

Luciana Liarte Gasparini Ribeiro

Avaliação histológica do  
comportamento da matriz  
dérmica acelular e do  
vidro bioativo no processo  
de reparo de cavidade  
cirúrgica em tibia de rato

Luciana Liarte Gasparini Ribeiro

Avaliação histológica do  
comportamento da matriz  
dérmica acelular e do vidro  
bioativo no processo de  
reparo de cavidade  
cirúrgica em tibia de rato

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Araçatuba para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de Concentração: Periodontia).

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Francisco Bosco

Araçatuba  
2003

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

R484a      Ribeiro, Luciana Liarte Gasparini  
Avaliação histológica do comportamento da matriz dérmica  
acelular e do vidro bioativo no processo de reparo de cavida-  
de cirúrgica em tíbia de rato./ Luciana Liarte Gasparini Ribeiro.  
-- Araçatuba : [s.n.], 2003  
137 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2003  
Orientador: Prof. Dr. Alvaro Francisco Bosco.

1. Regeneração óssea. 2. Substitutos ósseos. 3. Matriz dérmica  
acelular.

Black D7  
CDD 617.601

**D a d o s   c u r r i c u l a r e s**

Luciana Liarte Gasparini Ribeiro

Nascimento: 01.06.1976 – Araçatuba/SP

Filiação: João Gasparini Sobrinho  
Lucila Liarte Gasparini

1995/1998: Curso de Graduação  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

1999/2000: Curso de Especialização em Dentística Restauradora  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

2000: Estágio no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia,  
Disciplina de Periodontia, na Faculdade de  
Odontologia de Araçatuba – UNESP.

1999/2001: Curso de Especialização em Periodontia Faculdade  
de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

2001/2003 : Curso de Pós-Graduação em Periodontia Faculdade  
de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

dedicatoria

## D e d i c a t ó r i a

À minha família,  
Marcelo e Eduarda,  
Pelo amor imensurável e pelo carinho insubstituível  
que me dedicam a cada dia.  
Obrigada por caminharem ao meu lado!

Aos meus pais, João e Lucila,  
Que me deram a vida, me ensinaram qual caminho seguir e  
nunca deixaram de me apoiar... Obrigada por me amarem  
tanto!

Ao meu irmão, João Luiz,  
Sempre em meu coração.  
Obrigada por seu amor e por sua amizade!

agradecimientos  
especiais

agradecimentos especiais

## **A g r a d e c i m e n t o s   E s p e c i a i s**

### **Dr. Alvaro Francisco Bosco**

Não apenas pela orientação deste trabalho, mas, principalmente, por sua amizade e pelo exemplo de dedicação à docência e ética profissional.

### **Ao Prof. Dr. Tetuo Okamoto**

Por sua colaboração essencial a este trabalho, e por seus ensinamentos transmitidos com a sabedoria e simplicidade de um grande mestre.

agradecimentos especiais

A Deus ,

Por todas as graças concedidas,  
por saber que posso Te encontrar em  
todos os momentos de minha vida...  
Os felizes e os tristes, os de esperanças e  
os de angústias, os de certezas e os de  
dúvidas... Por me fazer sentir uma filha  
amada.

Pai, Vos ofereço minha infinita gratidão e  
o desejo de que, um dia, minha vida e  
minhas obras glorifiquem Vosso nome.

Cada pessoa que passa em nossa vida,  
passa sozinha  
pois cada pessoa é única para nós  
e, nenhuma substitui a outra.

Cada pessoa que passa em nossa vida,  
passa sozinha  
mas não se vai só, nem nos deixa só  
leva um pouco de nós e deixa um pouco  
de si mesma.

Há as que deixam muito,  
mas não há as que deixam nada

Há as que levam muito  
mas não há as que levam nada

Essa é a mais bela responsabilidade  
de nossas vidas  
e a prova tremenda de que as almas  
não se aproximam ao acaso.

Chaplin

agradecimentos

## **A g r a d e c i m e n t o s**

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba- UNESP,

Nas pessoas do seu Diretor Prof. Dr. Francisco Antônio Bertoz e Vice-Diretor Prof. Dr. Éder Ricardo Biazolla,  
Por proporcionar a realização desta pesquisa.

Ao Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, especialmente aos professores da Disciplina de Periodontia, Dr. Alvaro Francisco Bosco, Dra. Maria José Hitomi Nagata, Dr. Valdir Gouveia Garcia e Dr. Glauco Issamu Miahara,

Pelos ensinamentos, respeito e confiança durante toda nossa convivência.

À Prof. Silvia Helena Venturoli Perri,

Pela análise estatística e por sua disponibilidade em todos os momentos em que precisei.

À Prof. Dra. Leda Maria Pescinini Salzedas,

Pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, por seu carinho e dedicação em todos os momentos de convívio.

## agradecimentos

Ao Prof. Dr. Mário Jefferson Quirino Louzada,

Pela orientação de trabalhos e, principalmente, pela amizade.

Aos Professores Dr. Wilson Roberto Poi e Dra.Sônia Panzarini,

Pela colaboração com a análise histométrica deste trabalho e pelo carinho com que sempre me acolheram.

Ao Prof. Dr. Michel Saad Neto,

Por todos seus ensinamentos e lições de vida e pelo grande exemplo de dedicação à docência.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, na área de Periodontia,

Por dividirem seus conhecimentos, colaborando com nosso aprendizado.

*Aos amigos do Mestrado em Periodontia: Joseane Maria Dias Bosco, Luís Gustavo Nascimento Melo, Ary Locci Junior, Angélica Marquezim Lopes, Cristiane Mota Leite e José Carlos Monterio de **Castro**, Pelo exemplo de companheirismo, pela amizade valiosa e por juntos vencermos esta etapa.*

Aos colegas de Pós- Graduação em Cirurgia, Ortodontia, Odontopediatria,

Pela convivência agradável e troca de experiências.

## agradecimentos

À amiga Ana Elisa de Mello Vieira,

Pela grande amizade e por dividirmos conquistas, frustrações e enfim, nossas vitórias.

À amiga Camila Borges Fagundes,

por seu auxílio à formatação desta tese e, principalmente, por me presentear com uma amizade tão preciosa.

À tia Ide,

Por cuidar não apenas da Eduarda, mas de mim também. Obrigada pelo carinho sempre presente.

Às queridas Cida, Maria Helena e Leide,

Pela amizade e por oferecerem tanto carinho à minha filha.

Ào Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, aos técnicos de laboratório: Antônia Artioli, Claudiomiro Pereira, Bernadete Maria Nunes Kimura, Gilmar Martins de Oliveira e Maria Dirce Colli Boato,  
Pelo auxílio prestado e pela ótima convivência.

## agradecimentos

À todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Alexandra Bento, Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudio Hideo Matsumoto, Helena Sumika Sanomiya Otsuki, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez, Marina Alves dos Santos,  
Pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam e pela revisão bibliográfica.

Às funcionárias da sessão de Pós-Graduação, Marina Midori Sakamoto Hawagoe e Adélia Barreto Claro da Silva,

*Por todas as vezes que me receberam com sorrisos e pelo excelente profissionalismo.*

Àos técnicos e funcionários do Biotério Central da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba: Camilo Roberto Venâncio, Odair Vicente e Romildo Bandeira Santos,  
Por sua valiosa ajuda e pelo carinho com que sempre fui recebida.

À todos os funcionários de todos os setores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP,  
Por proporcionarem o conforto e o bom funcionamento desta instituição.

## agradecimentos

Aos pacientes,

Que nos depositando confiança, deram-nos a oportunidade de aprender e a satisfação de tratá-los no decorrer deste curso.

Aos animais,

Por servir à humanidade com suas vidas.

A todas as pessoas que contribuíram com a minha caminhada até aqui.

# epígrafe

epígrafe

**“R**ecebei a instrução e não o dinheiro.  
Preferi a ciência ao fino ouro, pois a  
sabedoria vale mais do que as pérolas e  
jóia alguma a pode igualar.”

Pro 8, 10-11

## **S u m á r i o**

Lista de Figuras	17
Lista de Tabelas	21
1 Introdução	23
2 Revisão de Literatura	28
3 Proposição	65
4 Material e Método	67
5 Resultado	80
6 Discussão	98
7 Conclusão	111
8 Referências Bibliográficas	113
Resumo	130
Abstract	132
Anexos	134

## **L I S T A   D E   F I G U R A S**

Figura 1 – Embalagem estéril da matriz dérmica acelular.	70
Figura 2 – Matriz dérmica acelular com o lado da membrana basal voltado para cima.	70
Figura 3 – Recipiente contendo partículas de vidro bioativo hidratadas.	70
Figura 4 – Incisão no membro posterior direito do rato.	71
Figura 5 – Tecidos incisados.	71
Figura 6 – Afastamento do tecido muscular e exposição da face lateral da tíbia.	71
Figura 7 – Primeira perfuração na cortical óssea, invadindo o canal medular.	71
Figura 8 – Segunda perfuração adjacente e unida à primeira.	71
Figura 9 – Cavidade cirúrgica regularizada e preenchida por sangue.	71
Figura 10 – Cavidade cirúrgica preenchida com partículas de vidro bioativo.	72
Figura 11 – Matriz dérmica acelular estabilizada sobre a cavidade cirúrgica.	72
Figura 12 – Tecido muscular reposicionado através de suturas interrompidas simples e profundas.	72
Figura 13 – União das bordas externas da ferida através de suturas interrompidas simples superficiais.	72
Figura 14 – Imagem panorâmica do defeito cortical e escala para conversão de “pixels” em micrometros.	74

## Lista de figuras

Figura 15 – Delimitação da suposta área da cortical pré-existente.	75
Figura 16 – Seleção da suposta área da cortical pré-existente.	76
Figura 17 – Planilha de cálculos mostrando o valor anotado como Área 1.	76
Figura 18 – Seleção do tecido ósseo neoformado na área da cortical delimitada.	77
Figura 19 – Planilha de cálculos mostrando o valor da soma anotado como Osso 1.	77
Figura 20 – Grupo I (Cont). 10 dias. Cavidade cirúrgica ocupada por trabéculas ósseas delgadas. Tricrômico de Masson. Original 63x.	82
Figura 21 – Grupo I (Cont). 10 dias. Delgada faixa de tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos sobre a superfície externa da cavidade cirúrgica. HE. Original 63x.	82
Figura 22 – Grupo II (Mda). 10 dias. Tecido ósseo imaturo com amplo espaço intertrabecular preenchendo a cavidade cirúrgica. HE. Original 63x.	83
Figura 23 – Grupo II (Mda). 10 dias. Entre a membrana e o tecido ósseo neoformado evidencia-se tecido conjuntivo rico em fibroblastos, macrófagos e linfócitos. HE. Original 63x.	83
Figura 24 – Grupo II (Mda). 10 dias. Espécimes com a membrana situada próxima ao limite superior da cavidade cirúrgica com formação óssea. Tricrômico de Masson. Original 63x.	84

## Lista de figuras

- Figura 25 – Grupo II (Mda). 10 dias. Evidenciam-se pequenas áreas de reabsorção da membrana junto às bordas próximas ao tecido ósseo neoformado. Tricrômico de Masson. Original 63x. 84
- Figura 26 – Grupo III (Bv). 10 dias. Cavidade cirúrgica ocupada pelo implante, observando-se nas proximidades, tecido conjuntivo rico em fibroblasto. HE. Original 63x. 85
- Figura 27 – Grupo III (Bv). 10 dias. Tecido ósseo neoformado em contato com o implante. HE. Original 63x. 85
- Figura 28 – Grupo IV (BvMda). 10 dias. Neoformação óssea além do limite superior da cavidade cirúrgica. HE. Original 63x. 86
- Figura 29 – Grupo IV (BvMda). 10 dias. Áreas de reabsorção da membrana e substituição por tecido ósseo neoformado. HE. Original 63x. 86
- Figura 30 – Grupo IV (BvMda). 10 dias. Faixa de coágulo sanguíneo em organização entre a membrana e o tecido ósseo neoformado. Tricrômico de Masson. Original 63x. 87
- Figura 31 – Grupo I (Cont). 30 dias. Cavidade cirúrgica reparada, evidenciando-se a redução da espessura do tecido ósseo. Tricrômico de Masson. Original 63x. 89
- Figura 32 – Grupo I (Cont). 30 dias. Cavidade cirúrgica reparada, praticamente mantendo a espessura do tecido ósseo. HE. Original 63x. 90
- Figura 33 – Grupo II (Mda). 30 dias. Parede óssea totalmente reparada e separada da membrana por tecido conjuntivo pouco diferenciado. HE. Original 63x. 90
- Figura 34 – Grupo II (Mda). 30 dias. A membrana parece sofrer gradual reabsorção e substituição por tecido conjuntivo. Tricrômico de Masson. Original 63x. 91

## Lista de figuras

- Figura 35 – Grupo III (Bv). 30 dias. Cavidade cirúrgica ocupada pelo implante, notando-se, nas proximidades, tecido ósseo neoformado e tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. HE. Original 63x. 91
- Figura 36 – Grupo III (Bv) 30 dias. Parte do implante situado além do limite superior da cavidade cirúrgica, observando-se tecido conjuntivo bem desenvolvido. HE. Original 63x. 92
- Figura 37 – Grupo III (Bv). 30 dias. Material ocupando praticamente toda a cavidade cirúrgica e separado por delgadas trabéculas ósseas bem diferenciadas. HE. Original 63x. 92
- Figura 38 – Grupo IV (BvMda). 30 dias. Mostrando o material de implante separado por tecido ósseo bem desenvolvido. HE. Original 63x. 93
- Figura 39 – Grupo IV (BvMda). 30 dias. Observa-se o contato direto entre o implante e a membrana implantada. Tricrômico de Masson. Original 63x. 93
- Figura 40 – Porcentagem média de osso neoformado por grupo em cada período e respectivo erro padrão da média. 95
- Figura 41 – Porcentagem média de osso neoformado por período em cada grupo e respectivo erro padrão da média. 95

## **L I S T A   D E   T A B E L A S**

Tabela 1 – Análise de variância para a porcentagem

96

de osso neoformado

Tabela 2 – Média e desvio padrão da média da porcentagem

96

de osso neoformado para os grupos e períodos

# introdução

## 1 I n t r o d u ç ã o

Um dos maiores desafios na prática odontológica consiste na reconstrução de estruturas anatômicas perdidas por trauma, infecção, ou ressecção tumoral, reabilitando a função e a estética do paciente. Dentre estes desafios, atualmente, há aqueles em que se faz necessária a neoformação óssea no tratamento de deformidades do rebordo alveolar para implantodontia. Os procedimentos de enxerto de osso autógeno, de osso alógeno ou xenógeno e a implantação de materiais aloplásticos, associados ou não à técnica da regeneração óssea guiada, têm sido propostos para a solução destes problemas.

O termo regeneração óssea guiada deriva do conceito da regeneração tecidual guiada, a qual utiliza uma membrana para impedir que células epiteliais e do tecido conjuntivo gengival, indesejáveis na cicatrização regenerativa periodontal, migrem e repovoem a área do defeito. Este princípio biológico foi demonstrado por Melcher<sup>57</sup>, em 1970, ao excluir o epitélio gengival da cicatrização por meio de uma barreira física posicionada sobre o defeito periodontal, facilitando a repopulação seletiva na superfície radicular por células do ligamento periodontal e osso alveolar. Em 1982, Nyman et al.<sup>67</sup> mostraram que a membrana proporciona a criação de um espaço entre ela e a superfície da raiz, permitindo que células provenientes do ligamento periodontal repovoem esta área, regenerando os tecidos periodontais perdidos. Mais recentemente, as membranas têm sido utilizadas em larga escala na prática odontológica com o objetivo de restaurar os tecidos do periodonto de inserção, bem como na regeneração óssea guiada.

As membranas estão agrupadas em duas grandes classes: as não-reabsorvíveis e as reabsorvíveis. A membrana não-reabsorvível mais utilizada em regeneração óssea guiada é composta por politetrafluoretileno expandido (PTFE-e), podendo ser ou não reforçada com titânio (Becker & Becker, 1993).<sup>7</sup> Dentre as reabsorvíveis encontram-se as membranas de ácido láctico, de ácido glicólico e de copolímeros destes dois ácidos, além das membranas de osso bovino liofilizado, sulfato de cálcio e matriz dérmica acelular (Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup> A principal vantagem desta última classe, de membranas reabsorvíveis, é que se elimina a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para a sua remoção.

A regeneração óssea guiada segue o princípio da osteopromoção, isto é, a utilização da membrana cria um espaço na área do defeito ósseo e isola a migração de tecido conjuntivo frouxo situado ao seu redor, permitindo que apenas células osteoprogenitoras do tecido ósseo adjacente possam migrar e repovoar a área (Dahlin et al., 1988;<sup>16</sup> Dahlin et al. 1990;<sup>15</sup> Buser et al.,1996).<sup>8</sup> Nela, à semelhança da regeneração tecidual guiada, a membrana, além de criar espaço e evitar a invasão de tecidos indesejáveis, irá controlar o tamanho do coágulo, mantendo-o estável e prevenindo que ele seja deformado pela pressão dos tecidos subjacentes, assegurando a diferenciação do tecido de granulação em tecido ósseo (Schenk, 1996).<sup>82</sup>

Quando os defeitos assumem grandes proporções, se faz necessário o uso do enxerto ósseo, podendo ser feito com o autógeno, alógeno, xenógeno ou materiais aloplásticos. O enxerto de osso autógeno, por sua vez, consiste na transferência de um tecido de uma posição a outra no mesmo indivíduo, considerado como o material de enxerto ideal,

pois é o único com capacidade osteogênica, produzindo formação óssea derivada de células formadoras de osso contidas nele próprio (Evian et al., 1982;<sup>18</sup> Lundgren et al., 1994;<sup>54</sup> Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup> Apresenta também como vantagem, o fato de ser reabsorvido e/ou remodelado sem provocar reações antigênicas. Os enxertos ósseos autógenos podem ser obtidos de fonte intra ou extrabucal. Os de origem intrabucal, obtidos da tuberosidade maxilar, da área do mento, da região retromolar, de alvéolos em cicatrização e de coágulos associados com osso de locais reanatomizados, nem sempre estão disponíveis em quantidade adequada, fazendo-se necessária a busca de enxertos extrabucais (Hiatt & Schallhorn, 1973;<sup>43</sup> Nevins & Mellonig, 1998;<sup>63</sup> Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup> Os enxertos extrabucais obtidos, na maioria das vezes, da crista ilíaca, constituem uma boa opção, principalmente por oferecerem grande quantidade de osso. Contudo, além de implicarem em uma outra área cirúrgica, que não a própria boca, aumentam a morbidade do paciente (Schallhorn, 1972).<sup>81</sup>

Na busca por soluções alternativas ao enxerto autógeno, surgiram outros materiais de preenchimento, como o enxerto alógeno, enxerto xenógeno e materiais aloplásticos.

O enxerto alógeno ou homogêneo consiste em tecido obtido da mesma espécie que o receptor, mas com genótipo diferente. Os dois tipos de enxerto homogêneo mais utilizados como material de preenchimento são osso liofilizado mineralizado (FDBA) e osso liofilizado desmineralizado (DFDBA) (Nasr et al., 1999;<sup>61</sup> Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup>

O enxerto xenógeno ou heterogêneo constitui-se no transplante de tecido obtido de espécies diferentes do receptor. São dois os tipos principais de materiais disponíveis: osso bovino inorgânico e carbonato de

cálcio, obtido de coral natural (Aichelmann-Reidy & Yukna, 1998;<sup>2</sup> Nasr et al., 1999;<sup>61</sup> Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup>

Já os materiais aloplásticos têm origem sintética, são biocompatíveis e considerados, atualmente, alternativas promissoras, frente à eminente necessidade de se encontrar um material que possua todas as características ideais para um substituto ósseo, além de disponibilidade em quantidade. Estes materiais atuam pela osteocondução, ou seja, são como um arcabouço de sustentação para deposição de novo osso e sua vascularização. Dentre os tipos de materiais aloplásticos, encontramos as cerâmicas, os vidros bioativos e os polímeros. As cerâmicas são materiais compostos de fosfato e de cálcio em proporções similares ao osso. Os vidros bioativos são feitos à base de cálcio e fosfato, contendo  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$  em proporções específicas. Os polímeros são compostos biocompatíveis à base de polimetil-metacrilato, polimetil-hidroxietil-metacrilato e hidróxido de cálcio (Aichelmann-Reidy & Yukna, 1998;<sup>2</sup> Nasr et al., 1999;<sup>61</sup> Barboza & Caúla, 2002).<sup>5</sup>

Como visto, a regeneração óssea guiada tem sido considerada um procedimento previsível e importante na odontologia atual, ficando a critério a escolha de um método de obtê-la com o menor grau de morbidade possível para o paciente. Assim, nesta linha de raciocínio, consideramos pertinente e oportuno o estudo da associação de uma membrana, a matriz dérmica acelular, que não exigisse sua remoção, a um material de preenchimento, o vidro bioativo, que substituisse o tecido ósseo autógeno.

# revisão de Literatura

## 2 Revisão de Literatura

### Matriz Dérmica Acelular

#### Considerações gerais

A matriz dérmica acelular foi utilizada, inicialmente, no tratamento de pacientes com queimaduras graves, que enfrentam o grande desafio da substituição permanente da pele (Wainwright, 1995).<sup>106</sup> O fechamento atrasado de grandes áreas queimadas resulta em aumento do risco de infecção, dor e desequilíbrio imune, térmico e metabólico pela perda de fluido, de proteínas e de sangue, conseqüentemente, aumenta a morbidade e a mortalidade do paciente (Livesey et al., 1995).<sup>51</sup>

O procedimento de escolha para o tratamento de queimaduras é o enxerto de pele autógena de espessura parcial, o qual está, freqüentemente, associado com formação de cicatrizes e contraturas na área da ferida. Além disso, um inevitável trauma adicional é provocado na área doadora (Wainwright, 1995).<sup>106</sup>

O uso do aloenxerto de pele, como substituto permanente no tratamento de queimaduras, é limitado pelas propriedades imunogênicas deste material, que, após certo período, é rejeitado (Sedmak & Orosz, 1991).<sup>90</sup> Essa rejeição ocorre devido à resposta imune voltada contra as células da epiderme e das células endoteliais e fibroblastos da derme (Castagnoli et al., 1990;<sup>12</sup> Sedmak & Orosz, 1991;<sup>90</sup> Duraiswamy et al., 1994;<sup>17</sup> Hoffman et al., 1994).<sup>44</sup> Os componentes não celulares da derme, como as proteínas da matriz extracelular e o colágeno, são praticamente não imunogênicos (Yukna et al., 1977).<sup>117</sup> Mas, o conceito de um

transplante permanente de uma matriz tecidual extracelular, não imunogênica, tornou-se possível com o desenvolvimento de um método para processar a pele, produzindo uma matriz intacta de derme acelular (Livesey et al., 1995;<sup>51</sup> Wainwright, 1995).<sup>106</sup>

Livesey et al. (1995)<sup>51</sup> produziram uma matriz dérmica acelular a partir de pele de porco fresca por meio de um processo que remove a epiderme e as células da derme, sem, contudo, alterar a estrutura da matriz ou o complexo da membrana basal. A integridade da matriz foi avaliada por microscopia eletrônica após cada passo do processamento. A desepidermização resultou em remoção completa da epiderme, enquanto que o complexo da membrana basal foi mantido, isto é, preservou a lâmina densa e a associação aos filamentos de ancoragem. O colágeno da derme mostrou ligações normais e a compactação dos grupos colágenos era similar à da pele de porco fresca. Neste mesmo estudo, através da microscopia óptica, foi também avaliada a reação da matriz dérmica acelular em subcutâneo de ratos, constatando que este material implica em resposta inflamatória mínima e que os fibroblastos hospedeiros com aparência estrelar normal havia infiltrado na matriz do implante. A neovascularização era evidente nos implantes pela presença de espaços luminosos rodeados por endotélio capilar.

A matriz dérmica acelular tem sido produzida a partir de aloenxerto de pele de cadáver fresca, obtida em bancos de tecido que seguem as normas de recuperação tecidual da Associação Americana de Bancos de Tecidos (AATB). Todos os aloenxertos de pele usados no processamento do enxerto acelular dérmico são selecionados de acordo com as regulamentações para tecido humano da "U. S. Food and Drug Administration" (21 CFR § 1270). O doador é testado sorologicamente para

vírus da hepatite B e C, vírus da imunodeficiência humana tipo I e II, vírus humano T-linfotrópico tipo I, e sífilis. A pele doada é transportada para a LifeCell Corporation (The Woodlands, Texas) sobre gelo, em meio de cultura tecidual suplementado com antibióticos. A pele é recortada em tamanhos determinados e incubada, durante 15 horas, em solução de cloreto de sódio na concentração de 1mol/l para liberação da camada epidérmica. A derme é, então, incubada em solução detergente tamponada, ou seja, 0,5% de dodecil sulfato de sódio para extrair as células remanescentes. A matriz dérmica totalmente decelularizada é lavada e incubada em uma solução crioprotetora composta por dextran, sucrose, rafinose e EDTA. A matriz dérmica crioprotetada recebe um revestimento de poliéster/celulose estéril sobre um de seus lados, sendo então, embalada, congelada e seca em um liofilizador Dura-Stop (FTS, Stonebridge, N.Y.). O procedimento de processamento é rápido, levando menos de 72 horas até o congelamento, minimizando a perda dos componentes bioquímicos da derme (Wainwright, 1995;<sup>106</sup> Rennekampff et al., 1997;<sup>76</sup> Kridel et al., 1998).<sup>46</sup>

O produto final do processamento da pele humana é uma matriz dérmica, acelular, estruturalmente intacta e composta principalmente por colágeno. Esta matriz possui dois lados distintos. O lado da membrana basal, que não absorve prontamente o sangue, é opaco e áspero ao toque, e o lado de tecido conjuntivo ou dérmico, o qual absorve o sangue facilmente, é liso e brilhante (Silverstein, 1997).<sup>94</sup>

A verificação da qualidade do material após o processamento inclui a averiguação de umidade residual e confirmação histológica por microscopia óptica e por microscopia eletrônica da remoção celular, integridade do colágeno e presença de elastina. Peças representativas de

cada lote também são sujeitas a testes microbiológicos para descartar a ocorrência de bactérias e fungos patogênicos de crescimento rápido (Wainwright, 1995).<sup>106</sup>

A remoção de todas as células vivas durante o processamento da pele protege contra a transmissão viral, uma vez que a replicação de vírus patogênicos humanos ocorre intracelularmente e a remoção das células desta matriz de colágeno elimina as áreas de propagação viral. Como mais um fator de proteção, o processamento inclui o tratamento do aloenxerto com um agente antiviral, o qual inativa suspensões concentradas do vírus da imunodeficiência humana (Kridel et al., 1998;<sup>46</sup> Fowler & Breault, 2000;<sup>21</sup> Fowler & Breault, 2001).<sup>20</sup>

Somada aos testes de segurança na transmissão de doenças, outra preocupação é com relação ao desenvolvimento de resposta imune associada aos aloenxertos. A técnica de processamento da matriz dérmica acelular se diferencia do processo convencional de liofilização porque produz cristais de gelo amorfos que não danificam a matriz de colágeno. Com isto, elimina-se mais uma possibilidade de resposta imune a este novo material, uma vez que a matriz danificada seria reconhecida mais facilmente como estranha ao organismo (Silverstein & Callan, 1997;<sup>95</sup> Silverstein & Duarte, 1998).<sup>96</sup> Além disso, durante o processamento da pele em derme acelular, toda camada epidérmica e todas as células da derme são removidas, eliminando, conseqüentemente, células-alvo antigênicas, participantes da rejeição. As células que contêm ou apresentam antígenos do complexo de histocompatibilidade principal classe I e II são: queratinócitos, células de Langerhans, melanócitos da epiderme e células dendríticas ou endoteliais da derme. Testes imunohistoquímicos para antígenos do complexo de histocompatibilidade

principal classe I e II confirmam a ausência de antígenos indutores de rejeição. O produto deste processamento é uma matriz de tecido conjuntivo, constituída pelo complexo de membrana basal e canais vasculares. Os componentes histológicos da matriz dérmica incluem elastina madura, proteoglicanas, e grupos colágenos com disposição normal (Wainwright et al., 1996;<sup>107</sup> Kridel et al., 1998;<sup>46</sup> Tobin & Karas, 1998;<sup>103</sup> Achauer et al., 1998).<sup>1</sup> A técnica de processamento deste aloenxerto é particular, portanto o fabricante não revela todos os materiais ou passos da produção.

Wainwright,<sup>106</sup> em 1995, relatou as primeiras observações clínicas e histológicas de uma matriz dérmica acelular enxertada e coberta por um fino enxerto autógeno em pacientes com queimaduras. Aos 16 dias, foi realizada uma biópsia, mostrando, histologicamente, que os queratinócitos haviam migrado do enxerto de pele de espessura parcial para a superfície da matriz dérmica. Verificou, ainda, a ocorrência de infiltração de fibroblastos do hospedeiro e vascularização, com ausência de infiltrado de células inflamatórias. A análise, por microscopia eletrônica, demonstrou que a lâmina basal estava intacta na superfície da matriz dérmica acelular, com inserção de queratinócitos na membrana basal da matriz confirmada pela presença de hemidesmossomas. O colágeno apresentava características estruturais normais e verificou-se, ainda, a presença de fibras elásticas. Clinicamente, aos 180 dias, os pacientes estavam satisfeitos com a estética e a elasticidade da área que recebeu a matriz dérmica acelular.

Wainwright et al. (1996)<sup>107</sup> realizaram um estudo envolvendo vários centros de pesquisas para avaliar a capacidade da matriz dérmica acelular em atuar como um transplante dérmico permanente em queimaduras de espessura total e parcial. O resultado histológico mostrou

que queratinócitos migraram do enxerto autógeno, que recobria a matriz dérmica, para os interstícios do retalho e repovoaram, completamente, a membrana basal da matriz formando uma epiderme com várias camadas. Houve migração e crescimento substancial de fibroblastos e a revascularização parecia seguir os canais vasculares originais da derme. Ligações colágenas maduras, elastina e fibroblastos dérmicos com características estruturais normais estavam evidentes na matriz dérmica acelular. Por fim, a resposta imune foi avaliada pelo teste de proliferação de linfoblastos (LPA) realizada em cada paciente imediatamente após o transplante e aos 60 dias de pós-operatório. Não foi detectada a estimulação de linfócitos sensibilizados em nenhum paciente.

Também Lattari et al. (1997)<sup>48</sup> relatam resultados estéticos e funcionais excelentes no tratamento com a matriz dérmica acelular de 3 pacientes com queimaduras de espessura total em mãos e pés. As áreas enxertadas com a matriz dérmica mostraram elasticidade excelente e funcional, além de boa pigmentação, com mínima escara ou contratura.

Vários pesquisadores consideram que o recobrimento da matriz dérmica acelular, implantada em uma área queimada, por um fino enxerto autógeno é uma importante etapa no tratamento de queimaduras, sendo que a cicatrização da área doadora é rápida, uma vez que não é necessária a remoção de autoenxertos espessos, e os resultados estéticos são excelentes (Wainwright, 1995;<sup>106</sup> Wainwright et al., 1996;<sup>107</sup> Munster et al., 2001;<sup>59</sup> Rennekampff et al., 2002).<sup>77</sup>

Em cirurgia plástica, Tobin & Karas (1998)<sup>103</sup> utilizaram a matriz dérmica acelular em aumento de lábio. Segundo os autores, a grande vantagem deste material é que uma vez implantado, o organismo o reconhece como um autoenxerto, porque as células que induzem

reconhecimento imunológico foram removidas. Além disso, este procedimento evita a dor e a formação de cicatrizes na área doadora quando da remoção do enxerto autólogo. O material é flexível, permitindo que seja cortado e manipulado da maneira desejada. Os resultados de dois casos clínicos foram favoráveis, com aumento na quantidade de mucosa aparente e no volume labial. Após 3 meses a sensibilidade e a movimentação dos lábios estavam normais. Não houve problemas de reabsorções ou infecções pós-operatórias.

Kridel et al. (1998)<sup>46</sup> estudaram a utilização da matriz dérmica acelular como um enxerto em reparo de perfuração de septo nasal em 12 pacientes. Ocorreu o fechamento total das perfurações em 11 dos 12 pacientes, sendo que a perfuração que não fechou passou de 3 cm para 5mm, tornando-se assintomática. Os autores concluíram que a matriz dérmica acelular pode ser usada com sucesso, tendo como vantagens a ausência de área doadora, a fácil manipulação e, por ser um material mais espesso, fornecer mais substância para o reparo.

Quando utilizada para o tratamento de deformidades faciais, incluindo lábios fendados e deformidades nasais, a matriz dérmica acelular demonstrou ser um material promissor ao combinar os benefícios dos autoenxertos com os dos aloenxertos como verificado por Achauer et al. (1998).<sup>1</sup> Estes autores trataram 11 pacientes, constatando que a cicatrização foi semelhante ao do autoenxerto, sem rejeição, mobilização, absorção, ou extrusão do aloenxerto. A análise por microscopia eletrônica mostrou a presença de colágenos tipo IV e VII, laminina e elastina. Assim, consideraram a utilização da matriz dérmica acelular o tratamento de escolha, uma vez que elimina áreas doadoras e possui ótima estabilidade, podendo ser usado em quase todas as depressões em tecido mole, desde que haja suprimento sanguíneo.

## **Matriz dérmica acelular em odontologia**

Logo após a introdução da matriz dérmica acelular na área médica para o tratamento de queimaduras, o aloenxerto foi utilizado para a correção de defeitos mucogengivais em odontologia. Desta forma, a matriz dérmica acelular tornou-se, então, um novo material utilizado em periodontia, a ser empregado para o aumento de tecido queratinizado de modo semelhante ao enxerto gengival livre (Shulman, 1996;<sup>93</sup> Silverstein & Callan, 1997).<sup>95</sup>

O tecido mais utilizado em enxerto gengival livre é o do palato, o que implica em procedimento cirúrgico adicional, criando uma área dolorida e de lenta cicatrização. Além disso, dependendo do tamanho da área do defeito e da disponibilidade de tecido autógeno para ser enxertado, são necessários vários procedimentos cirúrgicos. Ainda soma-se o fato de que a estética obtida com esta técnica pode não ser a ideal pela pouca semelhança de coloração entre o tecido enxertado e o tecido da área receptora (Silverstein & Callan, 1997;<sup>95</sup> Haeri & Serio, 1999).<sup>30</sup>

Com o desejo de eliminação de uma segunda área cirúrgica durante a remoção do tecido do palato, partiu-se para a tentativa de utilização de um aloenxerto de pele seca congelada (Yukna et al., 1977;<sup>115</sup> Yukna et al., 1977).<sup>116</sup> O uso deste aloenxerto produziu bons resultados clínicos e provou ser seguro e não imunogênico (Yukna. et al., 1977;<sup>117</sup> Vernino et al., 1986).<sup>104</sup> No entanto, a pele seca congelada é processada por liofilização, que produz cristais de gelo de forma hexagonal, resultando

em uma matriz danificada e com rupturas, o que por sua vez poderia iniciar uma resposta de corpo estranho (Gher Jr. et al., 1980;<sup>27</sup> Silverstein & Callan, 1997).<sup>95</sup>

Com o desenvolvimento da técnica de processamento da matriz dérmica acelular, a qual remove os componentes celulares sem danificar a matriz de colágeno, eliminou-se a possibilidade de transmissão viral e de resposta imune a este novo material (Silverstein & Callan, 1997;<sup>95</sup> Silverstein & Duarte, 1998).<sup>96</sup> Além disso, a manutenção de uma arquitetura tecidual normal possibilita a incorporação ao tecido receptor com mínima formação de cicatriz (Shulman, 1996).<sup>93</sup> Diante do exposto, a matriz dérmica acelular passou a ser considerada o aloenxerto de eleição em terapias mucogengivais.

Vários pesquisadores passaram a utilizar a matriz dérmica acelular para o aumento de tecido queratinizado e da zona de gengiva inserida de modo semelhante ao enxerto gengival livre. Muitas são as vantagens deste aloenxerto sobre o enxerto autógeno de palato: maior semelhança de contorno e coloração entre tecido receptor e tecido enxertado; espessura uniforme do material; eliminação de múltiplas cirurgias, devido à quantidade ilimitada do material; diminuição de tempo de cadeira; diminuição da morbidade do paciente e menor dor pós-operatória.

Shulman (1996)<sup>93</sup> avaliou clinicamente, em humanos, a efetividade da matriz dérmica acelular no aumento e/ou restauração da zona de gengiva inserida em áreas de recessão. Foram tratados 12 locais com quantidades de gengiva inserida insuficientes pela técnica semelhante ao enxerto autógeno de palato. Os 12 enxertos permaneceram no local e apresentaram variados graus de vascularização na primeira semana. Na segunda semana, os enxertos iniciaram a reepitelização e, em torno da

terceira semana, estavam completamente epitelizados. Após seis semanas, os enxertos estavam maduros e com espessuras excelentes, semelhantes aos tecidos adjacentes. Neste período, todos os pacientes relataram volta de algum grau de sensibilidade à pressão. A aparência clínica pós-cirúrgica sugeriu que nenhum dos componentes do aloenxerto dérmico processado necrosou e que a vascularização e a subsequente cicatrização foram rápidas, quase se igualando aos tecidos adjacentes.

Silverstein & Callan (1997)<sup>95</sup> utilizaram a matriz dérmica acelular para o aumento de gengiva queratinizada ao redor de dentes e de implantes. Segundo os autores, a matriz dérmica acelular deve ser posicionada com o lado da membrana basal voltado para o retalho e o lado do tecido conjuntivo voltado para o dente, como recomendado pelo fabricante. Após suturada e protegida por um cimento cirúrgico, a matriz não deve ser perturbada por 8 a 10 dias, até a ocorrência da vascularização completa. Constataram que, aos 10 dias, a matriz enxertada parecia mais branca que um enxerto autógeno, o que seria uma ocorrência normal com este aloenxerto, o qual tende a tornar-se róseo e semelhante aos tecidos adjacentes à medida que sofre vascularização e queratinização.

Os resultados obtidos a partir de várias outras pesquisas clínicas, com o uso da matriz dérmica acelular como substituto de enxerto autógeno de palato para o aumento da faixa de gengiva inserida e queratinizada, também foram favoráveis, confirmando o excelente potencial deste material em terapia mucogengival (Silverstein, 1997;<sup>94</sup> Silverstein & Duarte, 1998;<sup>96</sup> Callan & Silverstein, 1998;<sup>9</sup> Peacock et al., 1999;<sup>73</sup> Haeri & Serio, 1999;<sup>30</sup> Cirulli et al., 1999;<sup>13</sup> Wei et al., 2000;<sup>108</sup> Harris, 2001).<sup>33</sup>

Em 2000, Haeri & Parsell<sup>29</sup> compararam, em uma paciente que apresentava defeitos mucogengivais bilaterais, os níveis de “creeping attachment” entre enxerto gengival livre de um lado e matriz dérmica acelular no outro em um período de um ano. A avaliação mostrou uma média de 1,23 mm de “creeping attachment” com o enxerto gengival livre, e média de 0,96mm com a matriz dérmica acelular. Segundos os autores, apesar das diferenças numéricas indicarem superioridade do enxerto autógeno, o resultado do aloenxerto é comparável e consistente com os valores de “creeping attachment” dos enxertos gengivais livres, no período estudado, encontrados na literatura.

O tratamento de recessões gengivais é uma prática comum em periodontia, sendo muitas vezes necessário o tratamento de múltiplas áreas. Entretanto, a anatomia do palato pode limitar a quantidade de tecido autógeno e o paciente pode não aceitar um segundo procedimento, por causa da dor e da morbidade associadas aos transplantes múltiplos. Portanto, nestas situações, a utilização de um aloenxerto como alternativa ao enxerto autógeno de tecido conjuntivo subepitelial parece vantajosa.

Harris (1998)<sup>34</sup> apresentou o relato clínico e histológico do tratamento de recobrimento radicular de duas áreas, associando o retalho pediculado duplo ao enxerto de tecido conjuntivo em uma delas, e na outra, à matriz dérmica acelular. A área que recebeu a matriz dérmica possuía três defeitos, dos quais, dois foram totalmente recobertos, e o terceiro ficou a 1mm da junção cimento-esmalte. O autor indica o posicionamento da matriz com o lado da membrana basal adjacente ao defeito e o lado de tecido conjuntivo voltado para o retalho, uma vez que a dinâmica de cicatrização do recobrimento radicular é diferente do

aumento gengival. Os resultados foram satisfatórios, não sendo verificada diferença estatística entre a quantidade de recobrimento radicular obtida com os dois procedimentos. Histologicamente, observou-se que ambos, tecido conjuntivo e matriz dérmica acelular, foram incorporados ao leito receptor, sendo impossível determinar diferenças nos componentes celulares. Por fim, a histologia apontou a presença de fibras de elastina apenas nas áreas que receberam o aloenxerto. As fibras de elastina, de acordo com o autor, podem atuar como marcadores da presença da matriz dérmica acelular, uma vez que fibras elásticas são comuns à pele, mas não à mucosa gengival ou bucal.

Tal (1999)<sup>102</sup>descreveu o uso da matriz dérmica acelular como substituta ao enxerto de tecido conjuntivo subepitelial em técnica de recobrimento radicular em um caso de recessão gengival moderada com faixa reduzida de gengiva inserida. Neste caso, o autor posicionou o lado da membrana basal de encontro ao retalho e o lado do tecido conjuntivo voltado para o defeito. O aloenxerto foi recoberto com um retalho posicionado coronariamente. Os resultados mostraram a obtenção de mais de 80% de recobrimento radicular, e de 2mm de largura de gengiva inserida. O autor menciona, ainda, que o aloenxerto poderia ser usado como uma barreira entre o tecido conjuntivo gengival de um lado e o tecido ósseo exposto, ligamento periodontal e superfície radicular do outro, utilizando os princípios da regeneração tecidual guiada.

Os trabalhos de Harris (2000),<sup>31</sup> Fowler & Breault (2000),<sup>21</sup> Novaes Júnior. et al. (2001)<sup>66</sup> e Aichelmann-Reidy et al. (2001)<sup>3</sup> também compararam a matriz dérmica acelular ao enxerto de tecido conjuntivo subepitelial no tratamento de recessões gengivais, não encontrando diferenças estatísticas significantes entre as duas abordagens. Constataram

que a matriz dérmica acelular pode ser um substituto efetivo ao enxerto de tecido conjuntivo, com a possibilidade de tratamento de defeitos múltiplos e a ausência de preocupação com a área doadora, as principais vantagens observadas.

Henderson et al. (2001)<sup>42</sup> avaliaram se a orientação da matriz dérmica acelular, com o lado da membrana basal ou do tecido conjuntivo voltado para o dente, poderia influenciar no tratamento de recobrimento radicular. Os autores concluíram que a orientação da matriz não influenciou nos resultados, podendo ser considerado um procedimento previsível e efetivo, embora o "creeping attachment" tenha sido mínimo após 12 meses.

O tratamento de recessões gengivais em odontopediatria é um procedimento desafiador, uma vez que a obtenção do tecido autógeno implica em segundo procedimento cirúrgico, aumentando o tempo de cadeira e o desconforto pós-operatório. Wagshall et al. (2002)<sup>105</sup> utilizaram a matriz dérmica acelular para o tratamento de uma recessão classe I de Miller em uma criança de 10 anos. Obtiveram resultados excelentes, considerando vantajoso o uso deste aloenxerto em crianças.

Harris (2002)<sup>32</sup> avaliou a estabilidade, a longo prazo, dos resultados obtidos com a matriz dérmica acelular em recobrimento radicular. Foram examinados 20 pacientes, sendo que a média de recobrimento, aos 12 meses, era de 91,7%, e na avaliação final, aos 18 meses, foi de 87%. Contudo, esta diferença não foi estatisticamente significativa, uma vez que a perda de recobrimento foi de 4,7%, representando um aumento de recessão de 0,1mm. Segundo o autor, a utilização da matriz dérmica para o tratamento de recessões ofereceu resultados previsíveis e estáveis, além de estética agradável.

A matriz dérmica acelular também pode ser utilizada na reconstrução de defeitos mucosos decorrentes de lesões estomatológicas. Rhee et al. (1998)<sup>78</sup> utilizaram o aloenxerto de matriz dérmica acelular, em 29 pacientes, para o recobrimento de defeitos de vários tamanhos e em regiões diferentes na cavidade bucal, provocados por inúmeras razões, desde alterações displásicas até carcinomas invasivos avançados. Foram tratados nove defeitos em língua, cinco no vestibulo da maxila, quatro no vestibulo da mandíbula, quatro no assoalho bucal, três no palato duro e mole, três nas tonsilas e um no lábio. Os defeitos foram reparados com sucesso, sendo que os resultados histológicos sugerem uma seqüência de cicatrização para os enxertos intrabucais, com a matriz sofrendo epitelização através da migração de células do leito receptor.

O tratamento de deformidades do rebordo alveolar pode ocorrer por meio de enxerto de tecido mole, enxerto de tecido duro e regeneração óssea guiada. A matriz dérmica acelular presta-se tanto como enxerto alógeno para o aumento da quantidade de tecido mole, quanto como membrana em técnica regenerativa.

Fowler & Breault (2001)<sup>20</sup> utilizaram a matriz dérmica acelular para aumentar a largura vestibulo-lingual dos tecidos moles de um rebordo alveolar deficiente, em um paciente de 24 anos que não possuía o incisivo lateral direito superior há quatro anos e desejava reabilitação por prótese parcial fixa. Neste caso, uma única matriz foi colocada sob o retalho, sendo que os autores dobraram o aloenxerto e o posicionaram com o lado do tecido conjuntivo voltado para ambos suprimentos sanguíneos, osso e retalho. A cicatrização foi satisfatória, permitindo a adaptação de um pântico com aparência mais natural.

Mas, o primeiro caso em que a matriz dérmica acelular foi utilizada como membrana, em odontologia, foi relatado por Shulman (1998)<sup>92</sup> que avaliou o desempenho deste aloenxerto, juntamente com outros quatro materiais de enxerto, em técnica de regeneração alveolar e de um defeito buconasal, resultante da enucleação de um cisto-granuloma. Primeiramente, foi empregada, para o fechamento da abertura nasal, uma membrana de colágeno. Contudo, devido à grande flexibilidade desta membrana, uma segunda membrana foi utilizada, a Polyglactin 910 (Vicryl, Ethicon Inc, Sommerville, NJ) para prevenir que partículas de DFDBA se deslocassem após serem enxertadas na área. Após o preenchimento do defeito com o osso liofilizado desmineralizado (DFDBA), decidiu-se pela colocação de uma membrana sobre as partículas de DFDBA, constituída por uma lâmina de DFDBA, fechando a comunicação bucal. Entretanto, era esperado que a membrana de osso laminar se tornasse parte do rebordo alveolar, não devendo ficar exposta ao meio bucal. Uma vez que o fechamento primário não foi possível, optou-se pela utilização da matriz dérmica acelular como membrana. Este aloenxerto mostrou-se biocompatível, separando, isolando e protegendo o material enxertado. Mesmo exposta ao meio bucal, a matriz dérmica forneceu uma superfície capaz de promover regeneração dérmica e epitelial para cobrir e fechar o defeito, prevenindo que os fluidos bucais entrassem em contato com os materiais enxertados. Após 3 semanas de pós-operatório, havia boa cicatrização, com a área exposta da matriz dérmica começando a ser esfoliada. A parte não exposta estava firme, sem mobilidade, demonstrando estar incorporada ao tecido conjuntivo do leito receptor. A biópsia do alvéolo revelou tecido conjuntivo subjacente ao osso trabecular, com sistema clássico de canais harversianos presente. O

trabeculado era espesso e continha evidência estrutural de reparo e regeneração.

Fowler et al. (2000)<sup>22</sup> demonstraram, em dois casos clínicos, o uso da matriz dérmica acelular como uma membrana para barreira, em associação ao enxerto de osso liofilizado desmineralizado (DFDBA) para preservação de rebordo após extração. Em ambos os casos, o alvéolo foi preenchido com partículas de DFDBA e protegido pela matriz dérmica posicionada com o lado da membrana basal voltado para o retalho e com o lado de tecido conjuntivo voltado para o alvéolo, sendo que o aloenxerto ficou parcialmente exposto e, com o passar do tempo, tornou-se menos flexível. A porção exposta esfoliou por volta da terceira semana. De acordo com os autores, a principal vantagem do uso da matriz dérmica é a possibilidade de escolha do tamanho necessário para cobrir o defeito, podendo ser usada em áreas de extração onde o fechamento primário não é possível. Os dois tratamentos resultaram em aumento estético da altura tecidual, sem perda de espessura vestibulo-lingual. Portanto, a matriz dérmica acelular atuou como uma membrana reabsorvível, protegendo o enxerto ósseo subjacente.

Em estudo subsequente, Fowler et al. (2000)<sup>23</sup> realizaram implante dental imediato associado à cirurgia para promoção de regeneração óssea guiada. Assim, após a extração de um incisivo central superior fraturado, um implante endósteo foi posicionado no alvéolo com a parte apical fixa no osso maxilar e imobilizado. A área cirúrgica foi preenchida com DFDBA e a matriz dérmica acelular utilizada como membrana. A matriz dérmica não foi suturada à área, apenas estabilizada pela aproximação das margens do retalho através de suturas. Não foi possível o fechamento primário da loja cirúrgica, contudo, a exposição do material

ao meio bucal não afetou, clinicamente, o reparo e o material enxertado não foi esfoliado. Portanto, a matriz atuou como uma membrana reabsorvível e protegeu o enxerto ósseo subjacente durante a fase inicial de cicatrização.

Em 2001, Novaes Júnior. & Souza,<sup>65</sup> utilizaram a matriz dérmica acelular como uma membrana para regeneração óssea guiada após a exodontia de um canino com fratura vertical, que teve como consequência reabsorção da tábua óssea vestibular. Após levantamento de retalho vestibular e lingual, o dente extraído e a área debridada, uma matriz dérmica acelular foi posicionada em forma de sela sobre o defeito ósseo, com a parte da membrana basal voltada para fora, na seqüência recoberta pelo retalho, mantendo a parte central da membrana, intencionalmente, exposta. Após 4 semanas, a superfície exposta da matriz dérmica estava totalmente coberta por tecido mole. Após 8 semanas, o novo tecido estava queratinizado. O exame radiográfico de 6 meses pós-operatórios demonstrou boa qualidade óssea. Neste período, um retalho total foi rebatido e o osso neoformado inspecionado, revelando que a largura do osso possibilitaria a colocação de implantes de tamanho adequado à área. Os autores consideram que a matriz dérmica acelular preencheu as expectativas necessárias para este caso, permitindo a regeneração óssea e o aumento da largura do tecido

queratinizado, com uma cicatrização sem intercorrências e com padrões superiores aos observados com outros materiais de membrana.

Também Batista Júnior & Batista (2001)<sup>6</sup> utilizaram, com sucesso, a matriz dérmica acelular como material de proteção do enxerto de osso autógeno associado ao osso liofilizado desmineralizado empregados para o aumento de espessura de rebordo, onde o fechamento primário pelos tecidos moles não foi possível e existia o risco de contaminação e de dispersão do material subjacente. Os pesquisadores acreditam que nesta situação, a utilização de outras membranas de regeneração óssea guiada não estaria indicada, uma vez que a exposição destas ao meio bucal oferece riscos de infecção, diminuindo ou impedindo o potencial regenerativo da área tratada.

## *Vidro bioativo*

### Considerações gerais

Todos os vidros bioativos existentes derivam de materiais desenvolvidos na Universidade da Flórida no final da década de 60. Estes vidros foram os primeiros materiais desenvolvidos pelo homem que se ligaram quimicamente ao osso. Os vidros bioativos, ou biovidros, possuem diferentes composições, mas a composição de 45%  $\text{SiO}_2$ , 24,5%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 24,5%  $\text{CaO}$ , 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$ , chamada 45S5, foi a que melhor reagiu ao se ligar ao tecido ósseo (Hench et al., 1971;<sup>40</sup> Hench & Paschal, 1973;<sup>38</sup> Hench & Paschal, 1974;<sup>39</sup> Hench, 1980).<sup>35</sup>

Estudos pioneiros mostraram que o vidro bioativo unia-se ao fêmur de ratos, ocorrendo uma reação química entre o biovidro e o osso por meio de uma camada de hidroxiapatita (mineral ósseo), embebida em fibras colágenas e células ósseas totalmente mineralizadas. Os pesquisadores constataram que a interface entre biovidro e osso possuía a mesma resistência do vidro bioativo e  $\frac{3}{4}$  da resistência do osso quando submetidos a forças mecânicas (Hench et al., 1971;<sup>40</sup> Piotrowski et al., 1975).<sup>75</sup> Contudo, estudos subseqüentes mostraram que a ligação interfacial entre o vidro e o osso era mais forte do que o próprio material e do que o próprio osso (Hench & Ethridge, 1982).<sup>37</sup>

O mecanismo de ligação do vidro bioativo ao osso ocorre por meio da formação de uma camada de gel rica em sílica ( $\text{SiO}_2$ ) na superfície do material, a qual seria responsável pelo início da formação óssea entre o material e o osso (Hench & Paschal, 1974).<sup>39</sup> Através desta camada de sílica, ocorre a migração de cálcio e fosfato para a superfície, originando uma camada amorfa, rica em cálcio e fosfato, que se cristaliza em aglomerados de apatitas. Quando a cristalização das apatitas ocorre na presença de fibras colágenas, o colágeno torna-se estruturalmente

integrado aos aglomerados de apatita (Hench & Wilson, 1984;<sup>41</sup> Hench, 1986).<sup>36</sup> Todo o processo químico, desde o crescimento da camada de sílica gel até a aglomeração e ligação química dos cristalitos de apatita ao redor das fibras colágenas, ocorre no período de 7 a 10 dias, sendo controlado pelo tipo e concentração de células basais progenitoras na interface do material. Portanto, na presença de precursores osteogênicos, o silicato bioativo favorece a formação de osteoblastos responsáveis pelos próximos passos do desenvolvimento ósseo (Hench, 1986).<sup>36</sup>

Inicialmente, o vidro bioativo foi utilizado em ortopedia como implantes protéticos ou como material para cobertura de próteses com outras composições, sendo seu emprego estendido, posteriormente, para outras áreas como otorrinolaringologia, odontologia, incluindo a cirurgia buco-maxilo-facial e a periodontia.

A característica de friabilidade do vidro bioativo o dividiu em duas categorias: materiais que não são submetidos a forças mecânicas e os que sofrem com essas forças.

Na primeira categoria estão os cones de vidro bioativo, conhecidos como implantes endósteos de manutenção de rebordo (ERMI) e as próteses do ouvido médio (MEPs), utilizadas para substituir parte da cadeia ossicular em pacientes com história de otite crônica e destruição de um ou mais ossos, ou com defeitos congênitos. Na segunda categoria de aplicações, o vidro bioativo é utilizado como cobertura sobre próteses ortopédicas e sobre implantes dentais (Hench & Wilson, 1984).<sup>41</sup>

Os implantes em forma de cone de biovidro (ERMI) foram empregados para preencher o alvéolo após a extração dental. Várias pesquisas mostraram que a presença do implante impede a reabsorção da crista alveolar, que normalmente acompanha a perda do dente e o uso de próteses dentais. As observações clínicas, após a implantação dos

cones de vidro bioativo, indicaram que o material era altamente biocompatível, sem evidência de infecção e de reação a corpo estranho (Stanley et al., 1976;<sup>99</sup> Stanley et al., 1987;<sup>98</sup> Yilmaz et al., 1998).<sup>113</sup>

As próteses do ouvido médio compostas por biovidro (MEPs) possuem estabilidade a longo prazo, uma vez que se ligam à membrana timpânica. Segundo Merwin et al. (1984),<sup>58</sup> a ligação a um tecido mole impede a movimentação na interface da prótese e do tecido mole nos estágios iniciais da cicatrização, prevenindo a inflamação e a formação de cicatrizes, associadas à perda de transmissão e eventual extrusão do material.

A capacidade do vidro bioativo de se ligar ao tecido mole foi verificada por Hench & Wilson (1984)<sup>41</sup> durante um estudo no qual o material era implantado no subcutâneo de ratos. Segundo os autores, apesar da ligação do vidro bioativo aos tecidos moles não ser útil em casos onde ocorre a ação de forças mecânicas, existem aplicações em que esta ligação seria vantajosa, como na substituição dos ossículos do ouvido médio.

Na categoria em que o material é submetido a forças mecânicas, encontramos o vidro bioativo sendo utilizado em ortopedia, como cobertura sobre próteses de aço inoxidável, de titânio e de cerâmicas alumina<sup>?</sup> de alta densidade. Além desta aplicação, o biovidro também serviu como cobertura sobre implantes dentais de vários tipos de metais, como alumina, aço inoxidável e Vitallium<sup>?</sup>. Contudo, ao ser submetido a forças intensas, o vidro bioativo pode fraturar-se, exigindo a combinação da capacidade de ligação ao osso do vidro bioativo, com as propriedades mecânicas de um substrato de aço inoxidável (Hench & Wilson, 1984).<sup>41</sup> Para a solução deste problema, foi desenvolvido um composto de biovidro 45S5 ligado a uma matriz de fibras de aço

---

<sup>?</sup> trióxido de dialumínio, usado em algumas porcelanas de uso odontológico.

<sup>?</sup> nome comercial de liga cromo-cobalto utilizada, principalmente, em próteses removíveis.

inoxidável. De acordo com Gheysen et al. (1983),<sup>28</sup> a adição destas fibras ao vidro aumentou substancialmente sua resistência, sem, contudo, prejudicar a efetividade de ligação do biovidro ao osso.

### **Vidro bioativo em odontologia**

No final da década de 80, foram realizadas pesquisas com o vidro bioativo na forma de partículas, ganhando destaque como material aloplástico de enxerto ósseo em odontologia. Dele existem dois tipos disponíveis comercialmente: o enxerto ósseo sintético reabsorvível, chamado BioGram (Orthovita, Malvern, PA) e as partículas de enxerto ósseo sintético, conhecidas como PerioGlass (Block Drug Co, Jersey City, NJ). Estes dois materiais possuem a mesma composição, 45S5, contudo com tamanho de partículas diferentes.

O BioGram tem partículas com tamanho variando entre 300 a 355µm, com propriedades de osteocondução e de osteoestimulação. A osteocondução está relacionada à atuação destas partículas como uma estrutura arquitetônica sobre a qual o osso é depositado a partir de osteoblastos existentes na área do defeito. Já a osteoestimulação, que de acordo com Schepers et al. (1993)<sup>84</sup> é restrita a este material, ocorre através da reabsorção do gel de sílica presente no interior das partículas por macrófagos e outras células fagocitárias, as quais penetrariam no interior da partícula através de fissuras na superfície externa da camada de cálcio e fosfato. A reabsorção do gel de sílica leva à formação de nichos protegidos, nos quais células mesenquimais indiferenciadas adquirem características fenotípicas de osteoblastos que, quando imobilizados sobre a superfície interna da partícula, passam a secretar matriz óssea. Desta

forma, são criadas ilhas de tecido ósseo neoformado sem a necessidade de proliferação de osteoblastos pré-existentes (Schepers et al., 1991;<sup>86</sup> Schepers et al., 1993;<sup>84</sup> Schepers & Ducheyne, 1997;<sup>83</sup> Schepers et al., 1998;<sup>85</sup> Furusawa et al., 1998).<sup>26</sup>

O PerioGlass, com partículas de tamanho variando entre 90 a 710µm, é considerado osteocondutor e osteoestimulador. A propriedade de osteoestimulação deste material foi confirmada por Wheeler et al. (1998),<sup>111</sup> que constataram maior quantidade de nichos internos ossificados ou em ossificação no interior das partículas de biovidro com tamanho de 90 a 710µm do que nas partículas de 300 a 355µm.

Alguns autores conferem também ao vidro bioativo a propriedade de osteoprodução, definida como a capacidade de colonização da superfície do biovidro por células basais osteogênicas em diferenciação no interior da cavidade cirúrgica (Oonishi et al., 1997;<sup>71</sup> Oonishi et al., 2000).<sup>70</sup>

Outra grande vantagem do vidro bioativo refere-se ao fato de que possui manipulação fácil, pois permite a implantação do material sem perda de partículas. O material forma uma massa coesa com o sangue, não apresentando tendência a extravasar com o fluxo sanguíneo. Após o preenchimento com o material, o sangramento cessa, conferindo ao vidro bioativo a propriedade de hemostasia (Schepers et al., 1991;<sup>86</sup> Schepers et al., 1993;<sup>84</sup> Low et al., 1997;<sup>53</sup> Oonishi et al., 1997;<sup>71</sup> Shapoff et al., 1997;<sup>91</sup> Schepers & Ducheyne, 1997;<sup>83</sup> Schepers et al., 1998;<sup>85</sup> Cancian et al., 1999;<sup>11</sup> MacNeill et al., 1999).<sup>55</sup>

Estudos em animais compararam a capacidade de reparo ósseo do vidro bioativo aos enxertos autógenos, xenógenos e aos outros materiais aloplásticos quando implantados em cavidades experimentais. Schepers et al. (1991)<sup>86</sup> avaliaram o reparo ósseo de defeitos criados nas mandíbulas

edentadas de cães e preenchidos com partículas de vidro bioativo de 300-360 $\mu$ m, ou com partículas de hidroxiapatita densa ou porosa. Observaram que, no reparo com o biovidro, a osteocondução foi mais rápida e associada à osteoestimulação, a qual não ocorreu com a hidroxiapatita.

Schepers & Ducheyne (1997)<sup>83</sup> compararam, primeiramente, a capacidade de reparo ósseo das partículas de vidro bioativo de 300-350 $\mu$ m, em relação a partículas com variação de 100-710 $\mu$ m implantadas em defeitos nas mandíbulas edentadas de dois cães. Observaram que as partículas com maior variação de tamanho estavam envoltas por tecido fibroso, com menor taxa de osteocondução e osteoestimulação. Em seguida, compararam apenas as partículas que apresentaram melhor desempenho, 300-350 $\mu$ m, à hidroxiapatita densa e porosa. Verificaram que tanto a hidroxiapatita densa, quanto a porosa, mostraram menor crescimento ósseo por osteocondução que o vidro bioativo após um período de dois anos. Além disso, a hidroxiapatita não apresentou propriedade osteoestimulatória, uma vez que formação óssea independente de osso pré-existente não foi observada.

Wheeler et al. (1997)<sup>112</sup> investigaram a habilidade das partículas de vidro bioativo, com variação de 90-710 $\mu$ m, de promover o reparo ósseo de defeitos de 20mm em radio de coelhos. Os autores verificaram que a quantidade de osso no interior dos defeitos que receberam o biovidro era significativamente maior do que nos defeitos controles após 4 semanas. Entretanto, esta diferença não era evidente após 8 semanas, indicando que a ação do vidro bioativo foi mais efetiva nos estágios iniciais do processo cicatricial.

Schmitt et al. (1997)<sup>87</sup> compararam o reparo ósseo promovido pelo osso mineral poroso ao reparo promovido pelo vidro bioativo com

partículas de 90-710 $\mu$ m em cavidades com tamanho crítico preparadas em radio de coelhos. Foi constatado que o vidro bioativo apresentava maior tendência de desalojamento e que parecia menos efetivo em prevenir o prolapso dos tecidos moles. Verificaram, também, que o osso mineral promoveu união óssea em 5 das 6 cavidades após 8 semanas, sendo que esta união ocorreu em apenas uma das 6 cavidades preenchidas com o vidro bioativo.

Em 1998, Schepers et al.<sup>65</sup> avaliaram o efeito de forças mecânicas sobre uma área reparada com o vidro bioativo e que recebeu implantes dentais. Primeiramente, defeitos nas mandíbulas de cães foram preenchidos com partículas de 300-335 $\mu$ m, sendo que defeitos controles foram deixados sem preenchimento. Após 4 meses, estas áreas receberam implantes que foram deixados subgengivalmente por 3 meses. Três, dos seis animais, foram sacrificados após este período e os outros três receberam próteses fixas sobre os implantes por mais 7 semanas. Observaram que, no período de colocação dos implantes, havia mais tecido ósseo onde o vidro bioativo havia sido empregado. Já nas áreas que receberam implantes e sujeitas a cargas funcionais, as partículas foram reabsorvidas e substituídas por osso devido à alta atividade remodeladora.

As pesquisas desenvolvidas por Oonishi et al. (1997),<sup>71</sup> Oonishi et al. (1999)<sup>69</sup> e Oonishi et al. (2000)<sup>70</sup> constataram que partículas de biovidro 45S5, com 100 a 300 $\mu$ m, restauravam mais rapidamente cavidades de 6mm de diâmetro criadas em fêmur de coelhos do que as partículas de hidroxiapatita com o mesmo tamanho e do que a cerâmica de vidro. Segundo os autores, a superioridade do vidro bioativo está relacionada à propriedade de osteoestimulação não observada nos demais materiais.

Furusawa et al. (1998)<sup>26</sup> investigaram a propriedade osteocondutiva do vidro bioativo, com variação de tamanho de 300-350 $\mu$ m, no reparo de defeitos ósseos realizados em mandíbula de ratos. As partículas de biovidro foram umidificadas em solução salina e enxertadas nos defeitos, os quais foram cobertos com membrana reabsorvível de colágeno para prevenir a migração epitelial e criar um espaço para regeneração óssea guiada. O estudo confirmou as propriedades de osteocondução e de osteoestimulação do vidro bioativo, mostrando ter a formação óssea se iniciado, aproximadamente, após 4 semanas da implantação do material.

Em 1999, MacNeill et al.<sup>55</sup> compararam o reparo ósseo de cavidades preparadas em tíbias de coelho preenchidas com partículas de vidro bioativo de 300-350 $\mu$ m ou com partículas de biovidro de 90-710 $\mu$ m. Cavidades sem preenchimento atuaram como controle negativo e cavidades preenchidas com osso autógeno como controle positivo. Após 28 dias, todas as cavidades apresentavam evidência de formação óssea. No entanto, as cavidades com enxerto autógeno foram as que obtiveram maior quantidade de osso neoformado, enquanto cavidades sem preenchimento ou preenchidas com ambos os tipos de partículas de vidro bioativo mostraram taxas de formação óssea semelhantes. Os autores verificaram, ainda, a ocorrência de osteoestimulação restrita apenas às partículas com tamanho de 300-350 $\mu$ m.

Cancian et al. (1999)<sup>11</sup> analisaram, histologicamente, a efetividade das partículas de hidroxiapatita densa e das partículas de vidro bioativo, com 300-350 $\mu$ m, em cavidades cirúrgicas preparadas em mandíbulas de macacos, comparando-as, também, a cavidades sem preenchimento. Após um período de 180 dias, verificaram que as partículas de hidroxiapatita eram encapsuladas por tecido conjuntivo, não permitindo

formação óssea. As cavidades que receberam partículas de vidro bioativo foram preenchidas por osso, apresentando melhor desempenho que cavidades controle, as quais também não foram preenchidas por osso, apenas por tecido fibroso e muscular.

Em 2000, Wheeler et al.<sup>110</sup> avaliaram, em fêmur de coelhos, a formação óssea em defeitos de tamanho crítico preenchidos ou com vidro bioativo 45S5, partículas de 90-710 $\mu$ m, ou com biovidro sol-gel 77S, ou com biovidro sol-gel 58S. Os defeitos preenchidos com estes materiais sintéticos foram também comparados a defeitos sem material de preenchimento e com o osso intacto. Conforme os autores, as diferentes composições de biovidro sol-gel foram desenvolvidas na tentativa de aumentar a capacidade de reabsorção dos vidros. Inicialmente, observaram que as cavidades preenchidas com a composição 45S5 do biovidro obtiveram maior preenchimento ósseo. Contudo, após 12 semanas o crescimento ósseo era semelhante entre os defeitos preenchidos com os três tipos de vidro bioativo e com osso normal, tendo o defeito sem preenchimento obtido formação óssea estatisticamente inferior aos demais grupos. As composições de biovidro sol-gel reabsorveram mais rápido do que a 45S5.

Também em 2000, Piattelli et al.<sup>74</sup> estudaram o desempenho das partículas de vidro bioativo, com 300-350 $\mu$ m, em defeitos ósseos preparados em tibia de coelhos. Eles verificaram que defeitos controle deixados sem preenchimento possuíam osso neoformado apenas nas áreas periféricas após oito semanas, enquanto que, neste mesmo período, defeitos preenchidos com vidro bioativo apresentavam grande quantidade de osso ao redor das partículas. Concluíram que o vidro bioativo é um

material altamente osteocondutivo, sendo que em nenhum momento observaram a ocorrência de osteoestimulação.

O vidro bioativo particulado tem sido também empregado na terapia periodontal em tratamento de defeitos infra-ósseos periodontais na busca de um processo de regeneração, definida no "World Workshop in Periodontics" (1996)<sup>14</sup> como sendo o restabelecimento dos tecidos de suporte do dente: ligamento periodontal, cimento e osso.

Fetner et al. (1994)<sup>19</sup> examinaram as propriedades clínicas e histológicas das partículas de vidro bioativo, com 90-310 $\mu$ m, 500-710 $\mu$ m e 90-710 $\mu$ m de tamanho, em defeitos infra-ósseos preparados em tecidos gengivais saudáveis de macacos. O biovidro foi também comparado à hidroxiapatita, ao fosfato tricálcio e a defeitos sem preenchimento. Os resultados sugeriram reparo parcial dos defeitos infra-ósseos com o vidro bioativo parecendo retardar a migração epitelial quando comparado aos outros materiais, e, conseqüentemente, com maior formação de cimento e de osso independentemente do tamanho das partículas.

Karatzas et al. (1999)<sup>45</sup> avaliaram o efeito do vidro bioativo particulado, com tamanho de 90-710 $\mu$ m, na cicatrização de defeitos periodontais experimentais no palato de macacos. Foram criados defeitos periodontais crônicos na região de pré-molares e molares superiores. Após o tratamento da periodontite a campo aberto, os defeitos experimentais foram preenchidos com o biovidro e os defeitos controles não receberam mais nenhum outro tratamento. O exame histológico mostrou que o vidro bioativo se incorporou ao tecido conjuntivo e mediou a formação de nova inserção à superfície radicular, inibindo, desta maneira, a migração epitelial e promovendo a cementogênese.

Estudos, em humanos, demonstraram que o vidro bioativo é um substituto ósseo adequado para o tratamento de lesões ósseas periodontais. Zamet et al. (1997)<sup>118</sup> desenvolveram uma pesquisa clínica para avaliar o efeito do vidro bioativo, com tamanho de 90-710µm, em defeitos infra-ósseos durante o período de 12 meses. Vinte pacientes foram submetidos a procedimentos básicos de desinfecção e depois divididos em dois grupos: controle e teste. Após o rebatimento de retalho, raspagem, alisamento radicular e remoção do tecido de granulação, os defeitos testes foram restaurados com partículas de vidro bioativo. Foram registrados índice de placa, índice de sangramento, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e recessão gengival aos 3 meses e um ano. Foi realizada análise radiográfica pelo analisador de imagens densitométrico assistido por computador (CADIA) no exame inicial, logo após a cirurgia e um ano após. O resultado mostrou um aumento significativo de densidade radiográfica e de volume nos defeitos tratados com o vidro bioativo quando comparados aos defeitos controle. Os resultados clínicos demonstraram que, apesar de ambos os tratamentos serem efetivos na redução de profundidade de sondagem e no ganho de inserção, as áreas tratadas com o biovidro apresentaram maior grau de preenchimento do defeito.

Shapoff et al. (1997)<sup>91</sup> utilizaram as partículas de vidro bioativo com variação de tamanho de 90-710µm em defeitos periodontais. O material aloplástico foi utilizado, em lesões infra-ósseas, sozinho, em associação com enxerto ósseo autógeno ou com enxerto alógeno de osso liofilizado desmineralizado (DFDBA). Os autores observaram uma redução significativa de profundidade de sondagem na maioria dos defeitos, sendo que não houve diferenças entre os grupos. Radiograficamente, o aumento de

densidade e o preenchimento dos defeitos foram notados entre 4 e 6 meses. Além disso, o nível de radiopacidade pareceu aumentar mesmo após dois anos e meio de avaliação. Nos casos em que foram realizadas reentradas cirúrgicas, os defeitos estavam bastante reduzidos e preenchidos com material duro e vascularizado semelhante ao osso.

Ainda em 1997, Low et al.<sup>53</sup> preencheram defeitos ósseos angulares, resultantes de periodontite severa, com partículas de vidro bioativo de 90-710 $\mu$ m durante tratamentos cirúrgicos. Após um período de 2 anos, a média de redução da profundidade de sondagem foi de 3,33mm e a média de ganho no nível de inserção foi de 1,92mm. De acordo com os pesquisadores, quando estes valores foram comparados às médias iniciais demonstraram que a quantidade de reparo permaneceu estável durante o tempo. Radiograficamente, observaram que as medidas de preenchimento ósseo revelaram aposição significativa no defeito, uma vez que a quantidade de preenchimento, aos 3 meses era de 2,76mm e, aos 2 anos, de 3,47mm.

Lovelace et al. (1998)<sup>52</sup> compararam o uso do vidro bioativo, com variação de tamanho de 90-710 $\mu$ m, ao uso do osso liofilizado desmineralizado (DFDBA) no tratamento de defeitos ósseos periodontais em 15 pacientes com periodontite de moderada a avançada. Verificaram que ambos tratamentos melhoraram as condições de tecido mole e duro em comparação ao estado inicial, não sendo observadas diferenças significantes com relação aos resultados obtidos com ambos os materiais.

Em 1998, Froum et al.<sup>24</sup> avaliaram o reparo de defeitos ósseos periodontais preenchidos ou não com partículas de vidro bioativo, com tamanho de 90-710 $\mu$ m, durante um ano. Os exames finais indicaram que ocorreu maior redução de profundidade de sondagem, maior ganho de

inserção clínica e maior diminuição de recessão gengival nos defeitos com biovidro do que nos defeitos sem preenchimento. Concluíram então, que o enxerto de vidro bioativo melhorou significativamente os parâmetros clínicos quando comparado ao debridamento cirúrgico. Procedimentos de reentrada demonstraram que os defeitos preenchidos com o biovidro apresentaram menor reabsorção da crista alveolar e maior preenchimento do defeito.

Rosenberg et al. (2000)<sup>80</sup> realizaram um estudo comparativo para analisar a efetividade das partículas de vidro bioativo, com 300-350µm, no tratamento cirúrgico de defeitos periodontais infra-ósseos em 12 pacientes. Constataram que, aos seis meses pós-operatórios, o grupo teste apresentou ganho de inserção clínica significativamente maior do que o grupo controle (sem preenchimento). Concluíram que o uso do vidro bioativo em defeitos periodontais resultou em melhor preenchimento da cavidade por tecido duro e em maior ganho de inserção clínica.

Park et al. (2001)<sup>72</sup> examinaram 38 defeitos periodontais infra-ósseos de 38 pacientes, sendo que 21 foram preenchidos com vidro bioativo com tamanho de 300-350µm e 17 debridados cirurgicamente. Após 6 meses, tanto os índices de profundidade de sondagem, quanto os de ganho de inserção, apresentaram resultados favoráveis em ambos os grupos. Contudo, em defeitos com profundidade de sondagem e com nível de inserção clínica maiores, o grupo teste mostrou melhores resultados do que o grupo controle.

Em 2002, Sculean et al.<sup>89</sup> combinaram o vidro bioativo, com 90-710µm, à proteína derivada da matriz do esmalte na tentativa de melhorar o desempenho destes materiais na terapia periodontal de defeitos infra-ósseos. Vinte e oito pacientes com periodontite crônica foram divididos em

dois grupos: os que receberam apenas as partículas de biovidro e os que receberam a combinação do biovidro à proteína derivada da matriz do esmalte. As avaliações de profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica foram realizadas inicialmente ao tratamento e um ano após. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre ambos tipos de tratamento, com ambas terapias resultando em melhoras significativas nos parâmetros clínicos. Concluíram que a combinação dos materiais não melhorou o resultado clínico da terapia.

Apesar dos resultados encorajadores das várias pesquisas clínicas com relação ao desempenho do vidro bioativo na terapia periodontal, um estudo realizado por Ong et al. (1998)<sup>68</sup> questionou a atuação deste material no reparo/regeneração de defeitos infra-ósseos com profundidade de sondagem maior ou igual a 6mm. Verificaram que apesar das áreas tratadas com partículas de vidro bioativo, com 300-360µm, apresentarem maior redução de profundidade de sondagem e de ganho de inserção clínica do que o controle, que recebeu apenas o debridamento cirúrgico, estas diferenças não foram estatisticamente significantes. Segundo os autores, seriam necessários outros estudos para comprovar os efeitos benéficos da utilização deste material aloplástico no tratamento de lesões periodontais infra-ósseas.

Também Nevins et al. (2000)<sup>63</sup> colocaram em dúvida a capacidade regenerativa do vidro bioativo com partículas de 90-710µm. Os autores realizaram análise clínica, radiográfica e histológica de defeitos infra-ósseos ao redor de cinco dentes em 5 pacientes. Os parâmetros clínicos avaliados demonstraram bom desempenho do material e a avaliação radiográfica mostrou radiopacidade no interior do defeito. Contudo, a análise histológica indicou cicatrização por epitélio juncional

longo, com mínima inserção de tecido conjuntivo no dente, exceto em um caso em que foi observada formação de novo cemento e nova inserção conjuntiva na região infra-óssea. As partículas do material foram consideradas biocompatíveis por estarem envoltas por tecido conjuntivo denso com mínimo infiltrado inflamatório. A neoformação óssea observada foi muito pequena, limitada às margens apicais do defeito. Portanto, de acordo com os achados histológicos, o vidro bioativo possui propriedades regenerativas limitadas como material de enxerto periodontal.

A constante busca por resultados satisfatórios no tratamento de lesões de furca classe II levou ao desenvolvimento de várias abordagens terapêuticas, dentre elas, as técnicas regenerativas usando enxertos ósseos ou substitutos ósseos.

Anderegg et al. (1999)<sup>4</sup> compararam os parâmetros clínicos, como profundidade de sondagem e sangramento à sondagem, em furcas mandibulares classe II, as quais foram tratadas com debridamento a campo aberto com ou sem preenchimento com partículas de vidro bioativo variando de 90-710µm. Os quinze pacientes apresentavam periodontite de moderada a avançada. O uso do vidro bioativo demonstrou resultados estatisticamente superiores em relação ao procedimento cirúrgico sem preenchimento. Segundo os autores, a implantação do biovidro permitiu a ocorrência de reparo ósseo nos defeitos de furca. Além disso, acreditam que a capacidade do material em manter o coágulo sanguíneo no defeito ósseo possa contribuir para resultados excelentes.

Yukna et al. (2001)<sup>14</sup> avaliaram em 27 pacientes a resposta de lesões de furca classe II tratadas com enxerto de vidro bioativo (90-710µm) ou com membrana de politetrafluoretileno expandido fechando a área do

defeito. A membrana foi removida após 6 semanas. Aos 6 meses de pós-operatório, foram realizadas reentradas para documentação e tratamento adicional se necessário. Ambos os tratamentos ganharam ao redor de 0,3 a 0,4mm de nível de inserção clínica vertical e 1,3 a 1,5mm de nível de inserção clínica horizontal. Medidas clínicas diretas demonstraram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos avaliados, sendo que ambos obtiveram resultados favoráveis no tratamento de lesões de furca classe II.

O vidro bioativo foi também empregado em outras situações como em tratamento de lesões ósseas não periodontais, na preservação ou aumento de rebordo alveolar, em levantamento de seio maxilar e associado a implantes dentais.

Schepers et al. (1993)<sup>84</sup> realizaram uma pesquisa clínica em 106 defeitos ósseos de 87 pacientes, os quais foram tratados com partículas de vidro bioativo de 300-360µm de tamanho. Estes defeitos compreendiam áreas de recessão apical, defeitos císticos, locais de extração e defeitos de rebordo alveolar devido à cirurgia ou reabsorção. Trinta áreas de recessão apical tiveram tempo médio de avaliação da implantação de 27,4 meses, mostrando resultados bastante satisfatórios, uma vez que as partículas integravam-se aos defeitos ósseos reparados. Em 40 locais de extração, o tempo médio de avaliação da implantação foi de 26,4 meses. Na maioria dos casos, a cicatrização foi sem intercorrências e preveniu o colapso do rebordo alveolar, mantendo, principalmente, as dimensões horizontais deste. Em oito casos, o fechamento primário do alvéolo não foi possível, resultando em perda parcial das partículas de vidro. Vinte defeitos de rebordo alveolar foram submetidos a tratamento de correção, sendo que o tempo médio de avaliação da implantação do biovidro foi de 21,1

meses. Os resultados foram satisfatórios, embora, em 3 defeitos, o fechamento primário não foi efetivo resultando em perda parcial do material. Por fim, em defeitos císticos, a média de avaliação da implantação do material foi de 25 meses, observando-se uma cicatrização adequada e bons resultados.

Furusawa & Mizunuma (1997)<sup>25</sup> utilizaram partículas de vidro bioativo, com 300-350µm de tamanho, para elevação de membrana de seio maxilar em 25 pacientes, sendo realizadas biópsias aos 7 meses pós-operatórios. As avaliações histológicas e biomecânicas demonstraram formação óssea em todos os casos e as propriedades biomecânicas do osso regenerado eram semelhantes ao do tecido ósseo original. Os autores consideram o vidro bioativo um material aloplástico eficaz para substituição de enxerto de osso autógeno.

Também Tadjoeidin et al. (2000)<sup>101</sup> empregaram o vidro bioativo, com 300-350µm, para a elevação de membrana de seio maxilar e 10 pacientes submetidos a enxertamento bilateral de uma mistura 1:1 de partículas de osso autógeno da crista ilíaca com o vidro bioativo em um dos lados e partículas ósseas apenas no outro lado. Foram realizadas 72 biópsias no período de instalação do fixador. A histomorfometria mostrou que após 16 meses havia um volume de osso lamelar de 45% em ambos os grupos. Neste período, todas as partículas de biovidro foram reabsorvidas e substituídas por osso.

A preservação do rebordo alveolar após extração dental é um procedimento vantajoso, pois facilita a posterior colocação de implantes endósseos, além de aumentar a possibilidade de resultado estético com o tratamento protético. Em 2000, Camargo et al.<sup>10</sup> avaliaram a eficácia clínica do vidro bioativo de 300-350µm de tamanho usado como material

de preenchimento e associado ao sulfato de cálcio utilizado como barreira mecânica para a preservação do rebordo alveolar após extração dental. Participaram do estudo 16 pacientes que necessitavam extração de dois dentes anteriores ou de pré-molares. As áreas não preenchidas com o material aloplástico e não protegidas com o sulfato de cálcio atuaram como controle. Cirurgias de reentrada foram realizadas aos 6 meses pós-operatórios, mostrando que as áreas testadas apresentavam-se com mais preenchimento ósseo que as controle, além do que, havia menor quantidade de reabsorção vertical do rebordo alveolar.

Sy (2002)<sup>100</sup> utilizou o vidro bioativo particulado (90-710 $\mu$ m) como material de preenchimento em alvéolos após extração dos incisivos centrais superiores. Uma membrana de politetrafluoretileno expandido foi posicionada na área, fechando o alvéolo, e removida após 4 meses. Com a remoção da membrana, observou-se que as partículas de vidro estavam integradas no interior do alvéolo e que a textura e a integridade do rebordo pareciam sólidas. Após 7 meses, verificou-se boa maturação de tecido mole e manutenção do rebordo edêntulo.

Norton & Wilson (2002)<sup>64</sup> avaliaram, em 17 pacientes, os resultados clínicos de implantes posicionados em áreas enxertadas com partículas de vidro bioativo para o reparo de defeitos dentoalveolares, e/ou manutenção de rebordo alveolar em áreas de extração. Os defeitos foram tratados com partículas de tamanho de 90-710 $\mu$ m e de 300-350 $\mu$ m, sendo que quando o osso podia ser coletado durante a perfuração intramedular, era misturado ao enxerto aloplástico. Membranas de politetrafluoretileno expandido foram utilizadas como barreiras para o fechamento de defeitos em seis pacientes. Todas as áreas enxertadas reagiram com sucesso ao tratamento. Em biópsias realizadas em 8 áreas de enxerto antes de 6

meses, o vidro estava em íntimo contato com tecido conjuntivo e não foi observada neoformação óssea no centro dos defeitos até este período. Aos 7 meses, havia tecido ósseo depositado próximo às partículas de vidro. O tempo para colocação dos implantes variou de 3 a 11 meses após os procedimentos iniciais, sendo que a consolidação dos enxertos foi avaliada subjetivamente por comparação a radiografias realizadas um mês antes das cirurgias de correção. Considerando o acompanhamento de um ano, a taxa de sucesso foi de 90%, visto que os implantes pareciam estar osseointegrados, sem mobilidade, dor ou infecção. De acordo com os autores, ficou constatado que a colocação precoce de implantes no tecido enxertado não afeta negativamente o resultado do tratamento.

Como exposto, apesar dos vários trabalhos a respeito do vidro bioativo, existem divergências de resultados e escassez de trabalhos histológicos que melhor elucidem o desempenho deste material em técnicas regenerativas. Além disso, são poucas as pesquisas que avaliam a capacidade da matriz dérmica acelular em atuar como membrana em regeneração óssea guiada. Considerando-se a importância do conhecimento científico em relação aos materiais participantes da regeneração óssea, torna-se prudente a realização de estudos histológicos para avaliar as propriedades destes dois materiais utilizados de maneira independente ou em associação. A associação positiva do vidro bioativo, como material de preenchimento, à matriz dérmica acelular, como membrana, abriria novas possibilidades de tratamento em regeneração óssea guiada.

प्रोपोजिऑ

### 3 P r o p o s i ç ã o

O propósito deste trabalho foi avaliar, histologicamente, em cavidades cirúrgicas realizadas em tíbias de ratos:

- o papel da matriz dérmica acelular como membrana no reparo ósseo;
- o papel das partículas de vidro bioativo no reparo ósseo, e
- o papel das partículas de vidro bioativo protegidas pela membrana de matriz dérmica acelular no reparo ósseo.

material e  
método

## 4 Material e método

### 4.1 Animais

Utilizamos neste estudo, 64 ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar), com peso entre 350 e 400 gramas e idade aproximada de 120 dias, fornecidos pelo Biotério da UNESP – “Campus de Araçatuba” - SP. Esta pesquisa foi previamente aprovada pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba/Unesp (Anexo A). Os animais foram mantidos antes e durante o período experimental, com alimentação sólida e água ad libitum.

### 4.2 Grupos

Os animais foram divididos em 4 grupos, com 16 ratos em cada grupo:

- ?? Grupo I: Controle - cavidade cirúrgica sem material de preenchimento, apenas o coágulo sanguíneo (Cont);
- ?? Grupo II: Cavidade cirúrgica sem material de preenchimento e protegida pela matriz dérmica acelular<sup>⚡</sup> (Mda);
- ?? Grupo III: Cavidade cirúrgica preenchida com partículas de vidro bioativo<sup>⚡</sup> (Bv);
- ?? Grupo IV: Cavidade cirúrgica preenchida com partículas de vidro bioativo, e protegida pela matriz dérmica acelular (BvMda).

---

<sup>⚡</sup> AlloDerm – Life Cell Corp., The Woodlands, TX, EUA.

<sup>⚡</sup> BioGram – Orthovita, Malvern, PA, EUA.

### 4.3 Anestesia

Os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de tiopental sódico<sup>⚡</sup> preparado com 30ml de água destilada para cada 1g de sal do anestésico, sendo a dosagem de 0,2ml/100g de peso corporal.

### 4.4 Tratamento

Após a anestesia, foi realizada tricotomia na superfície anterior do membro posterior direito dos animais, seguida por anti-sepsia da área com polivinilpirolidona-iodado (PVPI).

Na seqüência, com uma lâmina de bisturi nº 15 montada em cabo de bisturi Bader-Parker, foi feita uma incisão longitudinal de 15mm de extensão (Figuras 4 e 5) aprofundando-se até o periósteo para que este pudesse ser deslocado juntamente com o tecido muscular, expondo-se, assim, a superfície óssea da face lateral da tibia (Figura 6).

Com broca esférica carbide nº 6, com 2mm de diâmetro, montada em "caneta" de alta rotação, sob refrigeração com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%, foram realizadas duas perfurações adjacentes e unidas entre si de maneira a obter uma cavidade de 2mm de largura por 4mm de comprimento (Figuras 7 e 8). Após a verificação das dimensões da cavidade, com auxílio de uma sonda milimetrada, as margens desta foram regularizadas utilizando-se um micro cinzel (Figura 9).

Os materiais de enxerto foram manipulados segundo as recomendações do fabricante:

**a. Matriz dérmica acelular:** a preparação e reidratação deste material foram de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante e por Silverstein & Callan (1997).<sup>95</sup> Primeiramente foi aberto o invólucro

---

<sup>⚡</sup> Thionembatal, Abbott, North Chicago, Illinois, EUA.

protetor (Figura 1), que abrigava a matriz dérmica, sendo o material removido assepticamente. O aloenxerto foi depositado em uma cuba estéril com solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% por 5 minutos, permitindo que o revestimento que cobre o lado da membrana basal se soltasse do mesmo. Com pinça e luvas estéreis, o revestimento foi descartado e o aloenxerto transferido para uma segunda cuba estéril contendo solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% por mais 5 minutos. Após a hidratação, a matriz dérmica acelular foi recortada em fragmentos com tamanho de 4 x 6mm e mantida em solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% até o momento de sua adaptação na área cirúrgica.

**b. Vidro bioativo:** a hidratação do material foi realizada em seu próprio recipiente, com solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9%, de modo que formasse uma liga entre as partículas, criando uma massa coesa que permitisse a adaptação adequada do material na cavidade cirúrgica (Figura 3).

Nos animais do Grupo I, as cavidades cirúrgicas não receberam material de preenchimento, sendo permitida a formação do coágulo sanguíneo, para que, na seqüência, o tecido muscular fosse reposicionado e suturado com suturas interrompidas simples e profundas com fio de poliglactina 5-0<sup>⚡</sup> (Figura 12). Em seguida, suturou-se a derme com suturas interrompidas simples e superficiais com fio de seda 4-0<sup>⚡</sup> (Figura 13).

Os animais do Grupo II tiveram suas cavidades cirúrgicas, depois de preenchidas com sangue, protegidas pela matriz dérmica acelular, de maneira que o lado da membrana basal ficasse voltado para o osso, e o lado do conjuntivo voltado para o tecido muscular, excedendo em um

---

<sup>⚡</sup> Polyvicryl 5-0, Ethicon, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>⚡</sup> Seda 4-0, Ethicon, São Paulo, SP, Brasil.

milímetro o perímetro do tamanho da cavidade cirúrgica (Figura 11). Os tecidos foram reposicionados sobre a matriz e suturados da mesma forma que no Grupo I. A sutura profunda do tecido muscular, foi passada transversalmente por sobre a membrana, de maneira a mantê-la estável recobrendo toda a cavidade óssea preparada e, em seguida, suturou-se as bordas externas da ferida.

As cavidades cirúrgicas dos animais do Grupo III foram preenchidas com partículas de vidro bioativo (Figura 10). Este material foi levado à cavidade com uma cureta tipo Lucas e levemente condensado em seu interior. Após o preenchimento, realizou-se a sutura de modo similar ao grupo I.

No Grupo IV, os animais tiveram as cavidades cirúrgicas preenchidas com as partículas de vidro bioativo de maneira semelhante ao Grupo III. Posteriormente, receberam a proteção da matriz dérmica acelular, a qual foi estabilizada similarmente à do Grupo II.



**FIGURA 1 - Embalagem estéril da matriz dérmica acelular.**



**FIGURA 2 - Matriz dérmica acelular com o lado da membrana basal voltado para cima.**



**FIGURA 3 - Partículas de vidro bioativo hidratadas.**

## Seqüência cirúrgica



**FIGURA 4** - Incisão no membro posterior direito do rato.



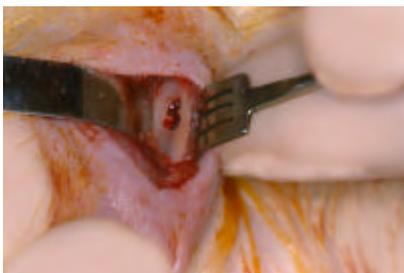
**FIGURA 5** - Tecidos incisados.



**FIGURA 6** - Afastamento do tecido muscular e exposição da face lateral da tibia.



**FIGURA 7** - Primeira perfuração na cortical óssea, invadindo o canal medular.



**FIGURA 8** - Segunda perfuração adjacente e unida à primeira.



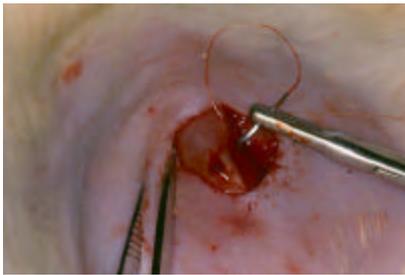
**FIGURA 9** - Cavidade cirúrgica regularizada e preenchida por sangue.



*FIGURA 10 – Caverna cirúrgica preenchida com partículas de vidro bioativo.*



*FIGURA 11 – Matriz dérmica acelular estabilizada sobre a caverna cirúrgica.*



*FIGURA 12 – Tecido muscular reposicionado por meio de suturas interrompidas simples e profundas.*



*FIGURA 13 – União das bordas externas da ferida por meio de suturas interrompidas simples superficiais.*

#### **4.5 Eutanásia**

Os animais receberam eutanásia por inalação excessiva de éter sulfúrico aos 10 e 30 dias pós-operatórios. Em seguida, a tíbia direita foi removida e dissecada de maneira a obter-se a porção que continha o local do preparo da caverna óssea, juntamente com os tecidos que a revestiam.

#### 4.6 Processamento

As peças obtidas foram identificadas e, então, colocadas em solução de formol neutro a 10% durante 24 horas. Em seguida, foram lavadas em água corrente por outras 24 horas e descalcificadas em solução de EDTA a 18%. Após a descalcificação, as peças foram novamente lavadas em água corrente durante 24 horas e desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina a vácuo. Cortes semi-seriados, com seis micrometros de espessura, foram realizados no sentido longitudinal. As lâminas foram montadas e coradas pelas técnicas da Hematoxilina e Eosina e do Tricrômico de Masson para análise qualitativa e quantitativa do tecido ósseo neoformado na área da cortical.

#### 4.7 Análise Histométrica

A análise histométrica, ou quantitativa, foi realizada com o auxílio do "software ImageLab 2000".<sup>⚡</sup> Para a aquisição das imagens utilizou-se uma câmera digital<sup>⚡</sup> acoplada a um microscópio<sup>⚡</sup> e conectada ao computador.

Após selecionarmos um corte histológico corado pelo Tricrômico de Masson de cada espécime, foram capturadas 2 ou 3 imagens de acordo com a necessidade de enquadramento da cavidade cirúrgica. Estas imagens foram capturadas num aumento de 50X e transferidas para o "software". Em seguida, a unidade de medida de "pixels" foi convertida para micrometros por meio de uma escala previamente padronizada presente no menu "Arquivo". Com a finalidade de obter uma imagem panorâmica do defeito cortical, as imagens foram reduzidas através da

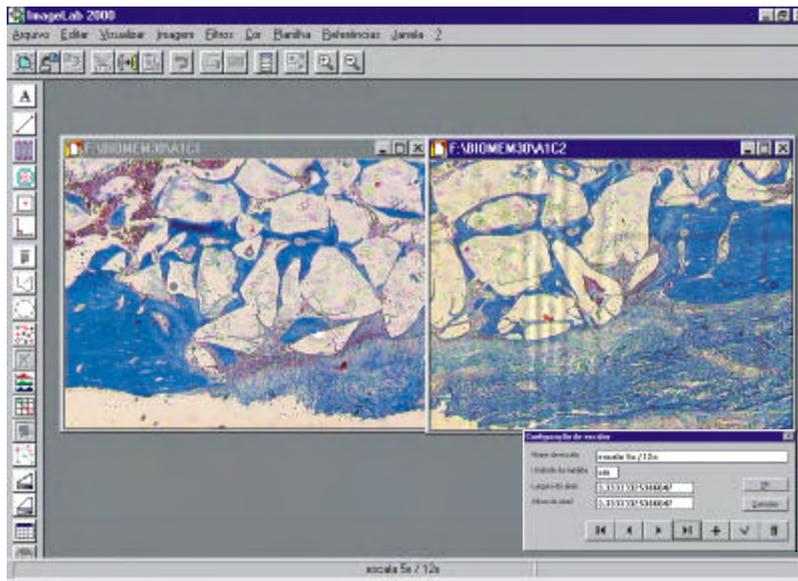
---

<sup>⚡</sup> Diracon 3

<sup>⚡</sup> JVC TK-1270 Color Vídeo Câmera

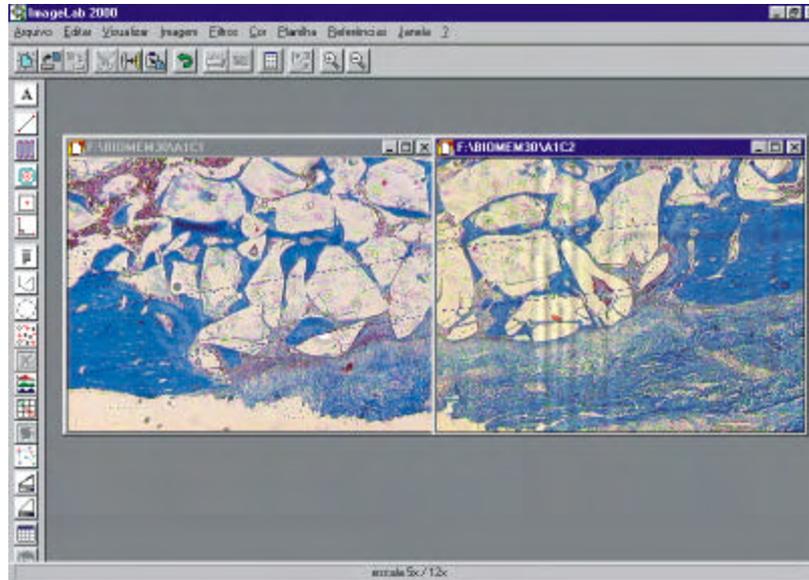
<sup>⚡</sup> Carl Zeiss - Axiolab

ferramenta “Zoom” de modo a posicioná-las uma ao lado da outra (Figura 14).



**FIGURA 14** - Imagem panorâmica do defeito cortical e escala para conversão de “pixels” em micrometros.

A seguir, em cada imagem, delimitamos apenas a área da cortical pré-existente com a ferramenta “Cálculos de Retas” localizada na “Barra de Atalhos”. Para tanto, a altura da margem da cortical situada à esquerda da tela, foi medida, e esta medida transferida ao longo do defeito, até atingir a outra margem da cortical. Então, duas retas foram traçadas, uma seguindo a superfície interna da cortical, e outra, a superfície externa (Figura 15).



**FIGURA 15 - Delimitação da suposta área da cortical pré-existente.**

Em cada imagem, a área delimitada foi avaliada selecionando-se o campo com a ferramenta "Selecionar Região", localizada na "Barra de Atalhos". Procedemos, então, com o "Cálculo de Regiões", com a área delimitada sendo representada por um valor numérico apresentado numa "Planilha de Cálculos". Este valor foi anotado como Área 1. Nas imagens seguintes, os mesmos passos foram realizados, obtendo-se a Área 2 e Área 3. Estes valores foram somados fornecendo a Área Total (Figura 16 e Figura 17).

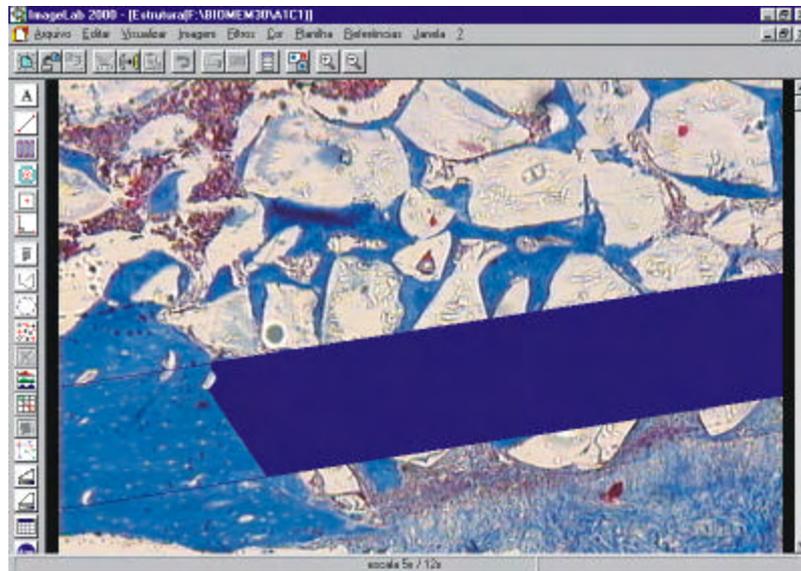


FIGURA 16 - Seleção da suposta área da cortical pré-existente.

<i>Dados Estatísticos</i>			
	MORFOMETRIA		
	Área	Perímetro	Fator de forma
Número:	1	1	1
Soma:	757923,500	4748,081	0,001
Média:	757923,500	4748,081	#DIV/0!
Desvio Padrão:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Valor Máximo:	757923,500	4748,081	0,001
Valor Mínimo:	757923,500	4748,081	0,001
Significância 5%:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Significância 1%:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

FIGURA 17 - Planilha de cálculos mostrando o valor da Soma anotado como Área 1.

Em seguida, como descrito anteriormente, selecionamos apenas o tecido ósseo formado na área da cortical previamente determinada. Foram utilizadas as mesmas ferramentas: "Selecionar Região", "Cálculo de

Regiões” e “Planilha de Cálculos” na seqüência. Os valores, obtidos em cada campo, foram chamados Osso 1, Osso 2 e Osso 3 e, somados, corresponderam ao Osso Total (Figura 18 e Figura 19).

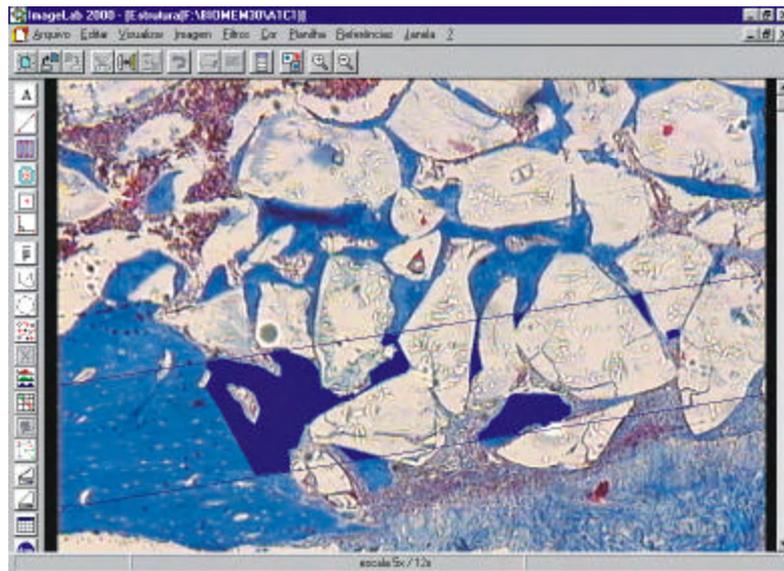


FIGURA 18 - Seleção do tecido ósseo neoformado na área da cortical delimitada.

<i>Dados Estatísticos</i>			
<b>MORFOMETRIA</b>			
	Área	Perímetro	Fator de forma
<b>Número:</b>	10	10	0
<b>Soma:</b>	155244,563	5353,903	0,000
<b>Média:</b>	15524,456	535,390	#DIV/0!
<b>Desvio Padrão:</b>	36262,559	912,937	#DIV/0!
<b>Valor Máximo</b>	115992,180	3026,284	0,000
<b>Valor Mínimo</b>	11,111	13,333	0,000
<b>Significância 5%</b>	22475,308	565,833	#DIV/0!
<b>Significância 1%</b>	29537,630	743,632	#DIV/0!

FIGURA 19 - Planilha de cálculos mostrando o valor da Soma anotado como Osso 1.

Para a obtenção do valor em porcentagem de osso neoformado na área da cortical delimitada, consideramos a Área Total da cortical como 100% e usando uma regra de três com o valor do Osso Total, calculamos a porcentagem de novo osso em cada corte histológico. Foram obtidos oito valores e a média destes determinou a porcentagem média de osso neoformado por grupo em cada período.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística.

#### **4.8 Análise estatística**

A análise estatística constituiu-se da análise de variância para a porcentagem de osso neoformado, com a finalidade de verificar se existia diferença entre grupos, períodos e interação grupo x período. Complementou-se posteriormente com o teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa SAS (Statistical Analysis System).

resultado

## 5 Resultado

### 5.1 Análise Histológica

Os resultados obtidos foram descritos em função do tempo pós-operatório e das ocorrências histomorfológicas observadas nos diferentes grupos experimentais.

#### 10 Dias

Grupo I (Cont). Em todos os espécimes a cavidade cirúrgica encontra-se preenchida por tecido ósseo imaturo, deixando amplo espaço intertrabecular. Entre as trabéculas observa-se, geralmente, tecido conjuntivo bem vascularizado e rico em fibroblastos (Figura 20). Junto à superfície externa da cavidade cirúrgica, evidencia-se delgada faixa de tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos e feixes de fibras colágenas orientadas paralelamente à parede óssea neoformada (Figura 21).

Grupo II (Mda). A cavidade cirúrgica encontra-se preenchida por tecido ósseo imaturo permitindo amplo espaço intertrabecular ocupado por tecido conjuntivo rico em fibroblastos (Figura 22) Entre a membrana e o tecido ósseo neoformado nota-se, em alguns casos, a presença de tecido conjuntivo pouco organizado, rico em fibroblastos, macrófagos e linfócitos (Figura 23). Esta formação conjuntiva é observada além do limite superior da cavidade cirúrgica, verificando-se neste caso, a formação óssea nas

proximidades da membrana (Figura 24). A membrana mostra também, pequenas áreas de reabsorção junto às bordas próximas ao tecido ósseo neoformado (Figura 25).

Grupo III (Bv). O material de preenchimento ocupa toda a extensão da cavidade cirúrgica, apresentando, ao redor, diferentes características. Em alguns casos, observa-se tecido conjuntivo rico em fibroblastos envolvendo o material (Figura 26). Em outros, nota-se tecido ósseo neoformado em íntimo contato com o implante (Figura 27). As trabéculas ósseas são imaturas em alguns espécimes e mais desenvolvidas em outros. A neoformação óssea ou conjuntiva, algumas vezes, ultrapassa o limite superior da cavidade cirúrgica com presença do material de implante.

Grupo IV (BvMda). O material de preenchimento, em alguns espécimes, encontra-se envolto por tecido ósseo bem desenvolvido. Entre a área ocupada pelo material e a membrana, observa-se tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos. Em outros casos, observa-se a neoformação óssea além do limite superior da cavidade cirúrgica (Figura 28), muitas vezes, em contato com a membrana utilizada, que sofreu reabsorção parcial (Figura 29). Por último, em um dos espécimes, observa-se entre o tecido ósseo neoformado e a membrana utilizada, delgada faixa de coágulo sangüíneo em organização (Figura 30).

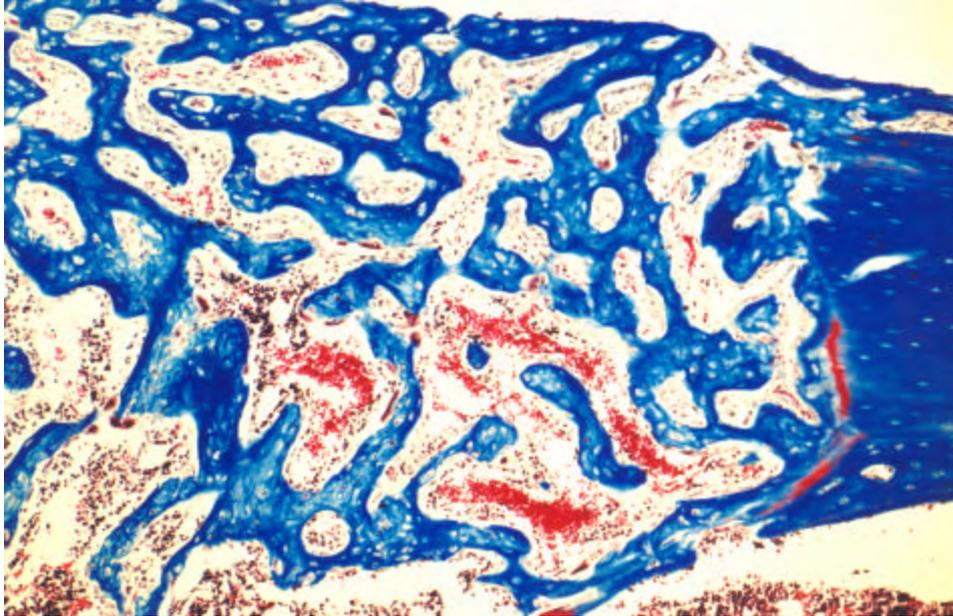


FIGURA 20 - Grupo I (Cont). 10 dias. Cavidade cirúrgica ocupada por trabéculas ósseas delgadas. Tricrômico de Masson. Original 63x.

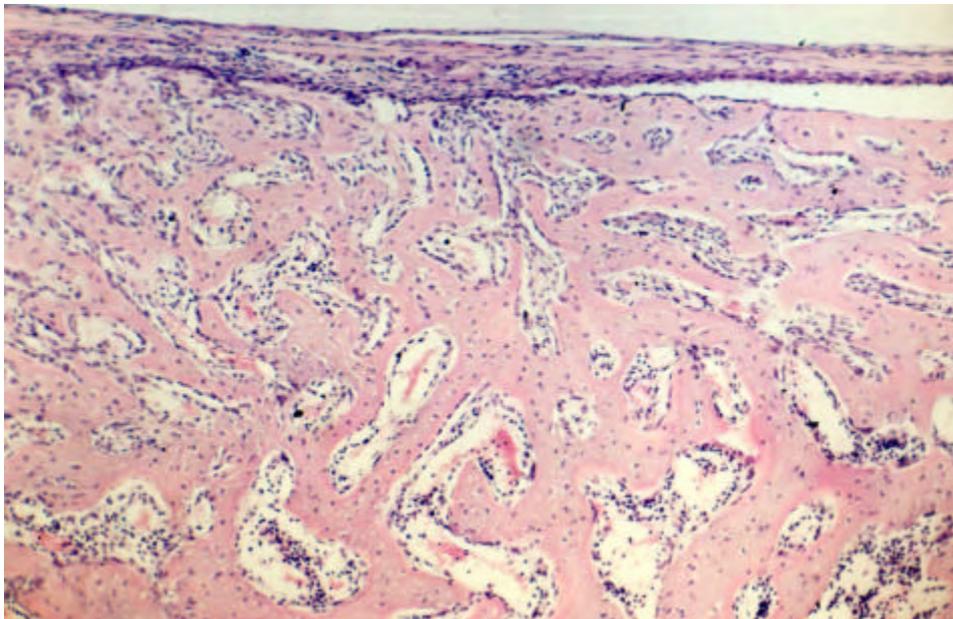


FIGURA 21 - Grupo I (Cont). 10 dias. Delgada faixa de tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos sobre a superfície externa da cavidade cirúrgica. HE. Original 63x.

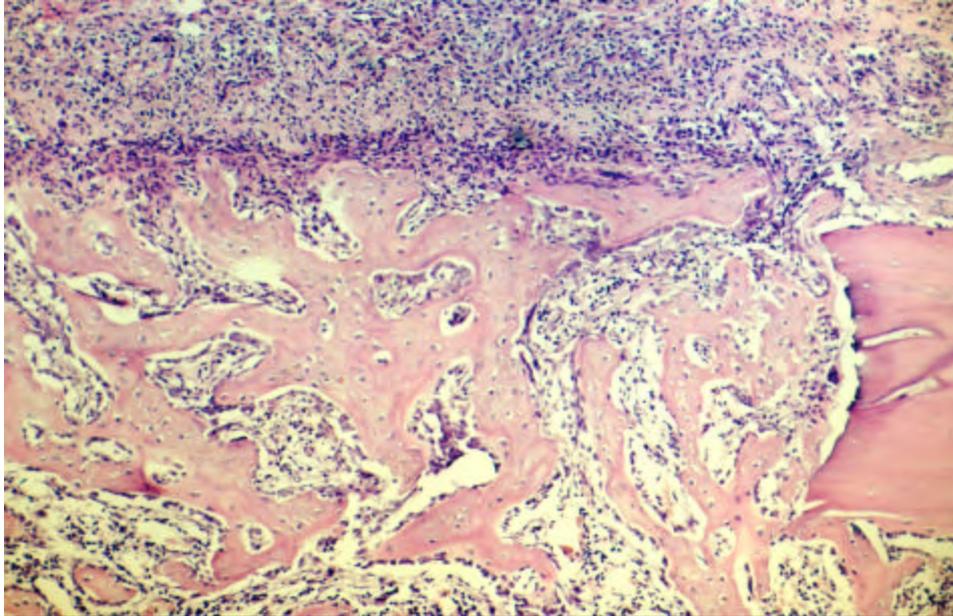


FIGURA 22 - Grupo II (Mda). 10 dias. Tecido ósseo imaturo com amplo espaço intertrabecular preenchendo a cavidade cirúrgica. HE. Original 63x.

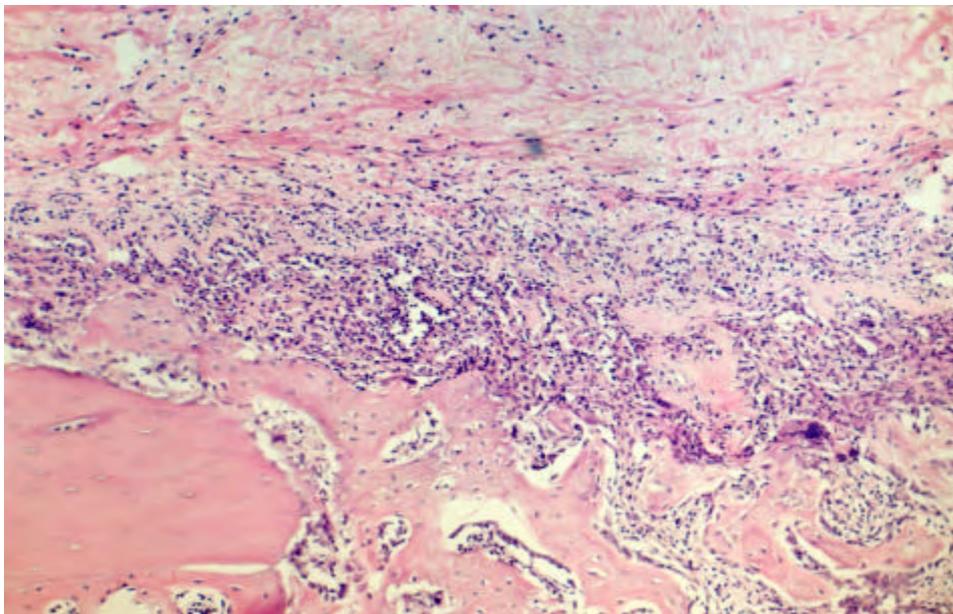


FIGURA 23 - Grupo II (Mda). 10 dias. Entre a membrana e o tecido ósseo neoformado evidencia-se tecido conjuntivo rico em fibroblastos, macrófagos e linfócitos. HE.Original 63x.

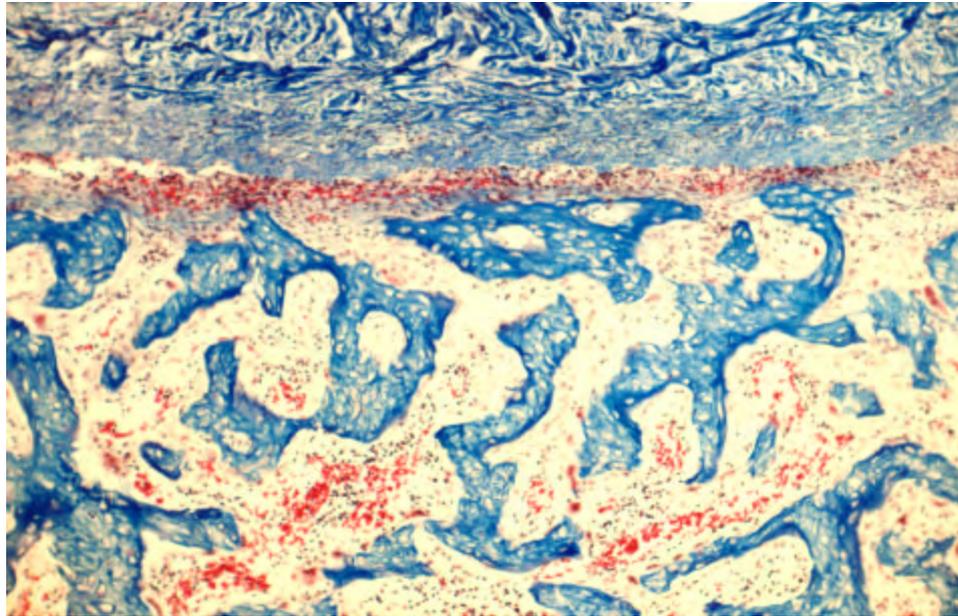


FIGURA 24 - Grupo II (Mda). 10 dias. Espécimes com a membrana situada próxima ao limite superior da cavidade cirúrgica com formação óssea. Tricrômico de Masson. Original 63x.

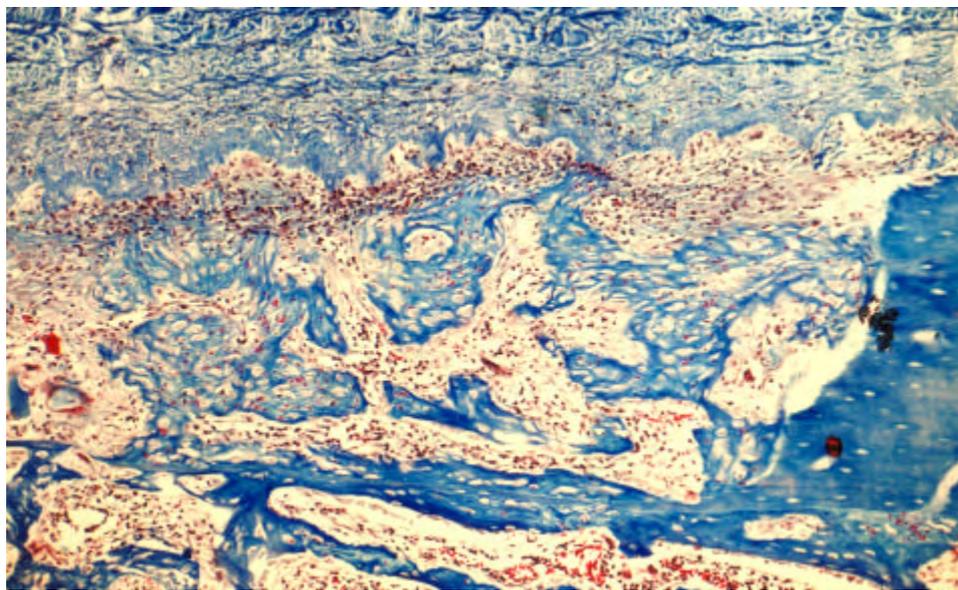


FIGURA 25 - Grupo II (Mda). 10 dias. Evidenciam-se pequenas áreas de reabsorção da membrana junto às bordas próximas ao tecido ósseo neoformado. Tricrômico de Masson. Original 63x.

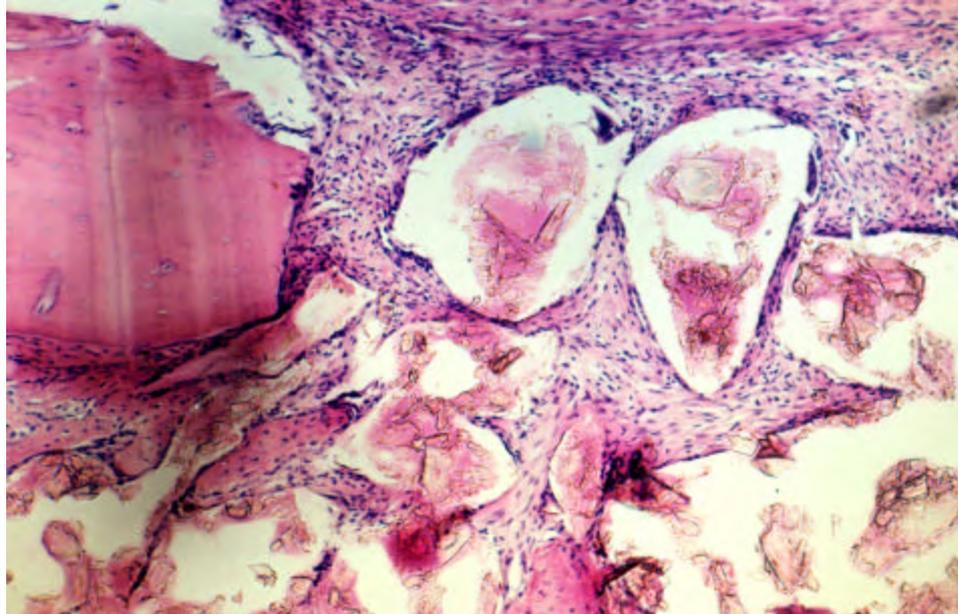


FIGURA 26 - Grupo III (Bv). 10 dias. Cavidade cirúrgica ocupada pelo implante, observando-se, nas proximidades, tecido conjuntivo rico em fibroblasto. HE. Original 63x.

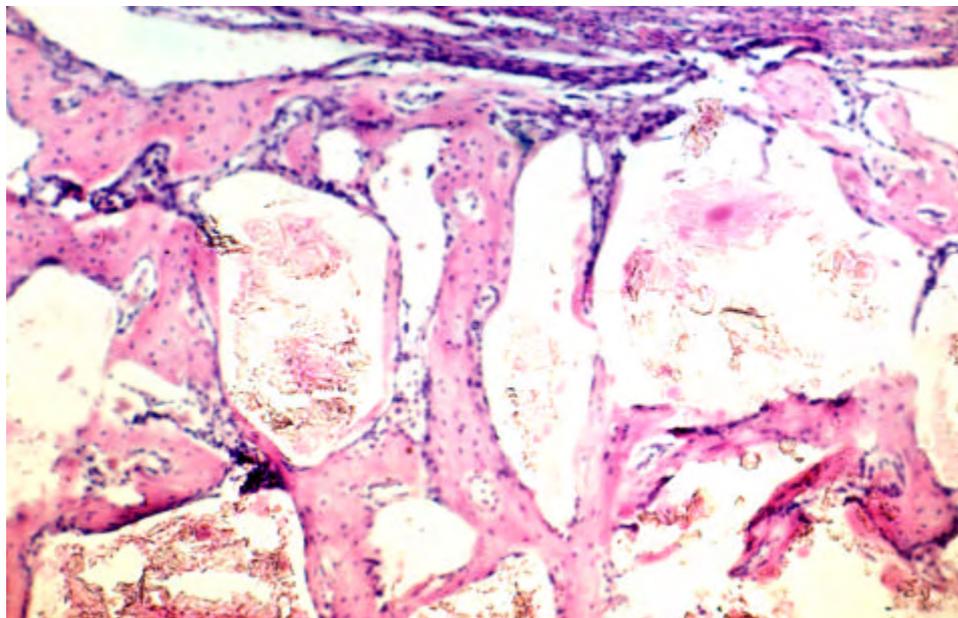


FIGURA 27 - Grupo III (Bv). 10 dias. Tecido ósseo neoformado em contato com o implante. HE. Original 63x.

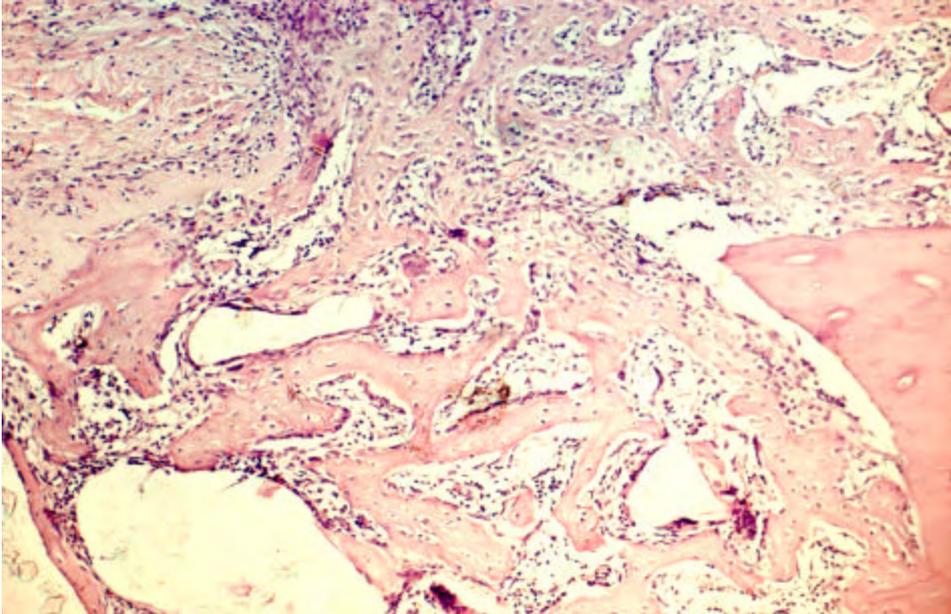


FIGURA 28 - Grupo IV (BvMda). 10 dias. Neof ormação óssea além do limite superior da cavidade cirúrgica. HE. Original 63x.

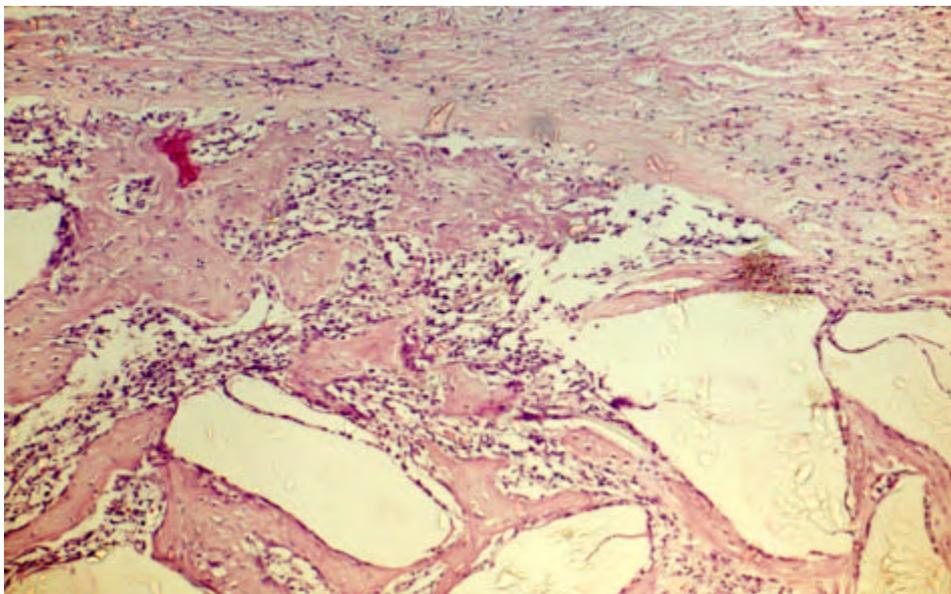


FIGURA 29 - Grupo IV (BvMda). 10 dias. Áreas de reabsorção da membrana e substituição por tecido ósseo neof ormado. HE. Original 63x.

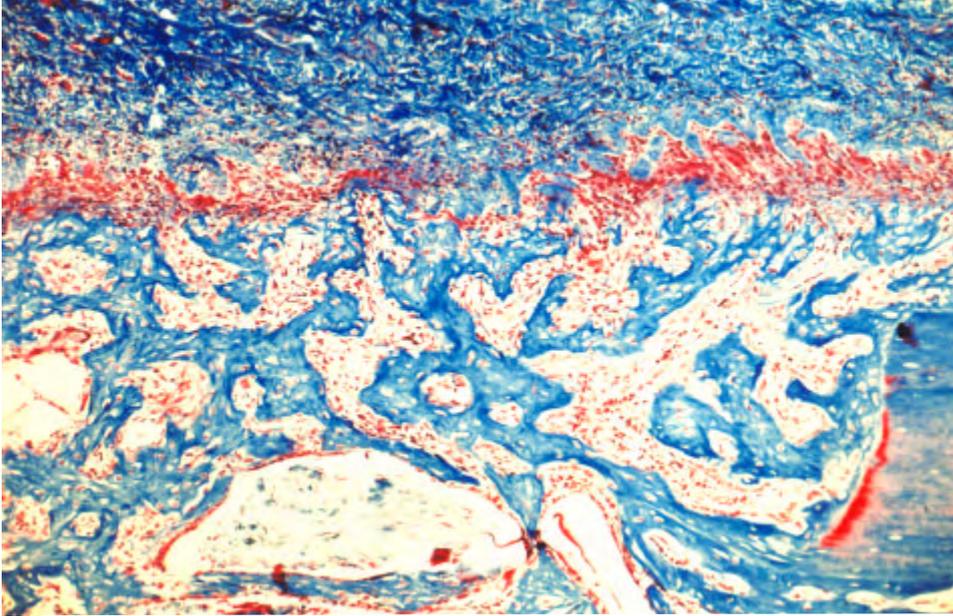


FIGURA 30 - Grupo IV (BvMda). 10 dias. Faixa de coágulo sangüíneo em organização entre a membrana e o tecido ósseo neoformado. Tricrômico de Masson. Original 63x.

### 30 Dias

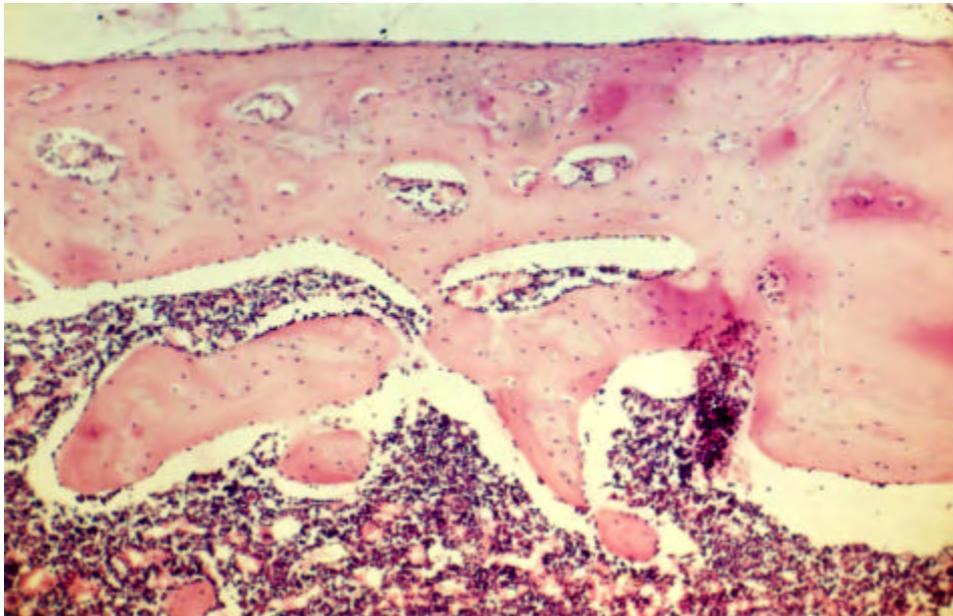
Grupo I (Cont). A cavidade cirúrgica, em todos os espécimes, encontra-se reparada por tecido ósseo desenvolvido. Em alguns casos, observa-se redução da espessura de tecido ósseo (Figura 31). Em outros, a espessura da parede óssea encontra-se praticamente mantida (Figura 32). Em todos os espécimes, observa-se a restituição do canal medular.

Grupo II (Mda). Em alguns espécimes, a parede óssea encontra-se totalmente reparada por tecido ósseo bem desenvolvido (Figura 33) e, em outros, observa-se trabéculas óssea menos desenvolvidas (Figura 34). Em ambos os casos, separando o tecido ósseo neoformado e a membrana implantada, nota-se a presença de tecido conjuntivo pouco organizado (Figuras 33 e 34). Neste tecido conjuntivo, são evidenciados pequenos feixes de fibras colágenas, orientadas paralelamente à superfície da cavidade cirúrgica. Na parte situada mais próxima à cavidade cirúrgica, a membrana parece sofrer gradual reabsorção e substituição por tecido conjuntivo (Figura 34).

Grupo III (Bv). O material de implante encontra-se ao longo de toda extensão da cavidade cirúrgica, notando-se, em contato, tecido ósseo bem desenvolvido ou tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 35). Muitas vezes o implante acha-se localizado além do limite superior da cavidade cirúrgica, permitindo a formação de tecido conjuntivo ou de tecido ósseo nas suas proximidades (Figura 36). Em alguns casos, evidencia-se grande quantidade de partículas, ocupando praticamente a totalidade da cavidade cirúrgica, separadas por delgadas camadas de trabéculas ósseas ou tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura

37). Em todos os espécimes, evidencia-se a permanência de pequenos espaços medulares.

Grupo IV (BvMda). Na maioria dos espécimes, o material de preenchimento ocupa a cavidade cirúrgica até o seu limite superior. Em alguns casos, entre as partículas do vidro bioativo, observa-se tecido ósseo bem desenvolvido (Figura 38) e, outras vezes, tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos. Entre o material de preenchimento e a membrana, encontra-se, por vezes, uma estreita faixa de tecido conjuntivo pouco desenvolvido. A membrana, quase sempre, encontra-se reabsorvida junto às bordas mais próximas ao material de preenchimento e substituída por tecido conjuntivo neoformado (Figura 39). Em alguns espécimes, no entanto, a membrana acha-se diretamente em contato com as partículas de vidro bioativo.



**FIGURA 31 - Grupo I (Cont). 30 dias. Cavidade cirúrgica reparada, evidenciando-se a redução da espessura do tecido ósseo. Tricrômico de Masson. Original 63x.**

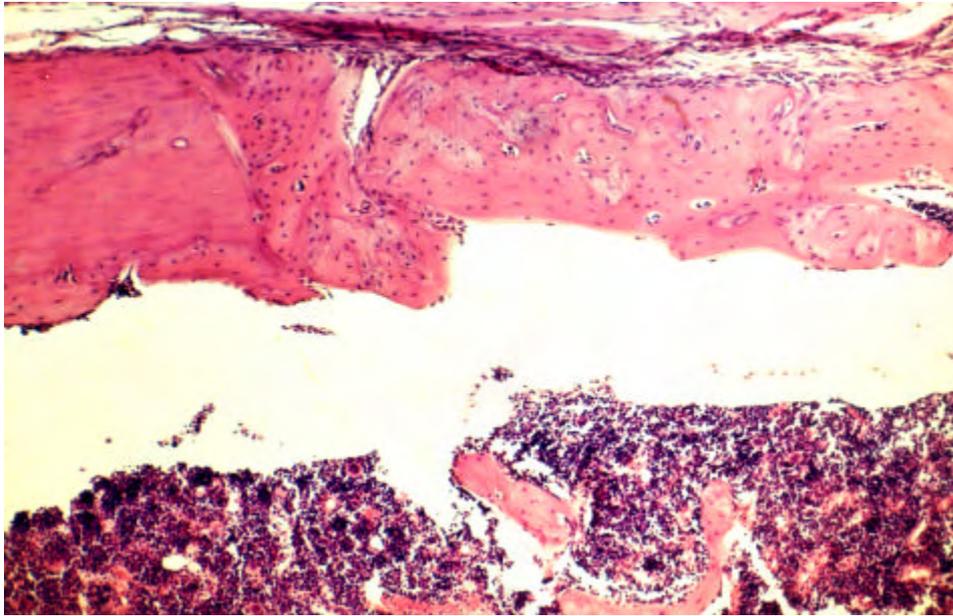


FIGURA 32 - Grupo I (Cont). 30 dias. Cavidade cirúrgica reparada, praticamente mantendo a espessura do tecido ósseo. HE. Original 63x.

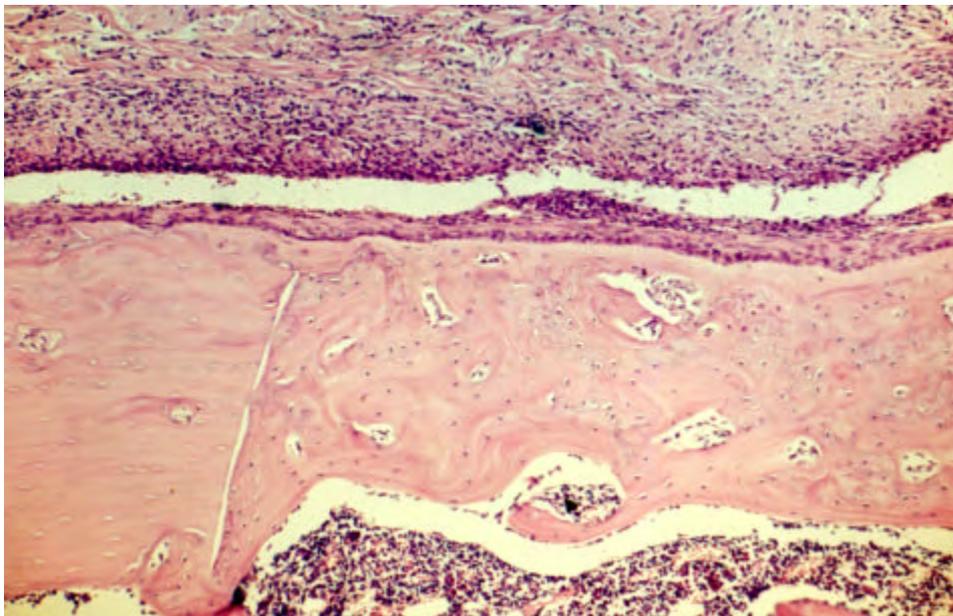
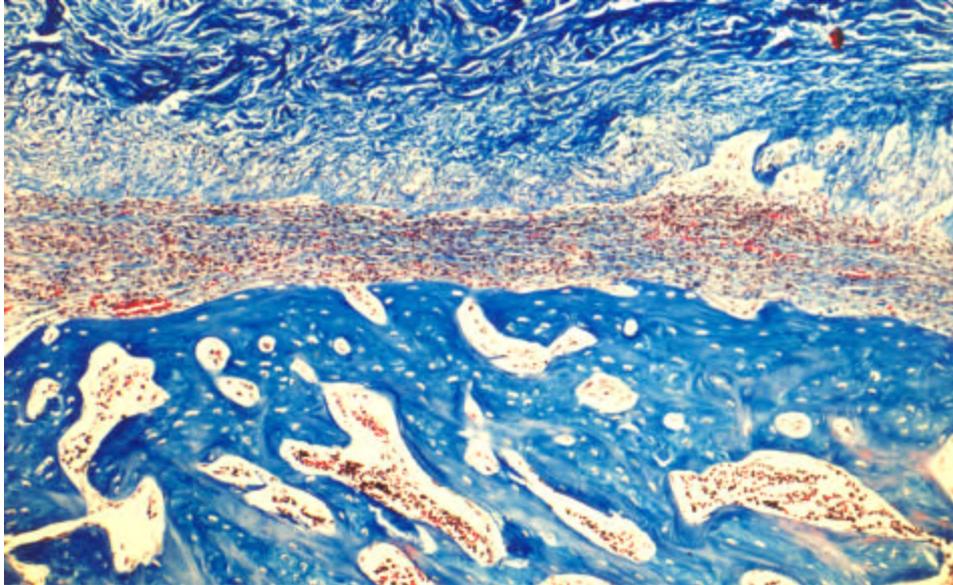
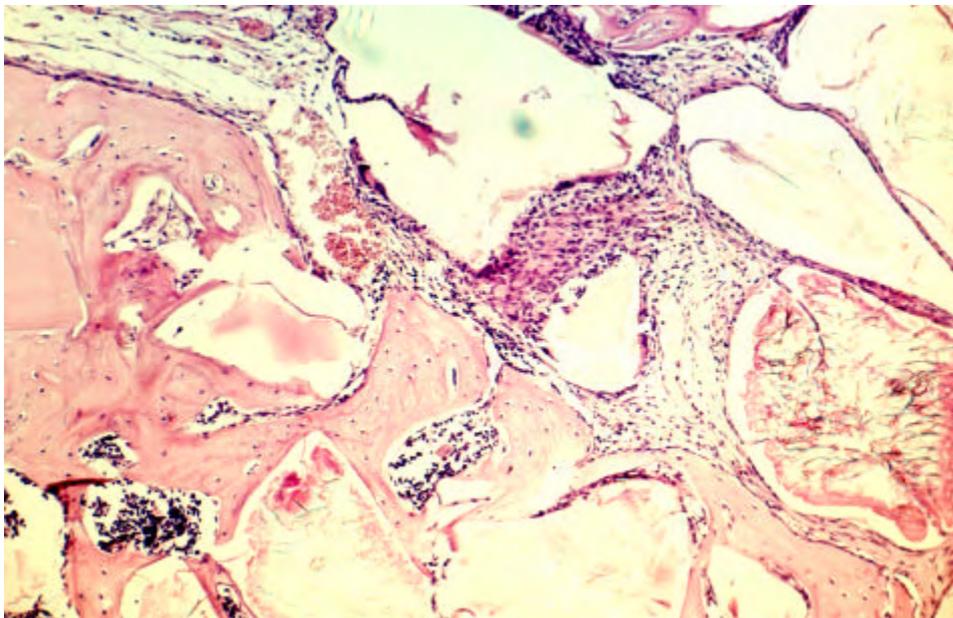


FIGURA 33 - Grupo II (Mda). 30 dias. Parede óssea totalmente reparada e separada da membrana por tecido conjuntivo pouco diferenciado. HE. Original 63x.



*FIGURA 34 – Grupo II (Mda). 30 dias. A membrana parece sofrer gradual reabsorção e substituição por tecido conjuntivo.  
Tricrômico de Masson. Original 63x.*



**FIGURA 35 – Grupo III (Bv). 30 dias. Cavidade cirúrgica ocupada pelo implante, notando-se, nas proximidades, tecido ósseo neoformado e tecido conjuntivo sem diferenciação óssea.  
HE. Original 63x.**

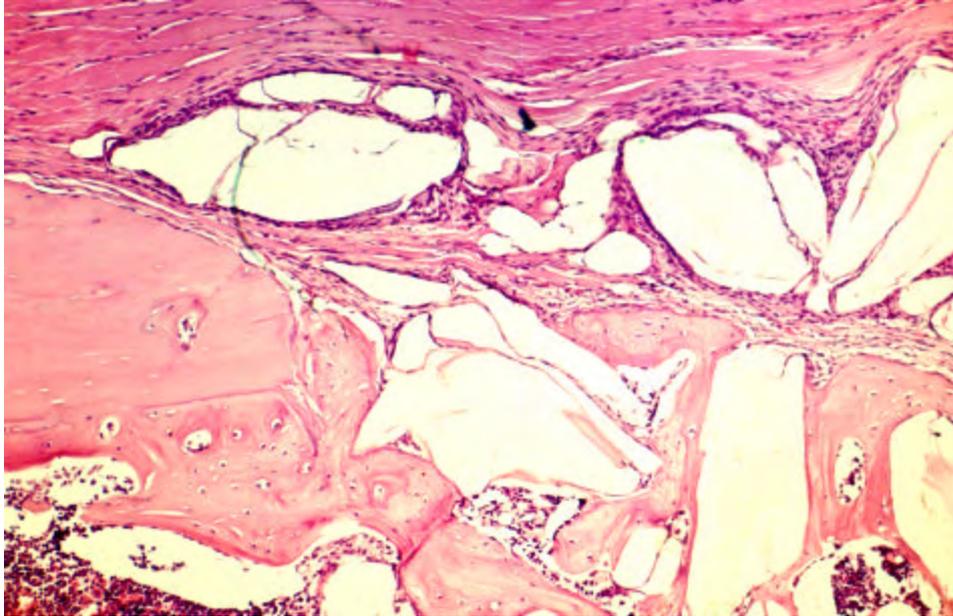


FIGURA 36 - Grupo III (Bv). 30 dias. Parte do implante situado além do limite superior da cavidade cirúrgica, observando-se tecido conjuntivo bem desenvolvido. HE. Original 63x.

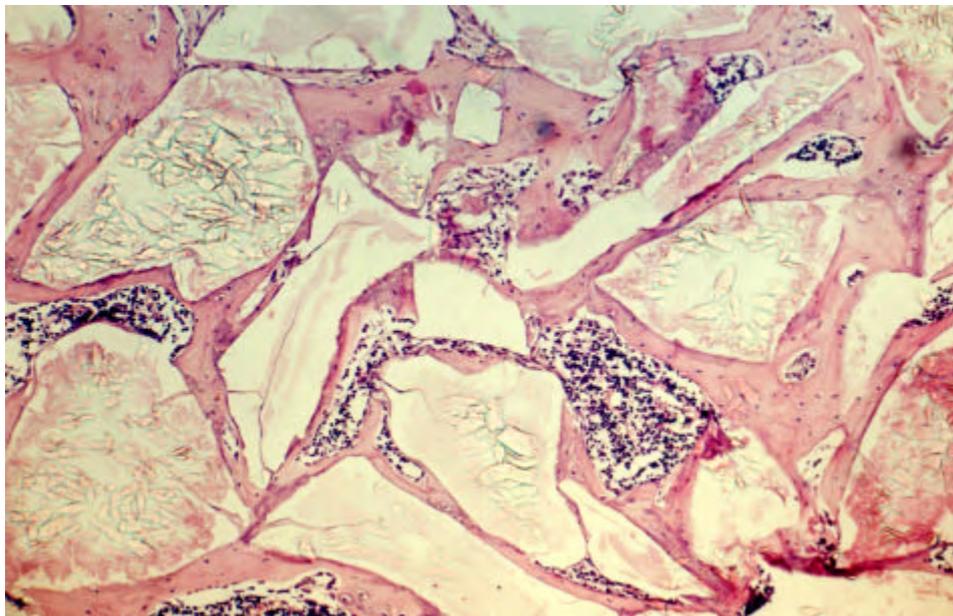


FIGURA 37 - Grupo III (Bv). 30 dias. Material ocupando praticamente toda cavidade cirúrgica e separado por delgadas trabéculas ósseas bem diferenciadas. HE. Original 63x.

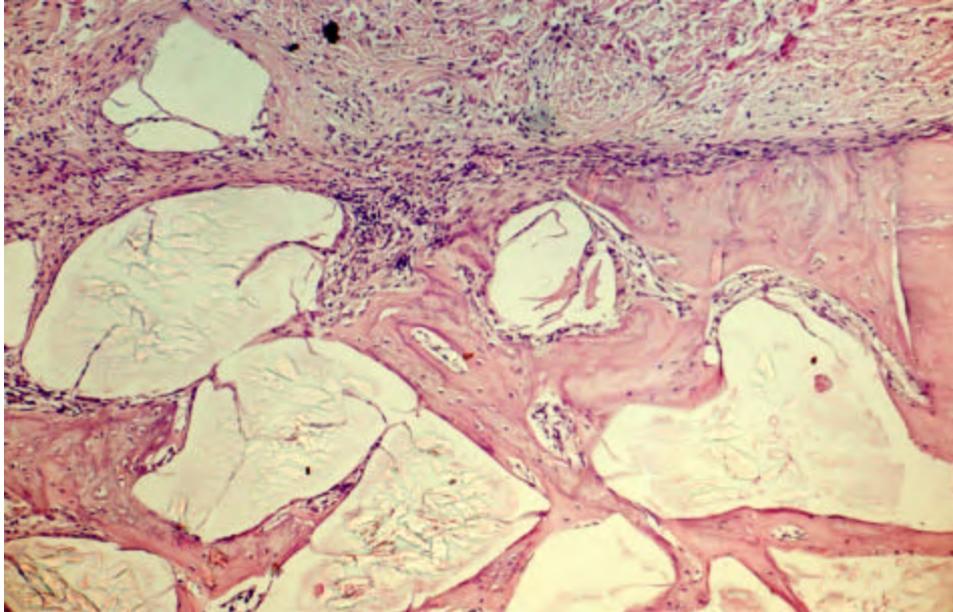


FIGURA 38 - Grupo IV (BvMda). 30 dias. Mostrando o material de implante separado por tecido ósseo bem desenvolvido. HE. Original 63x.

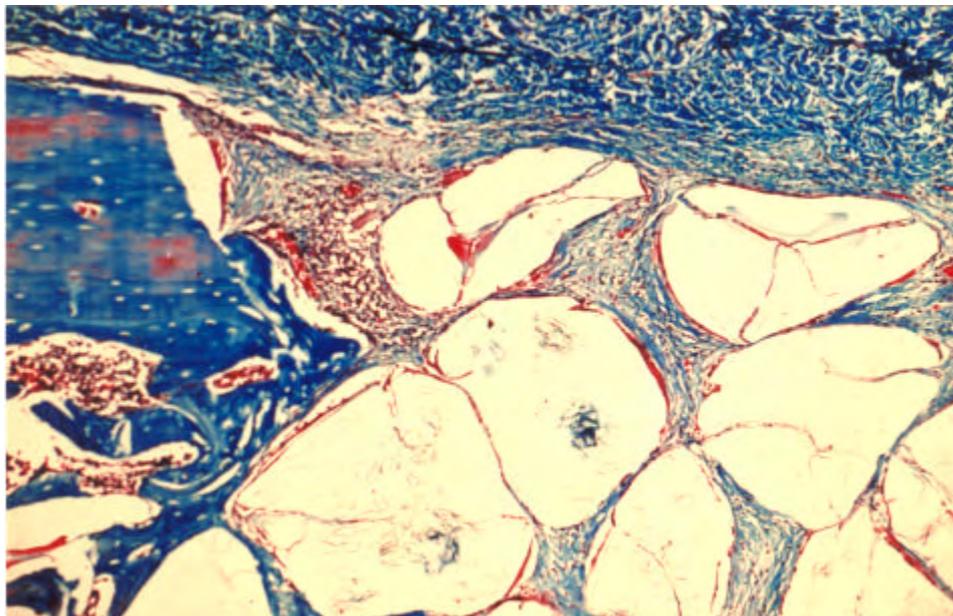


Figura 39 - Grupo IV (BvMda). 30 dias. Observa-se o contato direto entre o implante e a membrana implantada. Tricrômico de Masson. Original 63x.

## 5.2 Análise Histométrica

Com a análise histométrica, obtivemos a porcentagem de tecido ósseo neoformado na área do defeito da cortical previamente delimitada em cada uma das imagens (Anexo B).

Obtidos os valores médios de porcentagem de osso neoformado para cada grupo, seguimos com a aplicação da análise de variância com a finalidade de verificar se existia diferença entre grupos (Cont, Mda, Bv, BvMda), períodos (10 dias e 30 dias) e interação grupo x período. Complementando-se posteriormente com o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

A análise de variância mostrou haver diferença estatística entre os grupos, períodos, além de uma interação entre grupo e período (Tabela 1).

O teste de Tukey identificou as diferenças dentro de cada grupo, período e a interação. De acordo com o teste, o grupo controle foi estatisticamente semelhante ao grupo da matriz dérmica acelular, sendo que ambos apresentaram diferenças significativas entre os grupos do vidro bioativo e da matriz dérmica acelular associada ao vidro bioativo, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Com relação aos períodos, os grupos controle, matriz dérmica acelular e vidro bioativo apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre 10 e 30 dias. Contudo, houve interação grupo X período, com o grupo do vidro bioativo associado à matriz dérmica acelular não diferindo estatisticamente entre os dois períodos (Tabela 2).

O gráfico 1 ilustra a comparação entre os valores das médias encontrados nos grupos, nos períodos de 10 e 30 dias (Figura 40).

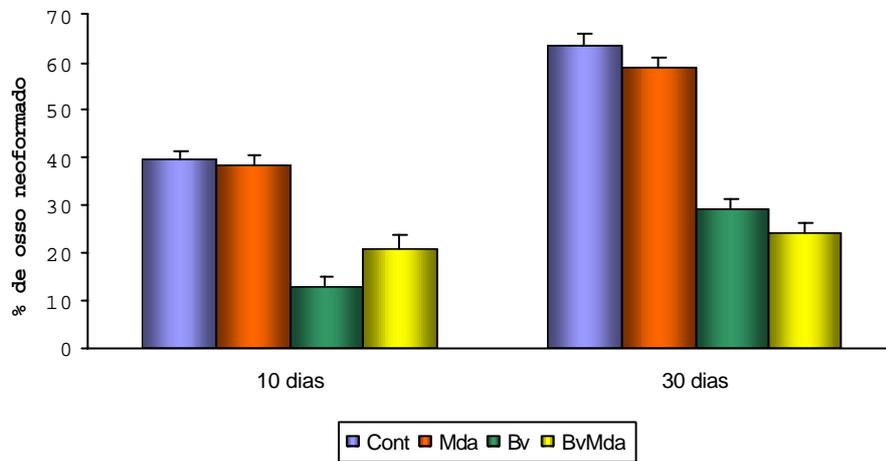


FIGURA 40- Porcentagem média de osso neoformado por grupo em cada período e respectivo erro padrão da média.

O gráfico 2 ilustra a variação entre os valores das médias nos dois períodos avaliados em cada grupo separadamente (Figura 41).

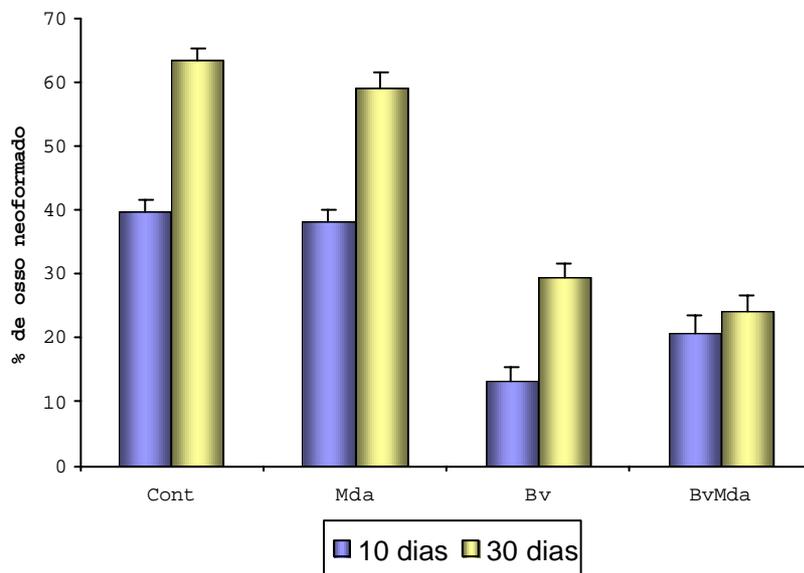


FIGURA 41 - Porcentagem média de osso neoformado por período em cada grupo e respectivo erro padrão da média.

**Tabela 1 - Análise de variância para porcentagem de osso neoformado**

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Valor F	P > F
Grupo	3	12748,34	4249,46	105,09	< 0,0001
Período	1	4146,72	4146,72	102,55	< 0,0001
Grupo x Período	3	958,65	319,55	7,90	0,0002
Resíduo	56	2264,35	40,43	?	?
Total	63	20118,05	?	?	?

**Tabela 2 - Média e desvio padrão da média da porcentagem de osso neoformado, para os grupos e períodos**

Grupo	Período		Total
	10 dias	30 dias	
Cont	39,65 ? 5,63 aB	63,34 ? 5,22 aA	51,50 ? 13,31
Mda	38,12 ? 5,53 aB	58,96 ? 7,05 aA	48,54 ? 12,38
Bv	13,10 ? 6,29 bB	29,50 ? 5,56 bA	21,30 ? 10,23
BvMda	20,72 ? 8,31 bA	24,19 ? 6,69 bA	22,46 ? 7,51
Total	27,90 ? 13,06	44,00 ? 18,55	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% (P > 0,05)

discussão

## 6 D i s c u s s ã o

A ocorrência de defeitos ósseos resultantes de doença ou trauma é um achado freqüente na prática odontológica. A reconstrução de um tecido ósseo injuriado ou perdido pode ocorrer por reparo ou por regeneração. O resultado final do processo de reparo é uma cicatriz fibrosa, enquanto o produto final da regeneração é um tecido ósseo com características e comportamentos idênticos ao tecido original (Spector, 1999).<sup>97</sup>

Em defeitos ósseos pequenos, a cicatrização ocorrerá sem evidência de que tenha ocorrido uma injúria prévia. No entanto, em casos de defeitos grandes, ou seja, com tamanho crítico, é comum ocorrer uma cicatrização incompleta, resultando um reparo fibroso parcial e, conseqüentemente, o tecido ósseo não é restaurado ao seu estado original, possuindo propriedades físicas e mecânicas muito inferiores às do tecido íntegro (Schimitz & Hollinger, 1986;<sup>88</sup> Spector, 1999).<sup>97</sup>

A este respeito, em 1957, Murray et al.<sup>60</sup> relataram que a presença do coágulo e de tecido ósseo vital com osteoblastos preservados era de fundamental importância para a neoformação óssea.

Nos últimos vinte anos, o estudo da regeneração das estruturas periodontais influenciou o desenvolvimento das terapias ósseas regenerativas. A regeneração óssea guiada cria um ambiente adequado para a ocorrência da regeneração do tecido ósseo por meio do selamento da área do defeito com uma membrana. A colocação da membrana impede que o tecido conjuntivo frouxo seja formado na área a ser regenerada, facilitando a seleção de células com potencial osteogênico provenientes dos canais harversiano e de Volkmann, e

principalmente do endóstio (Dahlin et al., 1988;<sup>16</sup> Dahlin et al., 1990;<sup>15</sup> Buser et al., 1996).<sup>8</sup>

Mas, além do selamento da área do defeito, a membrana utilizada em regeneração óssea guiada deve criar um espaço no qual o coágulo seja mantido estável e livre de deformações. Desta maneira, quando o coágulo é mantido estável, ocorre a diferenciação dele em tecido de granulação rico em vasos sanguíneos. Acompanhando os vasos, estão as células osteoprecursoras derivadas dos espaços medulares que, quando ativadas, darão origem aos osteoblastos. Estas células passam a secretar matriz óssea, dando origem às trabéculas, as quais avançam entre os vasos sanguíneos, circundando-os e fundindo-se novamente, delimitando o espaço intertrabecular. Neste processo, será formado o osso embrionário ou osso esponjoso primário, que será modelo para o osso cortical e o osso esponjoso. A estrutura esponjosa secundária, ou osso esponjoso, é formada por meio da ampliação do espaço medular conseqüente à reabsorção do osso esponjoso primário e pela presença de trabéculas compostas por osso embrionário e por osso de fibras paralelas, substituídas gradativamente por osso lamelar. Já a formação e a maturação do osso cortical ocorrem por transformação gradual do osso embrionário em osso lamelar, sendo que os espaços intertrabeculares atingem o tamanho dos canais corticais regulares, surgindo os canais de Harvers ou ósteons primários. Após sua formação, o osso cortical é submetido à última fase de diferenciação, chamada remodelagem haversiana. Aparecem canais de reabsorção a serem preenchidos por lamelas concêntricas, originando os ósteons secundários. Por fim, perióstio e endóstio são restaurados, assumindo suas atividades modeladoras do osso regenerado. Durante a modelagem, pode-se verificar osteoclastos como sinal de reabsorção ativa, ou lacunas

de Howship, como sinal de reabsorção latente. Já a presença de osteoblastos indica aposição óssea, a qual é seguida por período de latência, caracterizado por uma superfície óssea plana com colágeno incorporado como fibras de Sharpey na matriz óssea mineralizada (Schenk, 1996).<sup>82</sup>

Para a avaliação do processo cicatricial de defeitos ósseos preenchidos ou não com vidro bioativo e protegidos ou não pela matriz dérmica acelular, no presente experimento, empregamos como modelo experimental o rato, uma vez que os trabalhos em animais são ideais para a avaliação da regeneração óssea, principalmente pelo fator da reprodutibilidade.

A execução do procedimento cirúrgico envolveu a realização de uma incisão de modo que o tecido muscular e o perióstio pudessem ser deslocados, expondo-se a superfície óssea da face lateral da tíbia. Embora o tecido muscular, normalmente, sofra algum grau de traumatismo durante a incisão e o seu deslocamento, este fato parece não comprometer o resultado, pois de acordo com Landry et al. (2000),<sup>47</sup> a injúria provocada pela remoção de aproximadamente 10% do músculo da tíbia de ratos não interferiu no processo de cicatrização óssea.

Com relação ao perióstio, uma vez deslocado juntamente com o retalho e isolado ou não da área por uma membrana, ele deixa de participar diretamente do processo regenerativo. Neste caso, apenas as células osteoprogenitoras derivadas do endóstio e do espaço medular participam da regeneração. Segundo Melcher (1976),<sup>56</sup> animais adultos possuem uma única camada de células osteoprogenitoras compondo o perióstio, sendo que um trauma cirúrgico provocaria a perda de sua capacidade osteogênica. Em 2000, Weng et al.<sup>109</sup> constataram que o

periósteo não contribui para formação de novo tecido ósseo quando deslocado da superfície óssea durante um procedimento cirúrgico convencional em animais adultos.

Para a determinação das dimensões da cavidade cirúrgica preparada na tibia do animal, de 4mm de comprimento por 2mm de largura, levamos em consideração a anatomia do osso empregado e o trabalho de Lewandrowski et al. (1999),<sup>49</sup> os quais constataram que defeitos de 3mm de diâmetro em tibias de ratos eram de tamanho crítico, ou seja, não cicatrizavam espontaneamente.

As avaliações qualitativa e quantitativa foram realizadas na área da cortical óssea, uma vez que a restauração da arquitetura normal do osso da tibia implica na regeneração da cortical óssea e na reabsorção do osso formado no interior do canal medular frente ao trauma. Nestas avaliações, verificamos que o grupo controle e que o grupo protegido pela matriz dérmica acelular foram os que apresentaram melhor desempenho, não diferindo estatisticamente entre si.

O Grupo I apresentava a cavidade cirúrgica preenchida por tecido ósseo imaturo e com amplo espaço intertrabecular aos 10 dias. Já aos 30 dias, houve um aumento significativo na quantidade de tecido ósseo na região da cortical, observando-se que a cavidade cirúrgica estava totalmente reparada por tecido ósseo bem desenvolvido. Em todos os espécimes ocorreu a restituição do canal medular. A análise histométrica mostrou que a porcentagem média de neoformação óssea neste grupo foi de 39,65% aos 10 dias e 63,34% aos 30 dias.

A análise histométrica do Grupo II mostrou uma formação óssea de 38,12% e 58,96% aos 10 e 30 dias respectivamente. Este resultado não diferiu estatisticamente do Grupo I em relação à quantidade de tecido

ósseo neoformado. Contudo, aos 30 dias, a análise qualitativa mostrou que nem todos os espécimes possuíam a parede óssea totalmente reparada, sendo que em alguns eram observadas trabéculas ósseas menos desenvolvidas. O atraso na regeneração pode ser devido à nutrição do defeito tornar-se unilateral com o uso da membrana, em particular, nos estágios iniciais da cicatrização. Isto, por sua vez, fornece a idéia de um ligeiro prejuízo ao invés de ganho de formação óssea, principalmente, em períodos pós-operatórios curtos, o que poderia ser diferente em casos de defeitos maiores e acompanhados por mais tempo.

Entre a membrana implantada e o osso neoformado, verificou-se a presença de tecido conjuntivo pouco organizado tanto aos 10 quanto aos 30 dias. A presença deste tecido conjuntivo não desqualificou o desempenho da membrana nesta pesquisa, uma vez que os resultados assemelharam-se aos do grupo controle. De acordo com Shenk (1996),<sup>82</sup> o tecido conjuntivo que fica interposto à membrana e o osso é derivado da medula óssea, sendo bastante vascularizado, com o número de vasos aumentando em direção a superfície óssea. Em nosso experimento, ainda que o tecido conjuntivo interposto à membrana e o defeito tenha sido proveniente do tecido conjuntivo externo à membrana, não nos parece ter prejudicado o reparo, pois a necessidade biológica de uma membrana totalmente oclusiva não foi claramente comprovada. Linde et al. (1993)<sup>50</sup> verificaram maior quantidade de formação óssea em áreas cobertas com uma membrana porosa de politetrafluoretileno expandido, que permitia a penetração de tecido conjuntivo através de suas paredes, do que em áreas com membrana do mesmo material só que mais oclusiva.

Alguns estudos afirmam que a matriz dérmica acelular não é reabsorvida e sim incorporada ao leito receptor, uma vez que ocorrem a

revascularização da matriz através dos canais vasculares preservados no aloenxerto e o seu repovoamento por fibroblastos e queratinócitos, observando-se, ainda, fibras de elastina não comuns à cavidade bucal mesmo após um ano da implantação do material (Wainwright et al., 1996;<sup>107</sup> Silverstein, 1997;<sup>94</sup> Silverstein & Callan, 1997;<sup>95</sup> Silverstein & Duarte, 1998;<sup>96</sup> Harris, 1998;<sup>34</sup> Harris, 2000).<sup>31</sup> No entanto, em nossa pesquisa, observamos a reabsorção parcial e substituição da matriz por tecido de granulação aos 30 dias. Estes achados estão de acordo com o estudo realizado por Richardson & Maynard (2002),<sup>79</sup> os quais constataram por meio de uma biópsia da parte da matriz dérmica acelular enxertada subepitelialmente e em contato com a raiz do dente, que a porção mais apical deste aloenxerto era reabsorvida e substituída por tecido conjuntivo, notando-se que o tamanho da matriz dérmica passou de 10mm para 2,7mm após 16 semanas de sua implantação. A porção mais coronária da matriz dérmica acelular não mostrou sinais de revascularização ou de substituição por tecido conjuntivo, sendo verificada a presença de fibras elásticas, indicando possível incorporação desta porção da matriz. Este fato foi também observado por Cirulli et al. (1999),<sup>13</sup> os quais afirmam que a matriz dérmica acelular foi completamente reabsorvida e substituída por tecido conjuntivo em 10 semanas quando utilizada como substituta ao tecido do palato.

Vários pesquisadores utilizaram a matriz dérmica acelular como membrana sobre tecido ósseo a ser regenerado, comprovando a capacidade desta matriz na proteção de enxertos ósseos e do coágulo, mesmo quando exposta à cavidade bucal. A possibilidade de utilização desta membrana em áreas onde o fechamento primário não é possível, constitui-se a grande vantagem da matriz dérmica acelular sobre as

demais membranas empregadas em regeneração óssea guiada, pois estas, quando expostas ao meio bucal, estão sujeitas à infecção e, conseqüentemente, diminuição do potencial regenerativo (Shulman, 1998;<sup>92</sup> Fowler et al., 2000;<sup>22</sup> Fowler et al., 2000;<sup>23</sup> Novaes Júnior & Souza, 2001;<sup>65</sup> Batista Júnior & Batista, 2001).<sup>6</sup>

Observa-se que é cada vez maior o desafio da ciência médica na busca de um material que participe do processo de cicatrização dos tecidos perdidos por patologias ou traumas. Além disso, este material deve apresentar propriedades que possibilitem que o mesmo seja reabsorvido, dando lugar ao tecido neoformado, ou que seja incorporado sem prejuízos às funções do tecido cicatrizado.

A análise histológica do Grupo III, nos períodos de 10 e 30 dias, mostrou que o material implantado estava presente em toda extensão da cavidade cirúrgica, em contato com tecido ósseo ou tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. O tecido ósseo neoformado, no interior da cavidade, tornou-se mais desenvolvido com o decorrer do tempo, associado a um aumento significativo na quantidade de novo osso entre os dois períodos: passando de 13,10%, aos 10 dias, para 29,50%, aos 30 dias. Como demonstrado por outros autores, o aumento da quantidade óssea ao redor das partículas do vidro bioativo confirma o potencial osteocondutivo deste material (Schepers et al., 1991;<sup>86</sup> Schepers et al., 1993;<sup>84</sup> Schepers & Ducheyne, 1997;<sup>83</sup> Oonishi et al., 1997;<sup>71</sup> Schepers et al., 1998;<sup>85</sup> Furusawa et al., 1998;<sup>26</sup> Wheeler et al., 1998;<sup>111</sup> Oonishi et al., 1999;<sup>69</sup> MacNeill et al., 1999;<sup>55</sup> Oonishi et al., 2000;<sup>70</sup> Piattelli et al., 2000).<sup>74</sup> Entretanto, em nenhum dos períodos, observou-se formação de nichos no interior das partículas onde novo osso seria depositado, ou seja, não constatamos a ocorrência da osteoestimulação verificada em outros

trabalhos (Schepers et al., 1991;<sup>86</sup> Schepers et al., 1993;<sup>84</sup> Schepers & Ducheyne, 1997;<sup>83</sup> Oonishi et al., 1997;<sup>71</sup> Schepers et al., 1998;<sup>85</sup> Furusawa et al., 1998;<sup>26</sup> Wheeler et al., 1998;<sup>111</sup> Oonishi et al., 1999;<sup>69</sup> MacNeill et al., 1999;<sup>55</sup> Oonishi et al., 2000).<sup>70</sup> À semelhança de Piattelli et al. (2000),<sup>74</sup> em nosso experimento não observamos a formação de nichos ósseos no interior das partículas, o que pode ser explicado pelo curto período de avaliação (30 dias) em comparação aos demais estudos.

Os valores do Grupo III obtidos com a análise histométrica foram significativamente inferiores aos valores médios de osso neoformado dos Grupos I e II. Acreditamos que uma das causas relacionada ao desempenho inferior deste grupo, no período avaliado, seja a presença das partículas no interior do canal medular, impedindo que este seja restituído, prejudicando, assim, a nutrição no processo de regeneração da cortical.

Wheeler et al. (1997)<sup>112</sup> constataram que defeitos ósseos de 20mm no rádio de coelhos preenchidos com vidro bioativo apresentaram maior taxa de formação óssea nas primeiras 4 semanas do que os espécimes sem preenchimento. Contudo, em um período de 8 semanas, o grupo controle apresentava a mesma quantidade de osso neoformado do grupo com vidro bioativo, indicando que a ação deste material aloplástico foi mais efetiva nos estágios iniciais da cicatrização. Além disso, em áreas do defeito sem crescimento ósseo, foi observada a presença de fibras colágenas ao redor das partículas de biovidro, sendo que estas fibras poderiam ser indicativas de desenvolvimento de matriz para futura mineralização e formação óssea. Os autores indicam ainda a utilização de uma membrana onde o biovidro é implantado em defeitos de osso cortical a fim de que a contenção das partículas na cavidade seja

melhorada. Em nosso experimento, a quantidade de osso neoformado no Grupo III (Bv) foi bastante inferior ao do Grupo I (Cont) aos 30 dias, observando-se também a presença de tecido conjuntivo em contato com as partículas de vidro bioativo.

Cancian et al. (1999)<sup>11</sup> verificaram que cavidades de tamanho crítico preparadas em mandíbulas de macacos e preenchidas com vidro bioativo foram totalmente reparadas com a formação de novo osso após 180 dias, ao passo que cavidades sem preenchimento não mostraram formação óssea. Segundo os pesquisadores, o vidro bioativo foi bastante reabsorvido e substituído por osso, notando-se que as partículas remanescentes estavam em íntimo contato com osso. Em nosso estudo, não observamos o reparo da cortical aos 30 dias, pois, neste mesmo período, as partículas não apresentavam sinais de reabsorção.

MacNeill et al. (1999)<sup>55</sup> compararam as partículas de vidro bioativo ao enxerto de osso autógeno em defeitos de 2,7mm de diâmetro criados na tibia de coelhos e utilizaram como controle defeitos sem preenchimento. Os resultados apontaram maior formação de tecido ósseo nos defeitos preenchidos com enxerto autógeno, enquanto os espécimes implantados com vidro bioativo e sem preenchimento não diferiram estatisticamente entre si em relação à quantidade de novo osso. Os autores não observaram evidência de reabsorção das partículas aos 28 dias, confirmando nossa observação de que as partículas não haviam sido reabsorvidas até 30 dias. Apesar dos autores afirmarem que não observaram diferenças estatisticamente significantes na quantidade de formação óssea entre os grupos com vidro bioativo e sem preenchimento, acreditamos que possa haver diferença na metodologia de análise histométrica entre este e o nosso estudo, uma vez que as partículas não

reabsorvidas, as quais não foram por nós consideradas, estariam ocupando locais, onde o osso neoformado estaria presente.

Wheeler et al. (2000)<sup>110</sup> constataram a efetividade das partículas de vidro bioativo implantadas em defeitos críticos preparados no fêmur de coelhos. Desta forma, os espécimes que receberam o biovidro 45S5 tinham quantidade de osso semelhante ao osso intacto aos 4, 8 e 12 meses, sendo que os espécimes que não receberam material de preenchimento tiveram quantidade estatisticamente menor de formação óssea. No entanto, nossos resultados foram bastante diferentes como já mencionado. Neste caso teríamos como ponto fundamental o tempo do experimento, em que o nosso mais longo foi de 30 dias, permanecendo as partículas do vidro bioativo ocupando o lugar do novo osso antes que fossem reabsorvidas. Como demonstrado por Tadjedin et al. (2000),<sup>101</sup> a completa reabsorção e substituição por osso das partículas de biovidro ocorreram após 16 meses da implantação.

Porém, os resultados de uma pesquisa realizada por Schmitt et al. (1997)<sup>87</sup> assemelham-se aos nossos achados, uma vez que, em nosso experimento, nenhum espécime preenchido com biovidro teve sua cortical reparada. Os autores compararam o reparo ósseo promovido pelo osso mineral poroso ao reparo promovido pelo vidro bioativo em cavidades com 20mm, preparadas em radio de coelhos. Os resultados mostraram superioridade do osso mineral poroso sobre o biovidro, de maneira que após quatro semanas da implantação do vidro bioativo ainda não havia ocorrido a união óssea entre as bordas do defeito cortical e após oito semanas, em apenas um dos seis defeitos, ocorreu a união óssea reparando a cortical.

Como proposto por Wheeler et al. (1997),<sup>112</sup> optamos por proteger o enxerto de vidro bioativo com a matriz dérmica acelular posicionada sobre a cavidade cirúrgica, a fim de que as partículas não se deslocassem e que fosse impedida a migração de células indesejáveis no reparo ósseo.

Em nosso experimento, aos 10 dias, na maioria dos espécimes do Grupo IV, as partículas estavam envoltas por tecido conjuntivo bem desenvolvido. Aos 30 dias, em alguns espécimes, as partículas estavam envoltas por tecido ósseo, e em outros, por tecido conjuntivo com moderado número de fibroblastos. Em alguns dos espécimes, à semelhança do observado no Grupo II do presente trabalho, a membrana mostrava sinais de reabsorção junto às bordas e substituição por tecido conjuntivo pouco organizado. A análise quantitativa não mostrou diferença estatística de formação óssea entre os dois períodos, sendo a porcentagem média de novo osso 20,72% aos 10 dias e 24,19% aos 30 dias.

Acreditamos que um dos fatores que possa ter acarretado a baixa quantidade de neoformação óssea, entre os períodos de 10 e 30 dias, no Grupo IV, esteja relacionado à diminuição do suprimento sangüíneo pela presença de partículas no interior do canal medular, como suposto no grupo III, e à interposição da membrana entre a cavidade e o tecido mole como sugerimos ter ocorrido no Grupo II. Além disso, podemos supor também que a matriz dérmica acelular tenha colabado, em alguns espécimes, em maior intensidade sobre as partículas do que no Grupo II, prejudicando a neoformação óssea na área entre as bordas da cortical óssea. Segundo Schmitt et al. (1997),<sup>87</sup> o vidro bioativo não parece totalmente efetivo em prevenir o prolapso dos tecidos moles, fato que pode ser correlacionado aos nossos resultados.

Os resultados do presente trabalho nos mostram que os materiais empregados são biocompatíveis. A matriz dérmica acelular exerceu o papel de membrana ao isolar o defeito ósseo. Além disso, mostrou sinais de reabsorção e de substituição por tecido conjuntivo, adquirindo as mesmas características deste tecido como quando empregada na criação e/ou aumento de gengiva inserida (Shulman, 1996;<sup>93</sup> Silverstein, 1997;<sup>94</sup> Silverstein & Callan, 1997;<sup>95</sup> Silverstein & Duarte, 1998;<sup>96</sup> Callan & Silverstein, 1998;<sup>9</sup> Harris, 1998;<sup>34</sup> Shulman, 1998;<sup>92</sup> Peacock et al., 1999;<sup>73</sup> Haeri & Serio., 1999;<sup>30</sup> Cirulli et al., 1999;<sup>13</sup> Tal, 1999;<sup>102</sup> Harris, 2000;<sup>31</sup> Fowler & Breault, 2000;<sup>21</sup> Wei et al., 2000;<sup>108</sup> Harris, 2001;<sup>33</sup> Novaes Júnior et al., 2001;<sup>65</sup> Aichelmann-Reidy et al., 2001;<sup>3</sup> Novaes Júnior & Souza, 2001;<sup>66</sup> Batista Júnior & Batista, 2001).<sup>6</sup> Da mesma maneira, o vidro bioativo não desencadeou reações adversas durante o processo de cicatrização como demonstrado pelo íntimo contato entre as partículas e os tecidos ósseo e conjuntivo (Hench et al., 1971;<sup>40</sup> Hench & Paschal, 1973;<sup>38</sup> Hench & Paschal, 1974;<sup>39</sup> Piotrowski et al., 1975;<sup>75</sup> Hench, 1980;<sup>35</sup> Hench & Ethridge, 1982;<sup>37</sup> Hench & Wilson, 1984;<sup>41</sup> Hench, 1986;<sup>36</sup> Schepers et al., 1991;<sup>86</sup> Schepers et al. 1993;<sup>84</sup> Low et al., 1997;<sup>53</sup> Oonish et al., 1997;<sup>71</sup> Shapoff et al., 1997;<sup>91</sup> Schepers & Ducheyne, 1997;<sup>83</sup> Schepers et al., 1998;<sup>85</sup> Cancian et al., 1999;<sup>11</sup> MacNeill et al., 1999).<sup>55</sup> Portanto, frente aos nossos resultados e aos da literatura, consideramos encorajador o desenvolvimento de outras pesquisas com estes materiais empregados em outros modelos experimentais, bem como em defeitos ósseos de diferentes tamanhos e formatos.

conclusão

## 7 Conclusão

Dentro dos limites deste trabalho, concluímos que:

- ?? A matriz dérmica acelular apresentou biocompatibilidade e foi capaz de isolar a cavidade cirúrgica, comprovando sua capacidade de ser empregada como membrana no processo de reparo sem interferir significativamente na formação óssea.
- ?? O vidro bioativo mostrou-se biocompatível, tendo em vista que as partículas estavam interpostas ao tecido ósseo neoformado, acarretando menor grau de formação óssea.
- ?? O emprego da matriz dérmica acelular como proteção do vidro bioativo não assegurou um resultado superior ao do grupo em que o vidro bioativo foi utilizado sem a proteção de uma membrana.

# referências bibliográficas

## 8 Referências Bibliográficas

1. ACHAUER, B. M., VANDERKAM, V. M., CELIKOZ, B., JACOBSON, D. G. Augmentation of facial soft-tissue defects with alloderm dermal graft. *Ann. Plast. Surg.*, v.41, n.5, p.503-7, 1998.
2. AICHELMANN-REIDY, M. E., YUKNA, R. A. Bone replacement grafts: the bone substitutes. *Dent. Clin. North Am.*, v.42, n.3, p.491-503, 1998.
3. AICHELMANN-REIDY, M. E., YUKNA, R. A., EVANS, G. H., NASR, H. F., MAYER, E. T. Clinical evaluation of acellular allograft dermis for the treatment of human gingival recession. *J. Periodontol.*, v.72, n.8, p.998-1005, 2001.
4. ANDEREGG, C. R., ALEXANDER, D. C., FREIDMAN, M. A bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. *J. Periodontol.*, v.70, n.4, p.384-7, 1999.
5. BARBOZA, E., CAÚLA, A. L. Regeneração tecidual e óssea guiada. In: CARDOSO, R. J. A, GONÇALVES, E. A. N. *Periodontia, cirurgia, cirurgia para Implantes*. São Paulo: Artes Médicas, 2002. p.137-57.
6. BATISTA JÚNIOR, E. L., BATISTA, F. C. Managing soft tissue fenestrations in bone grafting surgery with an acellular dermal matrix: a case report. *Int. J Oral Maxillofac. Implants*, v.16, n.6, p.875-9, 2001.
7. BECKER, W., BECKER, B. E. Treatment of mandibular 3-wall intrabony defects by flap debridement and expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes. Long-term evaluation of 32 treated patients. *J. Periodontol.*, v.64, n.11, suppl., p.1138-44, 1993.

8. BUSER, D., DAHLIN, C., SCHENK, R. K. (Eds) Regeneração óssea guiada em implantodontia. Chicago: Quintessence, 1996. 269p.
9. CALLAN, D. P., SILVERSTEIN, L. H. Use of acellular dermal matrix for increasing keratinized tissue around teeth and implants. *Pract. Periodontics Aesthet. Dent.*, v.10, n.6, p.731-4, 1998.
10. CAMARGO, P. M., LEKOVIC, V., WEINLAENDER, M., KLOKKEVOLD, P. R., KENNEY, E. B., DIMITRIJEVIC, B., NEDIC, M., JANCOVIC, S., ORSINI, M. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.90, n.5, p.581-6, 2000.
11. CANSIAN, D. C., HOCHULI-VIEIRA, E., MARCANTONIO, R. A., MARCANTONIO, E. Use of biogran and calcitite in bone defects: histologic study in monkeys (*Cebus apella*). *Int J. Oral Maxillofac. Implants*, v.14, n.6, p.859-64, 1999.
12. CASTAGNOLI, C., STELLA, M., MAGLIACANI, G., ALASIA, S. T., RICHIARD, P. Anomalous expression of HLA class II molecules on keratinocytes and fibroblasts in hypertrophic scars consequent to thermal injury. *Clin. Exp. Immunol.*, v.82, n.2, p.350-4, 1990.
13. CIRULLI, M., SCARANO, A., ARTESE, L., DI MUZIO, M., PIATTELLI, M., ROCCI, A., CIAVARELLI, L., PIATTELLI, A. Clinical, histological and ultrastructural aspects of AlloDerm in implant dentistry. *J Dent Res*, v.78, sp. iss., p.495, 1999. (Abstract 3116)
14. CONSENSUS report periodontal regeneration around natural teeth (World Workshop in Periodontics). *Ann. Periodontol.*, v.1, n.1, p.667-70, 1996.

15. DAHLIN, C., GOTTLow, J., LINDE, A., NYMAN, S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique: an experimental study in monkeys. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, v.24, n.1, p.13-9, 1990.
16. DAHLIN, C., LINDE, A., GOTTLow, J., NYMAN, S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.81, n.5, p.672-6, 1988.
17. DURAIswAMY, N., TSE, Y., HAMMERBERG, C., KANG, S., COOPER, K.D. Distinction of Class II MHC<sup>+</sup> Langerhans cell-like interstitial dendritic antigen-presenting cells in murine dermis from dermal macrophages. *J. Invest. Dermatol.*, v.103, n.5, p.678-83, 1994.
18. EVIAN, C. I., ROSENBERG, E. S., COSLET, J. G., CORTH, H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J. Periodontol.*, v.53, n.2, p.81-5, 1982.
19. FETNER, A. E., HARTIGAN, M. S., LOW, S. B. Periodontal repair using Perioglas in nonhuman primates: clinical and histologic observations. *Compendium*, v.15, n.7, p.932-8, 1994.
20. FOWLER, E. B., BREAUlt, L. G. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: a case report. *J. Contemp. Dent. Pract.*, v.2, n.3, p.31-40, 2001.
21. FOWLER, E. B., BREAUlt, L. G. Root coverage with an acellular dermal allograft: a three-month case report. *J. Contemp. Dent. Pract.*, v.1, n.3, p.47-59, 2000.
22. FOWLER, E. B., BREAUlt, L. G., REBITSKI, G. Ridge preservation utilizing an acellular dermal allograft and demineralized freeze-dried bone allograft: Part I. A report of 2 cases. *J. Periodontol.*, v.71, n.8, p.1353-9, 2000.

23. FOWLER, E. B., BREAUULT, L. G., REBITSKI, G. Ridge preservation utilizing an acellular dermal allograft and demineralized freeze-dried bone allograft: Part II. Immediate endosseous implant placement. *J. Periodontol.*, v.71, n.8, p.1360-4, 2000.
24. FROUM, S. J., WEINBERG, M. A., TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects: a clinical study. *J. Periodontol.*, v.69, n.6, p.698-709, 1998.
25. FURUSAWA, T., MIZUNUMA, K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. *Implant Dent.*, v.6, n.2, p.93-101, 1997.
26. FURUSAWA, T., MIZUNUMA, K., YAMASHITA, S., TAKANASHI, T. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*, v.13, n.5, p.627-6, 1998.
27. GHER, M. E., WILLIAMS, J. E., VERNINO, A. R., STRONG, D. M., PELLEU, G. B. Evaluation of the immunogenicity of freeze-dried skin allografts in humans. *J. Periodontol.*, v.51, n.10, p.571-7, 1980.
28. GHEYSEN, G., DUCHEYNE, P., HENCH, L. L., DE MEESTER, P. Bioglass composites: a potential material for dental application. *Biomaterials*, v.4, n.2, p.81-4, 1983.
29. HAERI, A., PARSELL, D. Creeping attachment: autogenous graft vs dermal matrix allograft. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, v.21, n.9, p.725-9, 2000.
30. HAERI, A., SERIO, F. G. Mucogingival surgical procedures: a review of the literature. *Quintessence Int.*, v.30, n.7, p.475-83, 1999.

31. HARRIS, R. J. A comparative study of root coverage obtained with an acellular dermal matrix versus a connective tissue graft: Results of 107 recession defects in 50 consecutively treated patients. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.20, n.1, p.51-9, 2000.
32. HARRIS, R. J. Acellular dermal matrix used for root coverage: 18-month follow-up observation. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.22, n.2, p.156-63, 2002.
33. HARRIS, R. J. Clinical evaluation of 3 techniques to augment keratinized tissue without root coverage. *J Periodontol.*, v.72, n.7, p.932-8, 2001.
34. HARRIS, R. J. Root coverage with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft and an acellular dermal matrix graft: a clinical and histological evaluation of a case report. *J. Periodontol.*, v.69, n.11, p.1305-11, 1998.
35. HENCH, L. L. Biomaterials. *Science*, v.208, n.4446, p.826-31, 1980.
36. HENCH, L. L. Ceramic implants for humans. *Adv. Ceramic Mat.*, v.1, n.4, p.306-24, 1986.
37. HENCH, L. L., ETHRIDGE, E. C. *Biomaterials: an interfacial approach*. New York: Academic Press, 1982. 385p.
38. HENCH, L. L., PASCHALL, H. A. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.7, n.3, p.25-42, 1973.
39. HENCH, L. L., PASCHALL, H. A. Histochemical responses at a biomaterial's interface. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.8, n.3, p.49-64, 1974.

40. HENCH, L. L., SPLINTER, R. J., ALLEN, W. C.; GREENLEE, T.K. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. Part I. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.2, p.117-41, 1971.
41. HENCH, L. L., WILSON, J. Surface-active biomaterials. *Science*, v.226, n.4675, p.630-6, 1984.
42. HENDERSON, R. D., GREENWELL, H., DRISKO, C., REGENNITTER, F. J., LAMB, J. W., MEHLBAUER, M. J., GOLDSMITH, L. J., REBITSKI, G. Predictable multiple site root coverage using an acellular dermal matrix allograft. *J. Periodontol.*, v.72, n.5, p.571-82, 2001.
43. HIATT, W. H., SCHALLHORN, R. G. Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J. Periodontol.*, v. 44, n.4, p.194-208, 1973.
44. HOFFMAN, D. K., SIBLEY, R. G., KORMAN, J. M., PRESS, B. M. Light microscopic and immunohistochemical features in serial biopsies of epidermal versus dermal allografts. *Ann. Plast. Surg.*, v.33, n.3, p.295-9, 1994.
45. KARATZAS, S., ZAVRAS, A., GREENSPAN, D., AMAR, S. Histologic observations of periodontal wound healing after treatment with Perioglas in nonhuman primates. *Int. Periodontics Restorative Dent.*, v.19, n.5, p. 489-99, 1999.
46. KRIDEL, R. W., FODA, H., LUNDE, K. C. Septal perforation repair with acellular human dermal allograft. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, v.124, n.1, p.73-8, 1998.
47. LANDRY, P. S., MARINO, A. A., SADASIVAN, K. K., ALBRIGHT, J. A. Effect of soft-tissue trauma on the early periosteal response of bone to injury. *J. Trauma*, v.48, n.3, p.479-83, 2000.

48. LATTARI, V., JONES, L. M., VARCELOTTI, J. R., LATENSER, B. A., SHERMAN, H. F., BARRETTE, R. R. The use of a permanent dermal allograft in full-thickness burns of the hand and foot: a report of three cases. *J. Burn Care Rehabil.*, v.18, n.2, p.147-55, 1997.
49. LEWANDROWSKI, K. U., CATTANEO, M. V., GRESSER, J. D., WISE, D. L. WHITE, R. L., BONASSAR, L., TRANTOLO, D. J. Effect of a poly(propylene fumarate) foaming cement on the healing of bone defects. *Tissue Eng.*, v.5, n.4, p.305-16, 1999.
50. LINDE, A., THOREN, C., DAHLIN, C., SANDBERG, E. Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: an experimental study in rats. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.51, n.8, p.892-7, 1993.
51. LIVESEY, S. A., HERNDON, D. N., HOLLYOAK, M. A., ATKINSON, Y. H., NAG, A. Transplanted acellular allograft dermal matrix. Potencial as a template for the reconstruction of viable dermis. *Transplantation*, v.60, n.1, p.1-9, 1995.
52. LOVELACE, T. B., MELLONIG, J. T., MEFFERT, R. M., JONES, A. A., NUMMIKOSKI, P. V., COCHRAN, D. L. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J. Periodontol.*, v.69, n.9, p.1027-35, 1998.
53. LOW, S. B., KING, C. J., KRIEGER, J. An evaluation of bioactive ceramic in the tratment of periodontal osseous defects. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.17, n.4, p.359-67, 1997
54. LUNDGREN, D., SENNERBY, L., FALK, H., FRIBERG, B., NYMAN, S. The use of a new bioresorbable barrier for guided bone regeneration in connection with implant installation: case reports. *Clin. Oral Implants Res.*, v.5, n.3, p.177-84, 1994.

55. MacNEILL, S. R., COBB, C. M., RAPLEY, J. W., GLAROS, A. G., SPENCER, P. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials: a preliminary study. *J. Clin. Periodontol.*, v.26, n. 4, p.239-45, 1999.
56. MELCHER, A. H. On the repair potencial of periodontal tissues. *J. Periodontol.*, v.47, n.5, p.256-60, 1976.
57. MELCHER, A. H. Repair of wound in the periodontium of the rat. Influence of the periodontal ligament on osteogenesis. *Arch. Oral Biol.*, v.15, n.12, p.1183-204, 1970.
58. MERWIN, G. E., WILSON, J., HENCH, L. L. In: GROTE, J. J. *Biomaterials in Otology*. Nijhoff: The Hague, 1984. p.220-9. Apud HENCH, L. L. , WILSON, J. *Surface-active biomaterials*. *Science*, v. 226, n.4675, p.630-6, 1984.
59. MUNSTER, A. M., SMITH-MEEK, M., SHALOM, A. Acellular allograft dermal matrix: immediate or delayed epidermal coverage? *Burns*, v.27, n.2, p.150-3, 2001.
60. MURRAY, G., HOLDEN, R., ROACHLAU, W. Experimental and clinical study of new growth of bone cavity. *Am. J. Surg.*, v.93, p.385, 1957.
61. NASR, H. F., AICHELMANN-REIDY, M. E., YUKNA, R. A. Bone and bone substitutes. *Periodontol.* 2000, v.19, p. 74-86, 1999.
62. NEVINS, M. L., CAMELO, M., NEVINS, M., KING, C. J., ORINGER, R. J., SCHENK, R. K., FIORELLINI, J. P. Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.20, n.5, p.459-67, 2000.

63. NEVINS, M., MELLONIG, J. T. FIORELLINI, J. P. Implant therapy: clinical approaches and evidence of success. 2nd ed. Illinois: Quintessence, 1998. 257p.
64. NORTON, M. R., WILSON, J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.17, n.2, p.249-57, 2002.
65. NOVAES JÚNIOR, A. B., SOUZA, S. L. Acellular dermal matrix graft as a membrane for guided bone regeneration: a case report. *Implant Dent.*, v.10, n.3, p.192-6, 2001.
66. NOVAES JÚNIOR., A. B., GRISI, D. C., MOLINA, G. O., SOUZA, S. L. S., TABA, M., GRISI, M. F. Comparative 6-month clinical study of a subepithelial connective tissue graft and acellular dermal matrix graft for the treatment of gingival recession. *J. Periodontol.*, v.72, n.11, p.1477-84, 2001.
67. NYMAN, S., LINDHE, J., KARRING, T., RYLANDER, H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v.9, n.4, p.290-6, 1982.
68. ONG, M. M. A., EBER, R. M., KORSNES, M. I., MacNEIL, R. L., GLICKMAN, G. N., SHYR, Y., WANG, H. Evaluation of bioactive glass alloplast in treating periodontal intrabony defects. *J. Periodontol.*, v.69, n.12, p.1346-54, 1998.
69. OONISHI, H., HENCH, L. L., WILSON, J., SUGIHARA, F., TSUJI, E., KUSHITANI, S., IWAKI, H. Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.44, n.1, p.31-43, 1999.

70. OONISHI, H., HENCH, L. L., WILSON, J., SUGIHARA, F., TSUJI, E., MATSUJURA, M., KIN, S., YAMAMOTO, T., MIZOKAWA, S. Quantitative comparison of bone growth behavior in granules of Bioglass, A-W glass-ceramic, and hydroxyapatite. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.51, n.1, p.37-46, 2000.
71. OONISHI, H., KUSHITANI, S., YASUKAWA, E., IWAKI, H., HENCH, L. L., WILSON, J., TSUJI, E., SUGIHARA, T. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clin. Orthop.*, n.334, p.316-25, 1997.
72. PARK, J. S., SUH, J. J., CHOI, S. H., MOON, I. S., CHO, K. S., KIM, C. K., CHAI, J. K. Effects of pretreatment clinical parameters on bioactive glass implantation in intrabony periodontal defects. *J. Periodontol.*, v.72, n.6, p.730-40, 2001.
73. PEACOCK, M. E., CUENIN, M. F., HOKETT, S. D. Gingival augmentation with a dermal allograft. *Gen. Dent.*, v.47, n.5, p.526-8, 1999.
74. PIATELLI, A., SCARANO, A., PIATELLI, M., CORAGGIO, F., MATARASSO, S. Bone regeneration using bioglass: an experimental study in rabbit tibia. *J. Oral Implantol.*, v.26, n.4, p.257-61, 2000.
75. PIOTROWSKI, G., HENCH, L. L., ALLEN, W.C., MILLER, G. J. Mechanical studies of the bone bioglass interfacial bond. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.9, n.4, p.47-61, 1975.
76. RENNEKAMPFF, H. O., KIESSIG, V., GREENLEAF, G., HANSBROUGH, J. F. Acellular human dermis promotes cultured keratinocyte engraftment. *J. Burn Care Rehabil.*, v.18, n.6, p.535-44, 1997.
77. RENNEKAMPFF, H. O., PFAU, M., SCHALLER, H. E. Acellular allograft dermal matrix: immediate or delayed epidermal coverage? *Burns*, v.28, n.1, p.100-1, 2002.

78. RHEE, P. H., FRIEDMAN, C. D., RIDGE, J. A., KUSIAK, J. The use of processed allograft dermal matrix for intraoral resurfacing: an alternative to split-thickness skin grafts. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, v.124, n.11, p.1201-4, 1998.
79. RICHARDSON, C. R., MAYNARD, J. G. Acellular dermal graft: a human histologic case report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.22, n.1, p.21-9, 2002.
80. ROSENBERG, E. S., FOX, G. K., COHEN, C. Bioactive glass granules for regeneration of human periodontal defects. *J. Esthet. Dent.*, v.12, n.5, p.248-57, 2000.
81. SCHALLHORN, R. G. Postoperative problems associated with iliac transplants. *J. Periodontol.*, v.43, n.1, p.3-9, 1972.
82. SCHENK, R. K. Regeneração óssea: bases biológicas. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. *Regeneração óssea guiada em implantodontia*. Chicago: Quintessence, 1996. p.49-100.
83. SCHEPERS, E. J. G., DUCHEYNE, P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *J. Oral Rehabil.*, v.24, n.3, p.171-81, 1997.
84. SCHEPERS, E. J. G., DUCHEYNE, P., BARBIER, L., SCHEPERS, S. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant Dent.*, v.2, n.3, p.151-6, 1993.
85. SCHEPERS, E., BARBIER, L., DUCHEYNE, P. Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.13, n.5, p.655-65, 1998.

86. SCHEPERS, E., DE CLERCQ, M., DUCHEYNE, P., KEMPENEERS, R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J. Oral Rehabil.*, v.18, n.5, p.439-452, 1991.
87. SCHMITT, J. M., BUCK, D. C., JOH, S. P., LYNCH, S. E., HOLLINGER, J. O. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. *J. Periodontol.*, v.68, n.11, p.1043-53, 1997.
88. SCHMITZ, J. P., HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial non-unions. *Clin. Orthop.*, v.205, p.299-308, 1986.
89. SCULEAN, A., BARBÉ, G., CHIANTELLA, G. C., ARWEILER, N. B., BERAKDAR, M., BRECX, M. Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J. Periodontol.*, v.73, n.4, p.401-8, 2002.
90. SEDMAK, D. D., OROSZ, C. G. The role of vascular endothelial cells in transplantation. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, v.115, n.3, p.260-5, 1991.
91. SHAPOFF, C. A., ALEXANDER, D. C., CLARK, A. E. Clinical use of a bioactive glass particulate in the treatment of human osseous defects. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, v.18, n.4, p.352-8, 1997.
92. SHULMAN, J. A previously unreported surgical technique utilizing five different grafting materials to successfully achieve simultaneous alveolar regeneration and closure of a large oronasal defect. *J. Oral Implantol.*, v.24, n.4, p.206-13, 1998.
93. SHULMAN, J. Clinical evaluation of an acellular dermal allograft for increasing the zone of attached gingiva. *Pract. Periodontics Aesthet. Dent.*, v.8, n.2, p.201-8, 1996.

94. SILVERSTEIN, L. H. Fundamentally changing soft tissue grafting. *Dent. Today*, v.16, n.3, p.56-9, 1997.
95. SILVERSTEIN, L. H., CALLAN, D. P. An acellular dermal matrix allograft substitute for palatal donor tissue. *Post Grad. Dent.*, v.3, n.4, p.14-21, 1997.
96. SILVERSTEIN, L. H.; DUARTE, C. F. Use of an acellular dermal allograft for soft-tissue augmentation. *Dent. Implantol. Update*, v.9, n.8, p.61-4, 1998.
97. SPECTOR, M. Basic Principles of tissue engineering. In: LYNCH, S. E., GENCO, R. J., MARX, R. E. *Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Chicago: Quintessence, 1999. p. 3-16.
98. STANLEY, H. R., HALL, M. B., COIAZZI, F., CLARK, A. E. Residual alveolar ridge maintenance with a new endosseous implant material. *J. Prothet. Dent.*, v. 58, n.5, p.607-13, 1987.
99. STANLEY, H. R., HENCH, L. L., GOING, R., BENNETT, C., CHELLEMI, S. J., INGERSOLL, N., ETHRIDGE, E., KREUTZIGER, K. The implantation of natural tooth form bioglasses in baboons: a preliminary report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.42, n.3, p.339-56, 1976.
100. SY, I. P. Alveolar ridge preservation using a bioactive glass particulate graft in extraction site defects. *Gen. Dent.*, v.50, n.1, p.66-8, 2002.
101. TADJOEDIN, E. S., DE LANGE, G. L., HOLZMANN, P. J., KUIPER, L., BURGE, E. H. Histological observations on biopsies harvested following sinus floor elevation using a bioactive glass material of narrow size range. *Clin. Oral Implants Res.*, v.11, n.4, p.334-44, 2000.

102. TAL, H. Subgingival acellular dermal matrix allograft for the treatment of gingival recession: a case report. *J. Periodontol.*, v.70, n.9, p.1118-24, 1999.
103. TOBIN, H. A., KARAS, N. D. Lip augmentation using an aloderm graft. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.56, n.6, p.722-7, 1998.
104. VERNINO, A. R., YOUNG, S. K., TOW, H. D. Histologic evaluation following intraoral use of freeze-dried skin in humans. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.6, n.4, p.57-65, 1986.
105. WAGSHALL, E., LEWIS, Z., BABICH, S. B., SINENSKY, M. C., HOCHBERG, M. Acellular dermal matrix allograft in the treatment of mucogingival defects in children: Illustrative case report. *J. Dent. Child.*, v.69, n.1, p.39-43, 2002.
106. WAINWRIGHT, D. J. Use of an acellular allograft dermal matrix (AlloDerm) in the management of full-thickness burns. *Burns*, v.21, n.4, p.243-8, 1995.
107. WAINWRIGHT, D., MADDEN, M., LUTERMAN, A., HUNT, J., MONAFO, W., HEIMBACH, D., KAGAN, R., SITIG, K., DIMICK, A., HERNDON, D. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns. *J. Burn Care Rehabil.*, v.17, n.2, p.124-36, 1996.
108. WEI, P. C., LAURELL, L., GEIVELIS, M., LINGEN, M. W., MADDALOZZO, D. Acellular dermal matrix allografts to achieve increased attached gingiva. Part 1. A clinical study. *J. Periodontol.*, v.71, n.8, p.1297-305, 2000.
109. WENG, D., HURZELER, M. B., QUINONES, C. R., OHLMS, A., CAFESSE, R. G. Contribution of the periosteum to bone formation in guided bone regeneration: a study in monkeys. *Clin. Oral Implants Res.*, v.11, n.6, p.546-54, 2000.

110. WHEELER, D. L., ESCHBACH, E. J., HOELLRICH, R. G., MONTFORT, M. J., CHAMBERLAND, D. L. Assessment of resorbable bioactive material for grafting of critical-size cancellous defects. *J. Orthop. Res.*, v.18, n.1 p.140-8, 2000.
111. WHEELER, D. L., STOKES, K. E., HOELLRICH, R. G., CHAMBERLAND, D. L., McLOUGHLIN, S. W. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.41, n.4, p.527-33, 1998.
112. WHEELER, D. L., STOKES, K. E., PARK, H. M., HOLLINGER, J. O. Evaluation of particulate Bioglass in a rabbit radius ostectomy model. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.35, n.2, p.249-54, 1997.
113. YILMAZ, S., EFEOGLU, E., KILIÇ, A. R. Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *J. Clin. Periodontol.*, v.25, n.10, p.832-9, 1998.
114. YUKNA, R. A., EVANS, G. H., AICHELMANN-REIDY, M. B., MAYER, E. T. Clinical comparison of bioactive glass bone replacement graft material and expanded polytetrafluoroethylene barrier membrane in treating human mandibular molar class II furcations. *J. Periodontol.*, v.72, n.2, p.125-33, 2001.
115. YUKNA, R. A., TOW, H. D., CARROLL, P. B., VERNINO, A. R., BRIGHT, R. W. Comparative clinical evaluation of freeze-dried skin allografts and autogenous gingival grafts in humans. *J. Clin. Periodontol.*, v.4, n.3, p.191-9, 1977.
116. YUKNA, R. A., TOW, H. D., CARROLL, P. B., VERNINO, A. R., BRIGHT, R. W. Evaluation of the use of freeze-dried skin allografts in the treatment of human mucogingival problems. *J. Periodontol.*, v.48, n.4, p.187-93, 1977.

117. YUKNA, R. A., TURNER, D. W., ROBINSON, L. J. Variable antigenicity of lyophilized allogeneic and lyophilized xenogeneic skin in guinea pigs. *J. Periodontal Res.*, v.12, n.3, p.197-201, 1977.
  
118. ZAMET, J. S., DARBAR, U. R., GRIFFITHS, G. S., BULMAN, J. S., BRAGGER, U., BURGLIN, W., NEWMAN, H. N. Particulate bioglass as a grafting material in the treatment of periodontal intrabony defects. *J. Clin. Periodontol.*, v.24, n.6, p.410-18, 1997.

# Research resumo

RIBEIRO, L. L. G. Avaliação histológica do comportamento da matriz dérmica acelular e do vidro bioativo no processo de reparo de cavidade cirúrgica em tibia de rato. Araçatuba, 2003. 137p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

## **R e s u m o**

Nos últimos vinte anos, o estudo da regeneração das estruturas periodontais influenciou o desenvolvimento das terapias ósseas regenerativas. A regeneração óssea guiada cria um ambiente adequado para que ocorra a regeneração de tecido ósseo através do selamento da área do defeito com uma membrana. Quando os defeitos assumem grandes proporções, se faz necessário o uso do enxerto ósseo, podendo ser feito com o autógeno, alógeno, xenógeno ou materiais aloplásticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar, histologicamente, em cavidades cirúrgicas realizadas em tibias de ratos, o papel da matriz dérmica acelular como membrana na cicatrização óssea, o papel das partículas de vidro bioativo na cicatrização óssea, e o papel das partículas de vidro bioativo protegidas pela membrana de matriz dérmica acelular na cicatrização óssea. Os resultados revelaram que a matriz dérmica acelular apresentou biocompatibilidade e que foi capaz de isolar a cavidade cirúrgica, comprovando sua capacidade de ser empregada como membrana no processo de cicatrização sem interferir, significativamente, com a formação óssea; que o vidro bioativo mostrou-se biocompatível, sendo que as partículas estavam interpostas ao tecido ósseo neoformado, acarretando menor grau de formação óssea, e que o emprego da matriz dérmica acelular como proteção do vidro bioativo não assegurou um resultado superior ao do grupo em que o vidro bioativo foi utilizado sem a proteção de uma membrana.

Palavras-chave: Regeneração óssea; substitutos ósseos; matriz dérmica acelular.

abstract

RIBEIRO, L. L. G. Histological evaluation of the acellular dermal matrix behave and of the bioactive glass in the healing process of surgical cavity in the healing process of the surgical cavity in the tibia of rats. Araçatuba, 2003. 137p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

### **A b s t r a c t**

In the last twenty years, the regeneration of the periodontal structures has influenced the development of the new regenerative bone therapies. The guided bone regeneration promotes favorable conditions for the healing of the bone tissue through sealing the problem area with a membrane. When the problem area takes large proportions, a bone graft is needed; it can be autogenic, alogenic, xenogenic or alloplastic materials. The aim of this paper is to evaluate, histologically, in the surgical cavities performed in tibial of rats, the role of the particles of bioactive glass protected by the membrane of the acellular dermal matrix in the bone healing. The results presented that the acellular dermal matrix showed biological compability and that it was able to isolate the surgical cavity proofing its ability of being used as membrane in the healing process without significantly interfering with the bone regeneration; that the bioactive glass is biological compatible, and the particles were interposed in the neoformed bone tissue leading to a decreased in bone formation, and that the use of acellular dermal matrix as a protection of bioactive glass did not show better results when compared to the group in which the bioactive glass was used without the membrane protection.

Keywords: Bone regeneration; bone substitutes, acellular dermis.

# anexos

**A n e x o s**

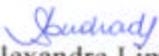
**unesp**  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
"CÂMPUS" DE ARAÇATUBA - FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
CURSOS DE ODONTOLOGIA E DE MEDICINA VETERINÁRIA

**COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**  
**(CEEA)**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "Avaliação do processo de reparo de defeito ósseo preenchido com vidro bioativo protegido ou não por matriz dérmica acelular. Estudo histológico em tíbias de rato", sob a responsabilidade do PROF. ÁLVARO FRANCISCO BOSCO e LUCIANA LIARTE GASPARINI RIBEIRO está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião de 30 / 03 / 2001.

Araçatuba, 06 de abril de 2001.

  
Prof. Ass. Alexandre Lima de Andrade  
Presidente

OK									
Mda. 30d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total	Porcentagem
1	1017977,78	1172811,13	0,00	2190788,90	490362,15	513696,58	0,00	1004058,72	45,83
2	1019405,50	1585011,00	59377,77	2663794,27	704611,38	748691,35	31041,47	1484344,20	55,72
3	859151,25	909163,69	0,00	1768314,94	474175,63	616112,94	0,00	1090288,58	61,66
4	946038,88	1196316,63	454394,44	2596749,94	630356,38	837694,95	286015,11	1754066,44	67,55
6	812138,88	843955,50	0,00	1656094,38	553154,76	567911,41	0,00	1121066,17	67,69
7	440776,09	374438,88	0,00	815214,97	212306,78	254523,50	0,00	466830,28	57,26
8	940516,63	713977,75	0,00	1654494,38	489993,45	450876,93	0,00	940870,38	56,87
9	726266,63	860549,94	0,00	1586816,56	387884,19	549271,31	0,00	937155,49	59,06
									58,96
OK									
Bv. 30d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	982701,25	1092130,38	0,00	2074831,63	380194,82	283968,09	0,00	664162,91	32,01
2	969077,75	938411,06	0,00	1907488,81	384401,81	301864,01	0,00	686265,82	35,98
3	953499,94	978161,06	0,00	1931661,00	307011,96	324283,62	0,00	631295,57	32,68
4	742283,31	855177,75	0,00	1597461,06	417447,18	121692,77	0,00	539139,94	33,75
5	719427,75	1080300,00	0,00	1799727,75	241713,48	134609,43	0,00	376322,92	20,91
6	1082377,75	1102138,88	0,00	2184516,63	409043,06	159262,93	0,00	568305,99	26,02
7	676538,85	896811,06	0,00	1573349,91	149286,25	205913,31	0,00	355199,55	22,58
8	1052038,88	1283616,63	142890,17	2478545,67	360259,50	361399,16	72536,83	794195,49	32,04
									29,50
Cont. 30d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	683327,75	848233,31	165833,33	1697394,39	457497,69	548242,47	131430,36	1137170,52	67,00
2	834040,13	803577,75	0,00	1637617,88	514346,62	504784,75	0,00	1019131,37	62,23
4	1032156,81	1119850,00	0,00	2152006,81	755728,25	732107,50	0,00	1487835,75	69,14
5	802895,69	925388,88	0,00	1728284,56	666001,63	561432,06	0,00	1227433,68	71,02
6	813366,63	850249,98	0,00	1663616,61	418673,44	631539,18	0,00	1050212,62	63,13
7	1081805,50	1180027,75	83249,99	2345083,24	653152,62	665293,33	51406,85	1369852,80	58,41
8	802383,31	976299,94	133221,64	1911904,89	510335,91	487887,72	117090,18	1115313,81	58,34
9	883023,50	899099,94	0,00	1782123,44	564347,47	459850,36	0,00	1024197,83	57,47
									63,34
BvMda. 30d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	875433,31	802605,50	0,00	1678038,81	165516,20	154855,88	0,00	320372,08	19,09
2	730005,51	953722,19	412944,44	2096672,14	403814,73	73797,94	146802,00	624414,67	29,78
3	914117,94	1138738,88	0,00	2052856,81	437324,14	259299,77	0,00	696623,90	33,93
4	801516,61	910794,44	121049,99	1833361,04	244723,76	169210,72	52062,40	465996,89	25,42
6	881051,29	484327,75	0,00	1365379,04	257864,61	77088,51	0,00	334953,11	24,53
7	821061,06	701083,31	0,00	1522144,38	284813,10	100944,06	0,00	385757,17	25,34
8	1040761,06	922661,06	0,00	1963422,12	146956,84	81392,77	0,00	228349,61	11,63
9	812383,31	1055094,38	177227,77	2044705,45	283683,08	67272,22	136238,88	487194,18	23,83
									24,19
Mda. 10d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	1137977,75	835766,63	0,00	1973744,38	425516,37	224085,14	0,00	649601,51	32,91
2	921122,19	379894,44	0,00	1301016,63	453122,87	165460,67	0,00	618583,54	47,55
3	928290,13	1301061,00	0,00	2229351,13	401397,04	425159,63	0,00	826556,67	37,08
4	994211,06	1079401,25	0,00	2073612,31	423054,68	35208,62	0,00	775083,30	37,38
5	974222,19	431988,88	0,00	1406211,06	349096,08	181881,59	0,00	530977,67	37,76
6	1216072,13	1236738,88	0,00	2452811,00	390344,07	344576,74	0,00	734920,81	29,96
7	1218733,25	839907,06	0,00	2058640,31	533375,56	363113,77	0,00	896489,33	43,55
8	873838,88	837711,06	0,00	1711549,94	293795,02	369410,50	0,00	663205,52	38,75
									38,12

Bv 10d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	764616,63	1076227,75	107633,33	1948477,70	22785,92	9766,67	34217,92	66770,50	3,43
2	302272,22	980249,94	145195,74	1427717,89	153473,12	70185,54	6311,11	229969,77	16,11
3	678994,44	1018961,06	128088,88	1826044,38	129999,56	34112,40	8766,67	172878,63	9,47
4	395561,10	978933,31	204255,55	1578749,96	79525,85	20463,70	35784,63	135774,17	8,60
5	383891,47	896066,63	240530,36	1520488,45	81029,07	217501,06	74151,29	372681,42	24,51
6	717544,44	164166,66	0,00	881711,09	85335,16	34641,09	0,00	119976,25	13,61
7	880161,06	874677,75	0,00	1754838,81	194675,61	91157,17	0,00	285832,79	16,29
8	586745,69	1189277,75	137511,11	1913534,55	192025,66	37183,33	15733,33	244942,33	12,80
									13,10
Cont. 10d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	823267,94	778385,69	0,00	1601653,63	249932,04	260761,79	0,00	510693,82	31,89
2	944335,69	869855,50	0,00	1814191,19	442688,13	413048,02	0,00	855736,15	47,17
3	1089745,75	1171101,25	0,00	2260847,00	559332,89	498526,49	0,00	1057859,38	46,79
4	1099911,13	1321609,13	213049,98	2634570,23	435349,24	521718,96	105510,35	1062578,54	40,33
5	941727,74	881899,94	0,00	1823627,67	354869,39	296480,89	0,00	651350,27	35,72
6	1175833,25	1225000,00	0,00	2400833,25	440871,09	475192,47	0,00	916063,56	38,16
7	1170355,50	1093072,13	0,00	2263427,63	520015,75	445099,80	0,00	965115,55	42,64
8	872163,44	308050,00	0,00	1180213,44	298698,47	108417,90	0,00	407116,37	34,50
									39,65
BvMda. 10d									
Animal	Area 1	Area 2	Area 3	Total 1	Osso 1	Osso 2	Osso 3	Total 2	Porcentagem
1	613483,31	903184,56	0,00	1516667,88	166672,26	162195,80	0,00	328868,07	21,68
2	625144,44	804238,88	0,00	1429383,31	113635,92	64692,77	0,00	178328,68	12,48
3	1120016,63	1034711,06	0,00	2154727,69	156267,57	111392,11	0,00	267659,68	12,42
4	1131806,75	808838,88	0,00	1940645,63	372170,81	257710,34	0,00	629881,15	32,46
5	1005567,94	1042784,19	0,00	2048352,13	143249,61	135210,34	0,00	278459,95	13,59
6	797300,00	931122,19	18683,33	1747105,52	91496,65	186170,09	4912,41	282579,14	16,17
7	1003229,06	975179,06	0,00	1978408,13	248723,99	258876,30	0,00	507600,28	25,66
9	903767,94	908005,50	0,00	1811773,44	401447,43	165979,01	0,00	567426,44	31,32
									20,59

Anexo B- Planilha com a porcentagem de osso neoformado em cada espécime de cada grupo.

Autorizo a reprodução deste trabalho.  
Araçatuba, fevereiro de 2003.  
Luciana Liarte Gasparini Ribeiro