

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/08/2024.

ANA MAIRA PEREIRA BAGGIO

**Ozonioterapia sistêmica como terapia auxiliar na
regeneração óssea guiada**

**Araçatuba
2023**

ANA MAIRA PEREIRA BAGGIO

**Ozonioterapia sistêmica como terapia auxiliar na
regeneração óssea guiada**

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 Implantodontia.

Orientadora: Prof^a. Ass. Ana Paula Farnezi Bassi

**Araçatuba
2023**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B144o Baggio, Ana Maira Pereira.
Ozonioterapia sistêmica como terapia auxiliar na
regeneração óssea guiada / Ana Maira Pereira Baggio. -
Araçatuba, 2023
64 f. : il.

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

1. Regeneração óssea 2. Materiais biocompatíveis
3. Ozônio I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico esse trabalho:

A Deus, que me sustentou até aqui, pois sem ele nada seria possível;

A minha família que me apoia, incentiva e acredita no meu potencial, estando comigo em cada degrau alcançado;

As minhas queridas avós, Rocca Zendira Rossi Pereira (*in memoriam*) e Adelaide Guerino Baggio, minha eterna gratidão por tudo que aprendi com as senhoras.

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, tornando a caminhada mais leve e feliz.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço primeiramente a **Deus** por me abençoar a cada dia e por todas as oportunidades que me foram concedidas. Por ser meu alicerce e me permitir chegar até aqui, sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, **João Batista Baggio** e **Maria Lúcia Pereira Baggio** que nunca mediram esforços para me ver feliz e realizada me apoiando em todos os momentos e escolhas possíveis. Obrigada por tudo que já fizeram e ainda fazem por mim e pelo meu irmão, por sempre priorizarem nossa educação e abrirem mão dos próprios sonhos pelos nossos; por me incentivarem, e nunca me deixarem desanimar nessa jornada. Obrigada por toda educação e princípios transmitidos, e por darem o devido valor ao estudo que sempre nos foi proporcionado com prioridade. Nada disso seria possível sem vocês. Obrigada por serem os melhores pais do mundo, essa conquista é nossa.

Ao meu irmão, **João Pedro Pereira Baggio** por ser o meu melhor amigo, meu exemplo, companheiro de tantas fases e momentos, e por acreditar e confiar em mim mais do que eu mesma, me apoiar e torcer tanto pela minha felicidade e pelo meu sucesso pessoal e profissional. Encontrar no meu irmão o meu melhor amigo, é um presente de Deus.

A minha querida avó materna **Rocca Zendira Rossi Pereira** (*in memoriam*), pelo orgulho que sentia das minhas conquistas. Meu exemplo de mulher sábia, guerreira e de coração ímpar, que sempre serviu de inspiração para seus filhos e netos e estará sempre viva em nossos corações.

A toda a minha **família**, que sempre torceu por mim e me apoiou, sentindo orgulho e vibrando a cada etapa concluída, me amparando sempre que necessário com palavras de conforto e incentivo.

Aos meus **amigos de infância** por todos os momentos compartilhados e por se manterem sempre presentes apesar dos rumos diferentes que nossas vidas tomaram. Ver as conquistas e o sucesso de vocês me deixa extremamente feliz e orgulhosa.

Aos **amigos ganhos na graduação**, com quem compartilhei tantos momentos que ficarão sempre guardados com muito carinho, cresci e aprendi tanto e hoje são meus colegas de profissão. Obrigada por todo apoio e incentivo, sei que ganhei amigos pra vida toda.

A **Mirela Caroline Silva, Fernanda de Souza Camilo e Stéfani Caroline Ferriolli**, por se tornarem minha família em Araçatuba desde o primeiro ano da graduação e por termos aprendido e crescido tanto juntas. Agradeço por se tornarem parte da minha vida, o caminho foi mais leve e alegre com vocês. Vocês são verdadeiras irmãs para mim.

A minha orientadora, **Prof^a. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi** por todo suporte e paciência desde a graduação. Pela oportunidade de ser sua orientada de iniciação científica e confiar em mim para continuar como parte da sua equipe também como mestranda. Por todo conhecimento transmitido e por ser uma grande inspiração profissional.

Ao professor **Dr. Leonardo Perez Faverani** por todo auxílio durante esses anos e por me acolher como parte do seu grupo de pesquisa, pela oportunidade de trabalharmos juntos na diretoria da Liga Acadêmica de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da FOA-UNESP.

A professora **Prof^a. Dra. Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli** pelo aceite de compor a minha banca avaliadora e pelas contribuições de grande valia neste trabalho.

Aos demais professores da Pós-Graduação, **Dra. Daniela Ponzoni, Dr. Francisley Ávila de Souza, Dr. Osvaldo Magro Filho, Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior**, por serem peças fundamentais na minha formação.

Ao doutorando **Ms. Vinícius Ferreira Bizelli** por ser meu professor e minha maior inspiração dentro da pós-graduação. Obrigada pela paciência e maestria com que me ensinou durante esses anos, por ser responsável direto pelo meu sucesso na pós-graduação.

A todos os alunos de Iniciação Científica do nosso grupo de pesquisa, que foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho, e que me ensinam um pouco mais a cada dia. Em especial a **Izabela Fornazari Delamura** que nunca mediu esforços para que esse projeto se concretizasse da melhor forma possível.

Aos demais amigos da pós-graduação, **Stefany Barbosa, João Matheus Fonseca e Santos, Murilo Carvalho de Souza, Edith Umami Ramos, Luana Oliveira, Paulo Honda e Harrison**, pela troca dentro e fora da faculdade e por torcerem pelo meu sucesso assim como torço por vocês.

AGRADECIMENTOS

A **Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - FOA- UNESP** na pessoa do atual diretor Prof. Dr. Glauco Issamu Miyahara, por ter me oferecido toda a infraestrutura e todos os recursos necessários que me permitiram uma ótima graduação, e pós-graduação. Continuar nesta instituição responsável por toda minha formação, é motivo de muito orgulho.

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. Wirley Gonçalves Assunção.

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 e Marco** por todo auxílio no processamento laboratorial deste e de outros trabalhos.

Aos **funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela atenção oferecida.

A **Seção técnica de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pelos esforços diários para que esta etapa se concretizasse com êxito.

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

*“Tão importante quanto a chegada é o caminho percorrido, pois
o que vivemos no percurso nos faz chegar mais evoluídos”.*

Plínio de Sá

BAGGIO, A. M. P. **Ozonioterapia sistêmica como terapia auxiliar na regeneração óssea guiada**. 2023. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

Processos regenerativos são procedimentos frequentes na odontologia atual. Entender e viabilizar esses processos associados a terapias auxiliares que melhoram ou aceleram essa prática podem ser relevantes diante dos desafios nas reconstruções. O objetivo do estudo visou avaliar o possível benefício da terapia com ozônio, quando aplicada juntamente com membranas biodegradáveis em defeitos críticos em calotas de ratos jovens na regeneração óssea guiada. Foram utilizados 96 ratos Wistar machos divididos em 4 grupos e um defeito crítico na calota de todos os animais foi realizado com 8mm de diâmetro. O Grupo BIO, teve o defeito crítico preenchido por uma membrana de colágeno porcino (BioGide®); o Grupo BIO+OZ, que somado a membrana os animais receberam a ozonioterapia sistêmica via intraperitoneal; o Grupo COA+OZ que teve o defeito preenchido pelo coágulo sanguíneo e os animais também receberam a ozonioterapia sistêmica e Grupo COA que teve o defeito crítico preenchido apenas pelo coágulo sanguíneo. Os tempos experimentais foram de 7, 15, 30 e 60 dias. As peças foram analisadas quanto à histologia, perfil inflamatório, parâmetros volumétricos pela microCT, potencial osteogênico, análise quantitativa de neoformação óssea na região do defeito e análise estatística. Os dados obtidos revelaram que os grupos tratados com a ozonioterapia atingiram resultados superiores em todos os parâmetros quando comparados aos animais que receberam apenas a membrana de colágeno porcino ou tiveram o defeito crítico preenchido apenas pelo coágulo sanguíneo. Portanto, foi possível concluir que a ozonioterapia tem influência positiva nos processos regenerativos, induz a proliferação celular e a resposta cicatricial.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Materiais biocompatíveis. Ozônio.

BAGGIO, A. M. P. **Ozonioterapia sistêmica como terapia auxiliar na regeneração óssea guiada**. 2023. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Regenerative processes are frequent procedures in current dentistry. Understanding and enabling these processes associated with auxiliary therapies that improve or accelerate this practice can be relevant in the face of challenges in reconstructions. The objective of the study was to evaluate the possible benefit of ozone therapy, when applied together with biodegradable membranes in critical defects in calfs of young rats in guided bone regeneration. 96 male Wistar rats divided into 4 groups were used and a critical defect in the calvaria of all animals was performed with 8mm in diameter. The BIO Group had the critical defect filled by a porcine collagen membrane (BioGide®); the BIO+OZ Group, which added to the membrane, the animals received systemic ozone therapy intraperitoneally; the COA+OZ Group that had the defect filled by the blood clot and the animals also received systemic ozone therapy and the COA Group that had the critical defect filled only by the blood clot. The experimental times were 7, 15, 30 and 60 days. The pieces were analyzed for histology, inflammatory profile, volumetric parameters by microCT, osteogenic potential, quantitative analysis of bone neoformation in the region of the defect and statistical analysis. The data obtained revealed that the groups treated with ozone therapy achieved superior results in all parameters when compared to the animals that received only the porcine collagen membrane or had the critical defect filled only by the blood clot. Therefore, it was possible to conclude that ozone therapy has a positive influence on regenerative processes, induces cell proliferation and healing response.

Keywords: Bone Regeneration. Biocompatible biomaterials. Ozone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cirurgia experimental realizada em calota, após a antissepsia da região. A: tricotomia 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.	24
Figura 2. Instalação da membrana de colágeno porcino sobre o defeito ósseo crítico. A: membrana BioGide® colocada em posição; B: tecidos moles reposicionados; C: sutura interrompida simples com fio Nylon 5.0.....	25
Figura 3. Aplicação do ozônio via intraperitoneal na dosagem de 0,7 ml/kg.	26
Figura 4. Corte longitudinal obedecendo a margem de segurança ao redor de todo o defeito, separando-o ao meio para inclusão em parafina.....	27
Figura 5. Cortes representativos de 6 µm de espessura de cada bloco de parafina já montados em lâminas	27
Figura 6. Reconstruções panorâmicas das fotomicrografias dos grupos BIO, BIO+OZ, COA+OZ e COA em todos os períodos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias em um aumento de 4.0x. O defeito crítico de 8 mm de diâmetro externo, está delimitado pelo { } e os * indicam os cotos ósseos.....	31
Figura 7. Figura 7. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BG aos 7 dias magnificações de 40x e 100x. Na região dos cotos observa-se a presença de um tecido conjuntivo (TC) rico em fibroblastos (setas amarelas). No centro do defeito, nota-se um tecido conjuntivo (TC) rico em células e a nítida presença da membrana (M) de colágeno porcino.....	32
Figura 8. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Próximo aos cotos (C), é possível notar o início do processo de neoformação óssea (as setas azuis indicam as células osteoprogenitoras), envolto por tecido conjuntivo (TC) bem vascularizado (os * indicam os vasos sanguíneos). No centro do defeito a membrana (M) aparece de maneira íntegra envolvendo todo o defeito, bem celularizado.	33
Figura 9. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Próximo aos cotos (C), é possível notar o início do processo de neoformação óssea (TON), envolto por tecido conjuntivo (TC) bem celularizado (as setas amarelas indicam os linfócitos e os	

* indicam os vasos sanguíneos). No centro do defeito nota-se o tecido ósseo neoformado (TON) envolto por tecido conjuntivo.34

Figura 10. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. É possível observar tanto a partir dos cotos, como no centro do defeito uma grande quantidade de tecido ósseo neoformado (TON) com a presença de grandes vasos sanguíneos (*) e osteoblastos (seta azul) em toda a extensão do defeito.34

Figura 11. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO+OZ aos 7 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Próximo aos cotos (C), é possível um tecido conjuntivo (TC) bem vascularizado (os * indicam os vasos sanguíneos e as setas amarelas indicam os fibroblastos). No centro do defeito a membrana (M) aparece de maneira íntegra envolvendo todo o defeito, que está preenchido por um tecido conjuntivo (TC) com fibroblastos mais orientados.....35

Figura 12. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO+OZ aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Próximo aos cotos (C), é possível notar o início do processo de neoformação óssea (TON) em direção ao centro do defeito, além da presença de um tecido conjuntivo (TC) maduro, com vasos sanguíneos grandes e fibroblastos (setas amarelas) orientados. No centro do defeito a membrana (M) aparece de maneira íntegra envolvendo todo o defeito, com ilhas de tecido ósseo neoformado (TON) ao seu redor.36

Figura 13. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO+OZ aos 30 dias nas magnificações de 40x e 100x. Na região dos cotos nota-se tecido ósseo neoformado (TON) significativo, bem celularizado com alguns fibroblastos (setas amarelas) e células osteoprogenitoras na superfície (seta azul). No centro do defeito é possível observar tecido ósseo neoformado (TON) em toda a extensão, com grandes vasos sanguíneos (*) e algumas áreas de tecido conjuntivo (TC) maduro, com fibroblastos e fibroblastos bem organizados.37

Figura 14. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo BIO+OZ aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Próximo aos cotos (C), é possível notar o processo de neoformação óssea, com ilhas de tecido ósseo neoformado (TON) mais maduro, com células osteoprogenitoras (seta azul), envolto por um tecido conjuntivo (TC) denso, com vasos sanguíneos de grande calibre (*) e fibroblastos (setas amarelas). No centro, nota-se tecido ósseo (TON) em toda a

extensão e algumas áreas de tecido conjuntivo (TC) com fibras colágenas bem organizadas.....38

Figura 15. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA+OZ aos dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Na área dos cotos (C) nota-se algumas ilhas de tecido ósseo neoformado (TON) em direção ao centro, envoltas por tecido conjuntivo (TC) muito vascularizado, com vasos sanguíneos de grande calibre (*) e fibroblastos ao redor (setas amarelas). No centro do defeito observa-se atividade fibroblástica intensa (setas amarelas, tecido conjuntivo (TC) frouxo e pequenas ilhas de tecido ósseo neoformado (TON).39

Figura 16. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA+OZ aos 15 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Na região dos cotos nota-se ilhas de tecido ósseo neoformado (TON) que se direcionam para o centro do defeito e um tecido conjuntivo (TC) denso e organizado. No centro do defeito é possível notar tecido ósseo neoformado (TON) significativo e tecido conjuntivo (TC) com intensa atividade fibroblástica e muitos vasos sanguíneos. Os (*) indicam os vasos sanguíneos, as setas azuis os osteoblastos e as setas amarelas os fibroblastos.39

Figura 17. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA+OZ aos 30 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Na área dos cotos (C) nota-se grande quantidade de tecido ósseo neoformado (TON) com alguns osteoblastos (setas azuis) e alguns vasos sanguíneos (*). No centro do defeito, é possível notar tecido ósseo neoformado (TON) em toda a extensão, com algumas áreas de tecido conjuntivo (TC) fibroso, organizado, com vasos sanguíneos (*) e fibroblastos (setas amarelas).40

Figura 18. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA+OZ aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. A região de coto ósseo se confunde com a área total de tecido ósseo neoformado (TON), sendo possível observar tecido ósseo ativo pela presença de osteócitos viáveis (setas azuis). No centro do defeito, grande área de tecido ósseo neoformado (TON) é observada, garantindo o fechamento total do defeito.41

Figura 19. Fotomicrografias da região do centro do defeito do grupo COA aos 7 dias de reparo nas magnificações de 40x e 100x. É possível notar grande quantidade de tecido conjuntivo (TC), vasos sanguíneos de grande calibre, e intensa atividade

fibroblástica (setas amarelas) tanto a partir dos cotos, como no centro do defeito.

.....**Erro! Indicador não definido.**

Figura 20. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA aos 60 dias de reparo ósseo nas magnificações de 40x e 100x. Nota-se a presença de pequenas ilhas de tecido ósseo neoformado (TON) somente na região dos cotos. Na região central existe um tecido conjuntivo (TC), neoformação vascular (*) e grande quantidade de células (setas amarelas) ao redor dos vasos e no interior do tecido de granulação.42

Figura 21. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA aos 30 dias de reparo nas magnificações de 40x e 100x. A área de tecido ósseo neoformado (TON) continua apenas na região de coto ósseo. Existe a presença de um tecido conjuntivo (TC) fibroso, mais organizado, com grandes aglomerados celulares tanto nos cotos, como no centro do defeito.42

Figura 22. Fotomicrografias da região do coto ósseo e do centro do defeito do grupo COA aos 60 dias de reparo nas magnificações de 40x e 100x. É possível observar tecido ósseo neoformado (TON) na região dos cotos em direção ao centro, além da presença de células osteoprogenitoras (seta azul) e fibroblastos (seta amarela). Tecido conjuntivo (TC) mais organizado, grandes vasos sanguíneos (*) e aglomerados celulares (setas amarelas) na região central do defeito ósseo.....44

Figura 23. Gráfico representativo das comparações das médias e desvio padrão inter e intragrupos para a análise de células inflamatórias (linfócitos) nos períodos de 7 e 15 dias. As letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas significantes intergrupos e as minúsculas demonstram se houve diferença estatística significativa intragrupo no período de 7 para 15 dias. As fotomicrografias ao lado foram realizadas em um aumento de 100x, as setas amarelas indicam as células (linfócitos) e os * os vasos sanguíneos.45

Figura 24. Gráfico representativo das comparações das médias e desvio padrão inter e intragrupos para a análise da quantidade de vasos sanguíneos nos períodos de 7 e 15 dias. As letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas significantes intergrupos e as minúsculas demonstram se houve diferença estatística significativa intragrupo no período de 7 para 15 dias. As fotomicrografias ao lado foram realizadas em um aumento de 100x, as setas amarelas indicam as células (linfócitos) e os * os vasos sanguíneos.46

Figura 25. Gráfico comparativo das médias e desvio padrão da área de osso neoformado de todos os grupos (BIO, BIO+OZ, COA+OZ e COA) para os tempos experimentais de 7,15,30 e 60 dias. As letras maiúsculas demonstram as diferenças estatísticas significantes intergrupos e as letras minúsculas demonstram as diferenças estatísticas intragrupos.	48
Figura 26. Gráficos demonstrando a média e o desvio padrão dos parâmetros BV e BV/TV, no período de 60 dias para os grupos BIO, BIO+OZ, COA+OZ e COA. As diferenças estatísticas significantes entre os grupos estão representadas pelas letras minúsculas diferentes (a, b, c e d).....	49
Figura 27. Gráficos demonstrando a média e o desvio padrão dos parâmetros Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N e Po(tot), no período de 60 dias para os grupos BIO, BIO+OZ, COA+OZ e COA. As diferenças estatísticas significantes entre os grupos estão representadas pelas letras minúsculas diferentes (a, b, c e d).	51
Figura 28. Reconstrução axial do defeito crítico na calota dos animais dos grupos BIO, BIO+OZ, COA+OZ e COA eutanasiados aos 60 dias pós-operatórios.....	50

LISTA DE SIGLAS

BIO	Grupo membrana BioGide®
BIO+OZ	Grupo membrana BioGide®+ozônio
COA	Grupo coágulo
COA+OZ	Grupo coágulo+ozônio
O ₃	Ozônio
ROG	Regeneração óssea guiada
TC	Tecido conjuntivo
TON	Tecido ósseo neoformado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVO	20
3 MATERIAL E MÉTODO	21
4 RESULTADOS	30
4.1 Avaliação Histológica (morfologia)	30
4.2 Análises Histométricas	44
4.2.1 Perfil inflamatório (células e vasos sanguíneos)	44
4.2.2 Área de osso neoformado (AON)	47
4.3 Análise de Micro TC	48
5 DISCUSSÃO	52
6 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	64

1 INTRODUÇÃO*

A utilização de biomateriais que auxiliam na substituição e na regeneração da estrutura óssea e dos tecidos biológicos em geral, tem contribuído de forma significativa para o avanço da Odontologia, em especial da Implantodontia, já que o aumento exponencial na reabilitação com implantes osseointegráveis em maxilas atróficas tornou a regeneração óssea guiada (ROG) uma prática comum dentro da especialidade [1].

Diante do expressivo aumento do uso clínico desses biomateriais e da grande concorrência existente no mercado, essa área tem sido alvo constante de pesquisas científicas na busca de biomateriais sintéticos ideais, que sejam compatíveis e capazes de induzir uma resposta adequada dos tecidos vivos apresentando propriedades químicas, físicas e biológicas satisfatórias, tanto quanto os materiais autógenos [1,2], adotados atualmente como padrão ouro em consequência de suas propriedades osteogênicas, osteocondutoras e osteoindutoras.

Sobre o tecido ósseo, é importante salientar que se trata de um tecido conjuntivo altamente organizado, que possui capacidade de reconstruir sua estrutura original na presença de condições estáveis, suprimento sanguíneo adequado e células osteoprogenitoras. Sua composição é formada por uma porção orgânica (células e matriz extracelular) e uma porção inorgânica (minerais), e a interação entre esses componentes está diretamente relacionada com a capacidade de regeneração desse tecido [1-3]. Com o intuito de obter sucesso na reabilitação oral com implantes osseointegráveis, uma quantidade mínima, tanto de altura como de largura óssea é necessária para a longevidade e sucesso do tratamento. Tendo em vista pacientes que necessitam de reconstruções e regenerações ósseas, diversas técnicas de enxertia e biomateriais que auxiliem nesse processo de reparo vêm sendo aprimorados [3]. Os biomateriais devem ser usados com cautela, sempre levando em consideração suas indicações clínicas, bem como os riscos e os benefícios do tratamento [2].

* Normalizado de acordo com a revista Membranes - <https://www.mdpi.com/journal/membranes/instructions>

Neste contexto, a ROG tornou-se uma prática comum e necessária na Implantodontia e a utilização de membranas biológicas que atuam como uma barreira para a seleção celular bloqueando a proliferação de tecidos não osteogênicos tornou-se fundamental [3]. No processo de reparação, as membranas desenvolvem o papel de prevenir a migração e ação dos fibroblastos e excluem fatores inibidores por desencadearem uma vascularização adequada, estabilização, espaço para aumento ósseo e exclusão de tecidos competidores, além de concentrarem fatores estimuladores de crescimento local, sendo consideradas fontes de células osteogênicas. Para obter sucesso clínico, as membranas devem ser biocompatíveis, inertes, semipermeáveis permitindo a difusão de plasma e nutrientes, mecanicamente resistentes, não alergênicas e não carcinogênicas [4–6].

Comercialmente encontramos variados tipos de membranas, reabsorvíveis e não-reabsorvíveis, e com o propósito de avaliar o comportamento biológico dessas barreiras, estudos *in vivo* e *in vitro* são realizados para que possam ser indicadas para o uso clínico. As membranas reabsorvíveis mais utilizadas atualmente são compostas por polímeros artificiais ou naturais a fim de que sejam eliminadas durante a regeneração, descartando a necessidade de um segundo tempo cirúrgico [7–9].

O colágeno é um polímero de origem natural, que apresenta características de biocompatibilidade, atração de neutrófilos e quimiotaxia para fibroblastos, o que o habilita como um bom material para a ROG. Portanto, membranas que possuem colágeno em sua composição auxiliam na cura da ferida através da fixação do coágulo, estabilização da ferida e homeostase celular. Além disso, o colágeno permite fácil manuseio e adaptação da barreira no defeito [10–12].

A membrana Bio-Gide®, considerada como a membrana reabsorvível padrão ouro atualmente, é preparada a partir de colágeno tipo I e tipo III derivado de pele porcina, possui grande potencial de regeneração e reabsorve em cerca de 8 semanas [4,5,13]. As características de hidrofília e maleabilidade desta membrana a tornam fácil de ser adaptada. Possui uma camada lisa e uma camada porosa agindo como barreira e como guia para as células ósseas, para o tecido mole e também para os vasos sanguíneos [4,13].

Diante do cenário da busca de biomateriais e de terapias adjuvantes que possam auxiliar na regeneração óssea, o tratamento com ozônio (O₃) vem ganhando espaço, já que tem capacidade de acelerar a resposta cicatricial e oferecer benefícios importantes nos processos regenerativos.

Apesar da ozonioterapia ainda apresentar evidências insuficientes ou conflitantes como alternativa terapêutica em cirurgia oral, evidências são encontradas dentro da odontologia restauradora, e estudos em animais vêm mostrando resultados positivos do uso do ozônio nos processos regenerativos devido aos efeitos anti-inflamatórios, cicatrizantes e antimicrobianos [14–17].

O ozônio (O₃) é uma molécula composta por três átomos de oxigênio, que nas condições normais de temperatura e pressão normalmente se apresenta na forma gasosa, mas também pode ser utilizado na forma de óleo ou água ozonizada [16–20]. A administração do ozônio pode ser realizada de maneiras distintas, incluindo aplicações tópicas ou sistêmicas [14,19,21] e seu uso é capaz de neutralizar mediadores neuroquímicos da sensação dolorosa, facilitando a metabolização e eliminação de mediadores inflamatórios como histamina, quinina e bradicinina [19,21–23].

O ozônio pode interagir com componentes do sistema vascular melhorando a microcirculação nos tecidos e a circulação sanguínea periférica. Sua aplicação inicia a cicatrização precoce de feridas, melhorando as propriedades dos eritrócitos e facilitando a liberação de oxigênio. Além disso, possui efeito antimicrobiano, imunoestimulante e desintoxicante, bioenergético e analgésico, ativa a função dos macrófagos e aumenta a sensibilidade dos microrganismos à fagocitose [16–19]. Sendo assim, a ozonioterapia tem demonstrado possuir propriedades potenciais para a prática clínica odontológica [21].

Na odontologia, embora possamos observar trabalhos de pesquisas *in vivo* que envolvam a ozonioterapia em andamento e com bom prognóstico, sua utilização ainda requer estudos científicos mais aprofundados, com ensaios padronizados a fim de delinear seu real papel nos processos curativos e/ou regenerativos. O uso do ozônio consiste em uma indústria em crescimento com potencial em muitas áreas e sua utilização sem dúvida aumentará se os estudos continuarem a mostrar resultados

positivos, assim poderemos utilizar com mais convicção dos resultados e menor risco aos pacientes [19,21].

Diante do que foi exposto, pesquisas que envolvam a ozonioterapia no auxílio do reparo ósseo em associação com biomateriais como as membranas biológicas, ainda são muito escassos na literatura. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o possível benefício da utilização da ozonioterapia sistêmica em conjunto com uma membrana reabsorvível de colágeno porcino na regeneração óssea guiada.

6 CONCLUSÃO

A ozonioterapia sistêmica é capaz de influenciar de maneira positiva a regeneração óssea guiada associada ou não a membrana reabsorvível de colágeno. Estudos devem se concentrar na busca de um protocolo de administração seguro do ozônio para uso terapêutico.

REFERÊNCIAS

1. Sinhoreti, M.A.C.; Vitti, R.P.; Correr-Sobrinho, L. Biomateriais na odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* **2013**, *67*, 256–261.
2. Guastaldi, A.C.; Aparecida, A.H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1352–1358; DOI:10.1590/S0100-40422010000600025.
3. Hassumi, J.S.; Mulinari-Santos, G.; Fabris, A.L.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.* **2018**, *26*, e20170326; DOI:10.1590/1678-7757-2017-0326.
4. Bunyaratavej, P.; Wang, H.L. Collagen membranes: a review. *J. Periodontol.* **2001**, *72*, 215–229; DOI:10.1902/jop.2001.72.2.215.
5. Danieletto-Zanna, C.F.; Bizelli, V.F.; Ramires, G.A.D.A.; Francatti, T.M.; 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* **2020**, *2020*, 6426702; DOI:10.1155/2020/6426702.
6. Elgali, I.; Omar, O.; Dahlin, C.; Thomsen, P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur. J. Oral Sci.* **2017**, *125*, 315–337; DOI:10.1111/EOS.12364.
7. Piattelli, A.; Scarano, A.; Coraggio, F.; Matarasso, S. Early tissue reactions to polylactic acid resorbable membranes: a histological and histochemical study in rabbit. *Biomaterials* **1998**, *19*, 889–896; DOI:10.1016/S0142-9612(97)00173-7.
8. von Arx, T.; Buser, D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. *Clin. Oral Implants Res.* **2006**, *17*, 359–366; DOI:10.1111/j.1600-0501.2005.01234.x.

9. Lee, S.W.; Kim, S.G. Membranes for the guided bone regeneration. *Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg.* **2014**, *36*, 239-246; DOI:10.14402/JKAMPRS.2014.36.6.239.
10. Sbricoli, L.; Guazzo, R.; Annunziata, M.; Gobbato, L.; Bressan, E.; Natri, L. Selection of collagen membranes for bone regeneration: a literature review. *Materials* **2020**, *13*, 786; DOI:10.3390/MA13030786.
11. Yamamoto, K.; Yoshizawa, Y.; Yanagiguchi, K.; Ikeda, T.; Yamada, S.; Hayashi, Y. The characterization of fish (*Tilapia*) collagen sponge as a biomaterial. *Int. J. Polym. Sci.* **2015**, *2015*, 957385; DOI:10.1155/2015/957385.
12. 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 Mater. Biol. Appl.* **2019**, *104*, 109959; DOI:10.1016/J.MSEC.2019.109959.
13. Sheikh, Z.; Qureshi, J.; Alshahrani, A.M.; Nassar, H.; Ikeda, Y.; Glogauer, M.; Ganss, B. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology* **2017**, *105*, 1–12; DOI:10.1007/S10266-016-0267-0.
14. Baysan, A.; Lynch, E. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries. *Prim. Dent. Care* **2006**, *13*, 37–41; DOI:10.1308/135576106775193897.
15. Erdemci, F.; Gunaydin, Y.; Sencimen, M.; Bassorgun, I.; Ozler, M.; Oter, S.; Gulses, A.; Gunal, A.; Sezgin, S.; Bayar, G.R.; Dogan, N.; Gider, I. K. Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2014**, *43*, 777–783; DOI:10.1016/J.IJOM.2013.12.007.
16. Buyuk, S.K.; Ramoglu, S.I.; Sonmez, M.F. The effect of different concentrations of topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Eur. J. Orthod.* **2016**, *38*, 281–285; DOI:10.1093/EJO/CJV045.

17. Kazancioglu, H.O.; Ezirganli, S.; Aydin, M.S. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J. Craniofac. Surg.* **2013**, *24*, 2141–2146; DOI:10.1097/SCS.0B013E3182A244AE.
18. Ozdemir, H.; Toker, H.; Balci, H.; Ozer, H. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. *J. Periodontal Res.* **2013**, *48*, 722–726; DOI:10.1111/JRE.12060.
19. Azarpazhooh, A.; Limeback, H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J. Dent.* **2008**, *36*, 104–116; DOI:10.1016/j.jdent.2007.11.008.
20. Elvis, A.M.; Ekta, J.S. Ozone therapy: a clinical review. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* **2011**, *2*, 66–70; DOI:10.4103/0976-9668.82319.
21. Suh, Y.; Patel, S.; Kaitlyn, R.; Gandhi, J.; Joshi, G.; Smith, N.; Khan, S. Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. *Med. Gas. Res.* **2019**, *9*, 163–167; DOI:10.4103/2045-9912.266997.
22. Anzolin, A.P.; Bertol, C.D. Ozonioterapia como terapêutica integrativa no tratamento da osteoartrose: uma revisão sistemática. *BrJP* **2018**, *1*, 171–175; DOI:10.5935/2595-0118.20180033.
23. Sen, S.; Sen, S. Ozone therapy a new vista in dentistry: integrated review. *Med. Gas. Res.* **2020**, *10*, 189–192; DOI:10.4103/2045-9912.304226.
24. Zellin, G.; Linde, A. Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats. *Biomaterials* **1996**, *17*, 695–702; DOI:10.1016/0142-9612(96)86739-1.
25. 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.* **2015**, *44*, 798–805; DOI:10.1016/J.IJOM.2015.02.018.
26. 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.; Okamoto, R. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired

- osseointegration in osteoporotic rats. *Clin. Oral Investig.* **2018**, *22*, 255–265; DOI:10.1007/S00784-017-2106-2.
27. Bassi, A.P.F.; Bizelli, V.F.; Mendes Brasil, L.F.; Pereira, J.C.; Al-Sharani, H.M.; Momesso, G.A.C.; Faverani, L.P.; Lucas, F.A. Is the bacterial cellulose membrane feasible for osteopromotive property? *Membranes* **2020**, *10*, 230; DOI:10.3390/MEMBRANES10090230.
 28. Fujioka-Kobayashi, M.; Katagiri, H.; Lang, N.P.; Imber, J.C.; Schaller, B.; Saulacic, N. Addition of synthetic biomaterials to deproteinized bovine bone mineral (DBBM) for bone augmentation: a preclinical in vivo study. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 10516; DOI:10.3390/ijms231810516.
 29. Imbronito, A.V.; Todescan, J.H.; Carvalho, C.V.; Arana-Chavez, V.E. Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. a histologic pilot study in dogs. *Biomaterials* **2002**, *23*, 4079–4086; DOI:10.1016/S0142-9612(02)00145-X.
 30. Zwahlen, R.A.; Cheung, L.K.; Zheng, L.W.; Chow, R.L.K.; Li, T.; Schuknecht, B.; Grätz, K.W.; Weber, F.E. Comparison of two resorbable membrane systems in bone regeneration after removal of wisdom teeth: a randomized-controlled clinical pilot study. *Clin. Oral Implants Res.* **2009**, *20*, 1084–1091; DOI:10.1111/j.1600-0501.2009.01751.x.
 31. Ra, G.; Wo, Q. Bone regeneration in dentistry: an overview. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* **2021**, *35*, 37–45.
 32. Reis, E.C.C.; Borges, A.P.B.; Oliveira, P.M.; Bicalho, S.M.C.M.; Reis, A.M.; Silva, C.L. Desenvolvimento e caracterização de membranas rígidas, osteocondutoras e reabsorvíveis de polihidroxibutirato e hidroxiapatita para regeneração periodontal. *Polímeros* **2012**, *22*, 73–79; DOI:10.1590/S0104-14282012005000007.
 33. Srikanth, A.; Sathish, M.; Harsha, A.V.S. Application of ozone in the treatment of periodontal disease. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* **2013**, *5*, S89–S94; DOI:10.4103/0975-7406.113304.

34. Ripamonti, C.I.; Maniezzo, M.; Boldini, S.; Pessi, M.A.; Mariani, L.; Cislighi, E. Efficacy and tolerability of medical ozone gas insufflations in patients with osteonecrosis of the jaw treated with bisphosphonates-preliminary data: medical ozone gas insufflation in treating ONJ lesions. *J. Bone Oncol.* **2012**, *1*, 81–87; DOI:10.1016/J.JBO.2012.08.001.
35. Kim, H.S.; Noh, S.U.; Han, Y.W.; Kim, K.M.; Kang, H.; Kim, H.O.; Park, Y.M. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J. Korean Med. Sci.* **2009**, *24*, 368–374; DOI:10.3346/JKMS.2009.24.3.368.
36. Lim, Y.; Lee, H.; Woodby, B.; Valacchi, G. Ozonated oils and cutaneous wound healing. *Curr. Pharm. Des.* **2019**, *25*, 2264–2278; DOI:10.2174/1381612825666190702100504.
37. Ripamonti, C.I.; Maniezzo, M.; Pessi, M.A.; Boldini, S. Treatment of Osteonecrosis of the Jaw (ONJ) by medical ozone gas insufflation. A case report. *Tumori* **2012**, *98*, 72e-75e; DOI:10.1700/1125.12414.
38. Patino, M.G.; Neiders, M.E.; Andreana, S.; Noble, B.; Cohen, R.E. Cellular inflammatory response to porcine collagen membranes. *J. Periodontal Res.* **2003**, *38*, 458–464; DOI:10.1034/J.1600-0765.2003.00017.X.