

ESTUDO COMPARATIVO DO DESEMPENHO DE DIFERENTES MEMBRANAS OCLUSIVAS DE LÁTEX NATURAL NO REPARO ÓSSEO

A comparative study on the performance of different occlusive natural latex membranes in bone repair

Rúbia Carolina Nobre Moraes¹

Leronardo Marques¹

Leandro Andrade Holgado¹

Juliana Ferreira Floriano²

Patricia Pinto Saraiva¹

Carlos Frederico de Oliveira Graeff²

Angela Kinoshita¹

¹Universidade Sagrado Coração, USC, Bauru, SP.

²Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista UNESP, Bauru, SP.

MORAES, Rúbia Carolina Nobre *et al.*. Estudo comparativo do desempenho de diferentes membranas oclusivas de látex natural no reparo ósseo. *SALUSVITA*, Bauru, v. 31, n. 3, p. 213-228, 2012.

RESUMO

Introdução: Na odontologia, a reabsorção óssea alveolar é fator limitante no bem estar dos indivíduos interferindo diretamente no sistema estomatognático, acarretando problemas no âmbito de saúde em geral. Com o objetivo de promover modalidades biológicas que possam estimular a regeneração óssea, várias estratégias biomiméticas têm sido desenvolvidas recorrendo à utilização dos mais diversos materiais possíveis à matriz óssea, culminando com o desenvolvimento de técnicas que promovam tal reparo. **Objetivo:** Este trabalho consiste no estudo comparativo do desempenho de filmes confeccionados com Látex como membrana oclusiva em procedimento de Regeneração Óssea Guiada (ROG) em 3 preparações: Látex preservado em amônia, Látex produzidos por seringueiras dos clones IAN873 e PR255 polimerizados logo após a coleta e sem uso

Recebido em: 23/11/2012

Aceito em: 25/01/2013

de amônia como conservante. **Métodos:** Foram utilizados 60 ratos Wistar, divididos randomicamente em 4 grupos de 15 animais, nos quais defeitos ósseos de tamanho crítico (8mm de diâmetro) foram confeccionados cirurgicamente na calvária. O Grupo A foi tratado por ROG através da membrana de Látex preservada em amônia, o Grupo B recebeu a membrana do clone IAN873, o Grupo C, a membrana do clone PR255 e o grupo D, não foi tratado por ROG. Após o período de 7, 15 e 50 dias, 5 animais de cada grupo foram eutanasiados, e as peças contendo o defeito ósseo coletadas para análise microscópica (histológica descritiva e histomorfometria). **Resultados:** Os resultados demonstraram que após 50 dias, houve formação óssea em maiores proporções no grupo D ($p < 0.05$, ANOVA seguido de Tukey), sugerindo que novos experimentos devem ser realizados para se concluir a respeito da presença da amônia e a influência da espécie de seringueira. **Conclusão:** A ROG é um procedimento comprovadamente eficaz no tratamento de defeitos ósseos. Sendo assim, novos experimentos devem ser realizados para se concluir a respeito da presença da amônia na composição do látex para fabricação de membranas, bem como na diferença induzida pela espécie de seringueira.

Palavras-chave: Regeneração óssea guiada. Membrana oclusiva. Látex.

ABSTRACT

Introduction: In dentistry, alveolar bone resorption is a limiting factor in the well being of individuals directly interfering in the stomatognathic system, causing problems in the context of overall health. Aiming to promote biological methods that can stimulate bone regeneration, several biomimetic strategies have been developed by the use of diverse materials possible to the bone matrix, culminating in the development of techniques that promote such repair. **Objective:** This work is a comparative study of the performance of films made with latex as occlusive membrane for Guided Bone Regeneration (GBR) procedure in three preparations: Latex preserved in ammonia, produced by Latex rubber clones IAN873 and PR255 polymerized immediately after collection and without use ammonia as a preservative. **Methods:** Sixty Wistar rats were randomly divided into 4 groups of 15 animals in which bone defects of critical size (8mm diameter) were made surgically in the skull. Group A was treated by GBR through the membrane latex

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre et al.
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

*preserved with ammonia, Group B received the membrane made of latex from IAN873, Group C, the membrane clone PR255 and group D was not treated by GBR. After a period of 7, 15 and 50 days, 5 animals from each group were euthanized, and specimens containing bone defect collected for microscopic examination (descriptive histology and histomorphometry). **Results:** The results showed that after 50 days there was bone formation in higher proportions in group D ($p < 0.05$, ANOVA followed by Tukey), suggesting that further experiments should be conducted to conclude about the presence of ammonia and the influence of kind of rubber. **Conclusion:** GOR is a procedure proven effective in the treatment of bone defects. Therefore, further experiments should be conducted to reach a conclusion regarding the presence of ammonia in the latex composition for the manufacture of membranes, as well as the difference induced by the species of rubber.*

Keywords: Guided bone regeneration. Membrane occlusive latex.

INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é constituído por um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células, matriz óssea e membranas conjuntivas. A matriz óssea é composta de uma porção inorgânica, formada por diversos íons como o fosfato, cálcio, magnésio, potássio, sódio, citratos e bicarbonato; e de outra porção orgânica, formada por fibras colágenas (cerca de 95%) e por uma pequena quantidade de substância fundamental amorfa. A associação dos cristais de hidroxiapatita com as fibras colágenas conferem a dureza e a resistência do tecido ósseo. A formação, reabsorção e remodelação óssea são exercidas por três tipos de células: osteoblastos que são produtores da parte orgânica, osteoclastos, responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo, e osteócitos que se situam nas lacunas juntamente com o material extracelular calcificado, da matriz óssea (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

O osso é um tecido dinâmico em constante formação e reabsorção. Este fenômeno equilibrado, é conhecido como o processo de remodelação, permitindo a renovação de 5-15% da massa óssea total por ano sob condições normais; A Remodelação óssea consiste na reabsorção de uma certa quantidade de ossos pelos osteoclastos, também a formação de matriz osteóide pelos osteoblastos, e sua mineralização subsequente. Este fenômeno ocorre em áreas pequenas do osso cortical ou a superfície trabecular, chamado de “Unidades

Básicas de multicelulares” (BMU) (FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ-GIL *et al.*, 2006)

Na odontologia, a reabsorção óssea alveolar se propaga como um fator limitante no bem estar dos indivíduos interferindo diretamente no sistema estomatognático, acarretando problemas no âmbito de saúde em geral. Com o objetivo de promover modalidades biológicas que possam estimular a regeneração óssea, várias estratégias biomiméticas têm sido desenvolvidas recorrendo à utilização dos mais diversos materiais possíveis à matriz óssea, culminando com o desenvolvimento de técnicas que promovam tal reparo.

A regeneração guiada tecidual é uma conquista da ciência que permite realizar com plenitude princípios aliados da natureza com resultados satisfatórios, revertendo situações clínicas de regressão e/ou de degeneração aplicando princípios da fisiologia óssea, obtendo ganho onde um curso normal levaria a sua atrofia como; por exemplo, nas exodontias (BUSER *et al.*, 1994)

A engenharia tecidual tem se mostrado um caminho para o desenvolvimento de protocolos terapêuticos aplicados aos mais diversos tipos de alterações patológicas, adquiridas ou não. Frente a essa premissa, a aplicabilidade de novos biomateriais em meio biológico oferece perspectivas para a resposta a nível tecidual, cicatrização e regeneração óssea guiada. (MARQUES, 2009).

Na Regeneração Óssea Guiada (ROG) uma membrana oclusiva é utilizada para selar o espaço do defeito ósseo, evitando assim a invasão de células do epitélio. As membranas são materiais que servem para proteger o coágulo sanguíneo e prevenir as células do tecido conjuntivo e epitelial de migrarem para o interior do defeito ósseo. Algumas propriedades ideais para as membranas são: biocompatibilidade; criação e manutenção de espaço; facilidade de manuseio; e capacidade de absorção (HAMMERLE e JUNG, 2003; CARRANZA *et al.*, 2004).

Buser *et al.* em 1996, avaliaram a previsibilidade e o resultado do tratamento da aplicação combinada de auto-enxertos e membranas para aumento de rebordo lateral em pacientes parcialmente desdentados usando uma abordagem faseada, obtendo resultados positivos diante de tal combinação.

Dahlin *et al* em 1994, produziram defeitos críticos na mandíbula de ratos, recobertos por membranas nas faces Vestibular e Lingual, através da análise histológica puderam comprovar cicatrização óssea completa, sem vestígios de tecido cartilaginoso em todas áreas recobertas por membrana, diferentemente dos locais de controle (sem membrana), que apresentavam variações na quantidade óssea neoformada, com pontos de tecido conjuntivo.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

Os estudos de Dupoirieux *et al.* em 2001 avaliaram a eficácia de membranas reabsorvíveis e não absorvíveis, tal estudo foi conduzido através de defeitos críticos de 6 mm em 30 ratos Wistar adultos, em conclusão apenas o grupo com membranas não absorvíveis apresentou resultado favorável.

A Regeneração Óssea Guiada (ROG) tem sido reconhecida como uma previsível e eficaz técnica para melhora do reparo ósseo; sendo utilizada há mais de uma década. Diversos estudos em animais e humanos têm ilustrado tal eficácia do princípio, no entanto a única questão de controvérsia continua a ser relacionada sobre escolha das membranas.(DUPOIRIEUX *et al.*, 2001).

Dados da literatura sugerem que um material ótimo para fabricação de membranas, deveria possuir as seguintes características: 1- biocompatibilidade, 2 - ser reabsorvível, 3 - não produzir reação tecidual local, 4 - ser formatável ou apresentar resistência para permanecer no local passivamente, formando um espaço entre a membrana e a lesão permitindo a regeneração da área a ser tratada.

Um dos materiais membranosos que atende a estas propriedades é o filme de látex natural. O látex é extraído da seringueira *Hevea brasilienses*. Tribos indígenas da Amazônia utilizavam-no em seu estado natural para curar feridas de pele. Pesquisadores observaram o seu poder cicatrizante está associado a uma defesa natural da planta, (ZIMMERMANN *et al.*, 2006). Após a polimerização, este biomaterial apresenta certas vantagens, como: elasticidade, flexibilidade, resistência mecânica, capacidade de induzir a angiogênese e o baixo custo (MENDONÇA *et al.*, 2010).

Além de ser de origem vegetal, não tendo o potencial de transmissão de doenças infecciosas (PINHO *et al.*, 2004). Já foi testada como membrana produzindo bons resultados (ERENO *et al.*, 2010)

Conhecendo-se o potencial das propriedades biológicas do Látex, este trabalho propõe um estudo comparativo da eficiência de filmes de látex utilizado como membrana oclusiva, oriundos de clones conhecidos de seringueiras, identificados como IAN873 e PR255, frente ao uso de membrana confeccionada com Látex comercial, constituído da mistura não controlada de vários clones e preservado em amônia. Este último já foi testado como membrana oclusiva e mostrou-se eficiente no reparo de defeito crítico em calvárias de coelhos, quando comparados com grupo controle sem uso de membranas (ERENO, 2010). Assim, pretende-se investigar o potencial biológico de cada clone com o objetivo de comparar a eficiência de 3 membranas oclusivas confeccionadas com látex de diferentes origens que são de clones das seringueiras IAN873 e PR255, e o comercial, que é composto pela mistura de látex de vários clones, a fim de

se investigar as propriedades biológicas relacionadas à cicatrização óssea de cada clone.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi analisado e aprovado pelo comitê de ética da Universidade Sagrado Coração sob protocolo 37/2010. Foram utilizados neste estudo, 60 ratos machos albinos *Wistar*, pesando em média 250g oriundos do biotério da Universidade Sagrado Coração. Durante o período experimental foram mantidos em gaiolas de polietileno, alimentados com água e ração, num ambiente de temperatura e luz controladas. Os ratos foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos experimentais e foram tratados como utilizando Membranas Oclusivas em cada rupo experimental:

- GRUPO A – Membrana de Látex de origem comercial
- GRUPO B – Membrana de Látex do clone da seringueira IAN873
- GRUPO C – Membrana de Látex do clone da seringueira 255
- GRUPO D – Controle, não foi tratado por ROG

As membranas foram na Faculdade de Ciências, UNESP- Bauru. Os clones das seringueiras IAN873 e PR255 encontram-se no Lageado, Campus UNESP – Botucatu e as membranas relativas a estas espécies foram confeccionadas sem o uso de material conservante (amônia) a fim de se aperfeiçoar este biomaterial pela exclusão de materiais irritantes. O Látex de origem comercial é constituído pela mistura não controlada de látex de seringueira de diferentes clones e foi cedido pela ESALQ – USP.

PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Para realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção de cloridrato de Ketamina (Dopalen – Vetbrands, Jacareí - SP) e Xilasina (Anasedan – Vetbrands, Jacareí - SP), associados numa relação de 1:1, com dose de 0,1 ml/100g de peso corpóreo. Inicialmente foram realizados os procedimentos de tricotomia na região da calota craniana seguida de assepsia com PVPI tópico (Fig. 1A).

A área a ser operada foi isolada com campos cirúrgicos estéreis. Foi realizada uma incisão mucoperiostal linear, de aproximadamente 1,5cm no plano sagital mediano do osso parietal com lâmina de bisturi número quinze (Fig. 1B)

MORAES, Rúbia Carolina Nobre *et al.*. Estudo comparativo do desempenho de diferentes membranas oclusivas de látex natural no reparo ósseo. *SALUSVITA*, Bauru, v. 31, n. 3, p. 213-228, 2012.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

Em seguida, dissecação cuidadosa com destaca-periosteio para expor a superfície óssea e sequencialmente a divulsão muscular plano a plano do retalho com espátula. O defeito ósseo foi criado no centro da calvária do rato, com uma broca trefina de 8mm de diâmetro, usando um motor de baixa rotação, sob irrigação constante e abundante de solução fisiológica. Todo osso cortical e esponjoso foi removido, expondo a membrana meníngea (Fig. 1C e 1D).

Nos animais dos grupos A, B e C, uma membrana foi fixada sobre o defeito ósseo, ocluindo totalmente o mesmo para impedir a penetração de tecido conjuntivo não osteogênico. O tipo de membrana relativa a cada grupo foi anteriormente descrito (Fig. 1E). No grupo D, controle, não foi tratado com membrana. Posteriormente, foi realizada a sutura, primeiramente do periosteio com fio reabsorvível vicryl 3-0, seguido pela sutura da pele com fio de seda 3-0 (Fig. 1F).

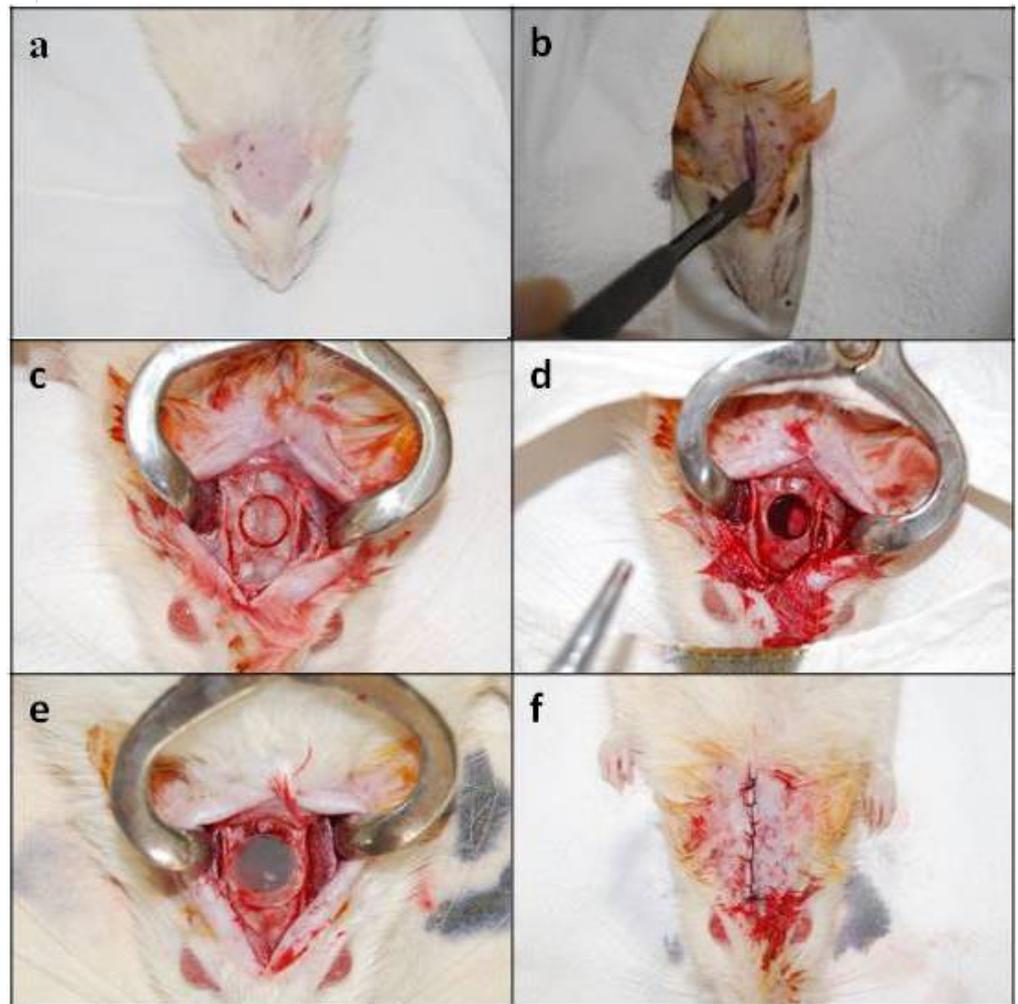


Figura 1: Procedimentos Cirúrgicos

Após os períodos de preservação de 7, 15 e 50 dias, 5 animais de cada grupo foram eutanasiados com superdosagem de anestésico geral (cloridrato de Ketamina) e a peças contendo o defeito ósseo coletadas e fixadas em formol 10% por 48 horas para análise microscópica.

Inicialmente o material foi submetido ao processo de desmineralização em solução de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 10% tamponado com pH 7,0, com trocas realizadas duas vezes por semana por 30 dias, aproximadamente, até que não apresentassem resistência ao corte com navalha. Cada peça foi cortada ao meio, na posição central do defeito. Posteriormente realizou-se procedimento histotécnico de rotina. Estas foram então lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídos em parafina. Realizaram-se cortes semi-seriados de 6µm de espessura de cada bloco, no sentido longitudinal utilizando-se micrótomo rotatório elétrico Leica RM. Os métodos de coloração empregados foram o da hematoxilina-eosina de Harris (HE), Tricrômico de Masson.

Os cortes foram analisados pela microscopia ótica, utilizando o fotomicroscópio Nikon H550L, seguido da descrição histológica e análise histométrica da região do defeito utilizando objetiva de 4X. Para a determinação da fração do volume de tecido ósseo formado na região do defeito, um retículo com dimensão de 200 x 200µm, foi sobreposto a cada imagem e procedeu-se a contagem referente aos tecidos conjuntivo e tecido ósseo.

RESULTADOS

Grupo A: Membrana de Látex preservado em amônia

As figuras 2A e 2B mostram fotomicrografias do grupo A, tratado por ROG utilizando a membrana de Látex de origem comercial, preservado em amônia aos 15 e 50 dias, respectivamente. A região do defeito encontra-se bem definida e estão representadas por setas verticais. Nas imagens referente ao período de 7 e 15 dias, observou-se o defeito preenchido por tecido conjuntivo. Nas imagens do período de 50 dias observa-se que o defeito ósseo se encontra preenchido quase que em sua totalidade por tecido ósseo em fase de amadurecimento, pode se observar uma faixa de tecido conjuntivo com características osteogênicas conectando os cotos ósseos. Tal Tecido ósseo neoformado apresenta-se totalmente revestido por células de características osteogênicas.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

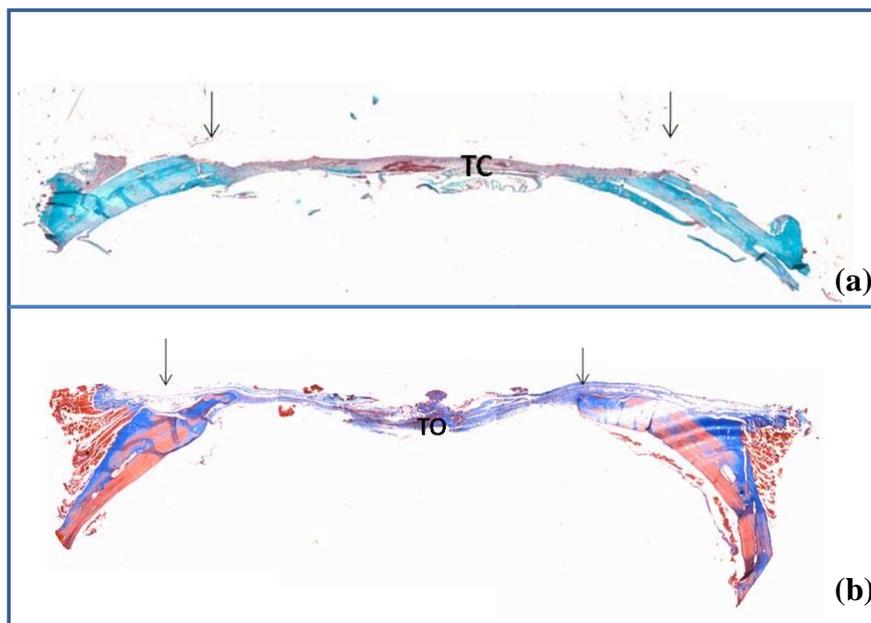


Figura 2: Fotomicrografias do Grupo A, tratado por ROG pela membrana de Látex com Amônia. (a) aos 15 dias, onde nota-se o defeito preenchido predominantemente por tecido conjuntivo (TC) e (b) aos 50 dias, onde nota-se tecido ósseo em fase de amadurecimento na região do defeito (TO) onde pode se observar também uma faixa de tecido conjuntivo com características osteogênicas conectando os cotos ósseos. Coloração (a) Tricrômico de Goldner e (b) Tricrômico de Masson. Ampliação 2 vezes.

Grupo B: Membrana de Látex do clone da seringueira IAN873

As figuras 3A e 4B mostram fotomicrografias do grupo B, tratado por ROG usando a membrana do clone IAN873 aos 15 e 50 dias, respectivamente. No período de 7 dias notou-se que o defeito apresenta-se preenchido por tecido conjuntivo frouxo vascularizado altamente celularizado (predominância de infiltrado mononuclear) com alguns focos de coágulo sanguíneo. Aos 15 dias observa-se se uma faixa de conjuntivo com características osteogênicas (TO), além de uma longa faixa de tecido ósseo primário em estágio de organização ricamente celularizado margeando a borda do defeito ósseo. No período de 50 dias o defeito apresenta-se preenchido exclusivamente por tecido conjuntivo, sendo que na borda encontra-se fibroso e com um fino feixe na região central do defeito de tecido conjuntivo frouxo. Discreta formação de tecido ósseo na borda do defeito circundado por tecido conjuntivo osteogenico.

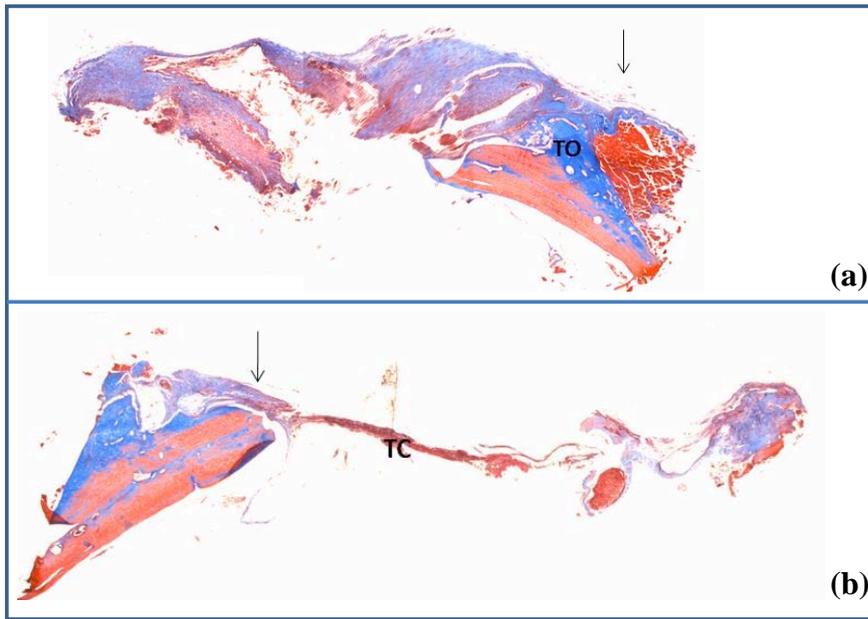


Figura 3: Fotomicrografias do Grupo B, tratado por ROG pela membrana de Látex sem Amônia do clone IAN873. (a) aos 15 dias, onde nota-se o defeito preenchido predominantemente por tecido conjuntivo e formação óssea nas bordas (TO) e (b) aos 50 dias, onde nota-se a região do defeito preenchido por tecido conjuntivo (TC). Coloração Tricrômico de Masson, ampliação 2 vezes.

Grupo C: Membrana de Látex do clone da seringueira PR255

As figuras 4A e 4B ilustram as imagens microscópicas relativas ao período de 15 e 50 dias, relativos ao tratamento de ROG usando membrana do clone PR255. No início do processo, notou-se que o defeito encontra-se preenchido com tecido conjuntivo frouxo organizado presença de coágulo sanguíneo, denotando a formação de tecido ósseo primário a partir das bordas do defeito. Aos 50 dias, podemos observar um defeito preenchido com tecido conjuntivo frouxo organizado e vascularizado com predominância de infiltrado mononuclear. Observou também, na borda do defeito, processo de neoformação óssea, assim como linhas de reversão denotando processo de remodelamento ósseo. O Tecido ósseo neoformado encontrou se em fase de amadurecimento observado pela formação de lamelas ósseas.

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

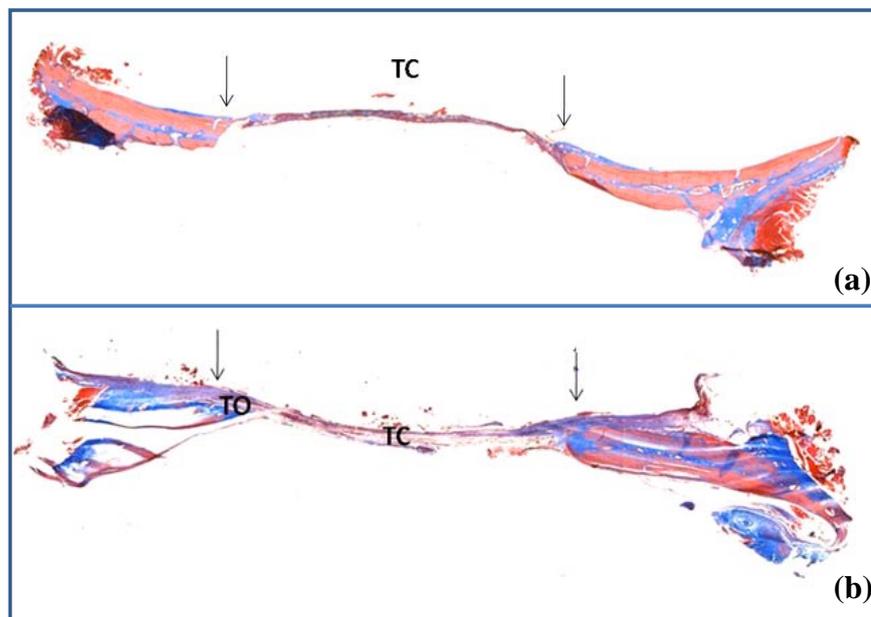


Figura 4: Fotomicrografias do Grupo C, tratado por ROG pela membrana de Látex sem Amônia do clone PR255. (a) aos 15 dias, onde nota-se o defeito preenchido predominantemente por tecido conjuntivo frouxo e (b) aos 50 dias, onde nota-se a região do defeito preenchido por tecido conjuntivo (TC) e neoformação óssea nas bordas do defeito (TO). Coloração Tricrômico de Masson, ampliação 2 vezes.

Grupo Controle (Grupo D)

As figuras 5A, 5B e 5C mostram a fotomicrografia do grupo D, controle, referente aos períodos de 7, 15 e 50 dias, respectivamente. Nas imagens é possível notar a região do defeito bem definida, e o processo de osteogênese iniciando-se a partir das bordas do defeito. Aos 7 e 15 dias (Figs 5A e 5B) o defeito encontra-se preenchido por tecido conjuntivo. Nota-se coágulo sanguíneo aos 7 dias (fig. 2A). Nas imagens relativas ao período de 50 dias (5C), pode-se observar que o defeito encontrou-se preenchido por uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo vascularizado. Observou-se na borda do defeito (Fig. 2D) neoformação óssea sendo que tal tecido já se encontrava em fase de amadurecimento podendo observar-se a presença de lamelas concêntricas.

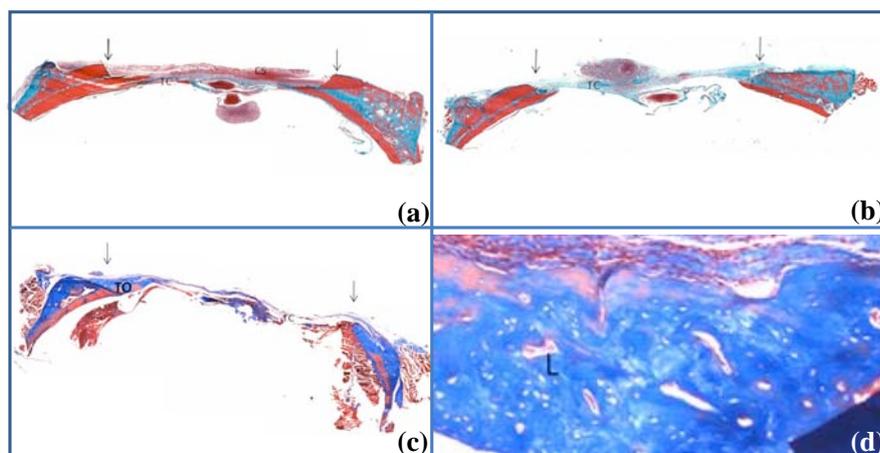


Figura 5: Fotomicrografias referente ao grupo D (controle). As bordas do defeito estão representadas pelas setas verticais. (a) aos 7 dias, onde nota-se coágulo sanguíneo (CS) e tecido conjuntivo (TC) na extensão do defeito; (b) aos 15 dias, com defeito preenchido predominantemente por tecido conjuntivo (TC). (c) e (d) aos 50 dias, onde nota-se neoformação óssea (TO) nas bordas do defeito e, em maior aumento (d), osso lamelar (L).

Coloração Tricrômico de Goldner (a, b) e Tricrômico de Masson (c,d). Aumento 2x (a, b, c) e 4x (d).

Histomorfometria

A figura 6 mostra o resultado da histomorfometria do tecido ósseo no período de 50 dias. O resultado mostra que houve maior formação óssea no grupo D e que não há diferença estatística significativa entre os grupos A, B e C ($p > 0.05$ ANOVA, Tukey)

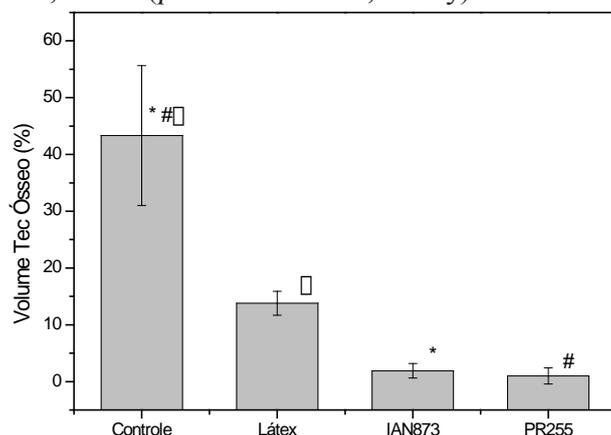


Figura 6: Percentual de tecido ósseo na região do defeito 50 dias após a cirurgia. Há diferença estatisticamente significativa entre os grupos indicados com o mesmo símbolo ($p < 0.05$ ANOVA seguido de Tukey)

MORAES, Rúbia
Carolina Nobre *et al.*
Estudo comparativo
do desempenho de
diferentes membranas
oclusivas de látex
natural no reparo ósseo.
SALUSVITA, Bauru, v. 31,
n. 3, p. 213-228, 2012.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O tecido ósseo apresenta alta capacidade de regeneração, mas em determinadas situações tal processo deixa de realizar-se, comprometendo a sua fisiologia. Quando a extensão do defeito ósseo ultrapassa uma determinada dimensão não é mais passível de cicatrização por regeneração, mas apenas por proliferação de tecido fibroso, que inviabiliza o processo de reparo (SCHMITZ *et al.*, 1990). Os defeitos na calvária quando assumem grandes dimensões não se cicatrizam por regeneração óssea, mas por substituição fibrosa. Estes defeitos são denominados defeitos críticos (SCHMITZ, HOLLINGER, 1986) e representam modelos ideais para testes de novos biomateriais.

A regeneração óssea guiada (DAHLIN *et al.*, 1991) baseia-se na prevenção da invasão de células do tecido conjuntivo e epitelial na área do defeito ósseo, permitindo a ocupação local por células osteogênicas (NYMAN, 1991). As células do tecido conjuntivo são de rápida proliferação e migração e invadem o defeito ósseo, mais precocemente que as células com potencial de osteogênese (DAHLIN *et al.*, 1988), ocorrendo assim a formação de tecido conjuntivo fibroso na área do defeito ósseo (SCHMITZ *et al.*, 1990), dificultando ou impedindo nova formação óssea neste local. O uso de membranas oclusivas é eficaz na regeneração óssea guiada quando utilizadas como barreiras à proliferação dessas células indesejáveis para o interior do defeito ósseo, permitindo um tempo adicional para as células osteogênicas, de migração mais lenta, repovoarem a área do defeito, desencadeando com eficiência a neoformação óssea (DAHLIN *et al.*, 1988; DAHLIN *et al.*, 1991; LINDE *et al.*, 1993).

Diferentes tipos de membranas têm sido estudados para uso como membrana oclusiva. Dupoirieux *et al.* em 2001 avaliaram a eficácia de membranas reabsorvíveis, de colágeno (extraído de ovos de aves) e Poligalactina (Vicryl) e não absorvíveis (Politetrafluoretano expandido e-PTFE). Tal estudo foi conduzido através de defeitos críticos de 6 mm em 30 ratos Wistar adultos, em conclusão apenas o grupo com membranas não absorvíveis apresentou resultado favorável.

Mais recentemente, Látex Natural, extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* foi testada como membrana oclusiva para tratamento de defeitos críticos na calvária de coelhos, produzindo bons resultados (ERENO, 2010). Como já mencionado, após a polimerização, o látex apresenta certas vantagens, como: elasticidade, flexibilidade, resistência mecânica, baixo custo. Sabe-se também que o látex natural é capaz de acelerar a angiogênese (ALVES, 2003) e esta propriedade pode estar relacionada aos processos de osteogênese. No homem, já

vem sendo usada como em curativos para cicatrização de úlceras crônicas de membros inferiores (Biocure®)

A fim de evitar o processo de polimerização, a amônia em solução com concentrações que variam de 0,2 a 0,7% são utilizados, a fim de elevar o pH para aproximadamente 10,2 (BERNARDES, 2002). A adição de amônia pode induzir efeitos biológicos indesejáveis, devido ao seu conhecido efeito irritante. Sendo assim, nesse trabalho o desempenho de membranas de látex de 2 clones identificados, PR255e IAN873 que foram polimerizados logo após a coleta, sem adição de amônia, foi comparado com a membrana utilizada em trabalho prévio (ERENO, 2010), de origem comercial, sem controle da espécie de seringueira e preservada em amônia. Adicionalmente, utilizamos um grupo controle, no qual não se utilizou membrana oclusiva.

No período de 7 dias, pode-se observar na análise microscópica a região do defeito bem definida e preenchida por tecido conjuntivo e coágulo sanguíneo, em todos os grupos.

Padrão semelhante ocorreu no período de 15 dias, a região do defeito encontra-se preenchida por tecido conjuntivo. No período de 50 dias, nos grupos A (Látex com amônia) e D (controle) pode-se notar a presença de tecido conjuntivo com características osteogênicas na região do defeito. A histomorfometria revela que houve maior formação óssea no grupo controle (figura 6) e que não há diferença resultante da composição da membrana. Esse resultado não está em acordo com trabalhos de Ereno (2010) no qual a membrana de látex (equivalente ao grupo A) resultou em maior formação óssea em defeitos críticos em calvária de coelhos.

A ROG é um procedimento comprovadamente eficaz no tratamento de defeitos ósseos. Sendo assim, novos experimentos devem ser realizados para se concluir a respeito da presença da amônia na composição do látex para fabricação de membranas, bem como na diferença induzida pela espécie de seringueira.

REFERÊNCIAS

ALVES, M. C. O. **Teste da angiogênese estimulada por membrana de látex natural**. 2003 254 p. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

BERNARDES, M. S. **Sangria da seringueira**. Piracicaba: USP/ESALQ-LPV, 2002.

MORAES, Rúbia Carolina Nobre *et al.*. Estudo comparativo do desempenho de diferentes membranas oclusivas de látex natural no reparo ósseo. *SALUSVITA*, Bauru, v. 31, n. 3, p. 213-228, 2012.

MORAES, Rúbia Carolina Nobre *et al.*. Estudo comparativo do desempenho de diferentes membranas oclusivas de látex natural no reparo ósseo. *SALUSVITA*, Bauru, v. 31, n. 3, p. 213-228, 2012.

BUSER, D. et al. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Amsterdam, v. 54, n. 4, p. 420-432, 1996.

BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R. K. **Guided bone regeneration in implant dentistry**. Chicago: Quintessence Books, 1994.

CARRANZA, F. A.; NEWMAN, M. G.; TAKEI, N. N. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

DAHLIN, C. et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 81, n. 5, p. 672-676, 1988.

_____. Restoration of mandibular nonunion bone defects : an experimental study in rats using an osteopromotive membrane method. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 23, n. 4, p. 237-242, 1994.

DAHLIN, C.; ALBERIUS, P.; LINDE, A. Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 74, n. 3, p. 487-491, 1991.

DUPOIRIEUX, L. et al. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 30, n. 1, p. 58-62, 2001.

ERENO, C. et al. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research**, Hoboken, Part A. v. 95A, n. 3, p. 932-939, 2010.

FERNANDEZ-TRESGUERRES-HERNANDEZ-GIL, I. et al. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, Valencia, v. 11, n. 1, p. 47-51, 2006.

HAMMERLE, C. H.; JUNG, R. E. Bone augmentation by means of barrier membranes. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 33, p. 36-53, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

LINDE, A. et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 64, n. 11, p. 1116-1128, 1993.

MARQUES, L. **Estudo da biocompatibilidade de membranas de Polifluoreto de Vinilideno (PVDF) e Trifluoroetileno (TrFe) agregados ao látex natural e amido.** 2009. 201p. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Odontologia. - Universidade Sagrado Coração, Bauru, 2009.

MENDONÇA, R. J. et al. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. **Phytotherapy Research**, Chichester, v. 24, n. 5, p. 764-768, 2010.

NYMAN, S. Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. **Journal of Clinical Periodontology**, Malden, v. 18, n. 6, p. 494-498, 1991.

PINHO, E. C. C. M. et al. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 67, p. 27-32, 2004.

SCHMITZ, J. P. et al. Characterization of rat calvarial nonunion defects. **Acta Anatomica (Basel)**, Basel, v. 138, n. 3, p. 185-192, 1990.

SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, New York, v. 205, p. 299-308, 1986.

ZIMMERMANN, M. et al. Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, p. 1719-1723, 2007.

MORAES, Rúbia Carolina Nobre *et al.*. Estudo comparativo do desempenho de diferentes membranas oclusivas de látex natural no reparo ósseo. **SALUSVITA**, Bauru, v. 31, n. 3, p. 213-228, 2012.