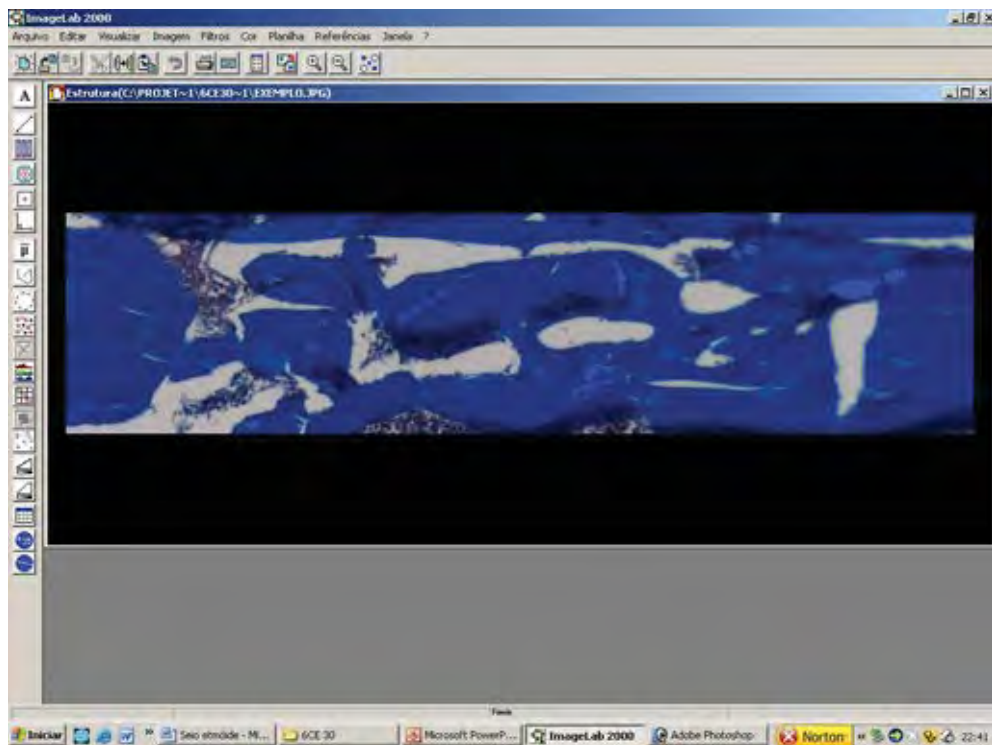


Fig. 10 - Seleção das áreas correspondentes aos espaços intertrabeculares (EI)

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
4	Área		Sele regular:		0,8%						
5	402		em relação a:		área total da imagem						
6											
7			Densidade		A'	0,941					
8	Área		óptica média		G'	40,812					
9	1,600000		das áreas		B'	133,745					
10			marcadas		Módulo	58,502					
11											
12	MORFOMETRIA		ABSORÇÃO DE COR			Densidade	DIÂMETROS		CENTRO DE MASSA		
13	Perímetro	Fator de forma	B	G	B	da estrutura	Diâm. Transv.	Diâm. Menor	Diâm. Menor	X	Y
14			0	1	1	0	0	0	0	0	0
15	357,071	0,000	6920,373	297543,031	975073,375	58,502	0,000	99,000	77,000	0,000	0,000
16	357,071	#DIV/0!	6920,373	297543,031	975073,375	58,502	#DIV/0!	99,000	77,000	#DIV/0!	#DIV/0!
17	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
18	357,071	0,000	6920,373	297543,031	975073,375	58,502	0,000	99,000	77,000	0,000	0,000
19	357,071	0,000	6920,373	297543,031	975073,375	58,502	0,000	99,000	77,000	0,000	0,000
20	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
21	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
22											
23											
24											
25											
26	Perímetro	Fator de forma	B	G	B	Densidade	Diâm. Transv.	Diâm. Menor	Diâm. Menor	X	Y
27	357,071		6920,373	297543,031	975073,375	58,502		99,000	77,000		
28											
29											
30											
31											
32											
33											
34											
35											
36											
37											
38											

Fig. 11 - Planilha de dados do programa exibindo o valor percentual referente aos Espaços Intertrabeculares (IE) anteriormente selecionados.

Anexo E -

ANEXO E - Tabelas e gráficos da análise estatística baseada nos dados obtidos na análise histométrica

Tabela 01 – Grupo enxerto sem membrana em 10 e 60 dias:

Teste da Normalidade:

10dias: K-S Dist. = 0,146 P > 0,200 Passou

60dias: K-S Dist. = 0,158 P > 0,200 Passou

Teste de T:

Teste da normalidade: (P = 0,084) Passou

Teste de variância: (P < 0,050) Falhou

Mostrou diferença estatística entre os grupos.

Teste de Mann-Whitney:

Grupo	N	Perdido	Média	25%	75%
10dias	16	0	32879,500	27056,500	37287,000
60dias	16	0	63302,000	55919,000	77515,000

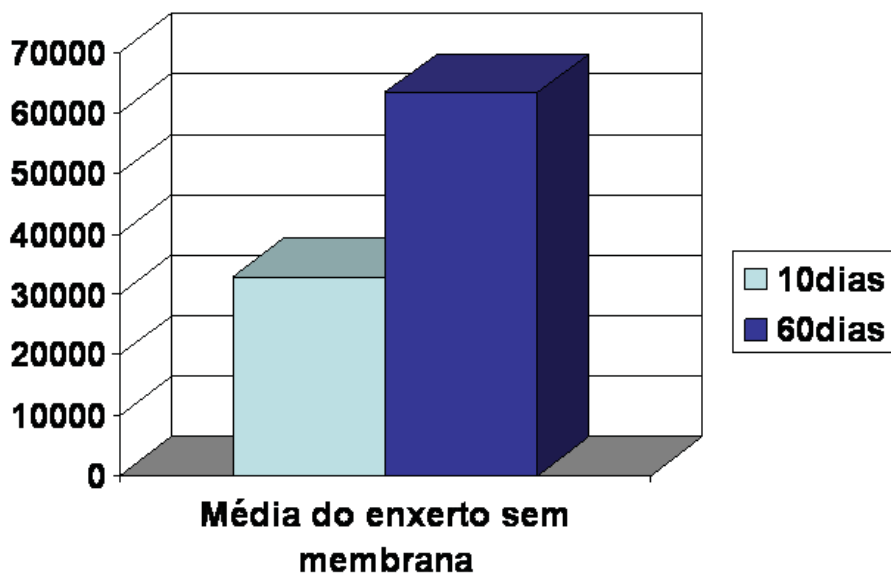


Tabela 02 – Grupo enxerto com membrana homogêna em 10 e 60 dias:

Teste da Normalidade:

10dias: K-S Dist. = 0,183 P = 0,160 Passou

60dias: K-S Dist. = 0,265 P = 0,004 Falhou

Teste de T:

Teste de Normalidade: (P = 0,112) Passou

Igualdade de variância: (P = 0,191) Passou

Grupo	N	Perdido	Média	StdDev	SEM
10dias	16	0	51404,375	14114,737	3528,684
60dias	16	0	56486,375	23722,367	5930,592

Não mostrou diferença estatística entre os grupos.

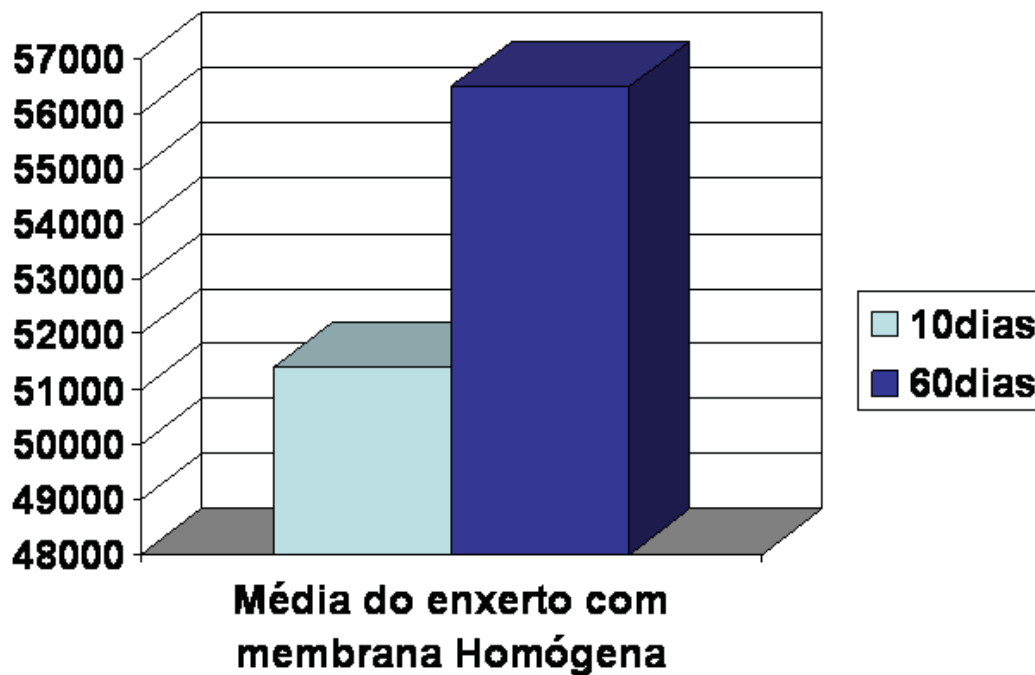


Tabela 03 – Grupo enxerto com membrana sintética em 10 e 60 dias:

Teste da Normalidade:

10dias: K-S Dist. = 0,144

P> 0,200 Passou

60dias: K-S Dist. = 0,224

P= 0,031 Falhou

Teste de T:

Teste de normalidade: (P = 0,342)Passou

Teste de Variância: (P < 0,050)Falhou

Teste de Mann-Whitney:

Teste de Normalidade: (P = 0,473) Passou

Igualdade de Variância: (P = 0,111) Passou

Não mostrou diferença estatística entre os grupos.

Grupo	N	Perdido	Média	25%	75%
10dias	16	0	35156,500	23508,500	43353,000
60dias	16	0	58815,500	33582,500	90719,000

T = 205,000n(pequeno)= 16 n(grande)= 16 (P = 0,027)

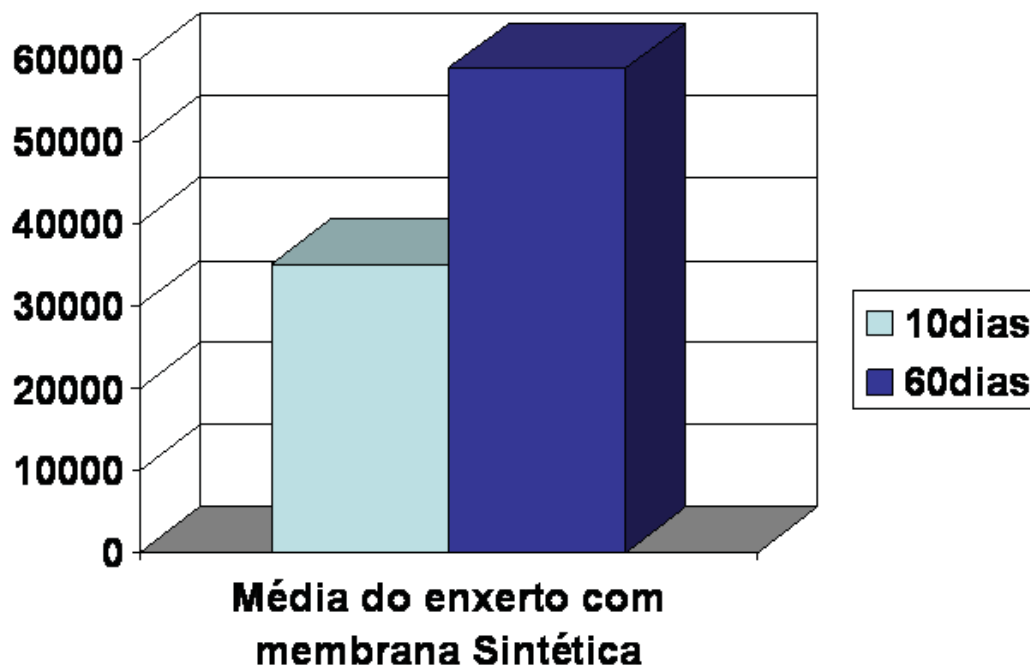


Tabela 04 – Grupo enxerto sem membrana em 10 dias:

Grupo enxerto com membrana homogênea em 10 dias:

Grupo enxerto com membrana sintética em 10 dias:

Teste de Normalidade

ET:	K-S Dist. = 0,146	P > 0,200	Passou
MHE:	K-S Dist. = 0,183	P = 0,160	Passou
MSE:	K-S Dist. = 0,144	P > 0,200	Passou

Teste de Kruskal-Wallis:

Grupos	N	Perdido	Média	25%	75%
ET:	16	0	32879,500	27056,500	37287,000
MHE:	16	0	53775,000	42605,000	56951,500
MSE:	16	0	35156,500	23508,500	43353,000

H = 15,433 with 2 degrees of freedom. (P = <0,001)

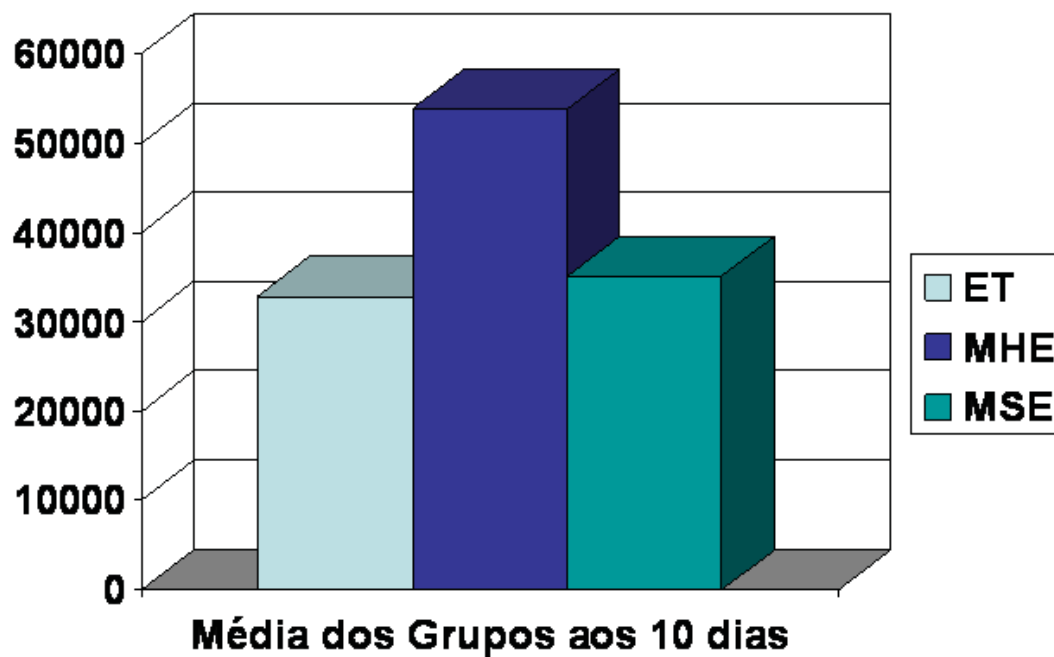


Tabela 05 – Grupo enxerto sem membrana em 60 dias:

Grupo enxerto com membrana homogéna em 60 dias:

Grupo enxerto com membrana sintética em 60 dias:

Teste da Normalidade:

ET:	K-S Dist. = 0,158	P > 0,200	Passou
MHE:	K-S Dist. = 0,265	P = 0,004	Falhou
MSE:	K-S Dist. = 0,224	P = 0,031	Falhou

Teste de Kruskal-Wallis:

Grupo	N	Perdido	Média	25%	75%
ET:	16	0	63302,000	55919,000	77515,000
MHE:	16	0	42869,000	38251,000	76308,000
MSE:	16	0	58815,500	33582,500	90719,000

H = 2,814 with 2 degrees of freedom. (P = 0,245)

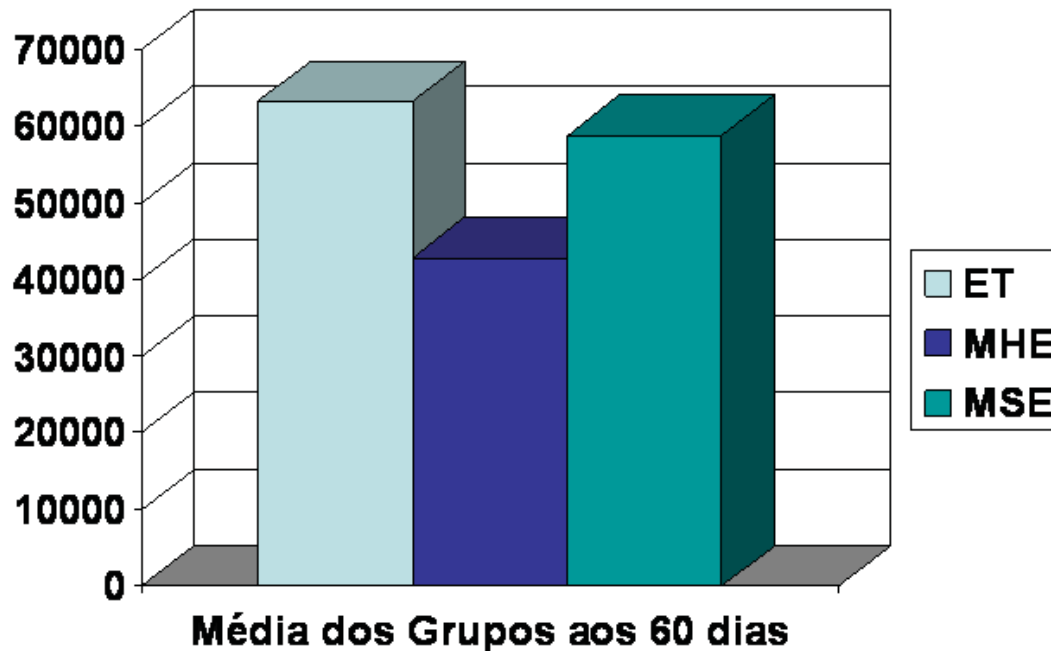
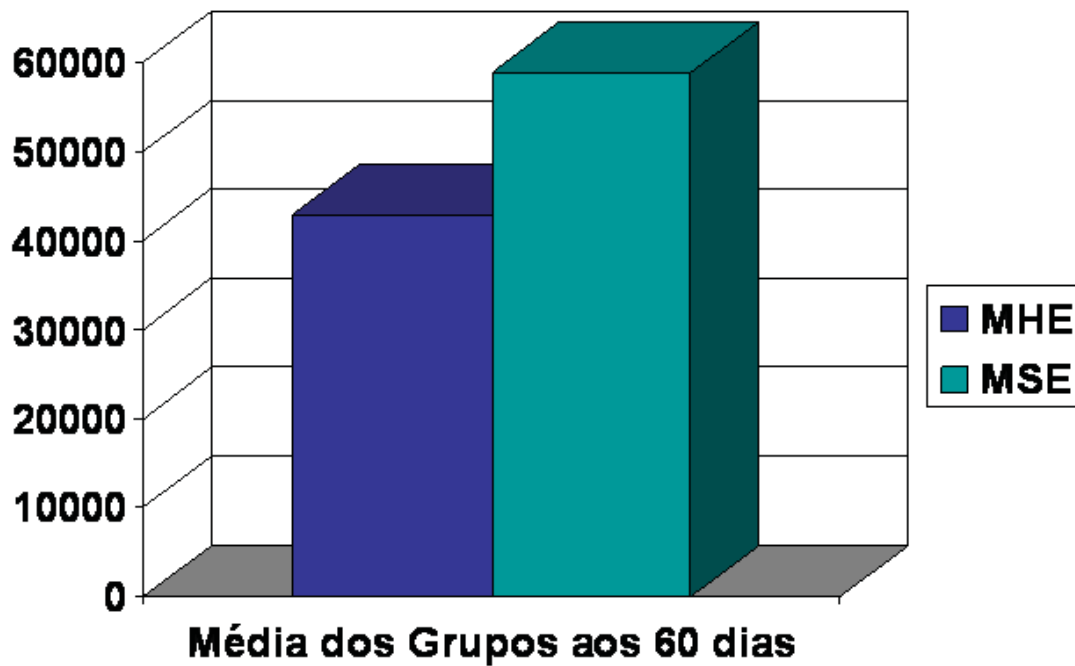


Tabela 06 – Testes aplicados aos grupos enxerto com membrana homogênea e enxerto com membrana sintética.					
Teste de T					
Teste da Normalidade: (P < 0,050) Falhou					
Teste de Mann-Whitney					
Grupo	N	Perdido	Média	25%	75%
MHE	16	0	42869,000	38251,000	76308,000
MSE	16	0	58815,500	33582,500	90719,000
T = 270,000n(pequeno)= 16 n(grande)= 16 (P = 0,836)					



Anexo F -

RESULTADOS 10 DIAS

- IC10 (Grupo I com a cavidade preenchida por enxertos ósseos e sem recobrimento por membrana aos 10 dias)

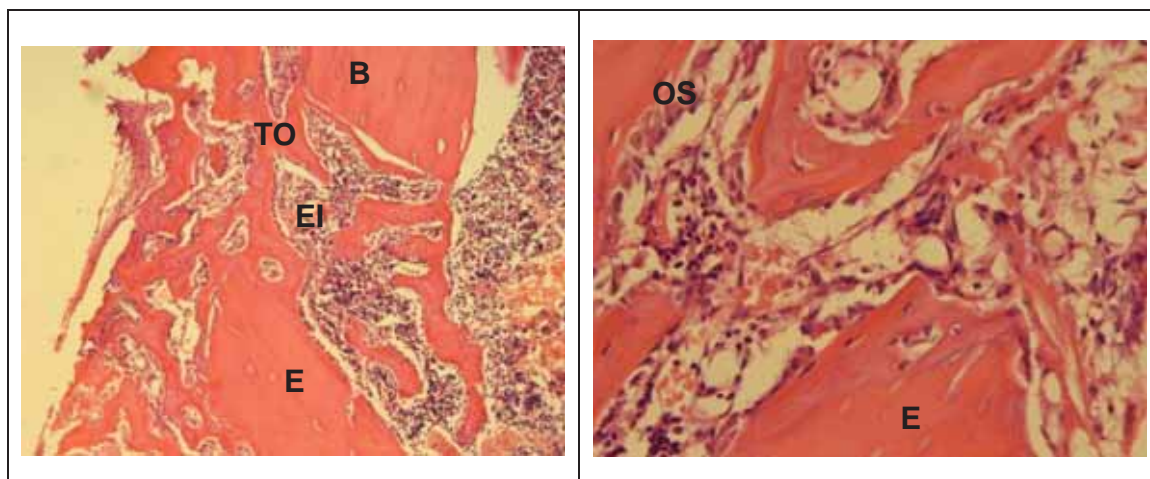


Figura 1–IC10 – Campos esquerdo: Enxertos ósseos (E) encontram-se revascularizados e incorporados, havendo tecido osteóide (TO) unindo-os às trabéculas ósseas neoformadas (TO) e à borda da ferida cirúrgica, com a presença de amplos espaços intertrabeculares (EI). Campo Direito: Grande atividade osteoblástica (OS) pode ser observada na região. H.E. Originais 100 e 400X.

- IIMH10 (Grupo II com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana homogênea aos 10 dias)

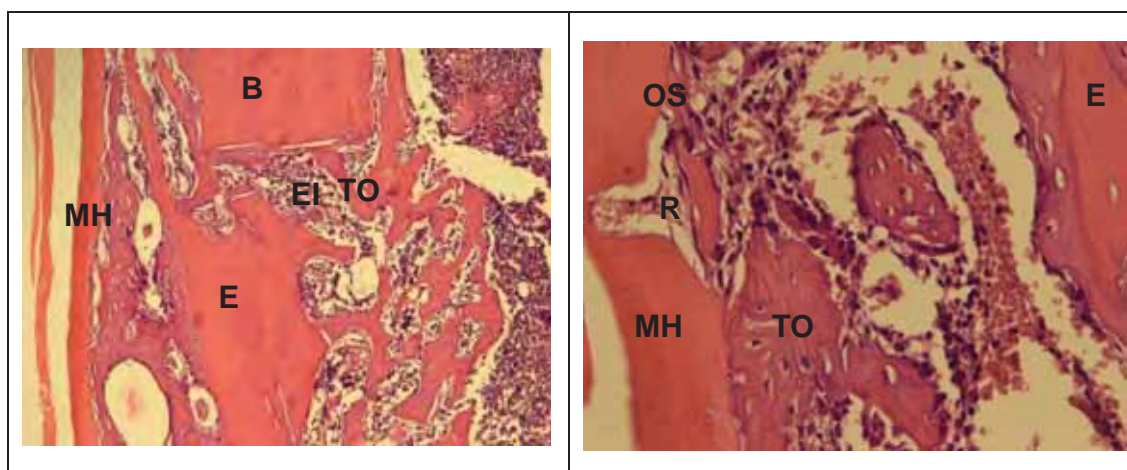


Figura 2–IIMH10 – Campo esquerdo: Membrana homogênea sendo incorporada (MH) ao tecido osteóide (TO) e aos enxertos ósseos (E). Há amplos espaços intertrabeculares (EI). Campo Direito: A membrana homogênea possui poucas áreas de reabsorção (R), sendo a maior parte desta incorporada inicialmente por pontes de tecido ósseo neoformado (TO). H.E. Originais 100 e 400X.

- IIMX10 (Grupo III com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana sintética de PTFe aos 10 dias)

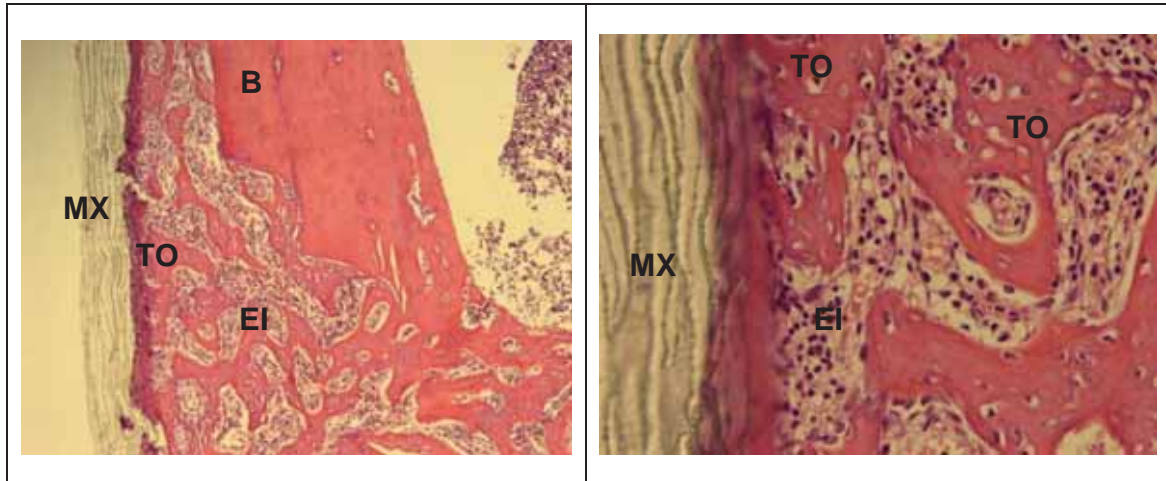


Figura 3–IIMX10 – Campo esquerdo: Membrana sintética de PTFe (MX) em íntimo contato com tecido ósseo neoformado imaturo (TO). Campo Direito: Espaços intertrabeculares amplos (EI), contendo tecido de granulação em organização, com desenvolvimento de um trabeculado ósseo (TO) com amplas lacunas osteocíticas. H.E. Originais 100 e 400X.

RESULTADOS 60 DIAS

- IC60(Grupo I com a cavidade preenchida por enxertos ósseos e sem recobrimento por membrana aos 60 dias)

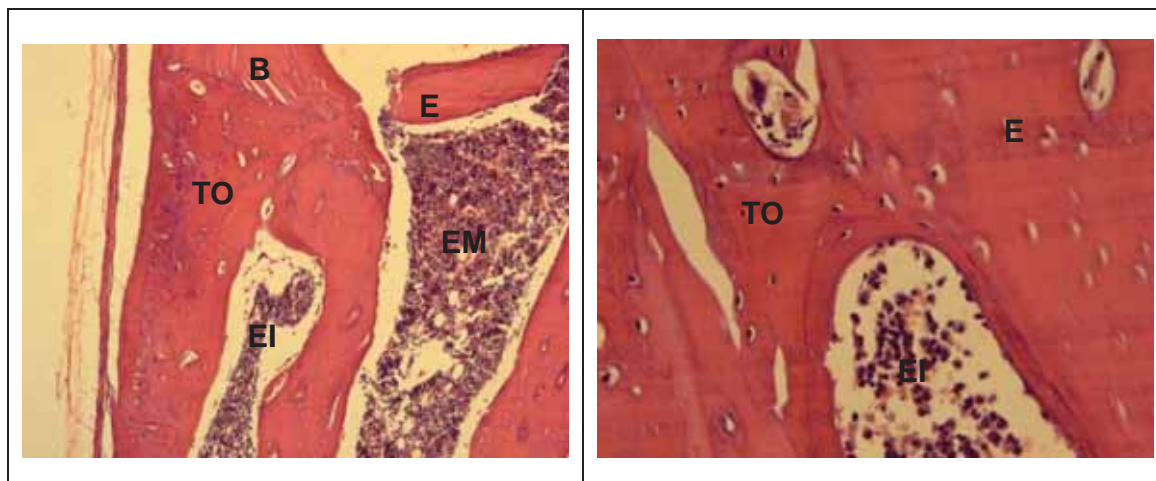


Figura 4–IC60 – Campo esquerdo: Tecido neoformado (TO) maduro obliterando a cavidade cirúrgica a partir de suas bordas (B)..Enxertos ósseos encontram-se incorporados e revascularizados, sendo que alguns deles apresentam-se no interior do espaço medular (EM) Campo Direito: Osso neoformado maduro (TO) e os enxertos encontram-se com poucas lacunas osteocíticas com núcleos picnóticos (E). H.E. Originais 100 e 400X..

- IIMH60 (Grupo II com a cavidade preenchida por enxertos ósseos e recoberta por membrana homogênea aos 60 dias)

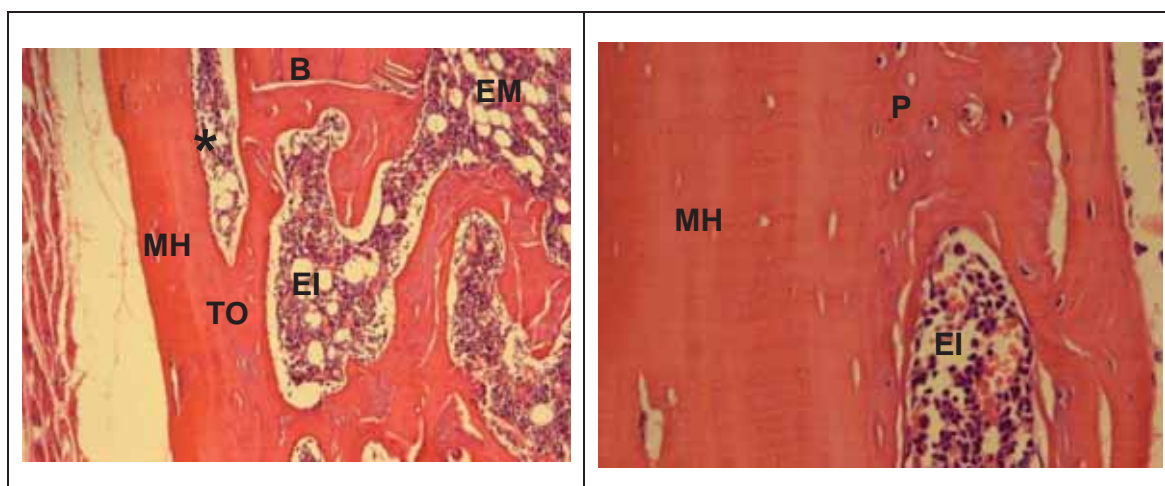


Figura 5 – IIMH60 – Campo esquerdo: A membrana homogênea (MH) encontra-se incorporada ao tecido neoformado (TO) obliterando totalmente a cavidade cirúrgica sobre as bordas (B) da ferida cirúrgica. Abaixo da membrana há formação de amplos espaços (*). O tecido conjuntivo presente no interior dos espaços intertrabeculares (EI) é semelhante ao do espaço medular (EM). Campo Direito: Membrana homogênea com lacunas osteocíticas vazias está sendo incorporada por pontes ósseas (P). H.E. Originais 100 e 400X..

- IIIMX60:(Grupo III com a cavidade preenchida por enxerto ósseo e recoberta por membrana de ptfe aos 60 dias)

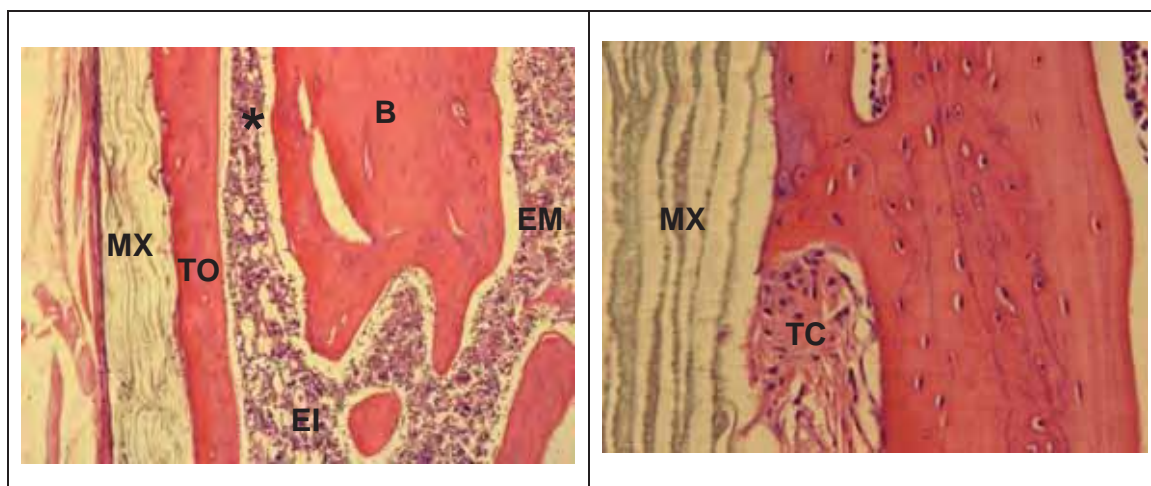


Figura 6 – IIIMX60 – Campo esquerdo: A membrana de ptfe (MX) encontra-se justaposta ao tecido neoformado (TO) obliterando totalmente a cavidade cirúrgica sobre as bordas (B) da ferida cirúrgica. Abaixo da membrana há formação de amplos espaços (*). O tecido conjuntivo presente no interior dos espaços intertrabeculares (EI) é semelhante ao do espaço medular (EM). Campo Direito: Membrana de ptfe (MX) preservadae justaposta ao tecido ósseo com presença de pouco tecido conjuntivo fibroso (TC) abaixo dela, especialmente próximo as suas extremidadesH.E. Originais 100 e 400X..