

TÉCNICA DA REGENERAÇÃO TECIDUAL GUIADA (RTG) NA REPARAÇÃO DA MANDÍBULA DE CÃO

Emily Correna Carlo^{1*}
Andréa Pacheco Batista Borges¹
Gisele Fófano¹
Érica Batista Fontes¹
Tatiana Borges Carvalho¹
Manuela Paula Teixeira de Sena¹

RESUMO

Os cães têm sido utilizados como modelo em estudos dos mecanismos da regeneração alveolar. O objetivo desse projeto foi então estudar o efeito da técnica da Regeneração Tecidual Guiada em um defeito intra-ósseo periodontal provocado experimentalmente. Foram utilizados 32 cães adultos, fêmeas e machos saudáveis, divididos em dois grupos. Foram criados defeitos de aproximadamente 4 x 4 x 4 mm na superfície vestibular do processo alveolar, entre as raízes mesial e distal do quarto pré-molar mandibular direito. Em um grupo, o defeito foi recoberto por uma membrana de colágeno, enquanto o outro permaneceu sem tratamento, utilizado como controle. Aos 7, 14, 21, 42, 60, 90 e 120 dias foram realizadas radiografias e coleta dos fragmentos ósseos para a análise histológica sob microscopia óptica. Observou-se que, na primeira radiografia, não havia radiopacidade do defeito. A radiopacidade surgiu nas bordas do defeito e, aos 42 dias pós-cirúrgicos, haviam defeitos com radiopacidade menor que a do osso vizinho; aos 90 e 120 dias, já era semelhante à do osso. Na análise histológica do grupo tratado, aos 42 dias foram observados o início de um processo inflamatório e a formação de osso mais acentuada que em qualquer outra data. Concluiu-se que a membrana de colágeno auxiliou no início do processo de reparação óssea.

Palavras-chave: Regeneração Tecidual Guiada, osso alveolar, cão, mandíbula.

ABSTRACT

GUIDED TISSUE REGENERATION IN MANDIBLE REPAIR IN DOGS

Dogs have been used more than any other animal in studies of alveolar regeneration mechanisms. To provide additional data on the periodontal repair processes, the effects of Guided Tissue Regeneration were studied in an experimentally-made periodontal defect in dogs. Two groups of sixteen fully-grown male and female dogs were set up at random, and each of these animals had a 4x4x4 mm cavity drilled on the vestibular surface of the alveolar ridge, between the distal and mesial roots, in the fourth right premolar. Dogs in one group had a collagen membrane placed directly on the cavity, and the gum was restored and sutured in place, while in the control group the cavity was drilled but no membrane was used to cover it. Radiographical exposures were made of each cavity at 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90, and 120 days, and at each time one fragment of the alveolar ridge was sampled from each animal for histological light-microscopical observations. One week after surgery the cavities were found to be radiolucent in dogs with or without the membrane. Radiographies taken on the 42nd day revealed lightly radiopaque cavities. Radiopacity was found to be similar to the normal bone at 90 and 120 days after treatment. In histological analyses, animals from the treated group showed greater bone formation until 42 days after surgery. At this point an inflammatory reaction took place. After that, bone formation did not run on such a good rate compared to the control group.

Key-words: Guided Tissue Regeneration, alveolar bone, mandible, dogs.

¹ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Bolsista de Iniciação científica. E-mail: emilycarlo@yahoo.com.br
(* autor para correspondência)

INTRODUÇÃO

Têm-se utilizados cães têm sido utilizados como modelo em estudos que objetivam elucidar precisamente os mecanismos da regeneração alveolar, incluindo análises radiográficas, histológicas e histoquímicas (Emily *et al.*, 1999).

O osso do processo alveolar é altamente vascularizado e tem grande capacidade de reabsorção e nova formação, remodelando-se desse osso em cortes histológicos (Figun & Garino, 1994; Terranova *et al.*, 1997; Stetzer *et al.*, 2002).

Recentemente, barreiras físicas na forma de membrana têm sido usadas entre o flap mucogengival e o osso e também sobre a superfície de implantes (Jansen *et al.*, 1995). Essas barreiras devem atender aos seguintes princípios: possuir permeabilidade que permita a difusão de plasma e nutrientes, porém não a passagem de células; ser biocompatível; funcionar como suporte físico ao tecido mole circundante; criar um espaço e mantê-lo preenchido pelo coágulo no qual as células osteogênicas possam migrar; proteger a delicada rede vascular durante a organização do coágulo; excluir células não osteogênicas; e prevenir a formação de uma cicatriz residual (Dahlin, 1998).

A técnica Regeneração Tecidual Guiada (RTG) tem sido usada na regeneração do periodonto nos casos de defeitos ósseos provocados por doença periodontal, traumas ou ressecções de tecidos neoplásicos e ao redor de implantes dentários (Piattelli *et al.*, 1996).

Membranas não reabsorvíveis de politetrafluoretileno expandido (e-PTFE) são muito utilizadas, contudo possuem, como desvantagem, a necessidade de uma segunda cirurgia para a retirá-las (Piattelli *et al.*, 1996). Por esse motivo, estudos recentes têm se concentrado no desenvolvimento e aplicação de materiais reabsorvíveis na RTG. Estudos confirmaram que materiais biológicos (membranas de colágeno) têm potencial suficiente para serem usados na regeneração óssea guiada (Amano *et al.*, 2004). O colágeno é caracterizado por sua baixa imunogenicidade,

propriedades hemostáticas e baixa citotoxicidade (Cirelli *et al.*, 1997).

Este estudo objetivou analisar clínica, radiológica e histologicamente a aceitação da membrana de colágeno colocada, segundo a técnica de Regeneração Tecidual Guiada, em um defeito intra-ósseo periodontal provocado experimentalmente no cão. Espera-se, assim, auxiliar o desenvolvimento da Implantologia em Medicina Veterinária, visando a ampliação das possibilidades de tratamento de defeitos ósseos provocados por traumas, doença periodontal e neoplasias.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desse experimento, foram utilizados 32 cães adultos, fêmeas e machos, pesando entre 10 e 15 kg, sem qualquer doença periodontal, provenientes do canil experimental da Universidade Federal de Viçosa-MG (UFV).

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de 16 cães cada um. O grupo 1 foi utilizado como controle e o grupo 2 tratado pela técnica da Regeneração Tecidual Guiada, utilizando-se uma membrana de colágeno¹.

Após jejum hídrico e sólido de 12 horas, os animais receberam acepromazina² por via endovenosa como medicação pré-anestésica. A anestesia geral foi induzida com tiopental sódico³ também por via endovenosa e mantida com mistura de halotano⁴ e oxigênio. Os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, expondo a gengiva bucal da mandíbula direita.

Os dentes e a gengiva foram higienizados com solução de clorexidine⁵. A seguir foi criado um retalho mucoperiosteal bucal, realizando-se uma incisão no sulco gengival, no sentido caudo-rostral, e duas incisões na gengiva bucal caudal e rostral em relação às raízes do quarto pré-molar da maxila (Fig. 1A). O retalho foi então deslocado apicalmente expondo o osso alveolar (Fig. 1B). Um defeito de aproximadamente 4 x 4 x 4 mm foi provocado entre as raízes mesial e distal do quarto pré-molar com o auxílio de uma broca esférica número 8⁶

¹ Pro Guided Membrana de colágeno- Proline Biomédica – São Paulo - BrH

² Acepran® 1% - Univet

³ Tiopental® 1g - Cristália - Itapira - Br

⁴ Halothano® - Cristália - Itapira - Br

⁵ Periogard® a 2% - Colgate - São Paulo - Br

⁶ KG Sorensen ®- São Paulo- Br

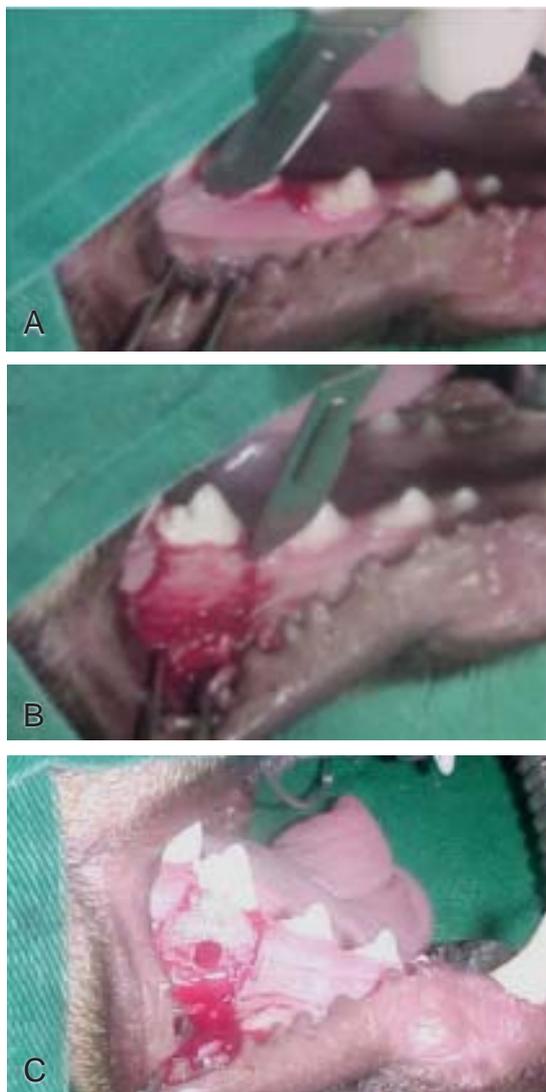


Figura 1. Cão submetido a cirurgia experimental para execução da técnica de Regeneração Tecidual Guiada. A- Incisão no sulco gengival em direção caudo-rostral para realização do retalho mucoperiosteal. B- Retalho deslocado apicalmente expondo o osso alveolar. C- Defeito provocado entre as raízes do quarto pré-molar mandibular de aproximadamente 4 x 4 x 4 mm.

acoplada a um motor de baixa rotação⁷(Fig. 1C).

O defeito periodontal provocado nos animais do grupo 1 permaneceu sem tratamento, servindo como controle. A falha óssea provocada nos cães do grupo 2 foi tratada pela técnica da Regeneração Tecidual Guiada, utilizando-se uma membrana de colágeno de aproximadamente 2mm, maior que o defeito em cada

borda, recobrimo-o totalmente, sem, contudo preenchê-lo (Fig. 2A). O retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado, com pontos simples separados por Poliglactina 4-0⁸ (Fig. 2B).



Figura 2. Cão submetido à cirurgia experimental para execução da técnica de Regeneração Tecidual Guiada. A- Falha óssea em cão do grupo 2 tratada pela técnica RTG, utilizando-se uma membrana de colágeno recobrimo totalmente o defeito periodontal. B- Retalho periosteal reposicionado e suturado com pontos simples separados.

Os animais receberam tratamento com espiramicina e metronidazol⁹ por via oral três dias antes e três dias após a cirurgia; após esse período, receberam enrofloxacin¹⁰ por sete dias, via subcutânea. As feridas foram limpas diariamente com solução de clorexidina a 2% até a cicatrização da ferida cirúrgica. Cetoprofeno¹¹ foi administrado por via subcutânea por quatro dias após a cirurgia. Os animais foram alimentados com comida pastosa durante duas semanas.

O exame clínico local constou de observação diária da ferida cirúrgica por duas semanas, avaliando-se a reação inflamatória, a hemorragia e a secreção purulenta, que foram classificadas em intensa, moderada, discreta

⁷ Microdent® Aparelhos Odontológicos- Ribeirão Preto- Br

⁸ Vycril 4-0 - Ethicon - São José dos Campos - Br

⁹ Stomorgyl 10® - Merial - Paulínia - Br

¹⁰ Duotril 10%® - Duprat - Rio de Janeiro - Br

¹¹ Ketofen 1%® - Rhodia-Mérieux - Paulínia - Br

ou ausente.

Foram obtidas radiografias da região operada em todos os animais imediatamente após a cirurgia, e, aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias, dois animais de cada grupo foram radiografados, utilizando filme intra-oral¹² região lingual do quarto pré-molar direito pela técnica do paralilismo.

As radiografias foram analisadas quanto a radiopacidade, objetivando um estudo qualitativo do processo regenerativo: radiopacidade do defeito maior que a do osso vizinho; radiopacidade semelhante à do osso vizinho; menor do que a do osso vizinho; e ausência de radiopacidade.

Aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias após a cirurgia, foram colhidas amostras para exame histológico em cada dois animais de cada grupo, no acesso utilizado para a colocação do implante. Para tal, os animais foram anestesiados como descritos anteriormente. A amostra constou do quarto pré-molar com seu alvéolo, tendo cerca de 1,5 x 1,0 x 0,5 cm. Cada amostra foi seccionada nos planos longitudinais e transversais e fixada em formol 10%. Completada a fixação, os fragmentos foram descalcificados, desidratados e, em seguida, diafanizados. As amostras foram incluídas em parafina e, então, cortes de 5 micrômetros de espessura foram obtidos em micrótomo e montados em lâmina de vidro. Os fragmentos foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e examinados por microscopia óptica.

O material foi avaliado quanto à quantidade de osso formado, à reação fibrovascular e à formação de tecido fibroso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por ocasião da cirurgia, três animais do grupo tratado apresentaram hemorragia intensa, porém sem comprometimento da membrana de colágeno. Um animal apresentou hemorragia discreta apenas no segundo dia pós-cirurgia, isoladamente. No grupo controle, quatro animais apresentaram hemorragia discreta durante dois dias. Esse fato pode ser explicado pela grande vascularização do osso alveolar, ao que se relaciona também sua grande capacidade de regeneração (Figun & Garino, 1994).

No exame clínico, verificou-se edema discreto, caracterizado por edema apenas no retalho mucoperiosteal, persistindo por até dois dias na maioria dos animais do grupo tratado. Dois animais apresentaram edema moderado, caracterizado por extensão do edema para a gengiva próxima ao retalho. Em quatorze animais do grupo tratado, verificou-se reação inflamatória discreta nos primeiros dois dias, o que também foi observado no grupo de controle. Todos os animais de ambos os grupos apresentaram dor discreta, observada apenas quando a região operada era tocada, nos primeiros dois dias pós-cirurgia. Dor e edema são esperados em qualquer procedimento cirúrgico e, como fazem parte da inflamação, podem ter sido influenciados pelo uso de anti-inflamatório. Além disso, pode-se sugerir que o princípio de compatibilidade biológica ou biocompatibilidade não foi desrespeitado já que está relacionado às reações fisiológicas que o implante causa em torno do local (osso, tecido conjuntivo e epitélio). Sabe-se que um material é biocompatível se provocar reações toleráveis e desejáveis ao organismo (Donath *et al.*, 2000).

Ao analisar as radiografias do grupo de controle, percebeu-se que o defeito apresentava-se radioluscente logo após a cirurgia, ou seja, sem radiopacidade. Aos 21 dias, a radiopacidade começou a aumentar nas bordas do defeito, sendo ainda menor que a do osso vizinho à falha, mas com o centro ainda radiolúcido. Aos 42 dias, o defeito encontrava-se com radiopacidade mais homogênea, mas ainda menor que a do osso vizinho à falha, permanecendo assim aos 60 dias. O defeito ainda foi perceptível, mas com radiopacidade semelhante à do osso aos 90 e 120 dias.

Nos estudos radiográficos do grupo tratado, observou-se que, na primeira radiografia, no dia da cirurgia, o defeito encontrava-se sem radiopacidade, assim como no grupo de controle (Fig. 3A), permanecendo assim aos sete e 14 dias após a cirurgia (Fig. 3B e 3C). A radiopacidade começou a aumentar nas bordas do defeito notadamente aos 21 dias e aos 30 dias mais acentuadamente (Fig. 3D e 4A). Aos 42 dias após a cirurgia, os defeitos se encontravam com radiopacidade semelhante à do osso próximo ao defeito. Aos 60 dias a radiopacidade era igual à do osso, aumentando ligeira e gradativamente aos 90 e 120 dias pós-cirurgia, sendo

¹² Filme radiográfico Kodak DF 58- São Paulo- Br

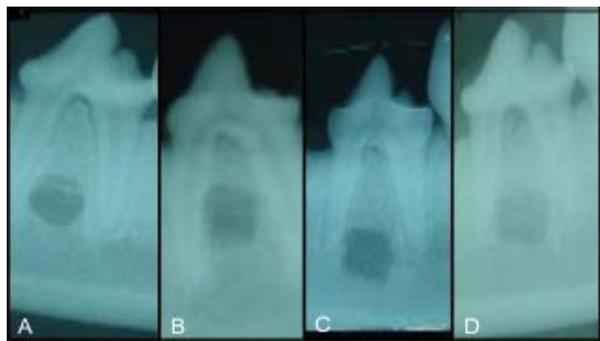


Figura 3. Projeções radiográficas lateromediais do quarto pré-molar inferior direito da mandíbula de cães tratados com a membrana de colágeno, demonstrando a radiopacidade do defeito. **A** - imediatamente após a cirurgia. **B**- 7 dias pós-cirurgia. **C**- 14 dias pós-ci.rurgia **D**- 21 dias pós- cirurgia.

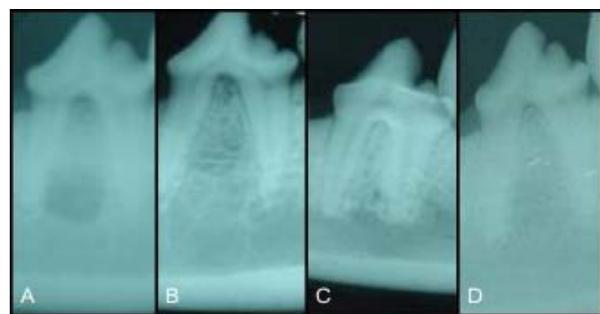


Figura 4. Projeções radiográficas lateromediais do quarto pré-molar inferior direito da mandíbula de cães tratados com a membrana de colágeno, demonstrando a radiopacidade do defeito. **A** - 30 dias pós-cirurgia. **B**- 60 dias pós-cirurgia. **C**- 90 dias pós-cirurgia. **D**- 120 dias pós-cirurgia.

difícil sua visualização (Fig. 4B, 4C e 4D). Segundo Aaboe *et al.* (1995), a quantidade e qualidade do reparo ósseo em condições experimentais também são influenciadas pela espécie animal, pelo local do defeito e pelo envolvimento cortical, unicortical ou bicortical. Neste experimento, pode-se sugerir que a rápida regeneração óssea está relacionada à alta taxa metabólica e vascularização abundante do osso mandibular.

Aos 7 dias, na análise histológica do grupo de controle, foram observados tecido conjuntivo frouxo na superfície do defeito e início de reabsorção das bordas do defeito com formação de matriz óssea, encontrando-se o defeito preenchido por tecido de granulação pouco vascularizado com maior quantidade de fibras conjuntivas, semelhante aos achados de Tampiere *et al.* (2001). No grupo tratado, também foi observada grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo em área mais central do defeito, com tecido conjuntivo denso nas bordas (Fig. 5A). Houve início de formação de trabéculas

ósseas e hemorragia. Aos 21 dias, no grupo de controle, verificou-se a formação de novo tecido ósseo, sob forma de trabéculas. No grupo tratado também houve formação de trabéculas com predominância de tecido conjuntivo denso entre elas, podendo-se notar células inflamatórias e uma intensa vascularização, demonstrando a ocorrência de reação inflamatória no local. Zhao *et al.* (2000) também constataram reação inflamatória quando utilizaram membrana reabsorvível de colágeno. Tal fato também foi observado por Robert *et al.* (1993), quando utilizaram membrana reabsorvível de vycril. Contudo, observou-se que essa reação inflamatória não influenciou a formação das trabéculas ósseas.

Aos 42 dias, no grupo de controle, observou-se aumento de formação de osso trabecular apenas na periferia do defeito. Já no grupo tratado, verificou-se intensa formação de osso trabecular, muito semelhante ao osso compacto adjacente (Fig. 5B), podendo-se dizer que, nesse período, o processo de reparação no grupo tratado apresentava-se mais adiantado que no grupo de controle. Observou-se também tecido conjuntivo denso

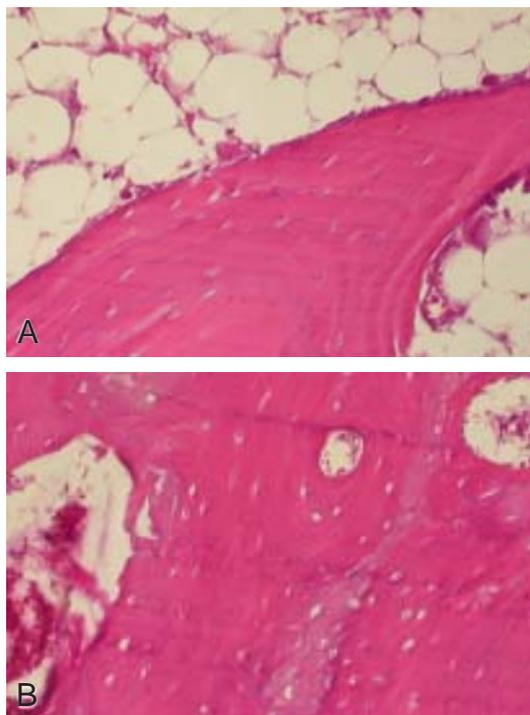


Figura 5. Fotomicrografia de cão submetido a cirurgia experimental para execução da técnica de regeneração tecidual guiada. **A**- Sete dias após a cirurgia no grupo tratado. Tecido conjuntivo frouxo e início de formação de trabéculas. HE. **B**- 42 dias após a cirurgia no grupo tratado Formação de osso compacto e intensa vascularização. HE.

nas poucas regiões que não apresentavam tecido ósseo, bem como uma intensa vascularização.

Aos 60 dias, no grupo de controle, ainda observou-se a formação de osso trabecular apenas na periferia do defeito, mas notou-se maior número de trabéculas que aos 42 dias. Já no grupo tratado notou-se certa quantidade de tecido conjuntivo denso entre as trabéculas e um infiltrado inflamatório predominantemente nas bordas do defeito, além de tecido conjuntivo frouxo em alguns locais do defeito, o que não havia sido observado aos 42 dias após a cirurgia.

Aos 90 dias, no grupo de controle, houve preenchimento total por osso compacto na periferia do defeito e osso trabecular apenas no centro. Ao contrário, no grupo tratado, predominaram trabéculas e tecido conjuntivo denso por todo o defeito, com mais concentração de trabéculas nas bordas. Notou-se também grande vascularização na área do defeito.

Aos 120 dias não se encontrou o limite entre as margens do defeito e o novo osso no grupo de controle, pois o defeito havia sido completamente preenchido por osso compacto. No grupo tratado, verificou-se grande quantidade de trabéculas e tecido conjuntivo frouxo, com poucas áreas de completa formação de osso compacto, mais notadamente na periferia do defeito.

Notou-se que o grupo tratado apresentou uma reparação óssea mais acentuada que a do grupo de controle até os 42 dias pós-cirurgia. Essa boa reparação associada à membrana de colágeno não progrediu após essa data, ocorrendo uma estagnação do processo bem observado aos 60, 90 e 120 dias após a cirurgia, quando observaram-se menor número de trabéculas ósseas que o esperado e tecido conjuntivo frouxo que já não era encontrado aos 42 dias. Atenção deve ser dada ao processo inflamatório, observado já nesse período, que pode ter influenciado negativamente o processo de reparação.

No grupo tratado, em todas as lâminas foi observada a membrana de colágeno, o que condiz com o tempo de reabsorção relatado por Amano *et al.* (2004) quando afirmam que 120 a 180 dias garantem regeneração óssea. É interessante a observação da membrana visto que o tempo de reabsorção é de grande importância, pois uma reabsorção muito rápida pode resultar em bloqueio ineficiente da migração epitelial (Cirelli *et al.*, 1997).

CONCLUSÕES

Com base no material clínico e radiográfico, demonstrou-se que a membrana de colágeno auxiliou o processo de reparação óssea, notadamente no início do processo. Pelas análises histológicas, verificou-se que a membrana de colágeno apesar de ser um material biocompatível, está associada a um processo inflamatório evidente a partir de 42 dias após a cirurgia, interferindo negativamente no processo de reparação óssea.

REFERÊNCIAS

- Aaboe M, Pinholt EM & Hjorting-Hansen E (1995) Healing of experimentally created defects: a review. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 33:312-318.
- Amano Y, Ota M, Sekiguchi K, Shibukawa Y & Yamada S (2004) Evaluation of a poly-L-lactic acid membrane and membrane fixing pin for guided tissue regeneration on bone defects in dogs. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* 97:155-163.
- Cirelli JA, Marcantonio E Jr, Adriana R, Marcantonio C, Lia RC, Goissis G & Rossa C Jr (1997) Evaluation of anionic collagen membranes in the treatment of class II furcation lesions: an histometric analysis in dogs. *Biomaterials* 18:1227-1234.
- Donath K, Spiekermann H, Hassel T, Jovanovic S & Richter J (2000) *Procedimentos cirúrgicos*, 1ª ed. São Paulo, Santos Editora. 157p.
- Dahlin C (1998) Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastical Reconstructive Surgery* 81:672-676.
- Emily P, San Róman FS, Trobo JI & Llorens P (1999) Periodontia. Enfermidade periodontal. In: Román, FS (ed) *Atlas de Odontologia de pequenos animais*. São Paulo, Editora Manole. p. 111-112.
- Fígun ME & Garino RR (1994) *Sistema dental. Anatomia odontológica funcional e aplicada*, 3ª ed. Rio de Janeiro, Panamericana. 451p.

- Jansen JA, Ruijter JE, Jansen PT & Paguay YG (1995) Histological evaluation of a biodegradable polyactive/hydroxyapatite membrane. *Biomaterials* 16:819-827.
- Piattelli A, Scarano A, Russo P & Matarasso S (1996) Evaluation of guided bone regeneration in rabbit tibia using bioresorbable and non-resorbable membranes. *Biomaterials* 17:791-796.
- Robert P, Mauduit J, Frank MR & Vert M (1993) Biocompatibility and resorbability of a polylactic acid membrane for periodontal guided tissue regeneration. *Biomaterials* 14:353-358.
- Stetzer K, Cooper G, Gassner R, Kapucu R, Mundell R & Mooney MP (2002) Effects of fixation type and guided tissue regeneration on maxillary osteotomy healing in rabbits. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 60:427-436.
- Tampiere A, Celloti G, Sprio S, Delcogliano A & Franzese S (2001) Porosity-graded hydroxyapatite ceramics to replace natural bone. *Biomaterials* 22:1365-1370.
- Terranova VP, Goldman HM & Listgarten MA (1997) O aparelho de inserção periodontal. Estrutura, função e química. In: Genco RJ, Goldman, HM, Cohen DW (Eds) *Periodontia Contemporânea*. São Paulo, Santos Editora. p. 33-54.
- Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE & Donath K (2000) Histological evaluation of different biodegradable and non-biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 28:116-122.

Aceito para publicação em 05/07/20