

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/02/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

**VINÍCIUS FERREIRA BIZELLI**

**Potencial de regeneração óssea guiada das membranas de colágeno porcino (*Jason e Collprotect Straumann®*). Estudo histológico, histomorfométrico e Micro TC defeitos ósseos de calvária de ratos**

Araçatuba - SP  
2021

**VINÍCIUS FERREIRA BIZELLI**

**Potencial de regeneração óssea guiada das membranas de colágeno porcino (*Jason e Collprotect Straumann®*). Estudo histológico, histomorfométrico e Micro TC em defeitos ósseos de calvária de ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, para obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de concentração em Implantodontia)

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Associada Ana Paula Farnezi Bassi

Araçatuba - SP  
2021

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Bizelli, Vinícius Ferreira.  
B625p      Potencial de regeneração óssea guiada das membranas de colágeno porcino (Jason e Collprotect Straumann®) : estudo histológico, histomorfométrico e Micro TC em defeitos ósseos de calvária de ratos / Vinícius Ferreira Bizelli. – Araçatuba, 2021  
90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba  
Orientadora: Profa. Ana Paula Farnezi Bassi

1. Membranas 2. Regeneração óssea 3. Implantes dentários I. T.

Black D7  
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à:

A minha família que me apoia, incentiva e acredita no meu potencial, conquistando comigo cada passo da minha carreira;

Aos professores responsáveis pela minha educação, formação pessoal e profissional, são exemplos constantes que a educação é o melhor caminho para o crescimento;

Aos meus amigos que fizeram parte de cada momento da minha vida, fazendo companhia e preenchendo os espaços, tornando a caminhada mais leve e alegre.

# AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a **Deus** pela oportunidade dada a mim de percorrer todos os caminhos até aqui com saúde, discernimento e foco. O saber é o que nos leva a evolução, ser abençoado com a possibilidade de estudar e desenvolver as qualidades humanas cercado de grandes pessoas é a maior conquista que poderia ter.

Agraço por isso aos meus avós paternos **Waldomiro Aimar Bizelli e Dirce Bonutti Bizelli**, *in memoriam*, pelo orgulho que sentiam de minhas conquistas, por sempre darem a mim a melhor versão de vocês, pelo amor sempre oferecido, sonhos compartilhados e a saudade deixada que é repleta de sorrisos e boas risadas. Aos meus queridos avós maternos **Orozimbo Baptista Filho e Eny Ferreira Mendes Baptista**, que formaram uma família alicerçada no estudo e trabalho, valorizando e incentivando cada passo dado por mim, com um entusiasmo ímpar a cada conquista alcançada. Meus primeiros exemplos. Meu sucesso é todo de vocês.

Aos meus pais **Waldomiro Aimar Bizelli Filho e Leny Baptista Ferreira Bizelli**, pelo incansável esforço em apoiar e sustentar todos meus objetivos, compartilhando da felicidade ao alcança-los e instruindo na dificuldade de concluí-los. A prioridade em fornecer a mim e meu irmão o estudo necessário, dando o verdadeiro valor com que ele deve ser tratado, é o maior ensinamento que puderam me oferecer. Obrigado por serem os melhores pais do mundo. Ao meu irmão **Rafael Ferreira Bizelli**, melhor amigo, exemplo de profissional, responsável por me fazer vencer minhas dificuldades e desenvolver minhas qualidades, agradeço a paciência e respeito ao me escutar, sinceridade ao orientar e liberdade para escolher, e a minha cunhada **Sarita de Oliveira Pacheco** por dividir todos esses momentos comigo. Aos familiares, padrinhos, madrinhas, tios, tias, primos e primas, obrigado por estarem presentes em absolutamente todos os momentos importantes da minha vida, me ensinando o valor da presença e da palavra.

A minha noiva **Fernanda Coelho da Silva**, minha eterna admiração com o a seriedade e capacidade que lida com os deveres acadêmicos, sendo espelho e, portanto, a responsável pela qualidade que concluo esta etapa. Ao amor oferecido, o companheirismo dividido e o futuro planejado, obrigado por estar comigo.

Aos irmãos da **Fraternidade Acadêmica**, obrigado por fazerem parte do meu desenvolvimento intelectual e pessoal, me mostrando que o melhor caminho e traçado com escolhas baseadas em valores simples e justos.

Aos amigos de infância agradeço todas as risadas e momentos compartilhados. Um agradecimento especial às amizades concretadas durante meu ano no Colégio Intellectus, que fizeram o momento mais difícil se tornar prazeroso e palco do planejamento de grandes objetivos, vejo o sucesso de cada um de nós como fruto do nosso desenvolvimento. E aos amigos de faculdade, em especial da República Arapuça, agradeço por se tornarem parte da minha vida, a caminhada não seria tão alegre sem vocês, tenho certeza que ganhei irmãos.

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, pela oportunidade de estudar em uma instituição que há anos forma profissionais de qualidade, que são capazes de mudar a vida de seus pacientes e alunos. Aspiro honrar essa instituição, desempenhando todo dia minha profissão para o bem melhor do próximo.

A minha orientadora **Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Farnessi Bassi**, por ter me aceitado como seu orientado e me dado a oportunidade de conhecer o outro lado da nossa profissão. Por dividir comigo seu trabalho de anos e confiar em mim para fazer parte dele. Obrigado pela sinceridade e respeito com que me tratou e por trazer a minha melhor versão à tona durante todo nosso tempo trabalhando juntos.

Ao **Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup> Edgard Franco Moraes Júnior**, por me introduzir na especialidade da Implantodontia, ser meu mentor durante o período da minha primeira formação na pós-graduação, ter se tornado meu amigo, me tratado como família e incentivado meu crescimento. Ao senhor meu eterno respeito, admiração e gratidão. Aproveito também para agradecer o aceite em fazer parte da minha banca avaliadora nesta etapa tão importante para mim.

A **Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniela Ponzoni**, pelo aceite em ser banca avaliadora do meu trabalho, pelo exemplo de disciplina com que rege seus trabalhos, por nos ensinar que cuidar do local onde trabalhamos é cuidar de nós mesmos e zelar pelo bem de todos é a melhor maneira de conseguir sucesso.

Aos demais professores do Programa e da Disciplina de Implantodontia, **Dr. Francisley Ávila de Souza, Dr. Osvaldo Magro Filho, Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Dra. Roberta Okamoto e Dra. Mariza Matsumoto** por dividirem seu tempo e conhecimento

comigo. Em especial ao **Porfº Drº. Leonardo Perez Faverani** por me acolher no seu grupo de pesquisa, sendo responsável direto pelo meu sucesso na pós-graduação.

Aos amigos de pós graduação **Eduardo Quintão Manhanini Souza, Leonardo Alan Delanora, Ana Flávia Piqueira e Kim Henderson**, por fazerem com que esses dois anos fossem leves e prazerosos, me presenteando com suas amizades. Agradeço também ao **Henrique Haddad, Laís Kawamata de Jesus, Karen Rawen e Willian Phillip** por dividirem seus conhecimentos e me ensinarem todos os processos e técnicas necessárias para a conclusão do meu trabalho. Aos demais colegas da pós graduação **Rodrigo Capalbo, Tiburtino José Neto, Anderson Maikon de Souza Santos, Gustavo Correa Momesso, Luan Pier Benetii, Edith Umasi Ramos, Bruno Mendes Coelho**, que caminharam juntos comigo, obrigado por torcerem pelo meu sucesso, assim como torço pelo de vocês.

# AGRADECIMENTOS

## AGRADECIMENTOS

A **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA / UNESP)”** na pessoa do atual diretor Prof. Dr. Glauco Issamu Miayhara.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” na pessoa do atual Coordenador Prof. Ass. André Luiz Fraga Briso.

Aos **funcionários da Pós-graduação** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pelo carinho e atenção sempre oferecidos.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada **Paulo, Marco e Renato**, por todos ensinamentos, ajuda e conversas sobre todos os assuntos extra faculdade.

Aos **funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela prontidão em nos atender.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001**, pela concessão da Bolsa de Mestrado durante os dois anos de pós-graduação.

Aos **animais**, *in memoriam*, que sacrificaram suas vidas em prol da ciência.

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“O conhecimento torna a alma jovem e diminui a amargura da velhice. Colhe, pois, a sabedoria. Armazena suavidade para o amanhã”.

(Leonardo da Vinci)

Bizelli VF. Potencial de regeneração óssea guiada das membranas de colágeno porcino (*Jason e Collprotect Straumann*). Estudo histológico, histomorfométrico e Micro TC em defeitos ósseos de calvária de ratos [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2021.

## RESUMO

A regeneração óssea guiada (ROG) tornou-se uma prática comum na Implantodontia e para sua realização, é necessário o uso de membranas que auxiliem neste processo. As membranas absorvíveis têm mostrado vantagens em relação às membranas não absorvíveis e entre as características mais relevantes das membranas absorvíveis estão: o aporte vascular, suporte mecânico do tecido ósseo e a não necessidade de um segundo estágio cirúrgico. Esse estudo teve como objetivo avaliar e comparar, por meio das análises histológica, histomorfométrica e Micro TC o potencial osteopromotor de duas membranas de colágeno porcino comercialmente disponíveis em defeitos críticos de calvária de ratos. Para o estudo foram utilizados 96 ratos Albinus Wistar, divididos em quatro grupos, sendo 24 animais para cada grupo: Grupos BG (BioGide®); JS (Jason®); CS (Collprotect®) e CG (Coágulo) analisados em quatro tempos experimentais, 7, 15, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram um perfil inflamatório mais agressivo dos grupos JS e CS em relação ao grupo BG ( $p < 0,05$ ). O grupo JS, aos 60 dias apresentou um potencial osteopromotor satisfatório ao compará-lo com o grupo BG ( $p = 0,193$ ) e o grupo CS demonstrou o pior desempenho osteopromotor. Na análise tridimensional, os resultados anteriores foram confirmados com o pior desempenho em relação a menor média de tecido ósseo neoformado para o grupo CS de  $84,901 \text{ mm}^2$ , JS com  $246,802 \text{ mm}^2$  e BG  $319,834 \text{ mm}^2$  ( $p < 0,05$ ). Podemos concluir que apesar das membranas serem compostas pelo mesmo material, as diferentes áreas de obtenção, espessuras e técnicas de tratamento da membrana, podem interferir no seu comportamento biológico em relação à quantidade de osso neoformado e que o grupo CS apresentou os piores resultados quando comparado aos grupos JS e BG.

**Palavras-chave:** Membranas. Regeneração óssea. Implantes dentários.

Bizelli VF. Potential for guided bone regeneration of porcine collagen membranes (*Jason and Collprotect Straumann*). Histological, histomorphometric, and Micro CT study in bone defects of rat calvaria [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2021.

## ABSTRACT

Guided bone regeneration (ROG) has become a common practice in Implantology and for its realization, it is necessary to use membranes that assist in this process. Absorbable membranes have shown advantages over non-absorbable membranes and among the most relevant characteristics of absorbable membranes are vascular supply and mechanical support of bone tissue. This study aimed to evaluate and compare, through histological, histomorphometric, and Micro CT analyzes, the osteopromotive factor of two commercially available porcine collagen membranes in critical calvaria defects in rats. 96 Albinus Wistar rats were used for the study, divided into four groups, 24 animals for each group: BG Groups (BioGide®); JS (Jason®); CS (Collprotect®) and CG (Clot) analyzed in four experimental times, 7, 15, 30 and 60 days. The results showed a more aggressive inflammatory profile of the JS and CS groups in relation to the BG group ( $p < 0.05$ ). The JS group, at 60 days, presented a satisfactory osteopromotive factor when comparing it with the BG group ( $p = 0.193$ ) and the CS group demonstrated the worst osteopromotive performance. In the three-dimensional analysis, the previous results were confirmed with the worst performance in relation to the lowest average total volume of newly formed bone for the CS group of 84,901 mm<sup>2</sup>, JS with 246,802 mm<sup>2</sup> and BG 319,834 mm<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ). We can conclude that although the membranes are composed of the same material, the different areas of obtaining, thicknesses, and techniques of treatment of the membrane, can interfere in its biological behavior in relation to the amount of newly formed bone and that the CS group presented the worst results among the JS and BG group.

**Keywords:** Membranes. Bone regeneration. Dental implant.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Procedimento cirúrgico experimental, realizado após a antissepsia da região. **A:** tricotomia realizada e incisão em V no sentido occipito-frontal; **B:** calvária exposta após descolamento total do retalho; **C:** marcação do defeito de 8 mm a ser criado e **D:** defeito crítico de 8 mm realizado preservando a dura-máter 29
- Figura 2. **A:** Membrana de colágeno porcino BioGide® adaptada sobre o defeito ósseo; **B:** membrana de colágeno de derme porcina Jason® adaptada sobre o defeito ósseo; e **C:** membrana de colágeno de pericárdio porcino Collprotect® adaptada sobre o defeito ósseo. 29
- Figura 3. Sutura do plano externo com pontos simples interrompidos realizada com fio Nylon 5-0. 30
- Figura 4. Corte longitudinal obedecendo a margem de segurança ao redor de todo o defeito, separando-o ao meio para inclusão em parafina. 31
- Figura 5. Cortes representativos de 6  $\mu$ m de espessura de cada bloco de parafina já montados em lâminas. 31
- Figura 6. À esquerda, software ImageJ utilizado para traçado de grade. À direita, grade histométrica de 130 pontos aplicada sobre a fotomicrografia histológica em um aumento da objetiva de 100x. 32
- Figura 7. À esquerda, software ImageJ utilizado para contagem celular. À direita, cada célula (bolas amarelas) que toca a intersecção das linhas com as colunas contam uma célula, e cada conjunto de vasos sanguíneos (bolas vermelhas) representam a neovascularização. 32
- Figura 8. Software ImageJ utilizado para calibragem da ferramenta régua na magnificação de escolha para ser realizada a histometria. Na imagem a calibragem foi realizada em uma régua na magnificação de 6,3x, a unidade de medida foi escolhida em  $\mu$ m. 33
- Figura 9. Software ImageJ utilizado para calibragem da medida a ser realizada. Foi escolhido a opção de medir a Área total demarcada pela ferramenta polígono. 34
- Figura 10. Representação do uso da ferramenta polígono no software ImageJ para a medida da estrutura de interesse. Na imagem observamos a delimitação de uma área na qual foi observada a presença de tecido ósseo neoformado ( $\mu$ m). 35
- Figura 11. Representação do uso do Software NRecon (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium), utilizado para a reconstrução 3D das aquisições realizadas no Micro-tomógrafo. Na imagem as linhas vermelhas delimitam a área a ser reconstruída e a linha verde indica o centro da região de interesse. 36

Figura 12. Ilustração do uso do software DataViewer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium), para a determinação do VOI. Após delimitado em uma imagem, o VOI é reproduzido igualmente para todas as outras imagens. 37

Figura 13. Representação do ROI utilizando o software CT-Analyzer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium). Após a delimitação das camadas a serem analisados, a forma arredondada do ROI é escolhida e adaptada para o tamanho da amostra. 38

Figura 14. Representação da escala de cinza utilizada (242-105) no software CT-Analyzer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium) para indicar a diferença entre osso cortical e trabecular. 38

Figura 15. Conversão das camadas escolhidas para a escala de cinza no software CT-Analyzer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium) para o cálculo dos parâmetros tridimensionais em mm. 39

Figura 16. Reconstruções panorâmicas das fotomicrografias dos grupos CG, BG, JS e CS, em todos os períodos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias em um aumento de 6,3x. O defeito crítico de 8 mm de diâmetro externo, está delimitado pelo [ ] e indicado pelo símbolo +, os \* amarelos indicam o local dos cotos ósseos. 41

Figura 17. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BG aos 7 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Na região do coto (C) nota-se a presença de um tecido conjuntivo (TC) e a membrana (M) íntegra, envolvendo as duas partes. No centro do defeito, nota-se nitidamente a presença da membrana (M) e um tecido conjuntivo (TC) bem celularizado. 42

Figura 18. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BG aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Próximo aos cotos (CO), nota-se a área de tecido ósseo neoformado (TON) envolto por tecido conjuntivo (TC) altamente vascularizado (V). No centro do defeito a membrana (M) aparece de maneira íntegra envolvendo todo o defeito 42

Figura 19. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BG aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Na região do coto ósseo, nota-se a presença de área de tecido ósseo neoformado (TON) envolto por grandes vasos sanguíneos (V). No centro do defeito, área de tecido ósseo neoformado (TON) aparece envolto por tecido conjuntivo (TC). 43

Figura 20. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BG aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. O coto ósseo (C) já se confunde com a área total de tecido ósseo neoformado (TON), sendo possível observar grandes vasos

sanguíneos (V) e o tecido ósseo ativo pela presença de osteócitos viáveis. No centro do defeito, grande área de tecido ósseo neoformado (TON) é visualizada, garantindo quase o fechamento total do defeito. 44

Figura 21. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo JS aos 7 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Próximo ao coto (C), nota-se um tecido de granulação (TG). No centro do defeito nota-se a formação do coágulo sanguíneo (G) e a presença da membrana (M). 45

Figura 22. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo JS aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Próximos ao coto (C) é possível observar a presença de tecido ósseo neoformado (TON) envolto pela membrana (M). No centro do defeito as duas camadas membrana (M) aparecem de forma íntegra, e um tecido pré-osteoblástico (TPO) aparece envolto pela membrana. 45

Figura 23. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo JS aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. No coto ósseo a presença da membrana (M) envolvendo áreas de tecido ósseo neoformado (TON) e um perióstio (P) em formação. No centro do defeito um tecido conjuntivo frouxo (TCF) envolto por sítios de tecido ósseo neoformado (TON) e a presença de um perióstio em formação (P). Um discreto infiltrado inflamatório (IF) também é observado. 46

Figura 24. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo JS aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Na região do coto (C), nota-se importantes áreas de tecido ósseo neoformados (TON) com fragmentos da membrana no seu interior (M). No centro do defeito áreas de tecido ósseo neoformado (TON) estão entremeadas por tecido conjuntivo (TC). 47

Figura 25. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CS aos 7 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Próximo ao coto (C), nota-se apenas a presença do tecido de granulação (TG) e um grande vaso sanguíneo (V). No centro do defeito, a membrana (M) aparece intacta, envolvendo um infiltrado inflamatório (IF) intenso. 47

Figura 26. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CS aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Próximo ao coto (C), áreas de tecido ósseo neoformado (TON) são observadas entremeadas por tecido conjuntivo (TC); No centro do defeito, a presença da membrana (M) é visível, e o defeito preenchido com tecido conjuntivo (TC) e alta vascularização (V). 48

Figura 27. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CS aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Na região do coto (C), nota-se áreas

de tecido ósseo neoformado(TON) entremeados com tecido conjuntivo (TC). No centro do defeito, o mesmo comportamento, áreas de tecido ósseo neoformado (TON), entremeados por tecido conjuntivo (TC). 49

Figura 28. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CS aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Áreas de tecido ósseo neoformado (TON) entremeadas por tecido conjuntivo (TC) tanto próximas ao coto ósseo (C), quando no centro do defeito. 49

Figura 29. Fotomicrografias da região do centro do defeito do grupo CG aos 7 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Um grande tecido de granulação (TG), e a presença de vasos sanguíneos (V), são observados. 50

Figura 30. Fotomicrografias da região do centro do defeito do grupo CG aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Nota-se um tecido conjuntivo (TC) levemente vascularizado, vasos sanguíneos (V) distribuídos pelo defeito e pequenas áreas de tecido ósseo neoformado (TON). 51

Figura 31. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CG aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Tecido conjuntivo (TC) mais organizado com pequenas áreas de tecido ósseo neoformado (TON) envolvidas por grandes aglomerados celulares (células osteoprogenitoras). 52

Figura 32. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo CG aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 12,5x e 40x. Tecido conjuntivo organizado (TC), áreas de tecido ósseo neoformado (TON), espalhadas pelo defeito e grandes vasos sanguíneos (V), próximos a áreas de neoformação óssea. 53

Figura 33. Gráfico demonstrando as comparações das médias e desvio padrão intra e inter grupos para a análise de células inflamatórias (linfócitos) no período de 7 e 15 dias. As letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas significantes inter grupos para o período de 7 dias e as minúsculas para o período de 15 dias, o \* demonstra se houve diferença estatística significativa intra grupo no período de 7 para 15 dias. Nas fotomicrografias ao lado realizadas em uma magnificação de 100x, as setas amarelas (↑) indicam as células (linfócitos) e os \* os vasos sanguíneos. 54

Figura 34. Gráfico demonstrando as comparações das médias e desvio padrão intra e inter grupos para a análise da quantidade de vasos sanguíneos no período de 7 e 15 dias. As letras minúsculas demonstram diferença estatística significativa para o período de 15 dias, não houve diferença estatística para o período de 7 dias. O \* demonstra se houve diferença estatística significativa intra grupo no período de 7 para 15 dias. Nas fotomicrografias ao lado realizadas

em uma magnificação de 100x, as setas amarelas (↑) indicam as células (linfócitos) e os \* os vasos sanguíneos. 55

Figura 35. Gráfico comparativo das médias e desvio padrão da área de osso neoformado de todos os grupos (BG, JS, CS e CG) para os tempos experimentais de 7,15,30 e 60 dias. As letras maiúsculas demonstram diferença estatística significativa inter grupos para os tempos de 30 e 60 dias, nos períodos de 7 e 15 dias não houve diferença estatística entre os grupos analisados. 56

Figura 36. Gráficos demonstrando a média e o desvio padrão do (A)BV, (B)BV/TV, (C)Tb.th, (D)Tb.Sp, (E)Tb.n, (F)Po.tot no período de 60 dias para os grupos BG, JS e CS. As diferenças estatísticas significantes entre os grupos estão representadas pelas letras minúsculas diferentes (a,b e c). 58

Figura 37. Reconstrução axial do defeito crítico na calota dos animais após 60 dias de reparo ósseo, para os grupos BG, JS e CS. Nota-se a maior área de neoformação óssea para o grupo BG, acompanhado do grupo JS e por último o grupo CS. 58

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
3 OBJETIVO	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
5 RESULTADOS	40
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	70

## 1 INTRODUÇÃO\*

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo mineralizado composto por componentes orgânicos (células e matriz extracelular) e inorgânicos (minerais). A interação entre seus componentes é responsável pela dinâmica do turnover ósseo que está diretamente ligado a capacidade de reparo do tecido, seja devido a uma fratura, processos regenerativos ou instalações de implantes osseointegráveis [1]. O processo de reparo por sua vez, passa por três fases: inflamação, reparação e remodelação, e, uma das grandes qualidades do tecido ósseo é a sua completa capacidade de regeneração. Visto isso, qualquer alteração ou desequilíbrio em uma dessas fases, pode levar a falha desse processo [2].

Tendo em vista os processos de cicatrização e reparo ósseo e, as atuais necessidades de reconstruções e regenerações ósseas para que pacientes possam ser reabilitados com próteses implantossuportadas [3], estudos sobre todas as fases que compõem esse processo se tornaram indispensáveis para se obter sucesso nos procedimentos clínicos. Diversas técnicas de enxertia óssea vêm sendo aprimoradas ao longo dos anos, a partir do uso das membranas, primeiramente descritas na ortopedia e aprimoradas para o uso na periodontia regenerativa (RTG) [4], sua utilização nos procedimentos de regeneração óssea guiada (ROG) passou a ser indispensável [5-6].

O conceito da ROG consiste no uso de uma membrana como barreira, associada ou não ao uso de enxertos ósseos particulados e/ou substitutos ósseos sobre um defeito anterior ao fechamento primário, controlando, assim, o crescimento tecidual. Este conceito, para regeneração, tem sido utilizado por mais de 40 anos e tem por objetivo permitir a neoformação celular de um tecido desejado, a fim de preencher um espaço e impedir o crescimento de outros tipos celulares indesejáveis [7].

Membranas usadas nos procedimentos de ROG podem ser absorvíveis ou não absorvíveis [8-9]. Inúmeras membranas são testadas *in vivo* e *in vitro* com a finalidade de estudar seus comportamentos biológicos, durante as fases iniciais do processo de reparo e a capacidade de promover a neoformação óssea nas fases finais, associadas ou não a biomateriais [10-13]. Aspectos como tempo de degradação, inflamação, oclusão celular e manutenção do

---

\* Normalizado de acordo com o guideline do Periódico “Membranes” (Anexo C)

volume, são alguns dos aspectos biológicos estudados para que uma determinada membrana seja indicada para o uso de acordo com as condições clínicas de cada caso [14-15].

Em função aos altos índices de complicações e dificuldade de execução das técnicas cirúrgicas das membranas não absorvíveis, as membranas absorvíveis ganharam cada vez mais espaço nos procedimentos de enxertia devido ao seu alto índice de sucesso e por não exigirem um segundo estágio cirúrgico para sua remoção, diminuindo consideravelmente a morbidade do procedimento cirúrgico para a instalação do implante [16-18]. Para sua confecção, materiais como colágeno de diversas origens animais, cortical óssea bovina e poliésteres sintéticos alifáticos são utilizados. A fim de potencializar os resultados obtidos, acelerar, melhorar a qualidade e aumentar a quantidade de tecido ósseo neoformado nos processos de ROG, a associação de proteínas ou biomateriais ósseos durante a etapa de caracterização das membranas, estão sendo estudadas [16,19,20].

Entendendo que uma das fases do processo de reparo ou regeneração óssea é a inflamação inicial causada pelo trauma cirúrgico, nos processos de ROG, a presença de fatores externos também irá levar a um aumento desse processo na dinâmica de reparo [21-22]. Assim, termos materiais biocompatíveis, os quais atenuem esse processo e facilitem a vascularização do tecido a ser regenerado é de extrema importância. Essa característica, portanto, deve estar presente em todas as membranas utilizadas nos procedimentos de enxertia [23].

Para que a ROG tenha sucesso, a membrana deve permanecer no local por um tempo ideal, permitindo que o compartimento de reparo seja populado por células osteoprogenitoras, que o volume do espaço a ser regenerado seja mantido e que o leito receptor assim como o retalho, sejam capazes de promover a angiogênese permeando a membrana, ao passo que os osteoblastos sintetizam matriz óssea apenas na proximidade dos vasos sanguíneos e a mudança na tensão de oxigênio pode alterar a expressão genética celular para tecido fibroso e fibrocartilagem, garantindo assim o amplo suporte sanguíneo e suporte mecânico [24-25].

A membrana Jason<sup>®</sup> (Institut Straumann AG, Suíça) tem uma estrutura multicamada natural, origina-se de pericárdio porcino e oferece uma função de barreira prolongada de 04 a 06 meses, o que garante uma regeneração bem-sucedida, principalmente para procedimentos maiores. Essa membrana, que é baseada no colágeno tipo III, apresenta a característica de ser resistente à ruptura, podendo ser fixada com parafusos e suturas sem se romper. Ainda, a baixa espessura (0.1-0.25 mm) permite adaptação à superfície e fechamento de feridas sem tensão. A

membrana de pericárdio porcino Jason exerce função de barreira a longo prazo, conferindo, ao material de enxertia, tempo suficiente para integrar-se ao leito receptor [26].

Por outro lado, a membrana Collprotect<sup>®</sup> (Institut Straumann AG, Suíça) é produzida de colágeno natural, tendo sua manutenção garantida durante os processos de limpeza e eliminação de todos os componentes antigênicos e não colagenosos, feita da derme porcina, com uma espessura uniforme de 0,4mm. Permite uma proteção intermediária e possui uma organização tridimensional aberta e porosa, o que garante o crescimento de vasos sanguíneos e adesão celular, além de produzir um efeito homeostático natural, podendo ser manuseada de forma seca ou úmida sem o risco de adesão a si mesmo [26].

Contudo, trabalhos de ROG são muito deficientes nestes aspectos, e novas membranas são colocadas no mercado, muitas vezes sem um suporte anterior de pesquisas em uso animal para validar e observar as características destes materiais. Desta forma, objetivamos avaliar o comportamento biológico e potencial de osteopromoção de duas membranas de colágeno de origem porcina recentemente introduzidas no mercado por meio de análises comparativas de com a Bio-Gide (Geistlich Wohlhusen, Suíça), membrana líder no mercado em sua categoria que é composta por colágeno tipo I e III, apresentada em camada dupla, sendo uma lisa e outra porosa e é não reticulada.

## 7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, podemos concluir que apesar das duas membranas testadas serem confeccionadas de colágeno, os seus desempenhos biológicos e a capacidade de atuar na neoformação óssea foram diferentes, reiterando a necessidade de mais estudos *in vivo* para que todas as dúvidas possam ser solucionadas. A membrana Jason apresentou um resultado satisfatório e a membrana Collprotect demonstrou não ser eficaz nos procedimentos regenerativos, não demonstrando diferença estatística com o grupo CG, controle negativo.

## REFERÊNCIAS

1. Marx, R.E. Bone and Bone Graft Healing. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* Nov **2007**, 19, 4, 455-466
2. Mann, F.A.; Payne, J.T. Bone healing. *Semin Vet Med Surg Samll Anim.* Nov **1989**, 4, 4, 312-321
3. Hassumi, J.S.; Mulinari-Santos, G.; Fabris, A.L. da S.; Jacob, R.G.M.; Gonçalves, A.; Rossi, A.C.; Freire, A.R.; Faverani, L.P.; Okamoto, R. Alveolar bone healing in rats: micro-CT, immunohistochemical and molecular analysis. *J. Appl. Oral Sci.* Jun **2018**, 26, e201703267
4. Caffesse, R.G.; De La Rosa, M.; Mota, L.F. Regeneration of soft and hard tissue periodontal defects. *Am. J. Dent.* Oct **2002**, 15, 5, 339-345
5. Hurley, L.A.; Stinchfield, D.E.; Basset, A.L.; Lyon, W.H. The role of soft tissues in osteogenesis. An experimental study of canine spine fusions. *J Bone Joint Surg Am.* Oct **1959**, 41, A, 1234-1254.
6. Hermann, J.S.; Buser, D. Guided bone regeneration for dental implants. *Curr. Opin. Periodontal.* **1996**, 3, 168-177.
7. Aghaloo, T.; Misch, C.; Lin, G.H.; Iacono, V.; Wand, H.L. Bone Augmentation of the Edentulous Maxilla for Implant Placement: A Systematic Review. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* **2017**, v 31, 19-30.
8. Carpio, L.; Loza, J.; Lynch S.; Genco, R. Guided Bone Regeneration Around Endosseous Implants With Anorganic Bovine Bone Mineral. A Randomized Controlled Trial Comparing Bioabsorbable Versus Non-Resorbable Barriers. *J Periodontol.* Nov **200**, 71, 11, 1743-1749
9. Urbna, I.A.; Monje, A. Guided Bone Regeneration in Alveolar Bone Reconstruction. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North. Am.* May **2019**, 31, 2, 331-338.
10. Elgalo, I.; Omar. O.; Dahlin, C.; Thomses, P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur. J. Oral Sci.* Oct **2017**, 125, 5, 315-337.
11. Danieletto-Zanna, C.F.; Bizelli, V.F.; Ramires, G.A.D.A.; Francatti, T.M.; de Carvalho, P.S.P.; Bassi, A.P.F. Osteopromotion Capacity of Bovine Cortical Membranes in Critical Defects of Rat Calvaria: Histological and Immunohistochemical Analysis. *Int J Biomater.* Feb **2020**, 18, 6426702.
12. Farnezi Bassi, A.P.; Bizelli, V.F.; Brasil, L.F. de M.; Pereira, J.C.; Al-Sharani, H.M.; Momesso, G.A.C.; Faverani, L.P.; Lucas, F. de A. Is the Bacterial Cellulose Membrane

- Feasible for Osteopromotive Property? *Membranes (Basel)*. Sep **2020**, 10, 230
13. Rothamel, D.; Schwarz, F.; Sager, M.; Hertel, M.; Sculean, A.; Becker, J. Biodegradation of differently crosslinked collagen membranes: Na experimental study in the rat. *Clin. Oral Implants Res.* Jun **2005**, 16, 3, 369-378.
  14. Mouthuy, P.A.; Snelling, S.J.B.; Dakin, S.G.; Mikovic, L.; Gasparovic, A.C.; Carr, A.J.; Zarkovic, N. Biocompatibility of implantable materials: Na oxidative stress viewpoint. *Biomaterials*. Dec **2016**, 109, 55-68.
  15. Lozlovsky, A.; Aboodi, G.; Morses, O.; Tal, H.; Artzi, A.; Weinreb, M.; Nemcovskyc C.E. Bio-degradation of a resorbable colagem membranes (Bio-Gide®) Applied in a double layer technique in rats. *Clin. Oral Implants Res.* Oct **2009**, 20, 1116-1123.
  16. Sheikh, Z.; Qureshi, J.; Alshahrani, A.M.; Nassar, H.; Ikeda, Y.; Glogaues, M.; Ganss, B. Collagen based barriers membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology*. Jan **2017**, 105, 1, 1-12.
  17. Bunyaratavej, P.; Wang, H.-L. Collagen Membranes: A Review. *J. Periodontol.* Feb **2001**, 72, 2, 2015-229.
  18. Sbricoli, L.; Guazzo, R.; Annunziata, M.; Grobbato, L.; Bressan, E.; Natri, L. Selection of collagen membranes for bone regeneration: A literature review. *Materials (Basel)*. Feb **2020**, 13, 3, 786.
  19. Sheikh, Z.; Hamdan, N.; Ikeda, Y.; Grynypas, M.; Ganss, B.; Glogauer, M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: A review. *Biomater. Res.* Jun **2017**, 21, 9, 1-20.
  20. Bassi, A.P.F.; Bizelli, V.F.; Francatti, T.M.; De Moraes-Ferrerira, A.C.R.; Pereira, J.C.; Al-Sharani, H.M.; Lucas, F.A.; Faverani, L.P. Bone Regeneration Assessment of Polycaprolactone Membrane on Critical-Size Defects in Rat Calvaria. *Membranes (Basel)*. Fev **2021**, 11, 2, 124.
  21. Abdulkhaleq, L.A.; Assi, M.A.; Abdullah, R.; Zamri-Saad, M.; Taufiq-Yap, Y.H.; Hezmee, M.N.M. The crucial roles of inflammatory mediatros in inflammation. A review. *Vet. World*. May **2018**, 11, 5, 627-635.
  22. Hasegawa, H.; Kaneko, T.; Kanno, C.; Endo, M.; Akimoto, T.; Yamazaki, M.; Kitabatake, T.; Masui, S.; Ishihata, H.; Izumi, K. Evaluation of a Newly Designed Microperforated Titanium Membranes with Beta-Tricalcium Phosphate for Guided Bone Regeneration in Dog Mandibles. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*. Sep/Oct **2019**, 34, 5, 1132-1142.
  23. Khojasteh, A.; Kheiri, L.; Motamedian, S.; Khoshkam, V. Guided bone regeneration for the reconstruction of alveolar bone defects. *Ann. Maxillofac. Surg.* Jul-Dec **2017**, 7, 2, 263-277.

24. Imbronito, A.V.; Todescan, J.H.; Carvalho, C.V.; Arana-Chaves, V.E. Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membranes-protected defects. A histologic pilot study in dogs. *Biomaterials*. Oct **2002**, 23, 20, 4079-4086.
25. Patino, M.G.; Neiders, M.E.; Andreana, S.; Noble, B.; Cohen, R.E. Cellular inflammatory response to porcine collagen membranes. *J. Periodontal ResI*. Oct **2003**, 38, 5, 458-464.
26. Ortolani, E.; Quadrini, F.; Bellisario, D.; Loredana, S.; Polimeni, A.; Santarsiero, A. Mechanical qualification of collagen membranes used in dentistry. *Ann Ist Super Sanita*. **2015**, 51, 3, 229-235
27. Nyman, S.; Gottlow, J.; Karring, T.; Lindhe, J. The regenerative potential of the periodontal ligament: Na experimental study in the monkey. *J. Clin. Periodontol*. May **1982**, 9, 3, 257-265.
28. Dahlin, C.; Linde, A.; Gottlow, J.; Nyman, S. Healing of bone defects by tissue regeneration. *Plast. Reconstru. Surg*. May **1988**, 81, 5, 672-676.
29. Becker, W.; Lynch, S.E.; Lekholm, U.; Becker, B.E.; Caffesse, R.; Donath, K.; Sanchez, R. A Comparison of ePTFE Membranes Alone or in Combination with Platelet-Derived Growth Factors and Insulin-Like Growth Factor-I or Demineralized Freeze-Dried Bone in Promoting Bone Formation Around Immediate Extraction Socket Implants. *J. Periodontol*. Nov **1992**, 63, 11, 929-940.
30. Buser, D.; Dula, K.; Belser, U.; Hirt, H.P.; Berthold, H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int. J. Periodontics Restorative Dent*. **1993**, 13, 1, 29-45.
31. Zellin, G.; Gritli-linde, A.; Linde, A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: na experimental study in rats. *Biomaterials*. May **1995**, 16, 8, 601-609.
32. Miller, N. Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J. Clin. Periodontol*. Dec **1996**, 23, 12, 1051-1059.
33. Zitzmann, N.U.; Naef, R.; Scharer, P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants*. Nov-Dec **1997**, 12, 6, 844-852.
34. Owens, K.W.; Yukna, R.A. Collagen membrane resorption in dogs: A comparative study. *Implant Dent*. **2001**, 10, 1, 49-58.
35. Andrade-Acevedo, R.; Trenti, M. S.; Shibli, J.A.; Marcantonio Jr, E. Bases clínicas e biológicas da regeneração óssea guiada (ROG) associada a barreiras ou membranas. *Ver*

- Bras Implantodont Prótese Implat.* **2004**, 11, 43, 251-257.
36. De Oliveira Puttini, I.; Poli, P.P.; Maiorana, C.; De Vasconcelos, I.R.; Schmidt, L.E.; Colombo, L.T.; Haddad, H.; Dos Santos, G.M.; De Carvalho, P.S.P.; Souza, F.A. Evaluation of osteoconduction of biphasic calcium phosphate ceramic in the calvaria of rats: Microscopic and histometric analysis. *J. Funct. Biomater.* Jan **2019**, 10, 1, 7.
  37. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); **2011**.
  38. Percie du Sert, N.; Ahluwalia, A.; Alam, S.; Avey, M.T.; Baker, M.; Browne, W.K.; Wurbel, H. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS biology.* **2020**, 18, 7, e3000411.
  39. Zellin, G.; Linde, A. Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats. *Biomaterials.* Apr **1996**, 17, 7, 695-702.
  40. Vajgel, A.; Mardas, N.; Farias, B.C.; Petrie, A.; Cimões, R.; Donos, N. A systematic review on the critical size defect model. *Clin. Oral Implants Res.* Aug **2014**, 25, 8, 879-893.
  41. Faverani, L.P.; Polo, T.O.B.; Ramalho-Ferreira, G.; Momesso, G.A.C.; Hassumi, J.S.; Rossi, A.C.; Freire, A.R.; Prado, F.B.; Luvizuto, E.R.; Gruber, R. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. *Clin. Oral Invest.* Jan **2018**, 22, 1, 255-265.
  42. Ramalho-Ferreira, G.; Faverani, L.P.; Prado, F.B.; Garcia, I.R.; Okamoto, R. Raloxifene enhances peri-implant bone healing in osteoporotic rats. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* Jun **2015**, 44, 6, 798-805.
  43. Wang, J.; Qu, Y.; Chen, C.; Sun, J.; Pan, H.; Shao, C.; Tang, R.; Gu, X. Fabrication of collagen membranes with different intrafibrillar mineralization degree as a potential use for GBR. *Mater. Sci. Eng. C.* Nov **2019**, 104.
  44. Rothamel, D.; Schwars, F.; Sculean, A.; Herten, M.; Scherbaum, W.; Becker, J. Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin. Oral Implants Res.* Aug **2004**, 15, 4, 443-449.
  45. An, Y.Z.; Kim, Y.K.; Lim, S.M.; Heo, Y.K.; Kwon, M.K.; Cha, J.K.; Lee, J.S.; Jung, W.U.; Choi, S.H.; Physiochemical properties and resorption progress of porcine skin-derived collagen membranes: In vitro and in vivo analysis. *Dent. Mater. J.* Mar **2018**, 37, 2, 332-340.
  46. Dupoirieux, L.; Pourquier, D.; Picot, M.C.; Never, M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*

- Feb **2001**, 30, 1, 58-62.
47. Enemark, H.; Sindet-Pedesen, S.; Bundgaard, M. Long-term results after secondary bone grafting of alveolar clefts. *J. Oral Maxillofac. Surg.* Nov **1987**, 45, 11, 913-918.
48. Ge, Y.; Feng, H.; Wang, L. Application of a novel resorbable membrane in the treatment of calvarial defects in rats. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2011**, 22, 18, 2417-2429.
49. Siar, C.H.; Toh, C.G.; Romanos, G.; Ng, K.H. Subcutaneous reactions and degradation characteristics of collagenous and noncollagenous membranes in a macaque model. *Clin. Oral Implants Res.* Jan **2011**, 22, 1, 113-120.
50. Neto, A.M.D.; Sartoretto, S.C.; Duarte, I.M.; Resende, R.F. de B.; Alves, A.T.N.N.; Mourão, C.F. de A.B.; Calasans-Maia, J.; Montemezzi, P.; Tristão, G.C.; Calasans-Maia, M.D. In vivo comparative evaluation of biocompatibility and biodegradation of bovine and porcine collagen membranes. *Membranes (Basel)*. Dec **2020**, 10, 12, 1-14.
51. AlKanan, A.; Greenwell, H.; Patel, A.; Hill, M.; Shumway, B.; Lowy, J. Ridge Preservation Comparing the Clinical and Histologic Healing of Membrane vs No-Membrane Approach to Buccal Overlay Grafting. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2019**, 39, 643–650.
52. Cucchi, A.; Sartori, M.; Parrilli, A.; Aldini, N.N.; Vignudelli, E.; Corinaldesi, G. Histological and histomorphometric analysis of bone tissue after guided bone regeneration with non-resorbable membranes vs resorbable membranes and titanium mesh. *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* **2019**, 21, 693–701.