

**MIRELA CAROLINE SILVA**

**Potencial de regeneração óssea guiada de membrana de colágeno porcino (Collprotect Straumann®). Estudo histológico, histomorfométrico em defeitos ósseos de calvária de ratos**

**MIRELA CAROLINE SILVA**

**Potencial de regeneração óssea guiada de membrana de colágeno porcino (Collprotect Straumann®). Estudo histométrico e de perfil inflamatório em defeitos ósseos de calvária de ratos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Profa. Associada. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi

**Araçatuba - SP  
2020**

À TEREZA OLIVEIRA DE SOUZA, MINHA AVÓ, MINHA COMPANHEIRA DESDE PEQUENA, QUEM TANTO INTERCEDE À DEUS POR MIM, MEU MAIOR EXEMPLO DE FORÇA E LUTA.

A MEUS PAIS, MARCOS E WALQUÍRIA SILVA, POR TODO APOIO E AMOR DURANTE TODA MINHA VIDA; POR TEREM CONFIADO EM MIM E ME DAREM SEUS EXEMPLOS DESDE SEMPRE.

À ANDRESSA B. SILVA, MINHA IRMÃ, A QUEM TANTO AMO E TANTO ADMIRO MESMO TÃO NOVA. MAIOR PRESENTE DA MINHA VIDA.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus, meu Amor, meu Companheiro, meu Amigo, meu Pai. Quem sonhou comigo cada parte desse caminho de uma forma única, confiou em mim para trilhá-lo e me ajudou em cada momento. Eu não tenho palavras para agradecer Sua Misericórdia e Seu Amor para comigo. Mesmo que eu não mereça, sempre está ali me amando, me guiando e me permitindo viver sua infinita misericórdia, todos os dias.

À Nossa Senhora Aparecida, minha Mãezinha, quem tanto cuida de mim; por toda intercessão, por todo amor e ajuda nos momentos de dificuldade.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Glauco Issamu Miyahara e do vice-diretor Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

A meus pais, a quem dedico toda minha trajetória até aqui, pessoas que me ensinaram desde o início coisas lindas que levarei por toda minha vida, espero um dia retribuir tudo que me foi oferecido. Minha mãe, Walquíria Silva, por todo cuidado comigo sempre e por ter confiado em mim. Meu Pai, Marcos Silva, pela dedicação por nossa família e também por todo apoio nessa jornada.

À minha avó, Tereza O. de Souza, minha inspiração desde cedo. Por toda intercessão que por mim nos momentos de dificuldades.

À minha irmã, Andressa, minha amiga e companheira desde sempre.

A meus avós paternos, Nilva e José Silva, por serem inspirações na minha vida, por sempre torcerem por mim nessa caminhada e estarem comigo.

À minha tia, Regiane Simili, pelo apoio e cuidado comigo desde criança. Por ser um exemplo em minha vida.

A minhas tias-avós, pessoas maravilhosas que sempre me apoiaram e torceram por mim.

Meus tios e tias, pelo cuidado e apoio que me transmitem.

A minhas amigas de SCRP, pessoas que me viram lutando desde o início e durante essa trajetória, mesmo distantes fisicamente, sempre transmitiram um carinho e um cuidado sem fim.

As meninas da pensão; Bia Sanchez, Ana Carolina Ribeiro, Stéfani Ferriolli, por fazerem parte de tudo isso de uma forma mais do que especial, desde o primeiro até o último dia. Gratidão sempre.

A Fernanda Camilo e Ana Maira Baggio, que também fizeram parte da pensão comigo e, de um modo muito especial, do apartamento 145. Por todos os momentos, por todo auxílio, por todo cuidado, nunca irei me esquecer de tudo que vivemos.

A todas minhas amigas de Araçatuba, por todos os momentos, por fazerem parte dessa jornada.

A todos os professores do curso, que contribuíram para essa formação. Em especial, à Profa. Dra. Ana Paula Farnessi Bassi, por todo auxílio durante a orientação e a graduação. Ao Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani, por tanto me ensinar durante essa caminhada e por todo carinho sempre. Ao Mestrando Vinicius Ferreira Bizelli, por toda paciência e colaboração na elaboração dessa tese. E ao Prof. Dr. Gustavo Momesso, por toda amizade, por todo aprendizado transmitido e por todo auxílio.

A todos que contribuíram de alguma forma com essa formação.

*“A gente precisa parar com a velha mania de esperar  
a calmaria só quando se chega e entender que o caminho  
também é um lugar”*

*Autor desconhecido*

SILVA, M. C. **Potencial de regeneração óssea guiada de membrana de colágeno porcino (Collprotect Straumann®). Estudo histométrico e de perfil inflamatório em defeitos ósseos de calvária de ratos.** 2020. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

## RESUMO

A regeneração óssea guiada (ROG) tornou-se uma prática comum e importante na Implantodontia. Para realizar a regeneração de defeitos ósseos é necessário o uso de membranas que auxiliem neste processo, uma vez que são barreiras que evitam o crescimento de tecidos indesejáveis nas áreas de defeitos ósseos. As membranas absorvíveis têm mostrado vantagens em relação às membranas não absorvíveis, entre as características mais relevantes das membranas absorvíveis estão: o suporte sanguíneo (diretamente relacionado com a porosidade do material) e suporte mecânico ósseo que depende do tempo de reabsorção da membrana, sendo está uma vertente dos estudos de biomateriais que auxiliam nesse processo de reparo. Desta forma, a busca por materiais apropriados continua. O objetivo dessa análise foi avaliar e comparar por meio de estudo histológico, histomorfométrico, do processo de regeneração óssea guiada utilizando a membrana de colágeno de derme porcina (*Collprotect Straumann®*) em defeitos críticos criados em calvária de ratos. Para isso, foram utilizados 72 ratos Albinus Wistar divididos em 3 grupos, sendo 24 para cada grupo: Grupo controle somente com coágulo; Grupo da membrana de colágeno de derme porcina (*Collprotect Straumann®*) e o Grupo da membrana colágeno porcino. Cada grupo constituído de 4 subgrupos de acordo com os tempos de estudo: 7, 15, 30 e 60 dias. Decorridos os períodos experimentais, as peças foram processadas em laboratórios e foram submetidas as análises histométricas e de perfil inflamatório para análise estatístico comparativo dos dados achados. A partir dos resultados obtidos, pode-se observar no perfil inflamatório que a membrana CS apresentou comportamento biológico inferior a membrana BG, com uma menor angiogênese e maior quantidade de células inflamatórias. Assim como na análise da área de osso neoformado, não obtendo fechamento completo do defeito ao final dos períodos experimentais, por mais que tenha tido comportamento superior ao grupo GC aos 30 e aos 60 dias. Dessa forma, conclui-se que há uma necessidade de novos estudos

associando a membrana do grupo CS com biomateriais osteoindutores/osteocondutores, que potencializem os resultados obtidos neste estudo.

**Palavras-chave:** Biomateriais biodegradáveis. Membrana de colágeno. Tecido ósseo.



SILVA, M C. **Potential for guided bone regeneration of porcine collagen membrane (Collprotect Straumann®). Histological, histomorphometric study in bone defects of rat calvaria.** 2020. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

## **ABSTRACT**

Guided bone regeneration (ROG) has become a common and important practice in Implantology. To perform the regeneration of bone defects it is necessary to use membranes that assist in this process, since they are barriers that prevent the growth of undesirable tissues in the areas of bone defects. Absorbable membranes have shown advantages over non-absorbable membranes, among the most relevant characteristics of absorbable membranes are: blood support (directly related to the porosity of the material) and bone mechanical support that depends on the membrane resorption time, being a strand of biomaterials studies that assist in this repair process. In this way, the search for appropriate materials continues. The purpose of this analysis was to evaluate and compare, through histological, histomorphometric study, of the guided bone regeneration process using the porcine dermis collagen membrane (Collprotect Straumann®) in critical defects created in rat calvaria. For this, 72 Albinus Wistar rats were used, divided into 3 groups, 24 for each group: Control group with clot only; Porcine dermis collagen membrane group (Collprotect Straumann®) and Porcine collagen membrane group. Each group consisted of 4 subgroups according to the study times: 7, 15, 30 and 60 days. After the experimental periods, the pieces were processed in laboratories and submitted to histological and histomorphometric analyzes, for comparative statistical analysis of the data found. From the results obtained, it can be seen in the inflammatory profile that the CS membrane showed a biological behavior inferior to the BG membrane, with less angiogenesis and greater amount of inflammatory cells. As well as in the analysis of the newly formed bone area, not obtaining complete closure of the defect at the end of the experimental periods, no matter how much it behaved superiorly to the GC group at 30 and 60 days. Thus, it is concluded that there is a need for further studies associating the membrane of the CS group with osteoinductive/osteoconductive biomaterials, which enhance the results obtained in this study.

**Keywords:** Biodegradable biomaterials. Collagen membrane. Bone tissue.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Incisão linear em “V” de 2 cm (A); Exposição calvária após divulsão dos tecidos moles (B); Defeito crítico de 8mm de diâmetro, envolvendo a sutura sagital (C) **19**
- FIGURA 2 – Exposição da calvária (A); Inserção membrana de colágeno sobre o defeito (BioGide<sup>®</sup> Geistlich); Inserção membrana de colágeno sobre o defeito (CollProtect<sup>®</sup> Straumann) **19**
- FIGURA 3 – Sutura interrompida simples com Nylon 5.0 **20**
- FIGURA 4 – Corte longitudinal obedecendo a margem de segurança ao redor de todo o defeito, separando-o. Obs: Defeito ósseo em duas partes iguais para a inclusão em parafina no mesmo bloco **21**
- FIGURA 5 – Corte representativo de 6 µm de cada bloco de parafina, já montados em lâminas para análise **21**
- FIGURA 6 – Imagens representativas em uma magnificação de 100x do grupo BG (controle positivo) e CS (teste) para os tempos 7 e 15 dias: A e B; C e D, respectivamente. As setas amarelas indicam as células inflamatórias e os \* azuis os vasos sanguíneos **25**
- FIGURA 7 – Reconstrução panorâmica dos cortes histológicos dos grupos GC, BG e CS para todos os tempos experimentais em uma magnificação de 6.3x. Os \* amarelos indicam os cotos ósseos e a região do defeito está enquadrada na área dos colchetes **28**

## LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 – Gráfico comparativo entre as médias dos números de células inflamatórias entre os grupos analisados nos tempos experimentais de 7 e 15 dias. O caractere \* demonstra diferença estatística intergrupos e as letras maiúsculas as diferenças intragrupos **24**
- GRÁFICO 2 – Gráfico comparativo entre as médias dos números de vasos sanguíneos entre os grupos analisados nos tempos experimentais de 7 e 15 dias. O caractere \* demonstra diferença estatística intergrupos e as letras maiúsculas as diferenças intragrupos **26**
- GRÁFICO 3 – Gráfico comparativo entre as médias de osso neoformado para cada grupo analisados nos tempos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias **27**

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Tabela demonstrando as médias da contagem de células inflamatórias para cada grupo (CS e BG). Valores de P para comparação intergrupos	<b>25</b>
TABELA 2 – Tabela demonstrando as médias da contagem de vasos sanguíneos para cada grupo (CS e BG). Valores de P para comparação intergrupos	<b>26</b>
TABELA 3 – Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os tempos do grupo BG	<b>29</b>
TABELA 4 – Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os grupos aos 30 dias	<b>29</b>
TABELA 5 – Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os tempos do grupo CS	<b>30</b>
TABELA 6 – Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os grupos aos 60 dias	<b>30</b>

## LISTA DE SIGLAS

BG: grupo BioGide® Geistlich

CS: grupo CollProtect® Straumann

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

GC: grupo coágulo

PVPI: Polivinil pirrolidona iodo

ROG: Regeneração óssea guiada

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAIS E MÉTODOS	17
2.1 Pesquisa Experimental	17
2.2 Procedimento Cirúrgico	18
2.3 Análise Histológica/Histométrica	21
2.3.1 Perfil Inflamatório	22
2.3.2 Área de osso neoformado	22
3 RESULTADOS	24
3.1 Análise Histométrica	24
3.1.1 Perfil Inflamatório	24
3.1.2 Área de osso neoformado	27
4 DISCUSSÃO	31
REFERÊNCIAS	34
ANEXOS	38

## 1 INTRODUÇÃO

A odontologia reabilitadora tem tido crescente destaque nos últimos tempos principalmente no que se diz respeito a reabilitação com implantes osseointegráveis. Após o procedimento cirúrgico de exodontia ou após a perda do elemento dentário, alterações fisiológicas do tecido ósseo e tecidos moles ocorrem de forma progressiva e inevitáveis. Durante o processo de reparo alveolar, a remodelação tecidual resulta em grande perda de volume ósseo na região do dente extraído, enquanto a crista alveolar sofre reabsorção e remodelação; o que pode prejudicar ou até inviabilizar a reabilitação com implantes. Além disso, existem fatores que podem influenciar na reabsorção da crista, como: doença periodontal, infecções, complicações trans e pós operatórias e fraturas dentarias ou traumas dento-alveolar (ACEVEDO-ANDRADE *et al.*, 2014; CORTELLINI; PINIPRATO; TONETTI, 1993; GALANTE, 2014).

Assim, reconstruir essas regiões nem sempre é fácil, e entre as técnicas reconstrutivas para ganho de volume ósseo está a Regeneração óssea guiada (ROG). Esse procedimento consiste no uso de membranas que atuam como uma barreira física sobre o defeito ósseo, podendo estar associada ou não à enxertos autógenos e/ou biomateriais. As membranas, sendo elas absorvíveis ou não absorvíveis, tem como princípio a osteopromoção. Elas atuam mantendo o coágulo sanguíneo dentro do alvéolo durante o período de cicatrização, impedindo que o tecido conjuntivo invada a região, uma vez que sua formação é mais rápida que a do tecido ósseo; criando, assim, espaço para o crescimento ósseo (ACEVEDO-ANDRADE *et al.*, 2014; BECKER *et al.*, 1992, 2009; OWENS; YUKNA, 2001; QUESADA; BRENNER; FELTRACO, 2011).

Esse conceito tem sido utilizado por mais de 40 anos e permite a neoformação celular de um tecido desejado concomitante ao impedimento do crescimento de outros tipos celulares indesejados (GALANTE, 2014; HERMANN; BUSER, 1996; MISH, 2011). Dahlin *et al.* (1988), iniciaram os primeiros estudos bilaterais, com defeitos criados em mandíbulas de ratos, demonstrando que o lado não protegido pela membrana teve pequena ou nenhuma regeneração; enquanto que o lado protegido pela membrana de teflon teve total regeneração.



As membranas podem ser classificadas em dois grandes grupos: membranas absorvíveis e não absorvíveis. As não absorvíveis são, basicamente, de PTFE (politetrafluoretileno) e e-PTFE (politetrafluoretileno expandido) e malhas de titânio. Dentre as absorvíveis existem dois grupos: os polímeros naturais com base de colágeno, derivados de diversas fontes, como as membranas de colágeno porcino; e os poliésteres sintéticos alifáticos (ROTHAMEL *et al.*, 2005). Ambos os tipos de membranas possuem grande previsibilidade nas reconstruções alveolares, periodontais e periimplantares, auxiliando na melhora do prognóstico. Entre as vantagens associadas as membranas absorvíveis estão a não necessidade de um segundo tempo cirúrgico para sua remoção, possibilidade de uso em áreas com baixa qualidade gengival e, se expostas a cavidade bucal, muitas vezes não causam intercorrências (BECKER *et al.*, 2009; BLUMENTHAL, 1993; BUSER, 2010).

O uso do colágeno como matéria prima na fabricação de membranas absorvíveis é frequente e os resultados das pesquisas vem demonstrando que a membrana de colágeno possui bom desempenho clínico na redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo (BUNYARATAVEJ; WANG, 2001; BUSER *et al.* 1995). Romeo e Chiapasco (2007) demonstrou que a membrana de colágeno tem propriedades vantajosas para ROG, principalmente no que se diz respeito a biocompatibilidade com o tecido mole, hemostasia e facilidade de uso; o que reafirma seus bons resultados.

Outra vantagem das membranas absorvíveis é ter menos complicações na linha de incisão, mesmo que necessitem de incisões maiores e, conseqüentemente, tenha procedimento mais invasivo. Além disso, estudos demonstram induzirem maior porcentagem de formação tecidual, em comparação as membranas não absorvíveis (ACEVEDO-ANDRADE *et al.*, 2014; BUSER, 2010; MISH, 2011; MILLER *et al.*, 1996). Sheikh *et al.* (2017), ao estudar o material que apresentou antigenicidade mínima com o tecido humano, entendeu ser as membranas absorvíveis é a escolha ideal, posto que apresenta maior biocompatibilidade. Entretanto, também possui características desfavoráveis como a biodegradação rápida, característica que vem sendo aprimorada com uso e desenvolvimento de diferentes tecnologias.

A rápida biodegradação da membrana de colágeno ocorre pela maior atividade enzimática de macrófagos, leucócitos polimorfonucleares e bactérias

periodontopáticas, o que resulta em uma baixa resistência da membrana ao colapso. Quanto a isso, ela pode ser associada a enxertos ósseos como apoio e preservação de sua posição original, auxiliando assim, a manutenção do volume. Acredita-se que os materiais de enxerto ósseo não só mantem o espaço, mas também atribuem benefícios osteoindutores e/ou osteocondutores. Essa associação assim parece melhorar resultados clínicos de defeitos de furca, quando comparado ao uso de membranas isoladamente (BECKER *et al.*, 2009; BUNYARATAVEJ; WANG, 2001; BUSER *et al.*, 1993; PARQUE *et al.*, 2008).

Outro ponto relevante para utilização de membranas diz respeito a formação óssea, que depende de dois requisitos: o amplo suporte sanguíneo e o suporte mecânico, já que os osteoblastos sintetizam a matriz óssea apenas nas proximidades dos vasos sanguíneos enquanto que a redução na tensão de oxigênio parece mudar a expressão genética celular para o tecido fibroso e fibrocartilagem. Em contrapartida, a formação do tecido ósseo organizado requer superfície mecânica estável (GE; FENG; WANG, 2011). Segundo Buser (2010), quanto a relação das membranas absorvíveis com a formação de volume ósseo, o maior problema associado frequentemente a ROG e ao uso dessas membranas, é novamente sua característica desfavorável: a biodegradação rápida; sendo que essa falha de suporte mecânico provoca perda do volume ósseo, gerando insucesso na recuperação da estrutura óssea perdida.

Diante disso, é preciso atentar-se ao fato de que o amplo suporte sanguíneo está relacionado a porosidade das membranas que, por sua vez, está relacionado com o tempo de biodegradação. Neste contexto, observa-se atualmente que existe uma ampla variedade de membranas absorvíveis, naturais ou de outras origens, com diferentes tamanhos de poros e, conseqüentemente, distintos tempos de reabsorção. Dentro desse universo existem as membranas de colágeno porcino, tipo I e III, mais densas e menos porosas, a exemplo da BioGide® (Geistlich) que apresenta tempo de absorção de 2 a 4 semanas sendo essa membrana uma referência no que se diz respeito ao processo de regeneração óssea guiada devido aos vários resultados positivos já encontrados na literatura. Essa membrana apresenta uma estrutura natural de colágeno, composta por dupla camada e não é reticulada, ou seja, não apresenta alterações químicas e físicas em sua estrutura, o que justifica sua alta

biocompatibilidade e baixa ocorrência de deiscência. Além de prevenir que o tecido mole migre para o interior do defeito, também é capaz de atuar como um guia para os osteoblastos, fibroblastos e vasos sanguíneos. A primeira camada é compactada, projetada para impedir a invasão de tecido mole, e a segunda camada é porosa, projetada para facilitar integração do osso recém formado.

Também podemos citar como exemplo a membrana objeto do nosso estudo a Collprotect Straumann® que é extraída da derme porcina e formada por colágeno do tipo I e III, com estrutura rugosa e porosa. Possui um tempo de degradação intermediário, espessura de 0,4 mm, facilmente moldável e adaptável a superfície óssea e mesmo que suas características tenham um caráter promissório, existem poucos estudos clínicos que comprovem sua eficácia em ROG e estudos de modelo animal semelhantes a este, o que torna esta análise relevante.

Diante de diversas análises, pode-se chegar à ideia de que para selecionar o material ideal para ROG, tanto as membranas quanto suas combinações, devem-se considerar alguns requisitos: estabilização da ferida, criação de espaço; manutenção e proteção do coágulo sanguíneo do local; e a capacidade de selecionar os tecidos desejados ou células para o espaço (BUNYARATAVEJ; WANG, 2011).

Ante o exposto ainda, este trabalho tem como objetivo avaliar e comparar por meio de estudo histológico, histomorfométrico, processo de regeneração óssea guiada (ROG) utilizando uma membrana de colágeno de derme porcina (Collprotect Straumann®) em defeitos críticos criados em calvária de ratos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal, adotados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), conforme aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOA-UNESP, de acordo com o processo nº 00382-2019.

### 2.1 Pesquisa Experimental

Para o desenvolvimento deste projeto foram utilizados um total de 72 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), machos, adultos (3 a 4 meses), com aproximadamente 200g a 300g. Os quais foram cedidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/ UNESP onde foram mantidos em gaiolas em grupos, em ambiente climatizado e alimentados com ração balanceada (NUVILAB, Curitiba PR, Brazil) contendo 1.4% Ca e 0.8% P e água “*ad Libitum*”, durante todo procedimento.

Os animais foram divididos em três grupos (n=24 por grupo), submetidos à eutanásia em quatro momentos do experimento: aos 7, 15, 30 e 60 dias após o procedimento cirúrgico no qual foi realizado um defeito ósseo crítico na calvária de cada animal (7 mm), como descrito a seguir:

- **Grupo membrana absorvíveis de colágeno de derme porcina (Collprotect® Straumann) (Grupo Experimental) (CS)** – n=24: O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de pericárdio de porco, sendo 6 ratos submetidos à eutanásia em cada período para a análise (7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia).
- **Grupo membrana de colágeno porcino (BioGide®) (Controle Positivo) (BG)**– n=24: O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de colágeno porcino sendo 6 ratos submetidos à eutanásia em cada período para a análise (7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia);

- **Grupo Coágulo (Controle Negativo) (GC) – n=24:** O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo sem o recobrimento do defeito, sendo 6 ratos submetidos à eutanásia em cada período para a análise (7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia).

## 2.2 Procedimento Cirúrgico

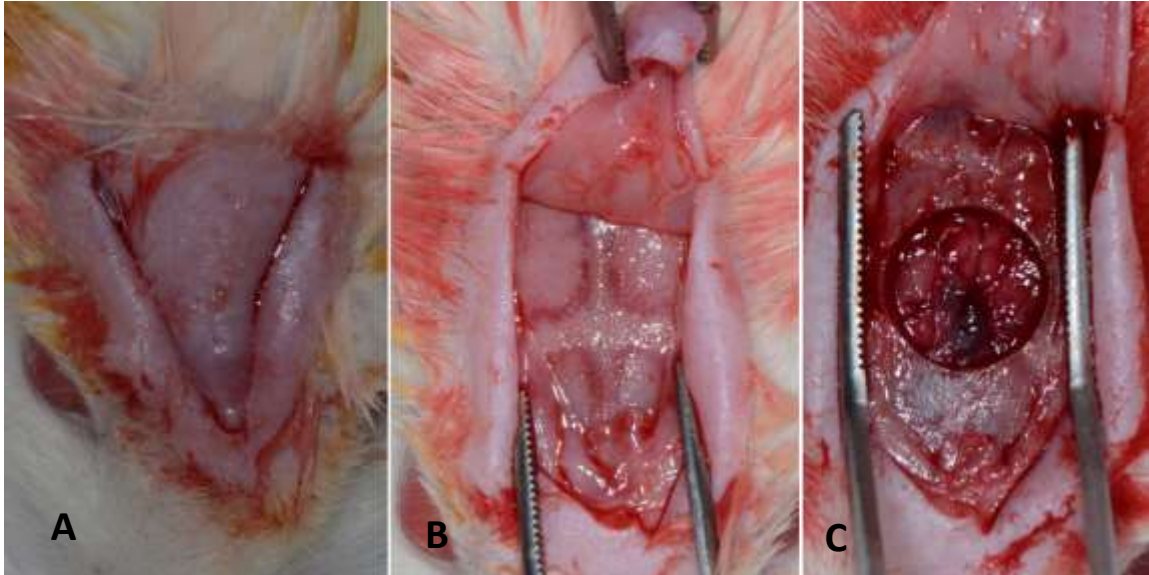
Os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de doze horas e submetidos à sedação por meio da administração via intramuscular, com Cloridrato de Ketamina (Francotar – Vibrac do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) associado à Xilazina (Rompum – Bayer AS – Saúde Animal, São Paulo, Brasil), na dosagem de 0,7ml/Kg e 0,3ml/Kg, respectivamente. Foi adotado um rigoroso protocolo asséptico, incluindo a esterilização do instrumental utilizado, delimitação da área a ser operada com campos estéreis, uso de aventais e luvas cirúrgicas estéreis. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados na sala cirúrgica do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Em seguida foi realizada a tricotomia na região da calvária, antissepsia com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto), associado ao PVPI tópico (PVPI 10%, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto) e aposição de campos estéreis.

Foi realizada incisão em formato de V no sentido occipito-frontal de aproximadamente 2 (dois) cm, com lâmina nº 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão) montada em cabo de bisturi nº 3 (Hu-Friedy, Alemanha) e o descolamento total do retalho com descolador tipo Molt (Hu-Friedy, Alemanha) . Em seguida, com auxílio de broca trefina de 7mm de diâmetro interno (3i Implant innovations, Inc., Palm Beach Gardens, EUA) acoplada em baixa-rotação sob irrigação abundante com solução de cloreto de sódio 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil), foi confeccionado um defeito cirúrgico crítico de 7 mm de diâmetro interno, na porção central da calvária envolvendo a sutura sagital, mantendo-se a integridade da dura-máter (figura 1). De acordo com os tratamentos propostos os defeitos foram preenchidos somente com coágulo sanguíneo e os demais grupos preenchidos com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de colágeno de porcino (Grupo Bio-Guide® – n=24), e com

uma membrana de derme de porco grupo experimental 1 (Grupo Collprotect-  
Straumann® - n=24) (figura 2).

**FIGURA 1 –** Incisão linear em “V” de 2 cm (A); Exposição calvária após divulsão dos tecidos moles (B); Defeito crítico de 8 mm de diâmetro, envolvendo a sutura sagital (C).

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)



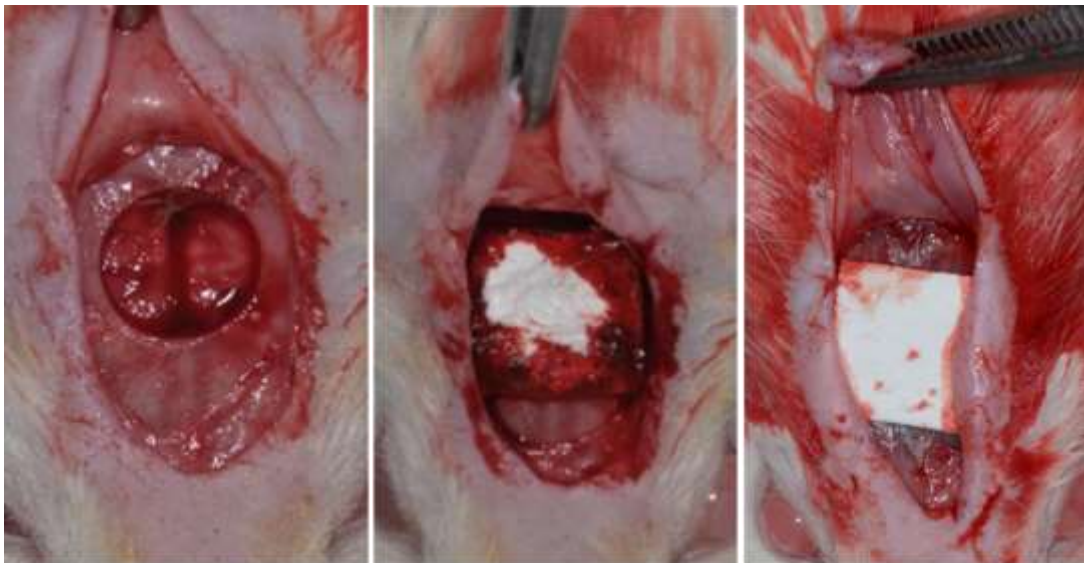
**FIGURA 2 –** Exposição da calvária (A); Inserção membrana de colágeno sobre o defeito (BioGide® Geistlich) (B); Inserção membrana de colágeno sobre o defeito (CollProtect® Straumann)

A

B

C

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)



Finalizando o procedimento, os tecidos moles foram cuidadosamente reposicionados e suturados em planos, empregando-se fio reabsorvível (ácido polilático – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brasil) no plano profundo e fio monofilamentar (Nylon 5.0, Mononylon, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos no plano mais externo (figura 3).

**FIGURA 3 – Sutura interrompida simples com Nylon 5.0.**



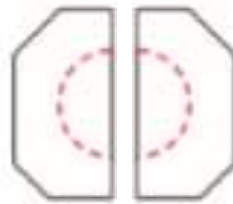
Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

No pós-operatório imediato cada animal recebeu dose única intramuscular de 0,2 ml de Penicilina G-benzatina (Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, SP). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante todo o experimento com ração e água *ad libitum*.

Os animais foram submetidos à eutanásia nos períodos de 7, 15, 30 e 60 dias pós-operatórios por meio de dose excessiva de anestésico. As calvárias dos ratos, obtidas nos períodos de eutanásia de 7, 15, 30 e 60 dias, foram removidas e fixadas em solução de formaldeído 10% durante 48 horas, lavadas em água corrente por 24 horas, descalcificadas em EDTA 20% por 6 semanas, desidratadas em sequência de álcoois e diafanizadas. Posteriormente, as calvárias foram cortadas ao meio no sentido longitudinal, separando o defeito ósseo (figura 4). As peças obtidas foram

incluídas em parafina, receberam cortes semiseriados de 6  $\mu\text{m}$  de espessura. De cada peça foi obtidas 6 lâminas, que foram destinados a coloração em hematoxilina e eosina (H/E), com elas foram realizadas as análises histológicas e histométrica (figura 5).

**FIGURA 4 – Corte longitudinal obedecendo a margem de segurança ao redor de todo o defeito, separando-o. Obs: Defeito ósseo em duas partes iguais para a inclusão em parafina no mesmo bloc.**



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**FIGURA 5 – Corte representativo de 6  $\mu\text{m}$  de cada bloco de parafina, já montados em lâminas para análise**



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

### 2.3 Análise Histológica/Histométrica

Previamente a realização da análise histométrica, as amostras foram codificadas de maneira que somente o orientador teve conhecimento quais grupos pertencem. Um único examinador realizou as análises e o mesmo desconheceu o respectivo grupo da secção.

Após as lâminas serem coradas com HE (Merck & Co., Inc.) as mensurações foram realizadas utilizando um microscópio óptico (LeicaR DMLB, Heerbrugg, Switzerland) acoplado a uma câmera de captação de imagem (LeicaR DC 300F microsystems ltd, Heerbrugg, Switzerland) e conectado a um microcomputador Pentium III com um software analisador de imagens digitalizadas ImageLab 2000 (Software de Processamento e Análise de Imagens, Ontario, Canada). As imagens



digitalizadas foram gravadas em arquivos JPEG para serem posteriormente analisadas e foram projetadas na tela de um monitor Samsung (SyncMaster 3Ne, 15 polegadas).

### **2.3.1 Perfil Inflamatório**

Para a contagem de células inflamatórias, com ênfase nos linfócitos, e vasos sanguíneos, uma lâmina de cada animal por tempo experimental foi escolhida e dois cortes fotografados em um microscópio de luz (DM 4000B, Leica), um processador de imagens coloridas (software Leica Qwin V3, Leica) uma câmera colorida (DFC 500, Leica) e um computador (Intel Core I5, intel Corp, Santa Clara, CA; Windows 10, Microsoft Corp, Redmond, WA), sendo a primeira imagem feita no centro do defeito, seguida de uma a direita e outra à esquerda, totalizando, 36 imagens por tempo experimental por grupo. Em uma magnificação de 100x, no programa ImageJ, uma grade com 130 pontos foi determinada e cada célula ou conjunto de vasos que tocavam as intersecções dos pontos foram contadas.

Todos os testes foram realizados no programa estatístico Sigma Plot 12.0 (Exakt Graphs and Data Analysis, San Jose, CA, USA). Inicialmente os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk), o qual não identificou se tratar de dados homogêneos ( $p < 0,05$ ) para vasos sanguíneos e identificou se tratar de dados homogêneos para células ( $p = 0,113$ ). O teste ANOVA 2 fatores foi aplicado para as interações. A maioria das interações mostraram alterações significantes estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, para a identificação precisa das alterações estatísticas, o pós-teste Tukey foi aplicado para as duas análises, em que para todos os testes, o nível de significância de 5 % foi considerado.

### **2.3.2 Área de osso neoformado**

Foi avaliada a área de tecido ósseo presente na região dos defeitos ósseos. Os dados obtidos nas análises foram transformados em valores absolutos, de pixels, para

valores percentuais relativos, de modo a minimizar a interferência da diferença do tamanho do negativo.

Todos os testes foram realizados no programa estatístico Sigma Plot 12.0 (Exakt Graphs and Data Analysis, San Jose, CA, USA). Inicialmente os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk), o qual não identificou se tratar de dados homogêneos ( $p < 0,05$ ). Mesmo assim, o teste ANOVA 2 fatores foi aplicado para as interações “membranas versus períodos”. A maioria das interações mostraram alterações significantes estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, para a identificação precisa das alterações estatísticas, o pós-teste Holm-Sidak foi aplicado, em que para todos os testes, o nível de significância de 5 % foi considerado.

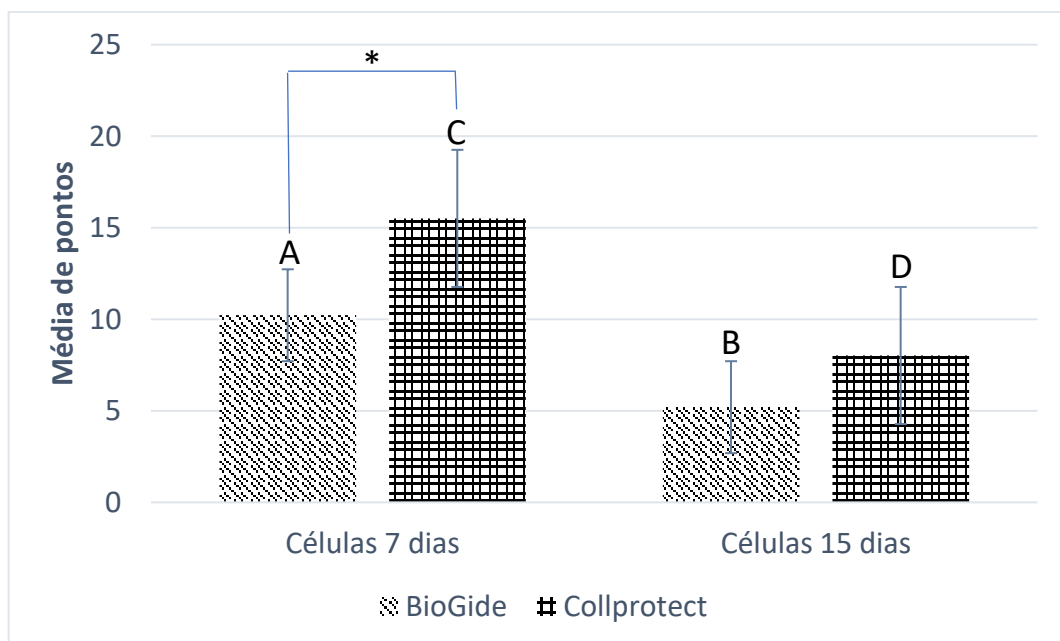
## 3 RESULTADOS

### 3.1 Análise Histométrica

#### 3.1.1 Perfil Inflamatório

A partir dos dados obtidos durante os períodos de análise do comportamento biológico da membrana, na contagem de células inflamatórias, notou-se uma diferença estatística entre os grupos CS e BG ( $p=0,014$ ). A quantidade de células inflamatórias contadas durante a análise tinha maior incidência no grupo CS em todos os períodos. Na comparação intergrupos, aos 7 dias, houve uma maior quantidade no número de células inflamatórias no grupo CS em relação ao BG ( $p=0,023$ ), assim como aos 15 dias, porém sem diferença estatística ( $p=0,182$ ) (Gráfico 1 e Tabela 1). Na comparação intragrupos, a incidência das células diminuiu como o esperado, e apresentaram diferença estatística entre os dois tempos experimentais, BG ( $p=0,038$ ) e CS ( $p=0,001$ ) (figura 6).

**GRÁFICO 1 - Gráfico comparativo entre as médias dos números de células inflamatórias entre os grupos BG E CS nos tempos experimentais de 7 e 15 dias. O caractere \* demonstra diferença estatística intergrupos e as letras maiúsculas as diferenças intragrupos**



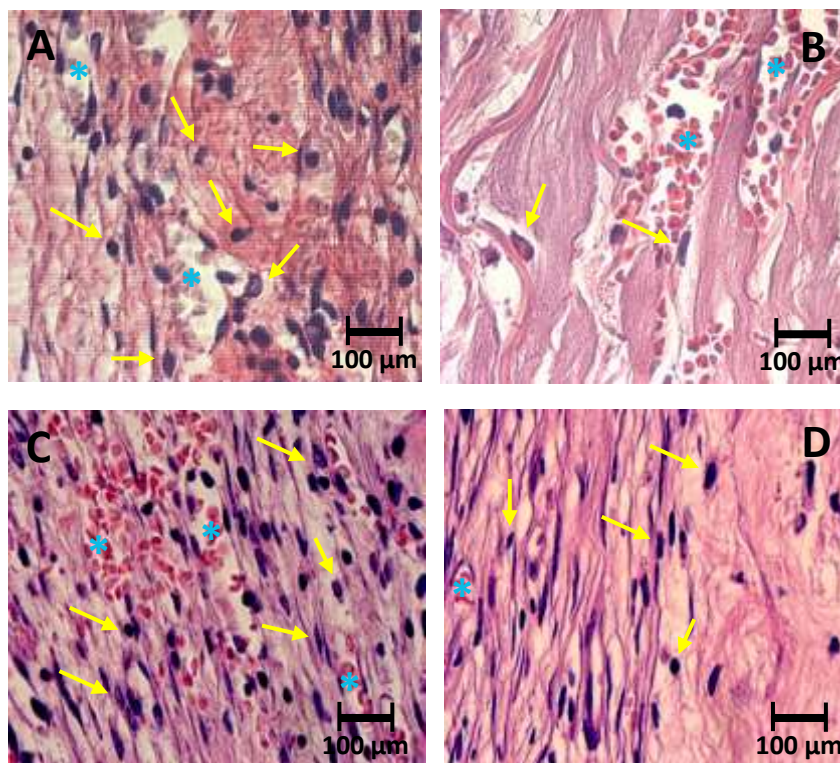
Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**TABELA 1 - Tabela demonstrando as médias da contagem de células inflamatórias para cada grupo (CS e BG). Valores de P para comparação intergrupos**

MEMBRANAS	CÉLULAS	
	7 dias	15 dias
CS	15,51	8,02
BG	10,22	5,2
	P= 0,023	P=0,182

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**FIGURA 6 - Imagens representativas em uma magnificação de 100x do grupo BG (controle positivo) e CS (teste) para os tempos de 7 e 15 dias: A e B; C e D respectivamente. As setas amarelas indicam as células inflamatórias e os \* azuis os vasos sanguíneos**

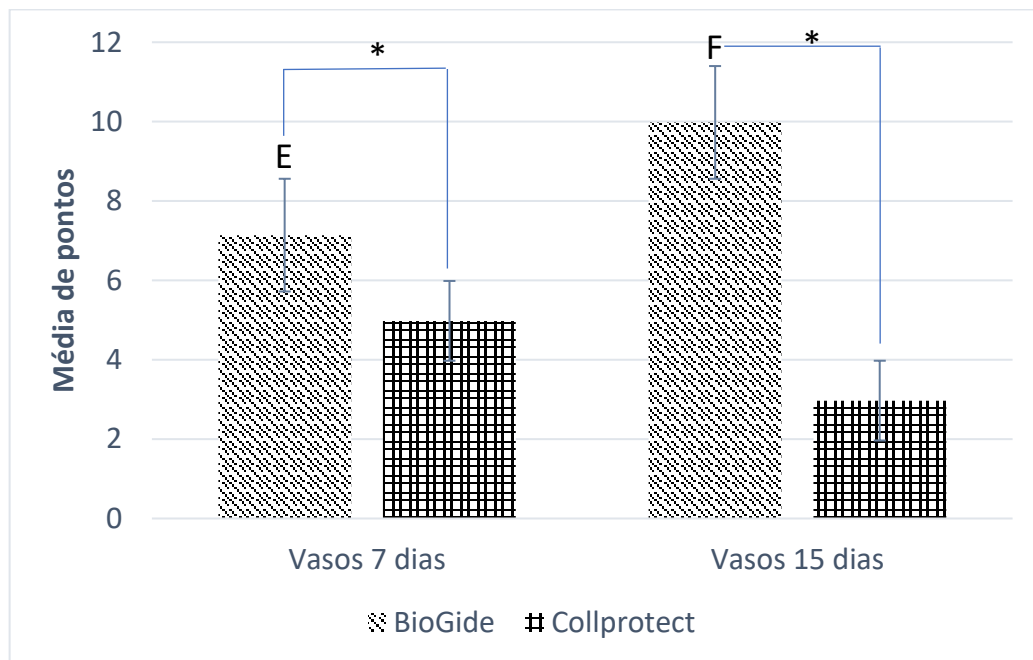


Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

Em relação a contagem dos vasos sanguíneos, as membranas novamente apresentaram diferença estatística entre si nos dois tempos experimentais ( $p < 0,001$ ). No período de 7 dias houve uma menor formação de vasos sanguíneos para o grupo CS ( $p = 0,047$ ) e, ao contrário do grupo BG que aos 15 dias aumentou sua proliferação

vascular, o grupo CS apresentou uma queda na angiogênese, sugerindo que o processo inflamatório ainda estava acontecendo no grupo CS em relação ao BG ( $p < 0,001$ ) (gráfico 2 e tabela 2). Na comparação intragrupos, observamos diferença estatística apenas no grupo BG entre os tempos experimentais ( $p = 0,012$ ) (figura 6).

**GRÁFICO 2 - Gráfico comparativo entre as médias dos números de vasos sanguíneos entre os grupos analisados nos tempos experimentais de 7 e 15 dias. O caractere \* demonstra diferença estatística intergrupos e as letras maiúsculas as diferenças intragrupos**



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**TABELA 2 - Tabela demonstrando as médias da contagem de vasos sanguíneos para cada grupo (CS e BG). Valores de P para comparação intergrupos**

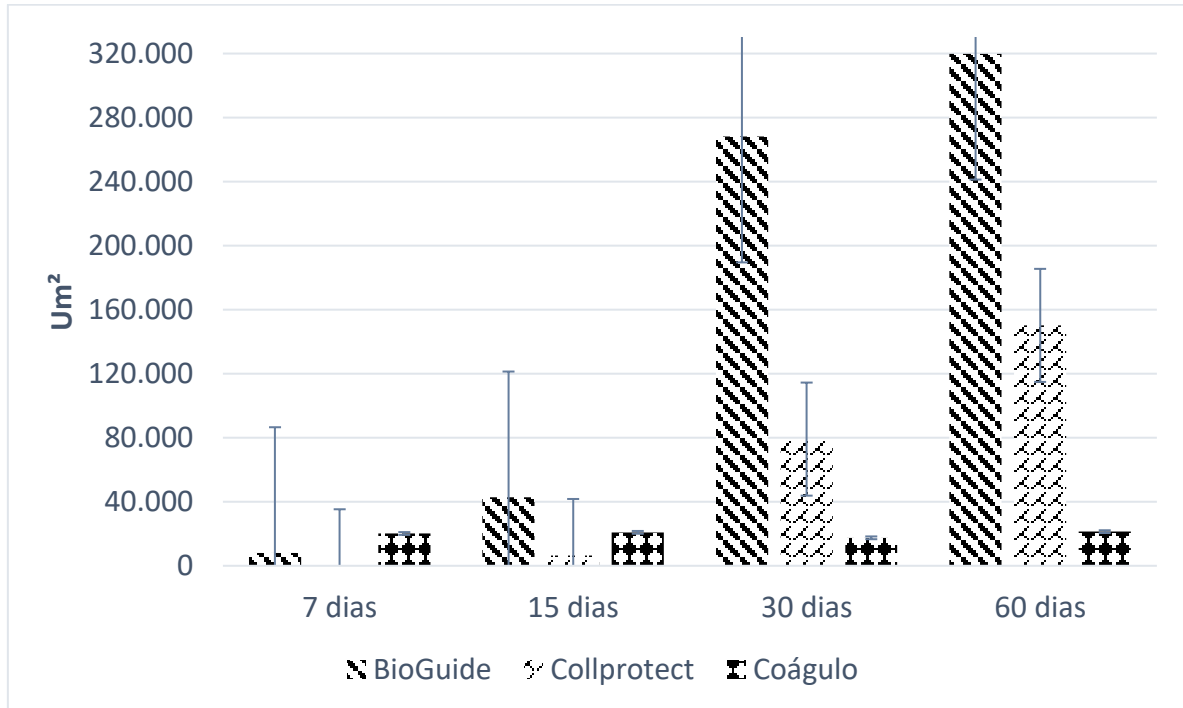
MEMBRANAS	VASOS	
	7 dias	15 dias
CS	4,98	2,97
BG	7,14	9,98
	P=0,047	P<0,001

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

### 3.1.2 Área de osso neoformado

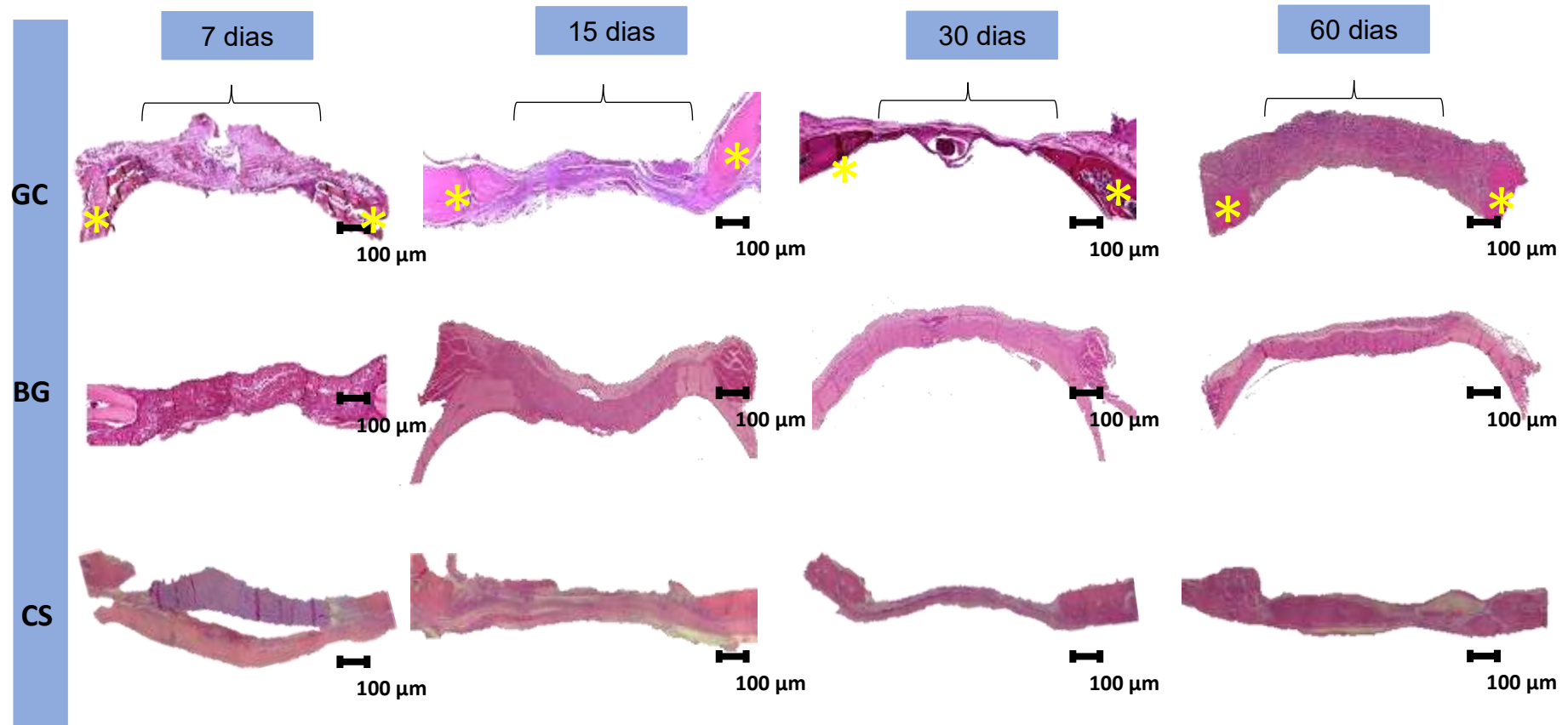
Na análise de área de osso neoformado, nos resultados obtidos em cada tempo (gráfico 3), podemos observar que a quantidade de osso neoformado no grupo teste foi inferior ao grupo controle positivo em todos os períodos experimentais (Figura 7).

**GRÁFICO 3 - Gráfico comparativo entre as médias de osso neoformado para cada grupo analisados nos tempos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias.**



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**FIGURA 7 –** Reconstrução panorâmica dos cortes histológicos dos grupos GC, BG e CS para todos os tempos experimentais em uma magnificação de 6.3x. Os \* amarelos indicam os cotos ósseos e a região do defeito está enquadrada na área dos colchetes



Fonte: Elaborado pelo Autor (2020).

Aos 7 dias os grupos CS e BG obtiveram uma área de neoformação óssea inferior à do grupo GC, porém sem diferença estatística (GC>BG>CS).

Aos 15 dias, o grupo BG teve um aumento importante na quantidade de osso neoformado visto que o grupo CS e CG quase não apresentaram diferença ao comparar com o período de 7 dias, porém, nenhum grupo apresentou diferença estatística. (BG>GC>CS).

Aos 30 dias, o grupo BG teve uma maior área de neoformação óssea comparada aos 7 e 15 dias ( $p<0,001$ ) na análise intragrupos (tabela 3) e na análise intergrupos (tabela 4), apresentando diferença estatística para os outros grupos CS e GC ( $p<0,001$ ); (BG>CS>GC). O grupo CS obteve uma neoformação óssea maior análise intragrupos em comparação aos 7 e 15 dias, entretanto sem diferença estatística.

**TABELA 3 - Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os tempos do grupo BG**

COMPARAÇÃO	P
60D VS 7D	<0,001
30D VS 7D	<0,001
60D VS 15D	<0,001
30D VS 15D	<0,001

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**TABELA 4 - Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os grupos aos 30 dias**

COMPARAÇÃO	P
BG VS GC	<0,001
BG VS CS	<0,001

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)



Aos 60 dias, na análise intragrupos, o grupo BG teve uma neoformação óssea maior comparado aos 7 e 15 dias ( $p < 0,001$ ) (tabela 3); assim como comparado aos 30 dias, porém sem diferença estatística. No grupo CS observou-se uma neoformação maior no último período com diferença estatística quando comparado aos 7 e 15 dias ( $p = 0,004$ ) (tabela 5). Na análise intergrupos, observou-se uma diferença estatística entre os três grupos; BG e GC ( $p < 0,001$ ), BG e CS ( $p < 0,001$ ), CS e GC ( $p = 0,003$ ) (tabela 6).

**TABELA 5 - Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os tempos do grupo CS**

<b>COMPARAÇÃO</b>	<b>P</b>
60D VS 7D	0,004
60D VS 15D	0,004

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

**TABELA 6 - Tabela demonstrando as diferenças estatísticas entre os grupos aos 60 dias**

<b>COMPARAÇÃO</b>	<b>P</b>
BG VS GC	<0,001
BG VS CS	<0,001
CS VS GC	0,003

Fonte: Elaborado pelo Autor (2020)

## 4 DISCUSSÃO

O princípio de osteopromoção tem sido amplamente utilizado em casos com necessidade aumento de volume e altura óssea em geral associado a terapia com implantes. A técnica de ROG utiliza esse princípio e consiste no uso de membranas como barreira física para que as células do tecido se recomponham na região sem interferência de outras células, como as do tecido conjuntivo (BECKER *et al.*, 2009; PIRES, 2015; QUESADA; BRENNER; FELTRACO, 2011).

Membranas absorvíveis são biomaterias em que o processo de absorção e degradação ocorre por meio da hidrólise e degradação enzimática com eliminação total dos produtos sem efeitos residuais locais (DOTTO, 2012; PIRES, 2015). Os materiais usados como barreira devem ter algumas características essenciais que incluem: a biocompatibilidade, criação e manutenção de um espaço, impedir que células indesejáveis migrem para esse espaço, interação com o tecido evitando o encapsulamento do material, e capacidade de gerenciamento clínico (DOTTO, 2012; QUESADA; BRENNER; FELTRACO, 2011). Neste de contexto enquadram-se as membranas de colágeno que apresentam características próprias provenientes do colágeno; que incluem maleabilidade, função hemostática, semipermeabilidade, quimiotaxia por fibroblastos, rigidez, solidez e estabilidade, tendo sua eficiência comprovada como barreira em vários estudos clínicos e laboratoriais (BUNYARATAVEJ; WANG, 2001; OH *et al.*, 2003; QUESADA; BRENNER; FELTRACO, 2011).

A BioGide Geistlich<sup>®</sup> é o exemplo de membrana de colágeno com ótima formação óssea e excelente cicatrização tem-se a composta de colágeno suíno tipo I e III, não reticulada e em estrutura com dupla camada natural: uma camada lisa superior utilizada como base para formação de fibroblastos, favorecendo a cicatrização da ferida e atuando como barreira; e uma camada porosa que age como guia para osteoblastos. Essas características puderam ser observadas neste estudo, onde tanto o perfil inflamatório quanto a mensuração de tecido ósseo foram superiores quando comparados ao grupo teste. A baixa presença de célula inflamatórias está relacionada a uma alta biocompatibilidade e, conseqüentemente, menor ocorrência de deiscência, ambos devido ao não processo de reticulação. Além disso, a mesma

possui uma permeabilidade que permite um guia para os vasos sanguíneos, fato esse também observado neste trabalho. Esses fatores provavelmente atuam na estabilidade necessária tanto para a cicatrização óssea quanto para a cicatrização do tecido mole.

A membrana objeto deste trabalho, a Collprotect Straumann® é uma membrana de colágeno da derme suína, também composta por colágeno do tipo I e III, também não reticulada indicada quando estabilidade intermediária e fácil manuseio são necessários (STRAUMANN, 2020). Contudo, nesse estudo, analisando o perfil inflamatório do grupo CS comparada ao grupo BG, pode-se observar diferenças importantes. Aos 7 dias, houve uma maior quantidade de células inflamatórias no grupo CS associada a diferença estatística e o mesmo ocorreu aos 15 dias e, mesmo que não tenha sido observada diferença estatística nesse período e tenha ocorrido uma diminuição das células na comparação intragrupos, os resultados indicam uma menor biocompatibilidade da membrana, necessária para obter-se sucesso clínico da regeneração. Dupoirieux *et al.* (2001) indica que a reação inflamatória poderia ter sido induzida pelo processo de absorção da membrana; porém Ge, Feng e Wang (2011) observou melhor regeneração óssea utilizando a membrana do grupo BG, a qual também passa pelo processo de absorção e apresenta excelentes resultados clínicos.

De forma semelhante, ocorreu quando os vasos foram analisados: aos 7 e 15 dias foi observado uma menor formação de vasos no grupo CS comparado ao BG e, na análise intragrupos, o grupo BG apresentou um aumento na angiogênese enquanto que o grupo CS apresentou uma diminuição. Indicando uma menor biocompatibilidade e baixa angiogênese, características que são essenciais para efetividade de ROG (ROMEO; CHIAPASCO, 2007; SHEIKH *et al.*, 2017).

Quanto a capacidade de neoformação óssea, foi possível observar uma diferença estatística apenas aos 30 dias, onde o grupo BG se sobressaiu comparado aos primeiros períodos ( $p < 0,001$ ) e aos outros grupos. Enquanto que o grupo CS apenas obteve uma diferença estatística quando comparado ao grupo GC aos 60 dias ( $p = 0,003$ ), o que mostra sua menor efetividade comparado ao grupo BG. Por fim, ainda aos 60 dias, foi observado uma diferença estatística do grupo CS em relação aos primeiros períodos ( $p = 0,004$ ), porém o defeito ósseo não foi fechado; diferentemente do que ocorreu no grupo BG. Esse baixo índice de neoformação óssea

pode estar associado há alguns fatores: um processo inflamatório intenso nos períodos iniciais, o que atrasa o processo de reparo e a menor angiogênese o que, por sua vez, diminui a quantidade de osteoblastos para promover a neoformação óssea. Também pode ser observado que houve uma ineficiência da membrana em realizar a manutenção do espaço biológico, um dos requisitos estritamente importante para a ROG (BUNYARATAVEJ; WANG, 2001). Além disso, é possível que a rápida biodegradação da membrana não tenha permitido o fechamento do defeito, algo que já foi descrito por Buser (2010) como uma das principais desvantagens das membranas de colágeno. Aos 30 dias essa membrana já não mais possuía papel de barreira, pois estava já fragmentada e com um processo de reparo atrasado; seria fundamental que ela tivesse se mantido integrada ainda aos 30 dias para poder recuperar o processo de neoformação óssea.

Embora ela tenha tido ao final um tecido ósseo neoformado superior quando comparado ao grupo coágulo, seu desempenho demonstrou ser inferior a líder de mercado. Desta forma, acreditamos que para melhor compreensão dos resultados encontrados neste trabalho são necessárias novas pesquisas associando a membrana CollProtect Straumann® a biomateriais osteoindutores e/ou osteocondutores, que potencializem a manutenção do espaço biológico e evitem o colapso da membrana.

## REFERÊNCIAS

ACEVEDO-ANDRADE, R. *et al.* Bases clínicas e biológicas da regeneração óssea guiada (ROG) associada a barreiras ou membranas. **Rev. Bras. Implantodont. Prótese Implant.**, v. 43, n. 11, p. 251-257, 2014.

ANTOUN, H. *et al.* A prospective randomized study comparing two techniques of bone augmentation: onlay graft alone or associated with a membrane. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 12, n. 6, p. 632-639, 2008.

BECKER, J. *et al.* Use of a new cross-linked collagen membrane for the treatment of dehiscence-type defects at titanium implants: a prospective, randomized-controlled double-blinded clinical multicenter study. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 20, n. 7, p. 742-749, 2009.

BECKER, W. *et al.* A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. **J. Periodontol.**, v. 63, n. 11, p.929-940, 1992.

BLUMENTHAL, N. M. A clinical comparison of collagen membranes with ePTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 10, p. 925-933, 1993.

BUNYARATAVEJ, P.; WANG, H. L. Collagen membranes: a review. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 2, p. 215-229, 2001.

BUSER, D. **20 years of guided bone regeneration in implant dentistry.** 2. ed. Chicago: Quintessence, 2010.

BUSER, D. *et al.* Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedures in the maxilla. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v. 13, n. 1, p. 19-45, 1993.

BUSER, D. *et al.* Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 2. Surgical procedures in the mandible. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v. 15, n. 1, p. 10-29, 1995.

CORTELLINI, P.; PINIPRATO, G., TONETTI, M. S. Periodonto regeneration of human infrabony defects. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 4, p. 254-268, 1993.

DAHLIN, C. *et al.* Healing of bone defects guided tissue regeneration. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 81, n. 5, p. 672-676, 1988.

DOTTO, M. I. F. **Uso de membranas em regeneração óssea guiada.** 2012. 54 f. Monografia (Especialização em Periodontia) – Escola de Aperfeiçoamento Profissional da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas, São José dos Campos, 2012.

DUPOIRIEUX, L. *et al.* Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 30, n. 1, p. 58-62, 2001.

GALANTE, J. M. Predictable BGR procedures in sites with high esthetic compromise. **Int. Dent.**, v. 4, n. 6, p. 42-45, 2014.

GE, Y.; FENG, H.; WANG, L. Application of a novel membrane in the treatment of calvarial defect in rats. **J. Biomater. Sci. Polymer Ed.**, v. 22, n. 18, p. 2417-2429, 2011.

HERMANN, J. S.; BUSER, D. Guided bone regeneration for dental implants. **Curr. Opin. Periodontol.**, v. 3, p. 168–177, 1996.

IMBRONITO, A. V.; ARANA CHAVEZ, V. E.; TODESCAN, J. H. Regeneração óssea guiada- Revisão de Literatura. **Periodontia Rev.**, v. 10, n. 2, p. 45-50, 2001.

LEKOVIC, V. *et al.* Preservation of alveolar bone in extracion sockets using bioabsorbable membranes. **J. Periodontol.**, v. 69, n. 9, p. 1044-1049, 1998.

MILLER, N. *et al.* Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. **J. Clin. Periodontol.**, v. 23, n.12, p. 1051-1059, 1996.

MISH, C. **Implantes dentais contemporâneos.** 3. ed. Rio de Janeiro: Elseiver, 2011.

OH, T. J. *et al.* Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 14, n. 1, p. 80-90, 2003.

OWENS, K. W.; YUKNA, R. A. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. **Implant Dent.**, v. 10, n. 1, p. 49-56, 2001.

PARQUE, J. W. *et al.* Evaluation of bone healing with eggshell-derived bone graft substitutes in rat calvaria: a pilot study. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 87, n. 1, p. 203-214, 2008.

PIRES, D. O. **Uso de membrana reabsorvível de cortical bovina em defeitos críticos em calvária de ratos.** 2015. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2015.

QUESADA, A. G. T.; BRENNER, F. B.; FELTRACO, L. T. Análise das membranas de colágeno bovino, comparativamente às membranas de politetrafluoretileno expandido, como barreira de proteção em regenerações ósseas guiadas para posterior colocação de implantes e no tratamento de periimplantes com e sem o uso de enxertos bovinos. **Rev. Dent. On Line**, v. 10, n. 20, p. 29-38, 2011.

ROMEO, E.; CHIAPASCO, M. **Reabilitação oral com prótese implantossuportada para casos complexos.** São Paulo: Ed. Santos, 2007.

ROTHAMEL, D. *et al.* Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 16, n. 3, p. 369-378, 2005.

SHEIKH, Z. *et al.* Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. **Biomater. Res.**, v. 21, n. 1, p. 9, 2017.

STRAUMANN. **Membranas: soluções atraentes com membranas.** 2020. Disponível em: <https://www.straumann.com/br/pt/profissionais-de-odontologia/produtos-e-solucoes/biomateriais/membranas.html>. Acesso em: 12 mar. 2020.





## ANEXO

### ANEXO – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

CAMPUS ARAÇATUBA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals



#### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **“Potencial de regeneração óssea guiada das membranas de colágeno porcino (Jason Collprotect Straumann). Estudo histológico, histomorfométrico, imunoistoquímico e micro TC em defeitos ósseos de calvária de ratos”**, Processo FOA nº 00382-2019, sob responsabilidade de Ana Paula Farnezi Bassi apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 25 de Junho de 2019.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 03 de Maio de 2021.

**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 03 de Junho de 2021.

#### CERTIFICATE

We certify that the study entitled **“Potential for guided bone regeneration of porcine colagem membranes (Jason e Collprotect Straumann). Histological, histomorphometric, immunohistochemical and micro TC study in bone defects of rat calvaria”**, Protocol FOA nº 00382-2019, under the supervision of Ana Paula Farnezi Bassi presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on June 25, 2019.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** May 03, 2021.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** June 03, 2021.



**Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba  
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP  
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br


Digitalizada com CamScanner