

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FÍSTULA ORONASAL EM CÃO. REPARO COM FLAPE
SIMPLES ASSOCIADO A FATOR PROTEICO ANGIOGÊNICO
PURIFICADO DO LÁTEX DE SERINGUEIRA, VEICULADO
COM MATRIZ DE ESPONJA DE COLÁGENO. ESTUDO
EXPERIMENTAL.**

**Rodrigo de Moura Nogueira
Médico Veterinário**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2009**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FÍSTULA ORONASAL EM CÃO. REPARO COM FLAPE
SIMPLES ASSOCIADO A FATOR PROTEICO ANGIOGÊNICO
PURIFICADO DO LÁTEX DE SERINGUEIRA, VEICULADO
COM MATRIZ DE ESPONJA DE COLÁGENO. ESTUDO
EXPERIMENTAL.**

Rodrigo de Moura Nogueira

Orientadora: Profa. Dra. Cintia Lúcia Maniscalco

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Novembro de 2009**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Rodrigo de Moura Nogueira – nascido em 16 de agosto de 1979, na cidade de Sorocaba, graduou-se em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) /Universidade Estadual Paulista (UNESP) / Câmpus de Jaboticabal no ano de 2002. Em 2004 participou de curso teórico-prático de Odontologia Veterinária de pequenos animais ministrado pelo Prof. Dr. Marco Antônio Gioso (Médico Veterinário, Cirurgião Dentista, docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) / Universidade de São Paulo (USP) / Câmpus de São Paulo e diplomado pelo American Veterinary Dental College, EUA). Exerceu entre 2003 e 2006 atividades em pequenos animais nas áreas de clínica geral, anestesiologia e, principalmente, odontologia veterinária, em centros especializados particulares na cidade de Ribeirão Preto, SP. Em 2007 ingressou no Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/Jaboticabal. Prestou durante dois anos atendimento no Serviço de Odontologia Veterinária do Hospital Veterinário (HV) Governador “Laudo Natel” desta mesma instituição.

Ao meu Pai, Leandro Nogueira “in memoriam”, pois sem ele nada disso teria acontecido, desde meu nascimento até agora.

A minha Mãe, Marli, por sempre ouvir minhas lamentações e me dar bons conselhos.

A minha esposa Simone por toda sua paciência, ajuda e amor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A minha Orientadora Profa. Dra. Cintia Lúcia Maniscalco, por ter acreditado em mim e me concedido esta oportunidade impar, muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Joaquim Coutinho Neto, por ter me ajudado com seus ensinamentos sobre o látex, que são muitos, e por ter fornecido o fator proteico necessário para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Newton Nunes, pela força, tanto na orientação sobre a anestesia como na permissão do custeio de meu experimento, como coordenador do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/Jaboticabal, obrigado professor.

A Ana Paula, residente anestesista do HV/FCAV/UNESP/Jaboticabal, por ter acompanhado meu experimento e feito todas as anestésias sempre com muita disposição, valeu Aninha.

Aos meus amigos de Jaboticabal, pós-graduandos, Miguel e Giovani (os colombianos), Denise, Manuela, Andréia e Raquel, por toda a ajuda com conselhos, dicas e momentos de descontração.

Aos meus amigos Veterinários de Ribeirão Preto, Gustavo (Verminho), Daniel (Baxo) e Alessandro (Gazela) pela ajuda em meu experimento.

Ao Alexandre (Dedo) pós-graduando em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/Jaboticabal, por suas dicas, pela ajuda na estatística e nos resultados da dissertação.

Aos meus amigos e padrinhos de casamento Seidi e Doéze, pela paciência, compreensão e sempre bons conselhos.

Aos meus irmãos Rodolfo e Gustavo pelo apoio.

A FCAV/UNESP/Jaboticabal por ter cedido às instalações e equipamentos usados nesta pesquisa.

A CAPES, órgão de fomento a pesquisa, e ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/Jaboticabal pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a confecção deste trabalho e não foram lembrados agora, mas que com certeza jamais serão esquecidos.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	1
1.1. Reparo de Fístula Oronasal	3
1.2. Biomembrana de Látex	5
1.3. Cicatrização	8
1.3.1. Fase Inflamatória.....	8
1.3.2. Fase Proliferativa	8
1.3.3. Fase de Remodelagem	9
2. OBJETIVO E JUSTIFICATIVA.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Aspectos Éticos.....	11
3.2. Animais	11
3.3. Material	11
3.3.1. Preparo	12
3.4. Grupos Experimentais.....	13
3.5. Protocolo Anestésico.....	13
3.6. Técnica Cirúrgica	15
3.6.1. Exodontia do Canino	15
3.6.2. Produção e Diagnóstico da Comunicação	17
3.6.3. Reparo	17

3.7. Protocolo Terapêutico	19
3.8. Critérios de Avaliação	19
3.8.1. Avaliação Clínica.....	19
3.8.2. Avaliação Radiográfica.....	20
3.9. Análise Estatística	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1. Sinais Inflamatórios	21
4.2. Cicatrização	24
4.3. Deiscência de Sutura	26
4.3.1. Perda de Pontos	26
4.3.2. Descontinuidade da Linha de Cicatrização	29
4.5. Osteoproliferação.....	31
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÕES	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Imagens fotográficas das diferentes etapas da exodontia de canino superior em cão.....	16
FIGURA 2. Imagens fotográficas da avulsão de canino; produção, diagnóstico e reparo da comunicação oronasal em cão	18
FIGURA 3. Imagens fotográficas dos sinais inflamatórios e cicatrização, nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no terceiro, sétimo, décimo quarto e vigésimo primeiro dias de observação	23
FIGURA 4. Imagens fotográficas da perda de pontos (deiscência de sutura), nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no décimo quarto e vigésimo primeiro dias de observação.....	28
FIGURA 5. Imagens fotográficas da descontinuidade da linha de cicatrização (deiscência de sutura), nos grupos experimentais (ESP1 e ES) ao sétimo dia de observação.....	30
FIGURA 6. Imagens radiográficas da osteoproliferação, nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no primeiro e vigésimo primeiro dia de observação.....	33

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1. Média e erro padrão* dos escores qualiquantitativos dos sinais inflamatórios na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias)	22
GRÁFICO 2. Média e erro padrão* dos escores qualiquantitativos da cicatrização na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias)	25
GRÁFICO 3. Média e erro padrão* dos escores qualiquantitativos da perda de pontos (deiscência de sutura) na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias).....	27
GRÁFICO 4. Média e erro padrão* dos escores qualiquantitativos da descontinuidade da linha de cicatrização (deiscência de sutura) na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias)..	30
GRÁFICO 5. Média e erro padrão* dos escores qualiquantitativos da osteoproliferação na avaliação radiográfica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias)	32

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, dos sinais inflamatórios entre os grupos nos diferentes períodos (dias).....	21
TABELA 2. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da cicatrização entre os grupos nos diferentes períodos (dias).....	24
TABELA 3. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da perda de pontos (deiscência de sutura) entre os grupos nos diferentes períodos (dias)	26
TABELA 4. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da descontinuidade da linha de cicatrização (deiscência de sutura) entre os grupos nos diferentes períodos (dias).....	29
TABELA 5. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise radiográfica, da osteoproliferação entre os grupos nos diferentes períodos (dias).....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

- BML:** Biomembrana de látex de planta (*Hevea brasiliensis*)
- ESP:** Grupo experimental com comunicações reparadas com esponja de colágeno e salina
- ESP1:** Grupo experimental com comunicações reparadas com esponja de colágeno, salina e P1
- FAP:** Fator proteico angiogênico obtido da seiva da seringueira
- FON:** Fístula Oronasal
- P1:** Fração de proteínas angiogênicas obtidas por purificação do látex de planta (*Hevea brasiliensis*)
- S:** Grupo experimental controle com comunicações reparadas com salina

FÍSTULA ORONASAL EM CÃO. REPARO COM FLAPE SIMPLES ASSOCIADO A FATOR PROTEICO ANGIOGÊNICO PURIFICADO DO LÁTEX DE SERINGUEIRA, VEICULADO COM MATRIZ DE ESPONJA DE COLÁGENO. ESTUDO EXPERIMENTAL.

RESUMO - A fístula oronasal é uma comunicação anormal entre a cavidade oral e nasal. É ocasionada normalmente por doença periodontal avançada, onde o vértice alveolar, principalmente do canino superior, sofre processo de degeneração resultando na injúria; também pode ser causada por traumas, corpos estranhos, extrações dentárias inadequadas, cirurgias na cavidade oral, choques elétricos e atropelamentos. Nos cães, as fístulas acarretam vários sinais clínicos como espirros, secreção nasal, sinusites, rinites, infecções no trato respiratório e até pneumonias aspirativas. Devido à periodontites crônicas e o pouco tecido circunjacente, são de difícil reparação, sendo o pós-operatório problemático pela ocorrência de deiscência de sutura e recidiva com concomitante processo inflamatório e infecção. O látex da seringueira (*Hevea brasilienses*) mostrou em vários outros experimentos seu poder angiogênico e cicatrizante na formação tecidual. Este experimento teve por finalidade utilizar fração proteica purificada do látex de seringueira no reparo de comunicações oronasais provocadas, para simulação experimental de fístula, após exodontia de caninos superiores de cães. Foram obtidos como resultados uma melhor qualidade na cicatrização, menor processo inflamatório ao final de 21 dias, menor ocorrência de deiscência de sutura e maior quantidade de tecido ósseo no alvéolo, concluindo-se que a utilização do fator proteico auxilia no processo de reparo, tornando-o mais rápido e eficiente.

Palavra – chave: Cão, Cicatrização, Cirurgia, Biomaterial, Exodontia, Odontologia.

**ORONASAL FISTULA IN DOG. SINGLE FLAP REPAIR ASSOCIATED WITH
ANGIOGENIC PROTEIN FACTOR FROM SERINGUEIRA LATEX, IN A COLLAGEN
SPONGE MATRIX. EXPERIMENTAL STUDY.**

ABSTRACT – The oronasal fistula is an abnormal communication between oral and nasal cavities. It is generally caused by advanced periodontal disease, where the alveolar vertex, especially from the superior canine tooth, become degenerated resulting in that injury; it can either be caused by trauma, foreign bodies, inappropriate dental extractions, surgeries in the oral cavity, electric shock and car run over. In dogs, fistulas may cause several clinical signs as sneeze, nasal secretion, sinusitis, rhinitis, respiratory tract infection and even aspiration pneumonia. Because of chronic periodontitis and little tissue surrounding the fistulas, they are hard to repair; with difficult post-operative period due to the occurrence of suture dehiscence and fistulae recurrence with concomitant inflammatory process and infections. In others several experiments the rubber tree latex (*Hevea brasiliensis*) showed its angiogenic and healing power in tissue growth formation. The purpose of this experiment was to use a purified protein fraction from rubber tree latex to repair an oronasal communication induced for experimental simulation of the fistula, after extraction of superior canines in dogs. The obtained results corresponded to better healing quality, less inflammatory process after 21 days, less suture dehiscence and more alveolar bone tissue, concluding that the utilization of the protein factor helps in the repair process, making it faster and efficient.

Key – word: Biomaterial, Dog, Healing, Odontology, Surgery, Tooth extraction.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A fístula oronasal (FON) é uma comunicação anormal entre as cavidades oral e nasal (SALISBURY, 1996; HEDLUND, 2002) que geralmente é causada por trauma ou doença periodontal. A FON é mais incidente nos alvéolos de caninos superiores (EISNER, 1990), normalmente ocorre após a queda desses dentes (HARVEY & EMILY, 1993), mas também pode ser vista em pré-molares superiores (MANFRA-MARRETA & THOLEN, 1990). Está relacionada principalmente com doença periodontal severa ou exodontia do canino superior (MANFRA-MARRETA & THOLEN, 1990; HARVEY & EMILY, 1993; DORN, 1998; ROZA, 2004). Embora Manfra-Marreta & Tholen, (1990) também cite o abscesso periapical como uma das principais causas e San Roma et al. (1999) consideram apenas a exodontia como causa principal.

Hedlund (2002) afirma que as fístulas decorrentes das odontopatias são mais comuns do que as adquiridas em ferimentos por mordedura ou à bala, queimaduras elétricas, presença de corpos estranhos compressores e cirurgias como excisão de massa ou rinotomia ventral. Podemos relacionar ainda como causas: neoplasias, defeitos congênitos, necrose por radiação ou deiscência de suturas após procedimentos cirúrgicos (SALISBURY, 1996). Os sintomas da FON são: sinusite (EISNER, 1990), pneumonia por aspiração (EISNER, 1990; SALISBURY, 1996; HEDLUND, 2002), rinite crônica (EISNER, 1990; PEAK, 2007), descarga nasal mucopurulenta (SALISBURY, 1996; HEDLUND, 2002), espirros (SALISBURY, 1996; HEDLUND, 2002; GIOSO, 2003; DOGAN et al., 2007), epistaxe (SMITH, 2000) corrimento nasal (GIOSO, 2003; DOGAN et al., 2007) e anorexia (DOGAN et al., 2007).

Gioso (2003) considera que, na maioria das vezes, as fístulas são decorrentes de complicações pós permanência de fragmentos de raiz dentária ou resquícios ósseos fraturados no interior do alvéolo, dizendo ainda que na exodontia errônea do canino seja comum ocorrer lesão da tabua óssea e formação da comunicação.

Na maioria dos casos de periodontopatia avançada há perda do dente canino superior e degeneração óssea do vértice do alvéolo (SALISBURY, 1996),

principalmente por ação de bactérias gram negativas (REED, 1988). A degeneração severa entre a raiz e cavidade nasal leva a perda óssea desta região promovendo a comunicação (LOBPRISE, 2000; DOGAN et al., 2007), sendo a periodontite resultante na face palatina do dente canino a maior causadora da fístula (DOGAN et al., 2007). Para Niemiec (2008) a perda óssea resultante da doença periodontal tem como principal consequência a FON.

A FON ocorre com maior frequência em animais de meia idade e exige reconstrução cirúrgica, tendo cicatrização espontânea apenas em pequenas fístulas traumáticas (HEDLUND, 2002). Dorn (1998) relata estarem sob maior risco os animais de pequeno porte e focinho estreito. As técnicas para reparação de fístula oronasal mais usadas são flapes de camada única ou duplo (HARVEY & EMILY, 1993; NELSON, 1998; SAN ROMAN et al., 1999; LOBPRISE, 2000; HEDLUND, 2002; ROZA, 2004), aproximação direta e flape rotacional (NELSON, 1998; SAN ROMAN et al., 1999; HEDLUND, 2002; ROZA, 2004), esses últimos citam ainda o flape como mais eficiente pela menor tensão e maior suporte para o reparo.

Para Smith (2000) flapes simples devem ser utilizados somente para FONs agudas. Nas crônicas os duplos são mais indicados e, nestes casos, se houver recidiva pode-se empregar, para o reparo, enxerto septal nasal borrachóide.

As complicações das técnicas de flape são muitas, como: deiscência de sutura pela alta tensão da sutura, falta de suprimento sanguíneo, infecção, falta de sustentação para o flape e cirurgia traumática para preparo do mesmo, as quais podem impedir a cicatrização, resultando em prognóstico ruim (HEDLUND, 2002).

Peak (2007) descreve FONs inaparentes que não são diagnosticadas a olho nu, a não ser pelos sinais clínicos. Elas ocorrem pela presença de bactéria específica, com afinidade pelo ápice radicular, que provoca grandes bolsas periodontais que se comunicam com o seio nasal, porém com o dente mantido no alvéolo por vezes sem mobilidade.

Em humanos, as fístulas também são causadas por exodontias (SILVEIRA et al., 2008), predominantemente de pré-molares e molares superiores (ALLAIS et al., 2008;

MEIRELES & PINTO, 2008) e as complicações são as mesmas encontradas nos animais (ALLAIS et al., 2008).

1.1. Reparo de Fístula Oronasal (FON)

Salisbury (1996) sugere para a correção da fístula flape simples, porém com maxilectomia prévia das cristas alveolares, assim como a extração dos dentes próximos a ela, para diminuir a tensão da sutura. Nelson (1998) indica sutura dupla na fixação dos flapes de mucosa e submucosa, pois fechamento hermético garantiria melhor cicatrização da ferida.

Smith (2001), após recidiva de FON gerada por exérese de fibrossarcoma em cão, usou flape mucoperiosteal confeccionado do palato contralateral a lesão, obtendo cicatrização em duas semanas. Atribuiu o bom resultado à presença da artéria palatina no retalho e menor rotação do mesmo quando comparado aquele em U rotacionado do palato adjacente a lesão.

Bryant et al. (2003) confeccionaram flape pediculado de mucosa jugal para tratamento de FON recidivante em dois cães, defendendo sua utilização pela presença de artéria e veia angular no flape, ocorrendo em um dos animais cicatrização em seis meses e no outro permanência de 5% da FON original. Goelzer et al. (2003) colocaram resina acrílica auto-polimerizável (polimetil-metacrilato-PMMA) no orifício fistular previamente provocado em alvéolos de caninos superiores em 12 cães, havendo três casos de rejeição do material. Em defeitos ósseos causados em furcas dentais de quarto pré-molares inferiores de dois cães, Lima et al. (2003) empregaram hidroxiapatita sintética como enxerto, obtendo reparação óssea ao redor de 71 dias, constatada pelo retorno da anatomia normal (bolsa periodontal de 1 a 2 mm).

Silva (2006) provocou em sete cães defeito em palato duro, reparando o mesmo em cinco cães com a biomembrana de látex (BML) e mantendo os demais como

controle. Observou que ao redor de 10 dias quatro animais tratados tinham fechamento completo da comunicação, enquanto que nos controles tardou por volta de 40 dias.

Gomes et al. (2007) usaram colágeno bovino liofilizado no preenchimento de fístulas de alvéolos de caninos superiores (previamente provocadas em cães), ocorrendo alguns casos de deiscência de sutura, porém com bom resultado. Também, para reparar a FON, foi utilizado enxerto de cartilagem auricular autógeno em cinco felinos por Cox (2007), tendo resultado satisfatório, porém com o aumento do tempo operatório pela realização de duas feridas cirúrgicas e limitação de coleta da cartilagem.

Na odontologia humana, enxertos autógenos provenientes das regiões retromolares ou interforames da mandíbula foram empregados por Watzak et al. (2005) em fístulas oroantrais, porém tiveram problemas como deiscência de sutura, necessidade de fixação do enxerto com miniplacas e, a união óssea foi observada apenas oito meses após a cirurgia; além do aumento do tempo cirúrgico para coleta do material.

Hugentobler et al. (2006) mostraram, também em humanos, a superioridade dos flapes mucoperiosteais deslizantes frente aos de mucosas rotacionais, pois apresentam menor chance de deiscência de sutura e recidiva, além de menor necessidade de procedimentos periodontais secundários. Kirschener et al. (2006) testaram derme humana acelular comercial (AlloDerm®) para oclusão de FON em três suínos (induzidas experimentalmente) e em nove humanos (decorrentes de patologia); obtiveram bons resultados com cicatrização completa de todos os casos por volta de quatro semanas, havendo apenas dois pacientes humanos com deiscência de sutura e exposição do enxerto.

Ainda em humanos, para o tratamento de fístulas oronasais, Scala et al. (2007) aplicaram um gel contendo plaquetas, conservadas criogenicamente, com bons resultados pela estimulação de fatores de crescimento e células osteoprogenitoras. Allais et al. (2008) também usaram em humano, corpo adiposo bucal como enxerto, obtendo total fechamento da FON em sete dias, pois este serviu como leito para crescimento do tecido de granulação com posteriormente epitelização.

Outra técnica foi a de retalho mucoso geniano realizada por Meirelles & Neves-Pinto (2008) para tratamento de vinte e cinco pacientes humanos, com sucesso em 24 casos em 30 dias de pós cirúrgico, sendo de pouca valia em animais pela falta de colaboração na movimentação exacerbada da mandíbula, assim como pela distância entre a fistula de canino superior e a mucosa jugal, além de menor quantidade deste tecido no animal.

1.2. Biomembrana de Látex

Na década de 90 o Prof. Dr. Joaquim Coutinho Neto, docente do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) / Universidade de São Paulo (USP) e alguns colaboradores iniciaram estudos com a BML (Biomembrana de Látex), composta pela seiva da seringueira (*Hevea brasiliensis*), a qual apresenta atividade neoangiogênica que acelera e otimiza o processo de cicatrização, característica descoberta em várias pesquisas.

No ano de 1994 a estudante de Mestrado da área de Cirurgia da FMRP/USP, Fátima Mrué tentou reproduzir, sem sucesso, a prótese de Takimoto, composta de silicone e colágeno, para reconstituição de esôfago de cães. Foi então que o Prof. Dr. Coutinho lançou mão da seiva da seringueira (*Hevea brasiliensis*) para a confecção desta prótese. No décimo dia, após a cirurgia de implante, as próteses foram expelidas com as fezes, observando-se no sítio operatório, por endoscopia e análises histológicas, reconstrução sem nenhuma complicação. O tecido formado era muito semelhante ao esôfago normal (ERENO, 2003), sem sinais cicatriciais ou fibrose, sugerindo processo de neoformação (MRUÉ, 1996). A neovascularização foi comprovada pela grande quantidade de vasos encontrada nos cortes histológicos, sugerindo a indução de neoangiogênese pelo látex. Testes comparativos da biomembrana de látex (BML) com luvas cirúrgicas e preservativos em ovos embrionados mostraram a sua atividade neovascularizante, não observada nos outros

materiais. Concluindo-se que a vulcanização aplicada na fabricação desses materiais (luvas e preservativos), onde a temperatura varia de 110° a 125°C, inativaria as propriedades neoangiogênicas que, provavelmente, são inerentes às proteínas existentes no látex, pois a manufatura da BML é diferente (PELE NOVA BIOTECNOLOGIA, 1999).

Coutinho e Mrué em 1997 submeteram então à Comissão de Ética do Hospital das Clínicas (HC) da FMRP/USP pedido para iniciarem testes em humanos. Pacientes com úlceras crônicas de pele começaram a ser tratados com BML, no Hospital de Itajobi/SP e, 12 dias após os curativos serem aplicados observou-se tecido de granulação e epitelização contra os seis meses necessários pelos métodos tradicionais (ERENO, 2003).

Em substituição a defeito induzido no pericárdio de cães, a BML mostrou-se satisfatória, propiciando a regeneração do pericárdio nativo com evidenciada proliferação fibroblástica e vascular em cortes histológicos, da membrana neoformada (SADER et al., 2000).

Oliveira et al. (2003) usaram a BML para reparação de membrana timpânica, comparando-a com a fásia temporal, em perfurações causadas por otite média em humanos, e observaram fechamento de 96% dos ouvidos e intensa vascularização local o que não é comum com outras opções. Pinho et al. (2004) aplicaram BML em conjuntivas de coelhos, previamente lesadas, e obtiveram cicatrização e neoangiogênese superior quando compararam àqueles que permaneceram com a esclera nua.

Mendonça (2004) concluiu que uma fração de proteína, chamada de pico 1 (P1) obtida do soro do látex de *Hevea brasiliensis*, por diluição em ácido acético 2,2%, seria responsável pelas propriedades de cicatrização da BML. Neste estudo essa fração de proteína, obtida por cromatografia em DEAE – celulose do soro proveniente do látex, foi aplicada na pele do dorso de coelhos, mostrando alta atividade no aumento da permeabilidade vascular, e também avaliada em membranas cório-alantóides de ovos de galinhas, com maior formação de neovasos em relação ao grupo controle.

Paulo et al. (2005a) empregaram a BML na herniorrafia perineal de um cão e notaram no momento da retirada do implante um tecido fibroso ocluindo completamente o anel herniário, que foi suficiente para reconstruir o diafragma pélvico. A BML foi também aplicada na correção de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteiros. Macroscopicamente, houve crescimento acentuado de tecido conjuntivo fibroso sob a membrana, com intensa associação com a musculatura adjacente, promovendo assim, adequada estabilidade e reparação cicatricial (RABELO et al., 2005).

Balabaniam (2005) introduziu a BML em forma de grânulos ou gel de látex em alvéolos de ratos após a extração de dentes incisivos e não observou rejeição ou processo inflamatório persistente. A reparação óssea intra-alveolar foi incrementada juntamente com a quantidade de vasos sanguíneos, havendo ainda superioridade do gel em relação aos grânulos no período inicial de sete dias.

Paulo et al. (2005b) produziram defeitos na parede abdominal em ratos, repararam com BML, notando formação de base fibrosa após expulsão das membranas.

Defeitos em ossos parietais do crânio de ratos foram criados para a observação da indução da regeneração óssea guiada (ROG) pela BML. Constatou-se formação óssea superior nos sítios criados e preenchidos com a membrana, além de grande quantidade de vasos que parecem resultar do fator estimulador da osteogênese, os quais não ocorreram nos controles que receberam tecidos autógenos (SOUSA, 2006).

Silva (2006) usou a BML para reparar fendas palatinas induzidas em cães e observou fechamento mais rápido quando comparado aos animais controle que tiveram cicatrização por segunda intenção.

Souza et al. (2007) utilizaram a BML em cavidades neoformadas por timpanomastoidectomia, em humanos, e perceberam a aceleração do processo de neoangiogênese com subsequente epitelização.

1.3. Cicatrização

A cicatrização é o processo de reparação após o rompimento da integridade tecidual com formação de uma cicatriz. Ocorre em três fases bem definidas: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelagem (CLARK, 1996).

1.3.1. Fase Inflamatória: preenchimento da área lesada com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas. A coagulação sanguínea e a agregação plaquetária geram um tampão rico em fibrina que, além de estabelecer a hemostasia e servir como uma barreira a infecções, organiza matriz provisória para a migração celular servindo ainda como um reservatório de fatores de crescimento necessários para as próximas fases da cicatrização (WERNER & GROSE, 2003).

1.3.2. Fase Proliferativa: ocorre devido à estimulação mitogênica formando, além do epitélio, tecido de granulação contendo capilares neoformados (FRADE, 2003). Nesta fase o aumento na permeabilidade vascular permite o transporte de água e macromoléculas incluindo fibrinogênio e outras proteínas da coagulação que favorecem a hemostasia e a deposição de fibrina extravascular, necessários para o processo de cicatrização (DVORAK, 2002). De fundamental importância, a angiogênese é responsável pelo aporte nutricional e de oxigênio aos tecidos neoformados (LI et al. 2003). Na formação de neovasos e aumento da permeabilidade vascular os fatores de crescimento são os principais responsáveis por essa estimulação, além de crescimento tecidual, reepitelização, formação do tecido de granulação, quimiotaxia, entre outros (MENDONÇA, 2004). Para o crescimento de neovasos e tecidos é necessário matriz extracelular constituída basicamente por fibronectina, colágeno, vibronectina, tenascina e laminina; funcionando como “plataforma” para a migração celular e principalmente como reservatório de fatores de crescimento (RUOSLAHTI & YAMAGUCHI, 1991).

1.3.3. Fase de Remodelagem: nesta etapa o organismo tenta restabelecer a estrutura tecidual normal. É marcada por maturação dos elementos e modificação na matriz extracelular, ocorrendo deposição de proteoglicanas e colágeno. A matriz que era provisória torna – se então definitiva e com a remodelagem desaparecem a maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias, por processos de emigração, apoptose ou outros mecanismos de morte celular desconhecidos, levando à formação de uma cicatriz relativamente acelular (ARNOLD & WEST, 1991).

2. OBJETIVO E JUSTIFICATIVA

Com este trabalho objetivou-se otimizar e acelerar o processo de reparação das fístulas oronasais, com a utilização fator proteico purificado do látex de seringueira, de comprovada atividade neovascular e promotora da cicatrização, no tratamento de comunicações oronasais induzidas experimentalmente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

A pesquisa foi realizada de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovada pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV/UNESP/Jaboticabal sob Protocolo nº 0012401-08.

3.2. Animais

Foram utilizados nove cães (sem raça definida), com idade média aproximada de 8 anos, sendo quatro machos e cinco fêmeas com peso médio de 15 kg, selecionados após exame físico e laboratorial (níveis séricos de alalinoaminotransferase - ALT, uréia sérica e hemograma) para avaliação das condições de saúde e não interferência no experimento.

3.3. Material

Com base nos dados de Mendonça (2004), a fração de proteína denominada de pico 1 (P1) foi escolhida para utilização no experimento.

3.3.1. Preparo

O material foi preparado no Laboratório do Prof. Dr. Coutinho no Departamento de Bioquímica e Imunologia da FMRP/USP. A proteína 1 (P1) ou pico 1, obtida pelo método de Mendonça (2004), foi então liofilizada adquirindo o aspecto de pó, o qual foi utilizado para preparo de solução de 0,01% de P1 em cloreto de sódio 0,9%. Nesta solução foram colocadas as esponjas de colágeno¹, afim de que absorvessem esse líquido.

Para a comprovação de que as esponjas continham a P1 foram feitas leituras de absorbância em espectrofotômetro² a 280 nm. Foi realizada leitura logo após o preparo e após 24h da inclusão das esponjas na solução. O aparelho foi zerado com salina 0,9% e os seguintes valores de absorbância foram obtidos:

Primeira leitura

- Salina 0,9% + esponjas: 0,054
- Salina 0,9% + P1: 0,429
- Salina 0,9% + P1 + esponjas: 0,436

Segunda leitura

- Solução 1 (S1) – suspensão de imersão das esponjas (salina + P1): 0,303
- Solução 2 (S2) - suspensão contida nas esponjas, obtida por compressão (salina + P1): 0,420

Portanto, na primeira leitura foi comprovada a presença da proteína na solução salina quando se obteve um valor muito superior (0,429) naquela contendo esponjas e P1 quando comparado a outra contendo apenas esponjas (0,054). Identificou-se ainda, na segunda (após 24h), que ocorreu retenção de parte da proteína pela esponja, visto

¹ Hemospon cx c. 10 – Technew Comércio e Indústria Ltda. – Rio de Janeiro – RJ

² Aparelho de Espectroscopia Spectronic Genesys 20 – Thermo Fisher Scientific Inc. – Waltham, MA. USA

que o valor de 0,303 na solução de imersão das esponjas é menor em relação ao valor obtido (0,420) naquela resultante da compressão delas, propriedade favorável ao experimento pela manutenção por maior tempo e quantidade de P1 na comunicação (liberação controlada).

3.4 Grupos experimentais

Foram extraídos os dois caninos superiores de todos os nove animais e provocadas as comunicações oronasais para simular as fístulas (n=18). Essas formaram então três grupos (n=6) para três diferentes tratamentos: I (ESP1) - esponja de colágeno contendo salina e P1, II (ES) - esponja de colágeno com salina e III (S) Controle – apenas com salina.

3.5. Protocolo Anestésico

O procedimento cirúrgico foi realizado sob anestesia geral inalatória. Os animais receberam como medicação pré-anestésica a associação de levomepromazina³ (1mg/kg) e cloridrato de petidina⁴ (3 mg/kg) por via intravenosa. Após quinze minutos foram induzidos com propofol⁵, por via intravenosa, na dose suficiente (5 a 10 mg/kg) para a intubação orotraqueal com sonda de Magill de diâmetro apropriado.

A anestesia foi mantida com o gás inalatório isoflurano⁶ diluído em oxigênio a 100% a 1,0 CAM (Concentração Alveolar Mínima), em circuito semi-fechado. Para

³ Neozine 25mg/5ml amp. 20 mL – Sanofi-Aventis – Suzano –SP

⁴ Dolantina 50 mg/ml amp. 2 ml – Sanofi-Aventis – Suzano –SP

⁵ Propovan 10 mg/ml amp. 20 ml - Laboratório Cristália – Itapira -SP

⁶ Isoflurane fco 100 ml - Laboratório Cristália – Itapira –SP

anestesia local, das hemi-maxilas, administrou-se cloridrato de bupivacaína⁷ na dose de 0,5 mg/kg infundido bilateralmente nos forames infra-orbitários.

⁷ Bupivacaína 0,25% amp 20 ml – Abbott Brasil – São Paulo – S.P.

3.6. Técnica Cirúrgica

O procedimento cirúrgico foi precedido de lavagem da cavidade oral com solução cloreto de sódio a 0,9 %⁸ e posterior antissepsia com solução de gluconato de clorexedine a 0,12%⁹ como determinado por Nelson (1998) e Hedlund (2002).

3.6.1. Exodontia do Canino

A exodontia dos dentes caninos superiores foi executada segundo a técnica modificada de Roza (2004), na qual se cria um flape mucoperiosteal mediante duas incisões paralelas à raiz do canino (mesial e distal), com bisturi e lâmina nº 24 (Figura 1A), iniciadas nas bordas coronais passando pela linha mucogengival até a posição necessária para exposição dos terços distal e medial da raiz. O tecido incisado foi então rebatido com auxílio de cinzel odontológico unibiselado formando-se o flape (Figura 1B). Com a raiz exposta (Figura 1C), foi promovida a luxação na face mesial radicular com alavanca apical tipo Seldin reta (Figura 1D) para rompimento do ligamento periodontal e liberação do elemento dental. Os movimentos de luxação foram feitos sempre no sentido meso-distal e nunca vestibulo-palatino a fim de se evitar a fratura radicular do canino (GIOSO, 2003).

Quando o dente já estava com acentuada mobilidade foi usado o fórceps odontológico (Figura 2A) com movimentos de rotação e extrusão para sua completa remoção.

⁸ Cloreto de Sódio 0,9% fco 500 ml – Fresenius Medical Care – Jaguariúna – S.P.

⁹ Periogard fco 1l - Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda. – São Paulo – S.P.

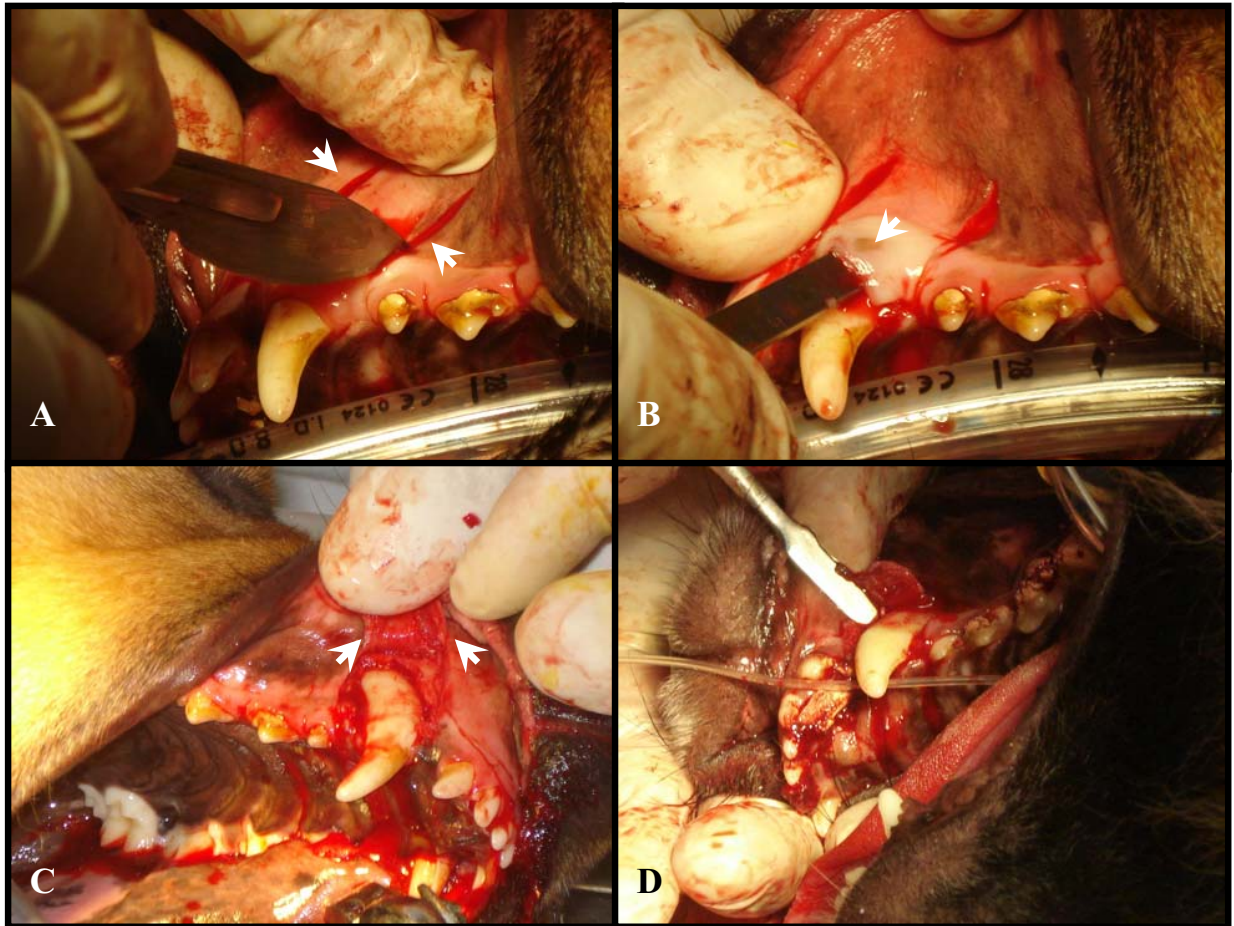


Figura 1. Imagens fotográficas das diferentes etapas da exodontia de canino superior de cão. **A:** incisões paralelas, com bisturi, mesial e distal à raiz (setas). **B:** rebatimento do flap com cinzel unibiselado odontológico (seta). **C:** raiz exposta e flap confeccionado (setas). **D:** luxação com alavanca apical Seldin reta na face mesial radicular.

3.6.2. Produção e Diagnóstico da Comunicação

Extraídos os caninos, foram provocadas as comunicações com pinça histológica de ponta perfurante e martelo de Marlet (Figura 2B), sendo confirmada pela hemorragia oriunda da narina correspondente (GOELZER, 2003 e GOMES, 2007). Para diagnóstico definitivo da fístula empregou-se técnica modificada de Godói (1992). Foi preparada sonda uretral (calibre 6, 8 ou 10) ocluindo-se sua extremidade com pinça hemostática aquecida em lamparina odontológica, para seu preenchimento com sulfato de bário e não extravasamento na cavidade nasal. No orifício recém formado introduziu-se a sonda preparada e realizou-se radiografia odontológica intra-oral (Figuras 2C e D), com aparelho de Radiologia¹⁰ e filme¹¹ n° 2, constatando-se assim a comunicação entre a cavidade oral e os seios nasais.

3.6.3. Reparo

Promovidas as comunicações, suas cavidades foram preenchidas (Figura 2E) com esponjas de colágeno + salina + P1 (grupo ESP1), esponja de colágeno + salina (grupo ES) ou somente salina (grupo S). Em cada cavidade dos grupos ESP1 e ES foram colocadas três esponjas.

As comunicações foram então reparadas pelo método de flape simples mucoperiosteal deslizante (SAN ROMAN et al., 1999; HEDLUND, 2002; ROZA, 2004; GOMES, 2007) utilizando-se aquele confeccionado na exodontia. Esse foi posicionado de modo a cobrir completamente o orifício deixado pela exodontia, sendo ampliadas às incisões laterais, caso houvesse tensão na aproximação. O flape foi então suturado ao tecido gengival e mucoso circunjacente, com fio de náilon¹² 4-0 (Figura 2F).

¹⁰ Aparelho de Raios-X – Gnatus 66 Kvp – 6,5 ma – modelo – Time X-66 – Ribeirão Preto – S.P.

¹¹ Filme Dental 31x41mm - Kodak insight – São José dos Campos – S.P.

¹² Fio de Sutura de Nylon Monofilamentar Preto – Technofio – Goiânia – GO.

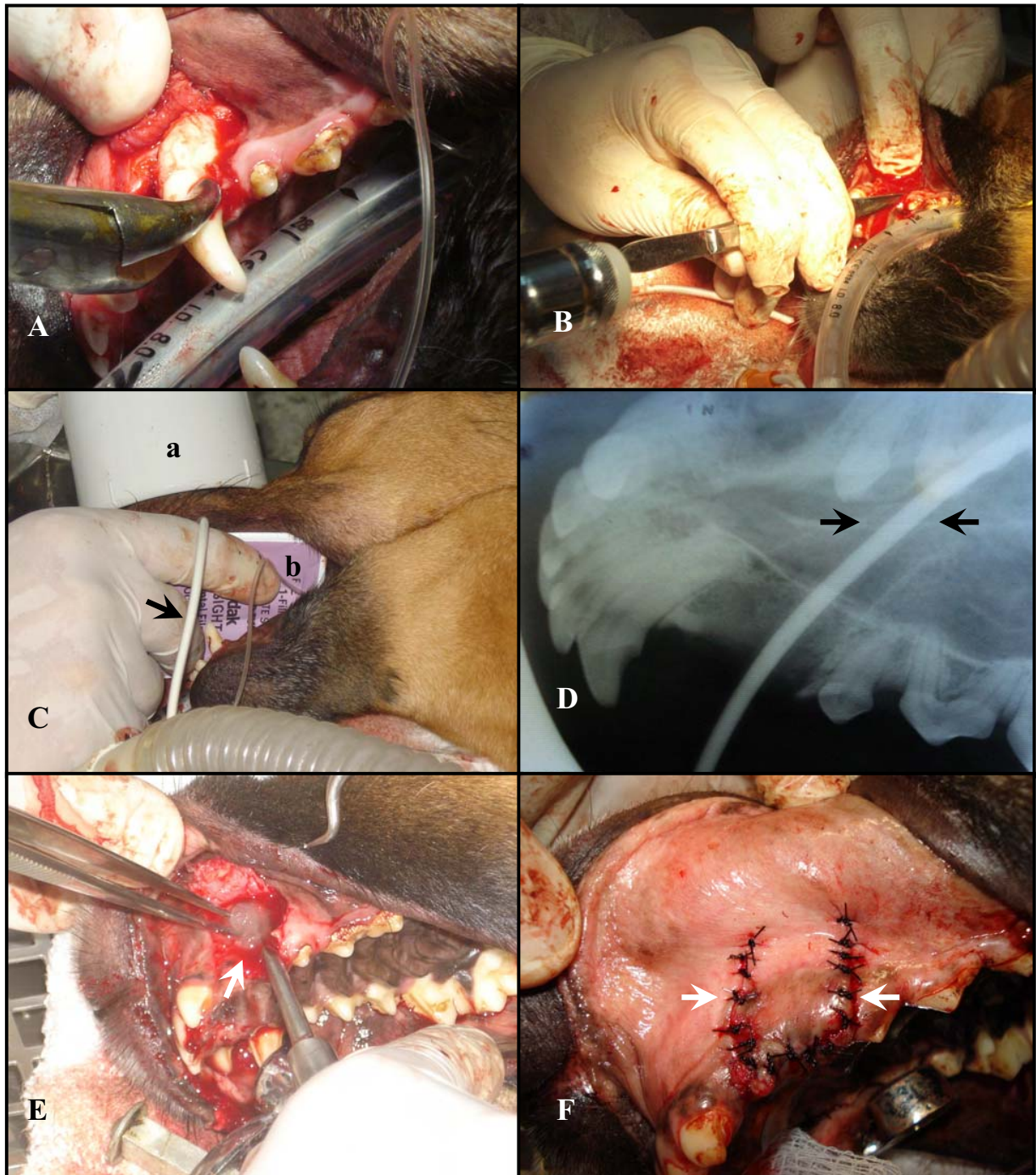


Figura 2. Imagens fotográficas da avulsão de canino, produção, diagnóstico e reparo da comunicação oronasal em cão. **A:** avulsão com fórceps. **B:** produção da comunicação. **C:** sonda contendo sulfato de bário (seta), posição do aparelho (a) e filme (b) para captação de imagem radiográfica. **D:** imagem radiográfica confirmando a presença da comunicação (setas). **E:** cavidade preenchida com esponjas (seta). **F:** comunicação reparada após sutura do flape (setas).

3.7. Protocolo Terapêutico

Os animais receberam antibiótico azitromicina¹³ na dose de 10 mg/kg a cada 24h por 10 dias, anti-inflamatório meloxicam¹⁴ na dose de 0.1 mg/kg a cada 24 horas por sete dias e analgésico cloridrato de tramadol¹⁵ na dose de 1 mg/kg a cada 12 horas por sete dias, todas as medicações iniciadas no dia da cirurgia. A alimentação foi pastosa nos 10 primeiros dias de pós-operatório para evitar complicações no local da cirurgia.

3.8. Critérios de Avaliação

Todas as avaliações foram feitas por três Médicos Veterinários, que atribuíram um escore numérico qualiquantitativo para cada fator analisado, citado a seguir, dos quais foi obtida uma média. Com base no proposto por Pinho et al. (2004) os escores qualiquantitativos estabelecidos foram: (0) ausente, (1) discreto, (2) moderado, (3) intenso e (4) muito intenso.

3.8.1. Avaliação Clínica

Os aspectos macroscópicos foram avaliados aos três, 14 e 21 dias de pós-operatório. Foram inspecionados sinais inflamatórios, cicatrização e deiscência de sutura (perda de pontos e descontinuidade na linha de cicatrização). Os sítios cirúrgicos foram fotografados em todas as avaliações.

¹³ Azitromicina susp. 200mg/ml – Ranbaxy Farmacêutica LTDA. – São Gonçalo – RJ

¹⁴ Maxicam comp 0,5mg ou 10mg – Ouro Fino Saúde Animal – Cravinhos - SP

¹⁵ Tramal comp 50 ou 100mg – Searle do Brasil LTDA. – São Paulo – S.P.

3.8.2. Avaliação Radiográfica

Após sedação, dos animais, com propofol (5 a 10 mg/kg) por via intravenosa, foram realizadas radiografias intra-orais aos 21 dias de pós-operatório para averiguação de osteoproliferação.

3.9. Análise Estatística

Os dados foram submetidos ao Teste de Friedman (Variância por médias repetidas), com posterior análise pelo “post doc” de Dunn. Considerou-se significativo os resultados com valores de $p < 0,05$. Empregou-se programa computacional para a estatística¹⁶, bem como para a confecção de gráficos¹⁷.

¹⁶ Sigma Stat 3.0, Systat Software inc - San Jose, CA, USA

¹⁷ Origin 6.1, OriginLab Corporation - Northampton, MA, USA

4. RESULTADOS

Todos os dados avaliados foram expressos pela média e erro padrão ($\pm$ EPM).

4.1. Sinais Inflamatórios

Em nenhum dos períodos de observação houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 1 e Gráfico 1), entretanto o escore qualiquantitativo aos três dias, do grupo ESP1, foi 6,8 vezes superior ao do grupo S e 4 vezes ao do grupo ES. Além disso, ocorreu diminuição do valor do grupo ESP1 no sétimo dia, enquanto que nos outros grupos aconteceu um aumento. Notou-se ainda que, aos 21 dias o escore do grupo ESP1 foi 31% menor que o grupo S e 22% que o ES.

Na Figura 3 pode ser observada hiperemia no grupo ESP1 aos 3 dias de pós-operatório, sendo que ao sétimo dia não é mais visibilizada. No grupo ES, este sinal é notado a partir do sétimo dia, acentuando-se com o tempo, assim como em S. Aos 21 dias notam-se sinais de inflamação mais intensos no grupo S, seguido de ES e ESP1.

Tabela 1. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, dos sinais inflamatórios, entre os grupos, nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.

GRUPOS	Período de Observação (dias)			
	3	7	14	21
Esponja de colágeno, Salina e P1 (ESP1)	1,33 $\pm$ 0,22	0,17 $\pm$ 0,17	0,67 $\pm$ 0,22	1,17 $\pm$ 0,60
Esponja de colágeno e Salina (ES)	0,33 $\pm$ 0,22	1,00 $\pm$ 0,45	0,50 $\pm$ 0,34	1,50 $\pm$ 0,43
Salina (S)	0,17 $\pm$ 0,17	0,67 $\pm$ 0,21	1,17 $\pm$ 0,40	1,70 $\pm$ 0,42

*Teste de Dunn ($p > 0,05$)

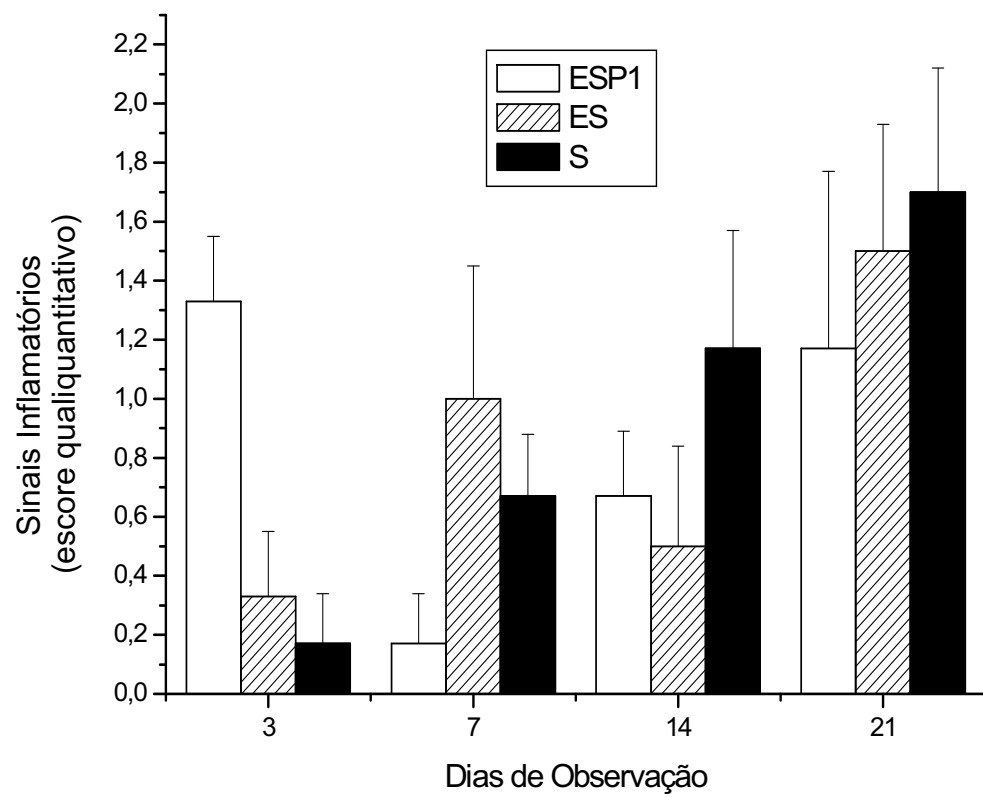


Gráfico 1. Média e erro padrão dos escores qualiquantitativos dos sinais inflamatórios na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.

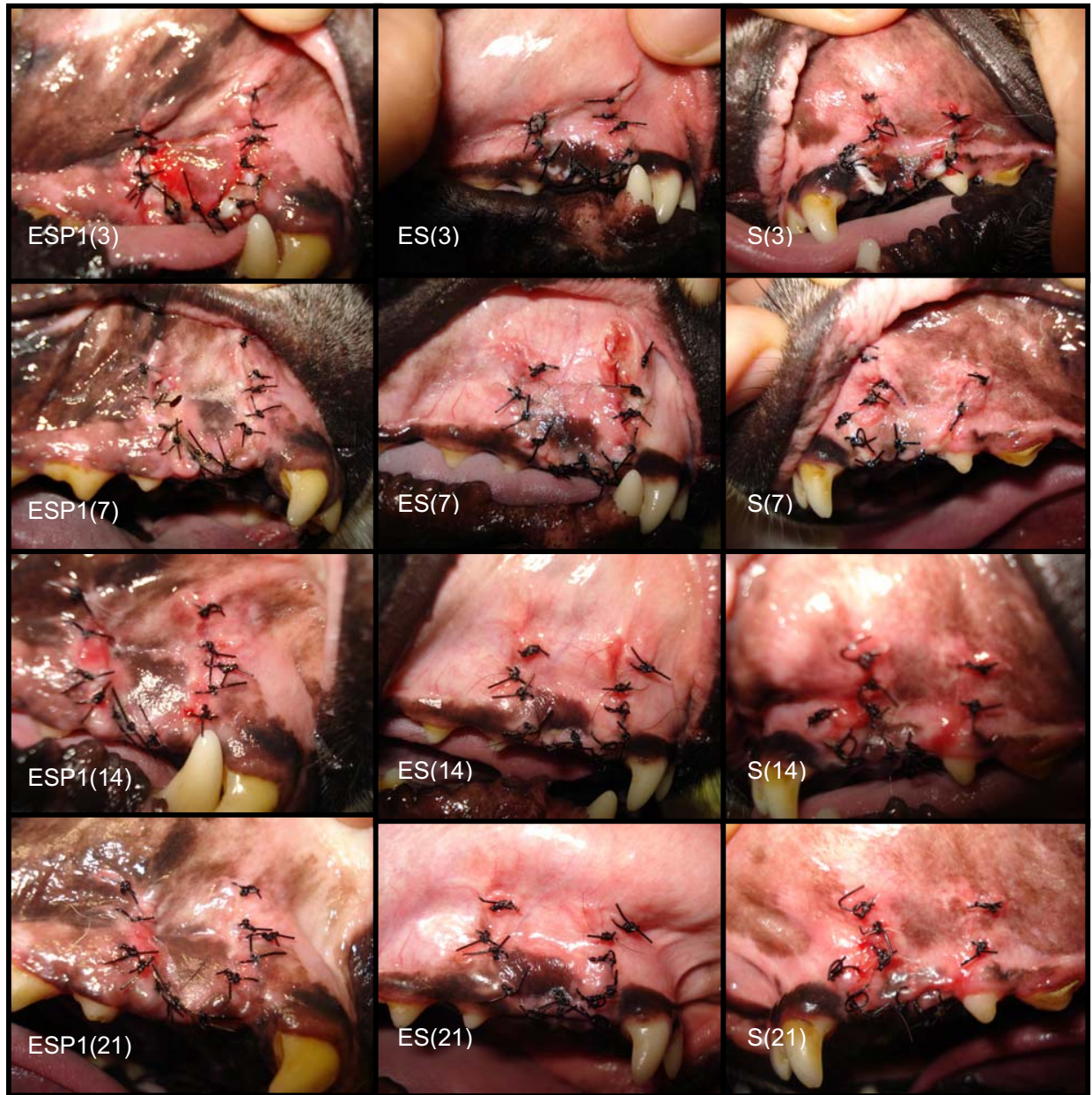


Figura 3. Imagens fotográficas dos sinais inflamatórios e cicatrização, nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no terceiro (3), sétimo (7), décimo quarto (14) e vigésimo primeiro (21) dias de observação.

4.2. Cicatrização

Em nenhum dos períodos avaliados houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 2 e Gráfico 2). Contudo, no terceiro dia de observação, somente o grupo ES obteve escore positivo e, ao sétimo dia, mostrou superioridade de 12% e 28% ao grupo ESP1 e S, respectivamente. No décimo quarto dia houve uma inversão dos escores entre ESP1 e ES, ficando o do primeiro 15% superior ao ES e 25% ao S. Ao vigésimo primeiro dia o grupo ESP1 manteve o maior escore, sendo 20% superior ao ES e 29% ao S.

Visualiza-se na Figura 3, na página anterior, em ESP1(14) melhor aspecto cicatricial quando comparado a ES(14), o qual está superior a S(14), conservando-se a mesma situação aos 21 dias de observação, porém muito acima quando comparado aos 14 dias de observação.

Tabela 2. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da cicatrização entre os grupos nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal 2009.

GRUPOS	Período de Observação (dias)			
	3	7	14	21
Esponja de colágeno, Salina e P1 (ESP1)	0,00±0,00	1,33±0,42	2,50±0,34	3,00±0,52
Esponja de colágeno e Salina (ES)	0,17±0,17	1,50±0,22	2,17±0,30	2,50±0,43
Salina (S)	0,00±0,00	1,17±0,40	2,00±0,36	2,33±0,49

*Teste de Dunn ($p > 0,05$)

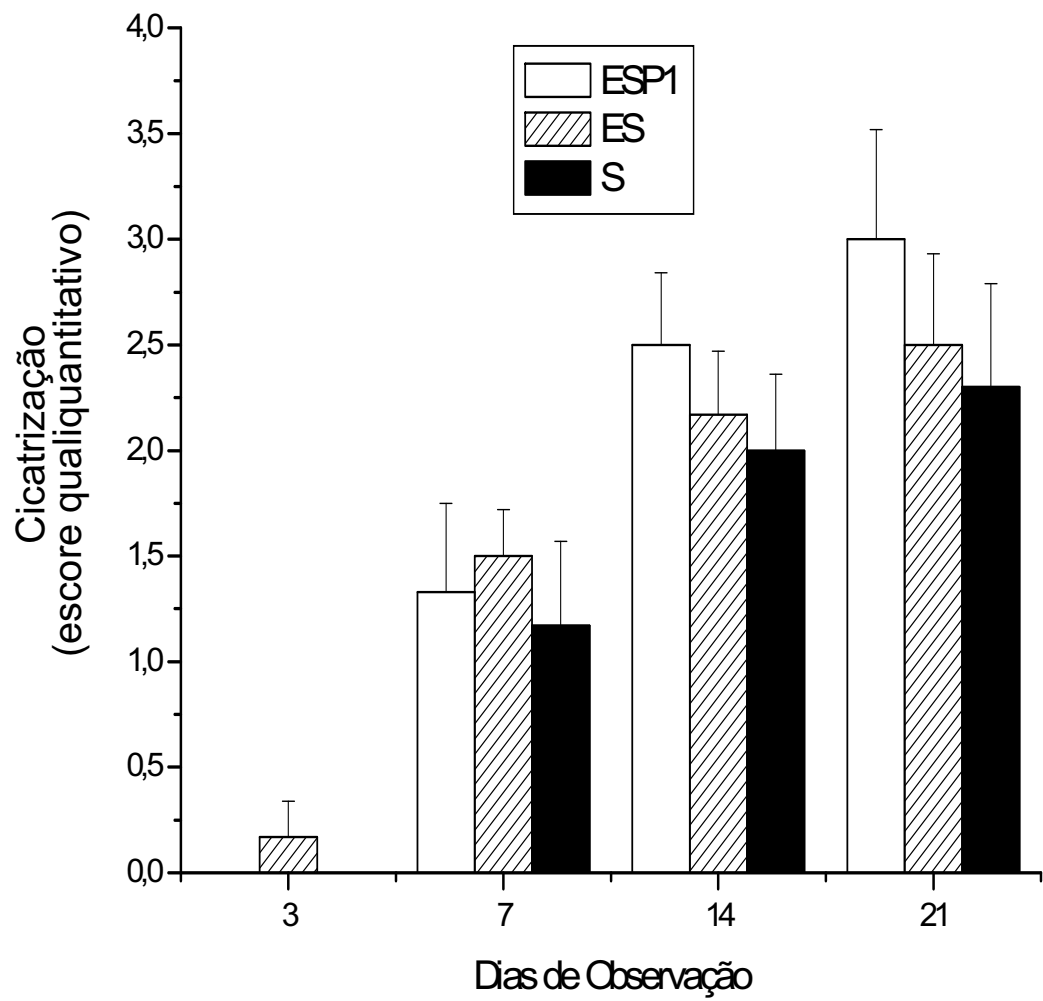


Gráfico 2. Média e erro padrão dos escores qualiquantitativos da cicatrização na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.

4.3. Deiscência de Sutura

4.3.1. Perda de pontos

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos ou períodos (Tabela 3 e Gráfico 3), porém aos três dias ela ocorreu entre os grupos ES e S. Aos 14 dias o escore de ESP1 foi 85% menor que os outros grupos e aos 21 dias permanecia 57% menor que ES e 62% que S.

Observamos na Figura 4 que em ESP1(14) e (21) não ocorre perda de pontos de sutura, enquanto que em ES(14) e (21) há perda considerável, mas ela ainda é bem menor quando comparada a S(14) e (21).

Tabela 3. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da perda de pontos entre os grupos nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal 2009.

GRUPOS	Período de Observação (dias)			
	3	7	14	21
Esponja de colágeno, Salina e P1 (ESP1)	0,00±0,00	0,17±0,17	0,17±0,17	0,50±0,34
Esponja de colágeno e Salina (ES)	1,00±0,45	1,00±0,45	1,17±0,40	1,17±0,40
Salina (S)	0,67±0,21	1,00±0,36	1,17±0,30	1,33±0,42

*Teste de Dunn ($p > 0,05$)

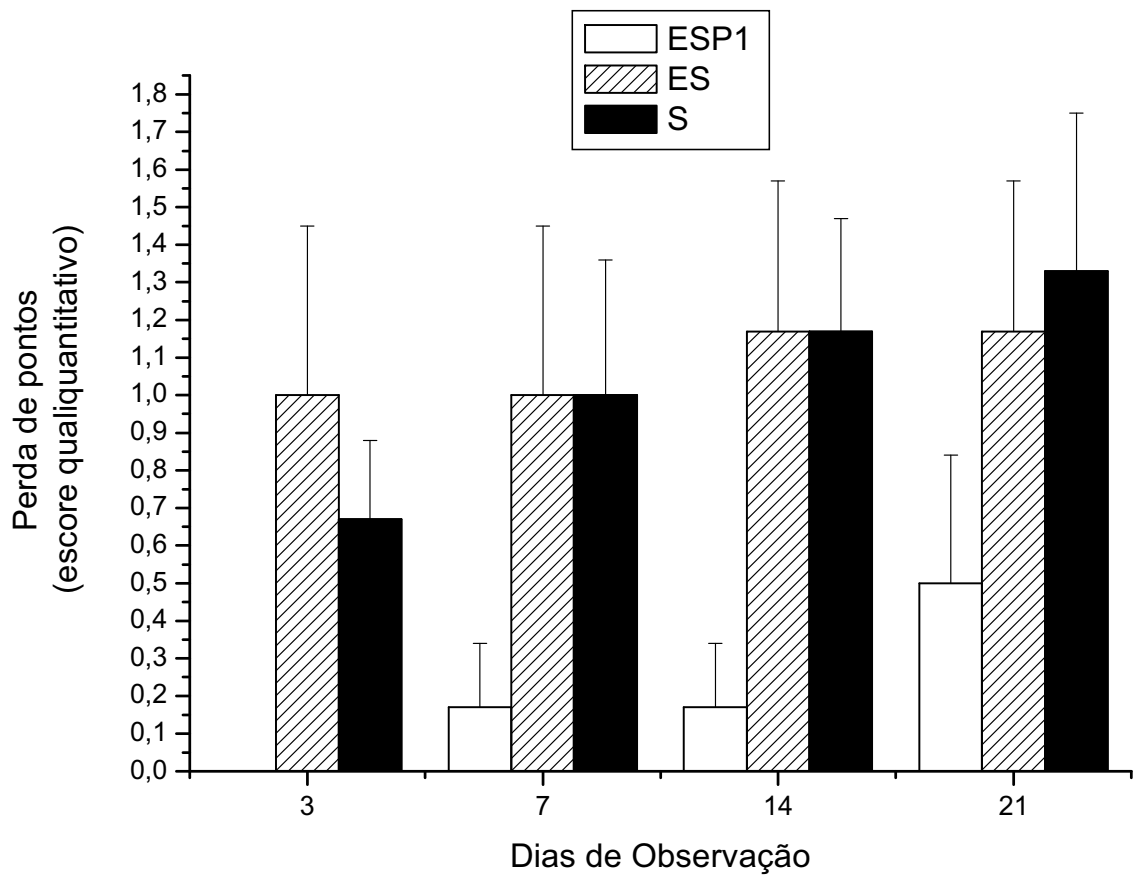


Gráfico 3. Média e erro padrão dos escores quantitativos da perda de pontos na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.

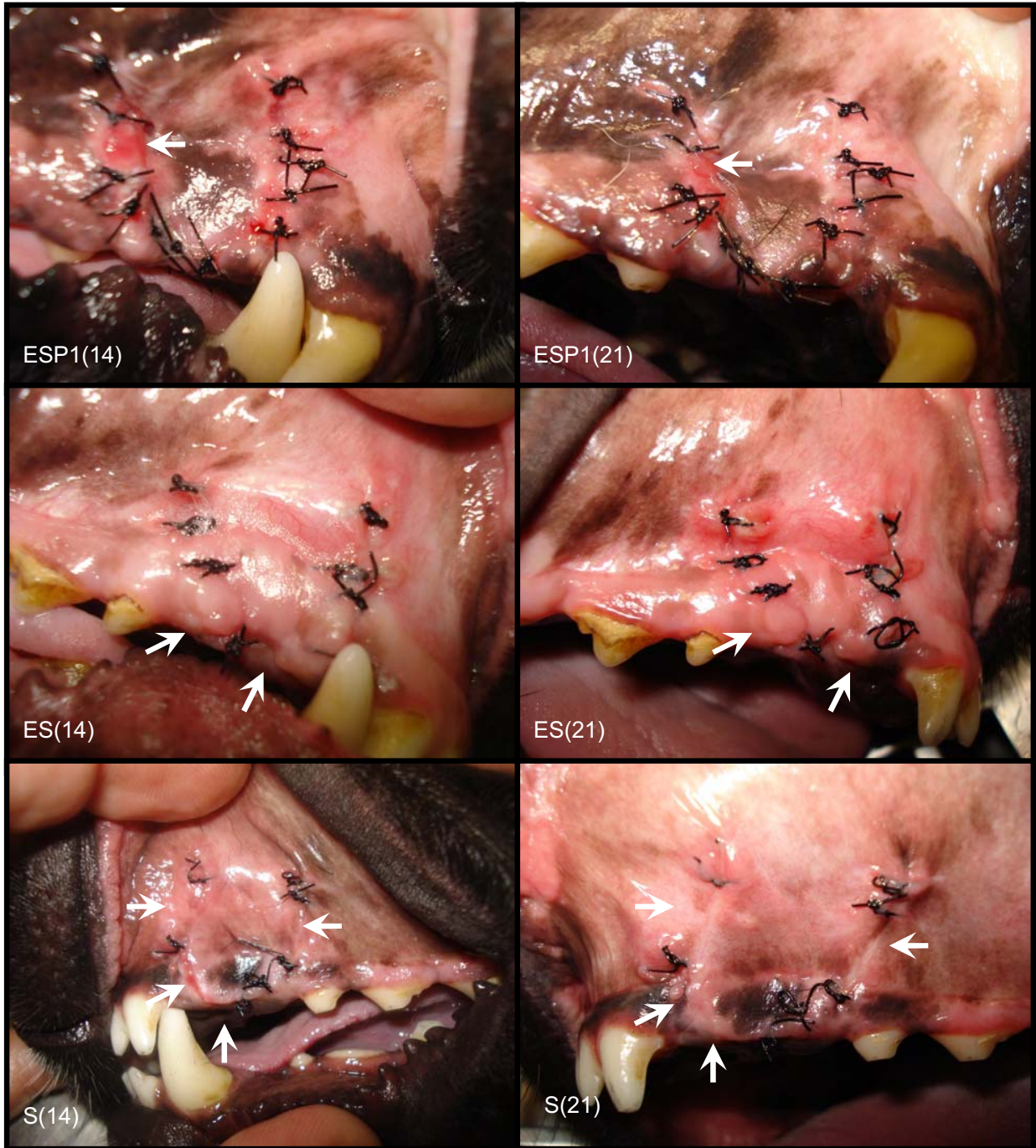


Figura 4. Imagens fotográficas da perda de pontos (setas), nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no décimo quarto (14) e vigésimo primeiro (21) dias de observação.

4.3.2. Descontinuidade da linha de cicatrização

Entre os grupos ou períodos não houve diferença significativa para $p > 0,05$ (Tabela 4 e Gráfico 4), entretanto ocorreu descontinuidade na linha de cicatrização nos grupos ESP1 e ES que apresentaram o mesmo escore no terceiro e sétimo dia. A descontinuidade aparece no grupo S, no sétimo dia, porém 34% menor que nos outros grupos.

Visualizamos na Figura 5, pequena descontinuidade na linha de cicatrização em ESP1 e ES aos 7 dias de observação.

Tabela 4. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise clínica, da descontinuidade da linha de cicatrização entre os grupos nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal 2009.

GRUPOS	Período de Observação (dias)			
	3	7	14	21
Esponja de colágeno, Salina e P1 (ESP1)	0,17±0,17	0,50±0,34	0,00±0,00	0,00±0,00
Esponja de colágeno e Salina (ES)	0,17±0,17	0,50±0,34	0,00±0,00	0,00±0,00
Salina (S)	0,00±0,00	0,33±0,21	0,00±0,00	0,00±0,00

*Teste de Dunn ($p > 0,05$)

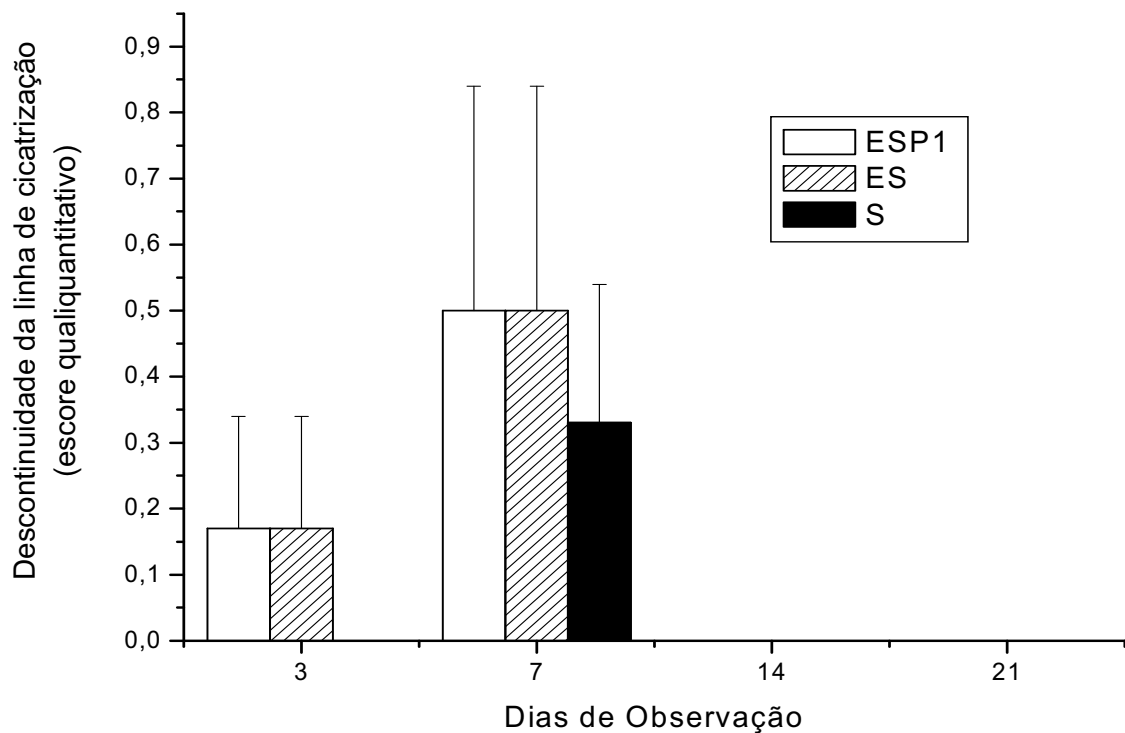


Gráfico 4. Média e erro padrão dos escores qualiquantitativos da descontinuidade da linha de cicatrização na avaliação clínica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.



Figura 5. Imagens fotográficas da descontinuidade da linha de cicatrização (setas), nos grupos experimentais (ESP1 e ES) ao sétimo (7) dia de observação.

4.4. Osteoproliferação

Quanto à osteoproliferação, em nenhum dos períodos avaliados, houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 5 e Gráfico 5), todavia observou-se escores diferentes nas radiografias realizadas no vigésimo primeiro dia, sendo o do grupo ESP1 26% maior que ES e 149% que S.

Constatou-se maior osteoproliferação no grupo ESP1, seguido pelo grupo ES e, por último, o S. Como observamos na Figura 6 em ESP1(21) ocorreu aumento considerável da radiopacidade comparado a ESP1(1), com comportamento semelhante entre ES(21) e ES(1), porém de menor dimensão. Em S(21) houve pequena deposição óssea.

Tabela 5. Média e erro padrão* do escore qualiquantitativo obtido por análise radiográfica, da osteoproliferação entre os grupos nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal 2009.

GRUPOS	Período de Observação (dias)	
	1	21
Esponja de colágeno, Salina e P1 (ESP1)	0,00±0,00	1,670,42
Esponja de colágeno e Salina (ES)	0,00±0,00	1,330,42
Salina (S)	0,00±0,00	0,670,21

*Teste de Dunn ($p > 0,05$)

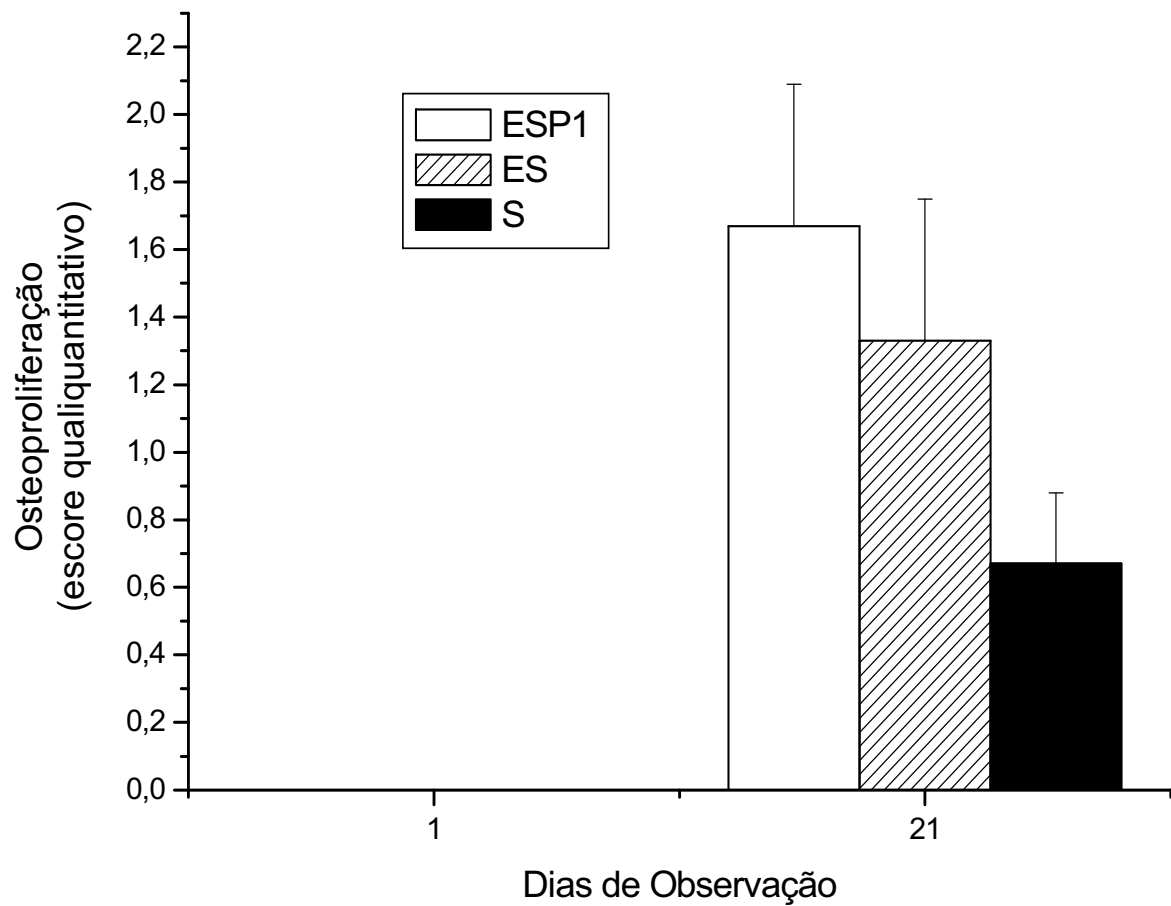


Gráfico 5. Média e erro padrão dos escores qualiquantitativos da osteoproliferação na avaliação radiográfica dos sítios cirúrgicos dos grupos ESP1, ES e S nos diferentes períodos de observação (dias). Jaboticabal, 2009.

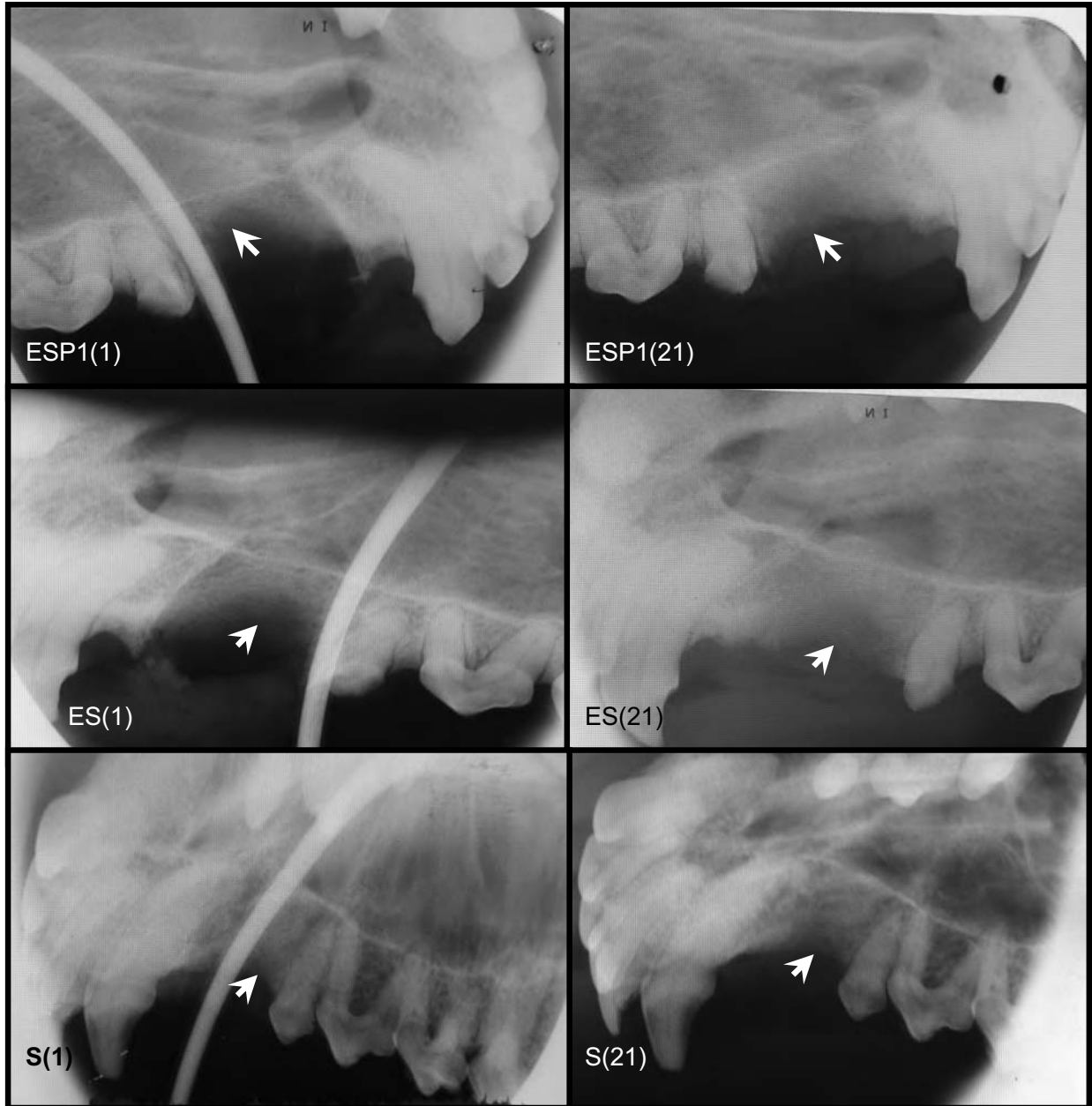


Figura 6. Imagens fotográficas de radiografias mostrando a osteoproliferação (setas), nos grupos experimentais (ESP1, ES, S) no primeiro (1) e vigésimo primeiro (21) dias de observação.

5. DISCUSSÃO

Vários são os relatos na literatura, de fístulas oronasais, seus sinais clínicos (EISNER, 1990; MANFRA-MARRETA & THOLEN, 1990; HARVEY & EMILY, 1993; SALISBURY, 1996; DORN, 1998; GIOSO, 2003; ROZA, 2004; DOGAN et al., 2007; PEAK, 2007) e as diversas técnicas para seu reparo (SALISBURY, 1996; SMITH, 2001; BRYANT, 2003; GOELZER et al., 2003; LIMA et al., 2003; SILVA, 2006; GOMES et al., 2007; COX, 2007), porém com suas diversas complicações surge a necessidade e o interesse de se buscar nova técnica que seja eficiente, simples e de baixo custo para sua correção.

Os experimentos realizados com a BML (MRUÉ, 1996; SADER et al., 2000; ERENO, 2003; OLIVEIRA et al. 2003; PINHO et al., 2004; PAULO et al., 2005a; PAULO et al. 2005b; RABELO et al. 2005; BALABANIAM, 2005; SILVA, 2006; SOUSA, 2006; SOUSA et al., 2007) revelaram o poder cicatrizante da seiva de seringueira, mais especificamente do fator proteico angiogênico estudado por Mendonça (2004). Portanto, a necessidade de vascularização do flape de reparo de FON, para aumentar o potencial de cicatrização (SMITH, 2001; BRYANT et al., 2003; KIRSCHENER, 2006) justificou a utilização do pico 1 (P1) de proteínas, com atividade neovascularizante comprovada (MENDONÇA, 2004).

No início do trans-operatório foi de grande valia a lavagem da cavidade oral com solução cloreto de sódio a 0,9%, seguida de antissepsia com solução de gluconato de clorexedine a 0,12%, como determinado por Nelson (1998) e Hedlund (2002), visto que a realização de tratamento periodontal aumentaria muito o tempo cirúrgico, já longo devido à dificuldade da exodontia dos caninos superiores (GIOSO, 2003) e dos demais procedimentos (produção, diagnóstico e reparo da comunicação).

Para a exodontia dos caninos não tivemos sequer uma fratura indesejada da tábua óssea ou elemento dental como descrito por Gomes et al. (2007), provavelmente por terem sido seguidas a risca as orientações de Gioso (2003) de nunca executar movimentos de luxação láteromediais e sempre crâniocaudais.

Em todas as cirurgias, no momento da produção da comunicação, ocorreu hemorragia nasal, como relataram Goelzer et al. (2003) e Harvey & Emily (1993), confirmando o sucesso da realização. No seu diagnóstico, a técnica de Godoy (1992) modificada, mostrou-se simples e eficaz, com pequena modificação. Vedou-se a porção final da sonda contendo sulfato de bário, a fim de se evitar extravasamento do contraste no interior da cavidade nasal, o que prejudicaria a visualização da imagem radiográfica. Por último, empregou-se aparelho de radiologia odontológica ao invés de panorâmica, o que conferiu maior qualidade nas imagens.

Gomes et al. (2007), em um grupo de seu experimento, produziram e repararam as comunicações oro-nasais logo após sua confecção e, em outro grupo, provocaram as fístulas e não as reparou deixando os orifícios preenchidos por uma gaze para evitar a cicatrização. Após dois dias, as gazes haviam saído do local e não foram repostas. Em sete dias, todas as comunicações ainda estavam abertas, mostrando que mesmo sem mecanismos para impedir sua cicatrização, ela não aconteceu, concluindo-se então que, não há necessidade de espera para o reparo. Portanto, com base no exposto, as comunicações, simulando fístulas, foram imediatamente reparadas com flape simples deslizante associado ao FAP, neste experimento.

Na sutura do flape, confeccionado na exodontia e aproveitado no reparo da comunicação, foi utilizado o ponto simples interrompido com fio de diâmetro 3-0 (SMITH, 2000) e com nylon, por suas propriedades monofilamentares que conferem a impermeabilidade necessária para a síntese da mucosa e pela sua liberação espontânea quando mantido na superfície epitelial (HARVEY, 1987).

Para o reparo de FONs, Lima et al. (2003) empregaram a hidroxiapatita sintética em exposições de furca provocadas em cães, havendo, após 71 dias o retorno da anatomia próxima ao normal nos defeitos pequenos. Contudo, seu uso em FONs é dificultado pela porosidade do material, que certamente se perderia na cavidade nasal, sendo então contra-indicada (MEIRELLES & NEVES-PINTO, 2008). Eles ressaltam ainda, que o material não apresentou bons resultados quando em contato com a mucosa oral.

FONs induzidas em cães foram preenchidas com polimetilmetacrilato (GOELZER et al., 2003), havendo rejeição do material em 12,5% dos casos e deiscência de sutura em 75% (provavelmente devido a tentativa do organismo em expulsar o material). Comparando-se ao FPA, não ocorreu rejeição do material e, mínima ou quase nula, deiscência de sutura. Garcia et al. (1981) descreveram a inibição da osteoproliferação, muito importante como tecido de sustentação, diferentemente do FPA que induz crescimento ósseo.

O uso de cartilagem auricular em cinco gatos com FON por Cox et al. (2007) resultou na eliminação da comunicação, porém o tempo médio de cicatrização foi de seis semanas, muito superior ao de duas semanas observado neste trabalho. Salientamos ainda, o aumento de tempo cirúrgico para coleta do enxerto e prejuízo estético para o animal, o que não acontece com a utilização do flape simples associado ao FPA, de rápida e fácil execução.

Gomes et al. (2007) aplicaram osso esponjoso bovino inorgânico em FONs induzidas, e afirmaram se tratar de um ótimo método, pois conseguiram preenchimento do defeito dos sete aos 21 dias de pós-operatório e baixa taxa de deiscência (20%). Todavia, contestamos por se tratarem de fístulas induzidas e sem grupo controle para verificação da superioridade do material frente às técnicas convencionais.

Em técnica aplicada para enormes fístulas pós exérese de neoplasia em dois cães, Bryant et al. (2003) lançaram mão de grande flape feito a partir da mucosa jugal, para recobrir região de palato duro fistulado, não obtendo sucesso. No primeiro, o tempo de cura foi de seis meses e no segundo a fístula não foi reparada totalmente com persistência de 5% da lesão. Portanto o método proposto, além de ser mais utilizado para grandes comunicações caudais, é de realização mais elaborada e com tempo de cicatrização superior. Então não são recomendados para FONs, que são mais comuns em região de caninos superiores. Tratando-se ainda de flape da mucosa jugal a movimentação da mandíbula prejudicaria a sutura do flape e consequente adesão do mesmo aos bordos do defeito.

As complicações para reparo de FONs em animais são praticamente as mesmas encontradas em humanos (ALLAIS et al., 2008; MEIRELES & PINTO, 2008; SILVEIRA

et al., 2008) e as várias técnicas para reparo das comunicações encontradas na literatura (WATZAK et al., 2005; HUGENTOBLE et al., 2006; KIRSCHENER et al., 2006; SCALA et al., 2007; ALLAIS et al., 2008; MEIRELLES & PINTO, 2008), a maioria é de difícil transposição para os animais.

Kirschener et al. (2006) utilizaram derme humana acelular comercial (AlloDerm®) para oclusão de FONS, em três suínos (induzidas) e em nove humanos (naturais), obtiveram cicatrização, contudo em quatro semanas e houve ainda em dois pacientes humanos, deiscência de sutura e exposição do enxerto (levando-se em conta tratarem-se de fístulas naturais). Isto não ocorreu com o flape simples com FPA e o tempo de cicatrização foi inferior, salientando-se ainda o custo elevado do produto comparado ao do fator protéico angiogênico da seiva da seringueira.

Também em humanos, a técnica de retalho mucoso geniano (Meirelles & Neves-Pinto, 2008) para tratamento de fístulas clínicas em 25 pacientes reparou o defeito, mas somente aos 30 dias. Porém, a grande dificuldade encontra-se na transposição da técnica aos animais, sendo as principais recomendações pós-cirúrgicas: evitar tocar o local da cirurgia com a língua, não escovar, não soprar, não exercitar a bochecha, etc., para não lesar a cirurgia, problemas estes que não afetaram o emprego de flape simples com FPA, mesmo sendo utilizado em animais. No uso de flapes rotacionais palatinos, descrito por Silveira et al. (2008), obtiveram como vantagem a boa vascularização do pedículo e ausência de tensão na linha de sutura, todavia depara-se com o mesmo problema: a não cooperação dos animais que resulta no insucesso do procedimento.

A ausência de significância na análise estatística, desta pesquisa, pode ter sido pelo baixo número de animais estudados que se deveu a dificuldade atual para utilização de organismos vivos, frente ao exercício mais atuante das Comissões de Ética Animal.

Referente ao aspecto macroscópico, sinais inflamatórios, tem-se como um dos mais pronunciados. Estão exacerbados e muito superiores aos demais grupos nas comunicações do grupo ESP1 no terceiro dia de observação. Acredita-se que esta reação inflamatória superior acelerou e potencializou os processos de cicatrização, que

são superiores aos demais grupos. Na fase inflamatória do processo de cicatrização temos a formação da matriz provisória que funciona como base de sustentação para a cicatrização, assim como reserva de fatores de crescimento (WERNER & GROSE, 2003); conseqüentemente esta reação aumentada garantiria melhor início de processo reparatório. Destaca-se também que mesmo havendo sinal inflamatório superior no terceiro dia de observação do grupo ESP1 o mesmo encontra-se inferior aos demais grupos no vigésimo primeiro dia, característica benéfica a longo prazo.

No aspecto clínico cicatrização tem-se o seu início primeiramente no grupo ES, sendo este superior aos demais até o sétimo dia. Contudo ao décimo quarto dia nota-se o grupo ESP1 com escores maiores e que são mantidos até o vigésimo primeiro dia de observação. Provavelmente o melhor aspecto cicatricial das comunicações do grupo ESP1, a partir do décimo quarto dia de observação, seja devido ao poder neoangiogênico e de aumento da permeabilidade vascular do fator proteico (MENDONÇA, 2004). Na fase proliferativa da cicatrização o aumento da permeabilidade vascular permitiria o maior afluxo de água, macromoléculas, proteínas da coagulação e deposição de fibrina extravascular, necessárias para o processo reparatório (DVORAK, 2002) associado ao aumento de vasos que garantiria um melhor aporte nutricional e abastecimento de oxigênio aos tecidos neoformados (LI et al. 2003).

A perda de pontos também mostrou diferencial entre os grupos. Nas suturas realizadas nas comunicações do grupo ESP1 houve perda mínima dos pontos com escores muito baixos, já nos grupos ES e S esta ocorreu com valores um pouco superiores, mas ainda assim pequenos. Crê-se que a menor perda de pontos no grupo ESP1, seja justificada pela maior neovascularização e melhor cicatrização, pela presença do fator proteico angiogênico, que conferiu boa formação tecidual, levando a melhor ancoragem dos pontos na ferida.

Ao contrário da análise dos sinais inflamatórios, cicatrização e perda de pontos, a descontinuidade da linha de cicatrização teve pouco destaque. A mesma ocorreu apenas nos grupos ESP1 e ES com escores ínfimos no terceiro dia, aumentando em pouco o valor no sétimo e desaparecendo no décimo quarto. Portanto foi um aspecto de pouca valia.

Já na osteoproliferação observamos grande relevância na análise das imagens radiográficas obtidas aos vinte e um dias. Nota-se nitidamente, comparando-se a imagem radiográfica do primeiro dia, crescimento ósseo superior do grupo ESP1 frente ao ES e principalmente ao S, que apresentou pequena expressão nesse aspecto. O crescimento ósseo obtido foi o mesmo observado em experimento com a BML feito por Balabanian et al. (2005) e presumivelmente foi o que garantiu maior sustentação para o reparo, melhorando a cicatrização.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

- A utilização do fator proteico angiogênico exacerba o processo inflamatório nos primeiros dias de pós-cirúrgico, o que pode auxiliar no processo de reparação tecidual;
- Encontra-se melhor aspecto cicatricial nas comunicações tratadas com FAP a partir dos 14 dias do processo;
- Tem-se menor perda de pontos comparada, garantindo menor chance de deiscência de sutura;
- Ocorre maior preenchimento ósseo dos alvéolos tratados com FAP, assegurando maior sustentação ao flape e melhor fechamento da fístula;
- O flape simples associado ao fator proteico angiogênico mostrou ser método eficiente, de simples execução e baixo custo no reparo das fístulas oro-nasais em cães.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAIS, M.; MAURETTE, P. E.; CORTEZ, A. L. V.; LAUREANO FILHO, J. R.; MAZZONETTO, R. Retalho de corpo adiposo bucal no fechamento de comunicação buco-sinusal. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 74, n. 5, p. 799, 2008.

ARNOLD, F. e WEST, D. C. Angiogenesis in wound healing. **Pharmacology & therapeutics**, Manchester, v. 52, n. 3, p. 407-422, 1991.

BALABANIAM, A. C. A. **Avaliação histométrica e histológica do reparo ósseo do alvéolo dental implantado com látex natural**. 2005. 98 f. Tese (Doutorado em Odontologia) Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

BRYANT, K. J.; MOORE, K.; MCANULTY, J. F. Angularis oris patter buccal flap for reconstruction of recurrent fistulae of the palate. **Veterinary Surgery**, Madison, v. 32, n. 2, p. 113-119, 2003.

CLARK, R. A. F. **The molecular and cellular biology of wound repair**. 2. ed. Nova York, Plenum Press, 1996.

COX, C. L.; HUNT, G. B.; CADIER, M. M. Repair of oronasal fistulae using auricular cartilage grafts in five cats. **Veterinary Surgery**. Sydney, v. 36, n. 2, p. 164-169, 2007.

DOGAN, E.; OKUMUS, Z.; YANMAZ, L. E. Periodontal diseases in pet animals. **Veterinary Research**, Erzurum, v.1, n.1, p.17-22, 2007.

DORN, A. S. Extrações e complicações dentárias. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Ed. Manole, 1998, v. 2, cap. 177 , p. 2745-2751.

DVORAK, H. F. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. **Journal of Clinical Oncology**, Boston, v. 20, n. 21, p. 4638-4680, 2002.

EISNER, E. R. Treating advanced cases of periodontitis in dogs and cats. **Veterinary Medicine**, Denver, v. 85, n. 1, p. 140-158, 1990.

ERENO, D. Curativo de borracha. **Revista Pesquisa Fapesp**. São Paulo, v.6, n. 88, 2003. Disponível em: < <http://www.fapesp.org.br/revistapesquisa.fapesp.br> >. Acesso em: 22 nov. 2007.

FRADE, M. A. C. **Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico do reparo tecidual na presença da biomembrana de látex natural da seringueira Hevea brasiliensis**. 2003. 164 f. Tese (Doutorado em Medicina) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

GARCIA, D. A.; SULLIVAN, T. M.; O'NEIL, D. M. The biocompatibility of dental implant materials measured in an animal model. **Journal Dentistry Research**, Boston, v. 60, n. 1, p. 44-49, 1981.

GIOSO, M. A. **Odontologia para o clínico de pequenos animais**. 5. ed. São Paulo. Ed. Ieditora, 2003, p. 65-73.

GODOY, C. L. P. **Diagnóstico radiológico de fístula oronasal iatrogênica em cães (canis familiares)**. 1992, 29 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1992.

GOELZER, L. P.; RAISER, A. G.; GAIGA, L. H.; BRONDANI, J. T.; SHEILA, A. B.; CAMARGO F. Acrílico auto-polimerizável associado ou não a retalho mucoperiosteal simples no tratamento da fístula oronasal experimental em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 1-11, 2003.

GOMES, K.; PIPPI, N. L.; BRAGA, F. V. A.; KROLIKOWSKI, G.; SOARES, A. V.; PIGATTO, G. M.; POHL, V. H.; NOVOSAT, D. ; BERTOLLETTI, B.; MORSCHBACHER, P. D.; SOUZA, G. S.; DALMOLIN, F. Osso bovino esponjoso inorgânico liofilizado em bloco no reparo de fístula oronasal induzida em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 159-164, 2007.

HARVEY, C. E. Palatal defects in dogs and cats. **Compendium on continuing education for practicing veterinarian**, Lawrenceville, v. 9, n. 4, p. 404-418, 1987.

HARVEY, C. E.; EMILY, P. P. **Small animal dentistry**. Missouri: Ed. Mosby, 1993, p. 345-348.

HEDLUND, C. S. Cirurgia do sistema digestório. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Ed. Rocca, 2002, p. 234-245.

HUGENTOBLE, M.; DOJCINOVIC, I.; RICHTER, M. Flap techniques in secondary alveoloplasty: a comparison between two types of flaps. **Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale**, Genève, v. 107, n. 3, p. 145-151, 2006.

KIRSCHNER, R. E.; CABILING, D. S.; SLEMP, A. E.; SIDDIQI, F.; LAROSSA, D. D.; LOSEE, J. E. Repair of oronasal fistulae with acellular dermal matrices, **Plastic and Reconstructive Surgery**, Pittsburgh, v. 118, n. 6, p. 1431-1440, 2006.

LI, J.; ZHANG, Y. P.; KIRSNER, R. S. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix.. **Microscopy Research and Technique**, Miami, v. 60, n. 1, p. 107-114, 2003.

LIMA, T. B. F.; EURIDES, D. CANABRAVA, H. A. N.; LIMA, C. A. P.; DALECK, C. R.; SILVA, L. A. F.; CARVALHO, S. F. M.; PEREIRA, M. T. C. Reparo de defeito ósseo provocado na região de furca dental em cães (canis familiaris) com hidroxiapatita sintética. **Medvep**, Curitiba, v. 1, n. 4, p. 257-261, 2003.

LOBPRISE H. B. Complicated periodontal disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, Dallas, v. 15, n. 4, p. 197-203, 2000.

MANFRA-MARRETA, S.; THOLEN, M. A. Extraction Techniques and Management of Associated Complications. In: BOJHAB, J. M.; THOLEN, M. A. **Small animal oral medicine and surgery**. Pennsylvania. Ed. Lea & Febiger, 1990, p. 73-95.

MEIRELLES, R. C.; NEVES-PINTO, R. M. Fístula oro-antral e retalho mucoso geniano – revisão de 25 casos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 85-90, 2008.

MENDONÇA, R. J. **Caracterização de uma fração angiogênica do látex natural da seringueira (*hevea brasiliensis*)**. 2004, 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

MRUÉ, F. **Substituição de esôfago cervical por prótese bio sintética de látex: estudo experimental em cães**. 1996. 105 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.

NIEMIEC, B. A. Periodontal disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, San Diego, v. 23, n. 2, p. 72-80, 2008.

NELSON, A. N. Sistema respiratório superior. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Ed. Manole, 1998, v. 1, cap. 52 p. 889 -935.

OLIVEIRA, J. A. A.; HYPPOLITO, M. A.; COUTINHO-NETTO, J.; MRUÉ, F. Meringoplastia com a utilização de um novo material bio sintético. **Revista Brasileira Otorrinolaringologia**. Ribeirão Preto, v. 69, n. 5, p. 1-18, 2003.

PAULO, N. M.; SILVA, M. A. M.; CONCEIÇÃO, M. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**. Goiânia, v. 33, n. 1, p. 79-82, 2005a.

PAULO, N. M.; LIMA, F. G.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. T.; FLEURY, L. F. F.; SANT'ANA, F. J. F.; BORGES, A. C.; TELLES, T. C. Membrana de látex da seringueira (*Hevea Brasiliensis*), com e sem polilisina 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos na parede abdominal de ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, Jataí, v. 20, n. 4, p. 305-310, 2005b.

PEAK, M. R. Inapparent Oronasal Fistula. **NAVCClinician's Brief**. Flórida, v. 5, n. 1, p. 11-14, 2007.

PELE NOVA BIOTECNOLOGIA. **Biocure**: membrana natural para cicatrização. São Paulo, 1999, 26 f. (Monografia do Produto).

PINHO, E. C. C. M.; SOUSA, S. J. F.; SCHAUD, F.; LACHAT, J. J.; COUTINHO-NETTO, J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, Ribeirão Preto, v. 67, p. 27-32, 2004.

RABELO, R. E.; SANT'ANA, F. J. F.; PAULO, N. M.; ROMANI, A. F.; SILVA, L. A. F.; VIU, M. A. O.; ALVES, C. B.; LIMA, C. R. O.; SILVA, O. C. Emprego do compósito látex,

poliamida e polilisina a 0,1% na correção cirúrgica de hérnias umbilicais recidivantes em bovinos leiteiros. **Acta Scientiae Veterinariae**, Jataí, v. 33, n. 2, p. 169-175, 2005.

REED, J. H. A Review of the experimental use of antimicrobial agents in the treatment of periodontitis and gingivitis in the dog. **The Canadian Veterinary Journal**, Ontário, v. 29, n. 9, p.705-708, 1988.

ROZA, M. R. **Odontologia em pequenos animais**. Rio de Janeiro. Ed. L. F. Livros de Veterinária, 2004, p. 119-135, 170 -174.

RUOSLAHTI, E. e YAMAGUCHI, Y. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. **Cell**. La Jolla, v. 64, n. 5, p. 867-869, 1991.

SADER, S. L.; COUTINHO NETTO, J.; BARBIERI NETO, J.; MAZZETO, S. A.; ALVES JR., P.; VANNI, J. C.; SADER, A. A. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**. Ribeirão Preto, v. 15, n. 4, p. 338-344, 2000.

SALISBURY, S. K. **Técnicas atuais em cirurgias de pequenos animais**. 3. ed. Las Vegas: Ed. Rocca, 1996, p. 144-158.

SAN ROMÁN, F.; GARDOQUI, A.; WHITE, F.; UM~NOZ, F.; BONAPARTE, J. I. **Atlas de odontologia de pequenos animais**. São Paulo: Ed. Manole, 1999, p. 217-241.

SCALA, M.; GIPPONI, M.; PASETTI, S.; DELLACHÁ, E.; LIGORIO, M.; MARGARINO, G.; GIANNINI, G.; STRADA, P. Clinical application of autologous cryoplatelet gel for the reconstruction of maxillary sinus. A new approach for the treatment of chronic oro-sinusal fistula. **In Vivo**, Genova, v. 21, n. 3, p. 541-547, 2007.

SILVA, E. B. **Palatoplastia com biomembrana de látex com polilisina 0,1% em cães com defeito palatino experimentalmente induzido**. 2006. 37 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SILVEIRA, R. L.; SANTOS, M. E. S. M.; TAKAHASHI, A.; BOURGUIGNOM FILHO, A. M.; HEITZ, C. Tratamento de fistula bucosinusal através de retalho palatino. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial**, Camaragibe, v. 8, n. 1, p. 29-34, 2008.

SMITH, M. M. Oronasal fistula repair. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Blacksburg, v. 15, n. 4, p. 243-250, 2000.

SMITH, M. M. Island palatal mucoperiosteal flap for repair of oronasal fistula in a dog. **Journal of Veterinary Dentistry**, Boise, v. 18, n. 3, p. 127-129, 2001.

SOUSA, R. V. **Regeneração óssea guiada pela biomembrana de látex e sua propriedade angiogênica**. 2006. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

SOUSA, L. C. A.; PIZA, M. R. T.; COUTINHO-NETTO, J.; RUIZ, D. B.; SCHIMIDT, V. B. Biomembrana de látex: novo método para o revestimento da cavidade aberta nas timpanomastoidectomia. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, Ribeirão Preto, v. 73, n. 3, p. 1-15, 2007.

WATZAK, G.; TEPPER, G.; ZECHNER, W.; MONOV, G.; BUSENLECHNER, D.; WATZEK, G. Bony press-fit of oro-antral fistulas: a technique for pre-sinus lift repair and secondary closure. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Vienna, v. 63, n. 9, p. 1288-1294, 2005.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. **Physiological Reviews**, Zurich, v. 83, n. 3, p. 835-870, 2003.