

Efeito de uma membrana bioativa sobre a regeneração óssea guiada de defeitos críticos de calvária

Effect of a bioactive membrane on guided bone regeneration of critical calvary defects

Flavio Fidêncio de LIMA^a, Matheus UZAI^a, Natalia Nunes de SOUZA^a,
Suzana Peres PIMENTEL^a, Fabiano Ribeiro CIRANO^a, Raissa Micaella Marcello MACHADO^a,
Andrea Rodrigues Esposito CABRERA^b, Marcio Zaffalon CASATI^a,
Mônica Grazieli CORRÊA^{a*}

^aUNIP – Universidade Paulista, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia, São Paulo, SP, Brasil

^bBioactive Biomateriais S.A., Indaiatuba, SP, Brasil

How to cite: Lima FF, Uzai M, Souza NN, Pimentel SP, Cirano FR, Machado RMM, et al. Efeito de uma membrana bioativa sobre a regeneração óssea guiada de defeitos críticos de calvária. Rev Odontol UNESP. 2024;53:e20240033. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.03324>

Resumo

Introdução: A regeneração óssea guiada (ROG) é uma abordagem que tem vindo a tornar-se cada vez mais conhecida por promover um tratamento regenerativo bem-sucedido. Esta técnica consiste na utilização de barreiras físicas para isolar a área a regenerar da influência não osteogénica das células do tecido conjuntivo gengival, protegendo o coágulo formado no espaço entre a barreira e o tecido ósseo preexistente. **Objetivo:** Determinar o efeito da regeneração óssea guiada (ROG) por meio do uso de uma membrana com propriedade bioativa, composta por polímeros ácido polilático (PLA), policaprolactona (PCL) e polietileno glicol (PEG), associada à incorporação de bioativos sintéticos [beta-tricálcio fosfato (β -TCF), hidroxiapatita (HA) e nano-HA], no reparo ósseo em defeitos de calvária em ratos. **Material e método:** Para isso, 21 ratos foram distribuídos nos grupos: Teste (n=7): Membrana Bioativa; Controle Positivo (n=7): Membrana BioGide®; Controle Negativo (n=7): sem biomaterial. Os animais foram submetidos à confecção de dois defeitos de calvária de tamanho crítico de 5mm de diâmetro. Quatro semanas após a confecção dos defeitos, ocorreu a eutanásia dos animais e as calvárias foram processadas para análise histológica e histomorfométrica. **Resultado:** o grupo controle positivo (Bio-Gide) apresentou maior fechamento do defeito ósseo, em comparação ao grupo teste (Membrana Bioativa) e ao controle negativo (sem tratamento). **Conclusão:** Dentro dos limites do presente estudo, pode-se concluir que o uso da Membrana com propriedade Bioativa não proporcionou regeneração óssea dos defeitos críticos em calvária de ratos.

Descritores: Regeneração óssea guiada; membrana bioativa; defeito calvária.

Abstract

Introduction: Guided bone regeneration (GBR) is an approach that has become increasingly well known for promoting successful regenerative treatment. This technique consists of using physical barriers to isolate the area to be regenerated from the non-osteogenic influence of gingival connective tissue cells, protecting the clot formed in the space between the barrier and the pre-existing bone tissue. **Objective:** This study aimed at determining the effect of guided bone regeneration using a membrane with polylactic acid polymers by polylactic acid polymers), polycaprolactone (PCL) and polyethylenel (PEG) associated with the incorporation of bioactives [beta-tricalcium (β -TCF), hydroxyapatite (HA) and nano-HA], in the repair of calvaria repair in rats. **Material and method:** For this, 21 rats were divided into groups: Test (=7): Bioactive Membrane; Positive Control (n=7): BioGide® Membrane; Negative Control (n=7): no treatment. Two critical defects were created in each animal at the start of the study (day 0). The animals were euthanized after 4 weeks of defects creation and the calvaria defects were processed for histological and histomorphometric analysis. **Result:** The results indicate that the positive control group (Bio-Gide) presented grater closure of the bone defects compared to the test group (Bioactive Membrane) and the negative control (no treatment). **Conclusion:** The use of the bioactive membrane did not promote bone generation (GBR) of calvaria defects in rats.

Descriptors: Guided bone regeneration; bioactive membrane; calvaria defect.



INTRODUÇÃO

Com os avanços tecnológicos e o crescente número de reabilitação com implantes dentários, os profissionais devem conhecer, cada vez mais, tanto os princípios quanto os fundamentos básicos e avançados da Regeneração Óssea Guiada¹, de forma a promover um tratamento regenerativo bem sucedido¹⁻³.

O tecido ósseo é composto por um tipo especializado de tecido conjuntivo organizado que contém células ósseas vivas, dispostas em um meio biomineral com cerca de 30% de segmentos orgânicos e 70% de inorgânicos⁴⁻⁹. Aproximadamente, 90% desse segmento orgânico é composto por colágeno. Os 10% residuais são proteínas não colágenas, moléculas de proteoglicanos, lipídios, osteopontina e outras proteínas da matriz óssea, que desempenham papel vital na resistência mecânica e nas características metabólicas do tecido ósseo¹⁰. As células responsáveis por regular a renovação do esqueleto são os osteoblastos e os osteoclastos, que se encontram em equilíbrio, nesse processo, por meio dos fenômenos de reabsorção e neoformação óssea¹¹.

O processo de reparo ou de regeneração do tecido ósseo é composto por três principais fases: inflamação, produção óssea e remodelação óssea. A primeira inicia no pós-operatório imediato, ou seja, assim que o sangue coagulado é substituído por tecido fibroso e cartilagem. A inflamação faz parte do início do processo, a partir da formação de coágulo no local a ser reparado^{1,6,12,13}. Já a produção do tecido ósseo, além de possuir uma estrutura físico-química característica, tem capacidade de regeneração e de remodelação durante todo o período de vida, o que a diferencia dos demais tecidos¹⁴.

A regeneração óssea guiada (ROG) é uma das abordagens mais utilizadas clinicamente na regeneração de defeitos nos maxilares ou associados a implantes¹⁴⁻¹⁶. Por princípio, a ROG consiste na utilização de barreiras físicas que isolam a área a ser regenerada da influência não osteogênica das células do tecido conjuntivo gengival, protegendo o coágulo formado no espaço entre essa barreira e o tecido ósseo pré-existente, contra traumas mecânicos e micromovimentações^{10,12,17}. As características desejáveis das barreiras para ROG incluem: (a) Biocompatibilidade - o material deve funcionar com resposta tecidual apropriada e interação harmoniosa com o leito receptor, sem prejuízo dos tecidos subjacentes; (b) Propriedades oclusivas: o material deve impedir invasão de tecidos moles e evitar a colonização bacteriana, que podem comprometer os resultados desejados em termos de ganho ósseo; (c) Capacidade de criação e manutenção de espaço: a membrana deve proporcionar espaço adequado para a regeneração óssea ocorrer; (d) Maleabilidade: a membrana deve ser clinicamente maleável; (e) Integração com os tecidos circundantes: a integração da membrana com os tecidos adjacentes estabiliza o ambiente de cicatrização e contribui para a criação de uma barreira entre os tecidos moles e o defeito ósseo^{5,13,14,18}.

Considerando a aplicação terapêutica da barreira, não apenas agindo de forma passiva, mas também atuando biologicamente, de forma ativa, no processo regenerativo, por meio da incorporação de bioativos, algumas investigações têm analisado o papel de fatores de crescimento em associação às membranas, tendo em vista suas múltiplas funções durante a cicatrização óssea, incluindo recrutamento celular, proliferação e diferenciação⁹. Diversos estudos *in vivo* compararam o impacto da ROG associada à BMP-2 humano recombinante (rhBMP-2), BMP-7, fator de crescimento derivado do fibroblasto (FGF)-2^{19,20}. De forma geral, os resultados mostraram que a ROG, associada a moléculas bioativas, otimizou o processo de regeneração óssea²¹.

Apesar de alguns estudos mostrarem o papel bioativo da ROG na reconstrução de defeitos ósseos por meio da incorporação de diferentes moléculas e/ou células, o impacto do uso de bioativos sintéticos incorporados às barreiras são ainda pouco conhecidos. Alternativas sintéticas de destaque na literatura atual, também utilizadas na regeneração óssea, são as biocerâmicas à base de fosfato de cálcio e silicato²². Um estudo recente mostrou que a combinação de PCL e nano-HA não somente melhorou as propriedades mecânicas do biomaterial, como estimulou os macrófagos a produzirem fatores de crescimento como Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e PDGF e moléculas relacionadas à osteogênese, incluindo BMP2, TGF- β 1, e PGE2²¹.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi determinar o impacto da ROG realizada por meio do uso de membrana com propriedade bioativa composta por polímeros PLA, PLC e PEG, associada aos bioativos sintéticos β -TCF, HA e nano-HA, no reparo ósseo em defeitos de calvária de tamanho crítico em ratos, por meio de avaliações histológicas e histométricas.

MATERIAL E MÉTODO

Características da Amostra

Foram utilizados 21 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar, SPF), machos, com idade aproximada de 10 semanas. Os animais foram mantidos no biotério da Universidade Paulista UNIP, sob as mesmas condições ambientais, em gaiolas plásticas, tratados com ração para animais de laboratório e água “*ad libitum*”. Todos os procedimentos foram executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Paulista UNIP - nº 5632080420.

Confecção dos Defeitos

No dia “0” do experimento, foram confeccionados defeitos de calvária, sob anestesia geral pela administração intramuscular de cloridrato de ketamina (10mg/kg) (Dopalen®, AgribrandsBrasil Ltda., Paulínia, SP, Brasil) e cloridrato de xilazina (10mg/kg) (Rompun®, Bayer SA, São Paulo, SP, Brasil). Após anestesia, tricotomia e assepsia da região dorsal do crânio, a pele, o tecido subcutâneo e o periósteo foram seccionados e afastados lateralmente por meio de uma incisão mediana de 15 mm na calvária do animal. Após a exposição dos ossos parietais e a localização da sutura mediana, foram confeccionados, em cada animal, dois defeitos ósseos, preservando o osso sagital médio, com uma broca trefina (de 5 mm de diâmetro), sob irrigação com soro fisiológico^{3,23}. Os procedimentos cirúrgicos estão representados na Figura 1.

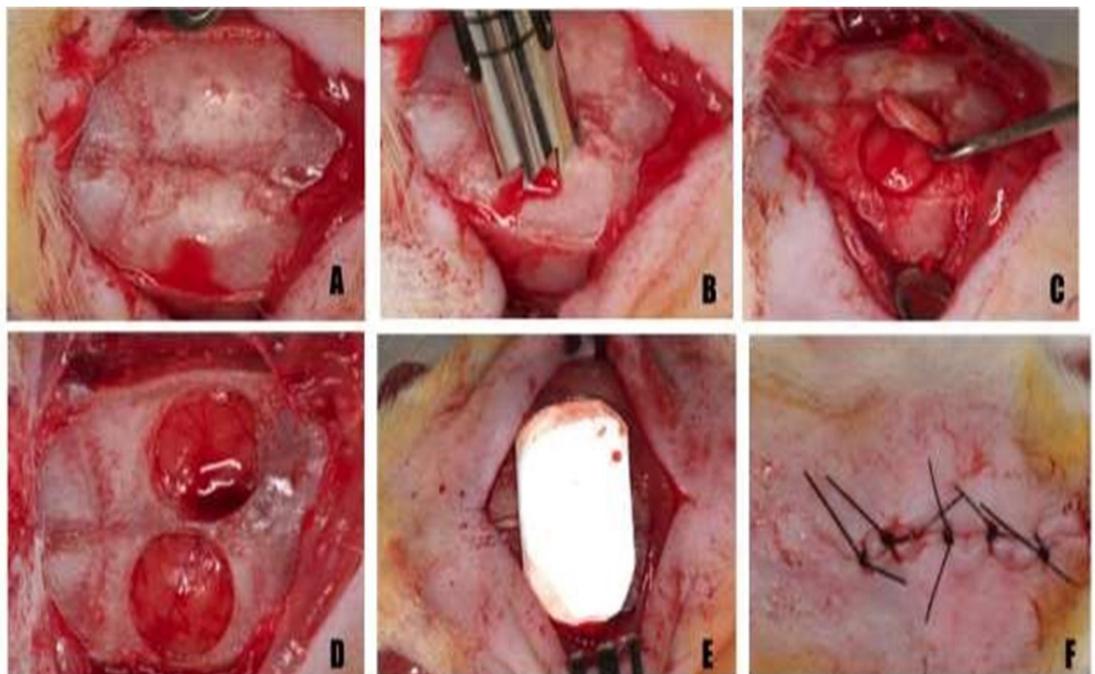


Figura 1. (A) Exposição do osso parietal e sutura mediana; (B) Uso de trefina para confecção dos defeitos de 5mm na calvária; (C, D) Confecção dos defeitos; (E) Adaptação da membrana; (F) Sutura.

Constituição dos Grupos e Tratamentos

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- 1) **Membrana Bioativa - Teste** (n:7): os dois defeitos de calvária foram submetidos ao tratamento com Membrana Bioativa, composta por polímeros PLA, PLC e PEG, associada aos bioativos sintéticos β -TCF, HA e nano-HA;
- 2) **Membrana BioGide® - Controle Positivo**(n:7): os dois defeitos de calvária foram submetidos ao tratamento com BioGide®;
- 3) **Controle Negativo** (n:7): os dois defeitos de calvária foram mantidos sem preenchimento com qualquer biomaterial.

Os defeitos foram completamente preenchidos pelos biomateriais nos grupos 1 e 2 e mantidos sem tratamento no grupo 3. Após a realização dos tratamentos, o perióstio foi, então, reposicionado e a pele foi suturada com fio de nylon 5-0. Durante quatro dias, os animais receberam dipirona 20mg/Kg para analgesia, via gavagem. Os animais foram avaliados diariamente durante todo o experimento, para verificar possíveis sintomas clínicos ou toxicológicos. Trinta dias após o início do estudo, foram eutanasiados por inalação de CO₂. Os ossos da calvária foram removidos e fixados em formol, a 10%, para análise histomorfométrica.

Análise Histológica e Histomorfométrica

Para a análise histológica, os espécimes foram descalcificados em solução com partes iguais de EDTA 10% em tampão de fosfato de sódio 0,1 M, pH=7,2, durante 40 dias. Após fixação e descalcificação, foram desidratados em álcool e diafanizados em xilol. As amostras foram incluídas em parafina e seções semi-seriadas com 5 μ m de espessura, no sentido coronal, e coradas por hematoxilina e eosina, para análise em microscopia de luz - magnificação de 2,5X, (Leica, DM 2500 LED - França), com o auxílio de um programa para análise de imagens (ImageJ - processamento e análise de imagens em Java, Nacional Institute of Health Bethesda MD). O software foi usado para obter medidas lineares, em milímetros, entre as margens ósseas dos defeitos de calvária. As análises foram realizadas pelo mesmo examinador calibrado e cego quanto aos grupos do estudo. Um teste de calibração foi realizado, usando 10 microfotografias dos defeitos, que foram medidos duas vezes, com intervalo de 24 horas entre as medições, sendo considerada aceitável uma reprodutibilidade de 95%.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após a fixação, desidratação e metalização (por uma camada de ouro) (DESK V - Standard, Denton Vacuum, Estados Unidos), a fim de aumentar a refletância da superfície, as amostras foram examinadas com microscópio eletrônico de varredura (MEV) (JSM-LV 6510 - Jeol, Japão), operando a uma tensão de aceleração de 15kV. Fotomicrografias foram realizadas nas três faces de análise de cada amostra, em três magnificações (vista panorâmica da amostra, 1500X e 3000X). As mesmas foram realizadas na face interna do laminado cerâmico removido.

RESULTADO

Clinicamente, alguns animais apresentaram resposta inflamatória moderada 30 dias após a adaptação da membrana, com presença de secreção serosa-purulenta e edema exacerbado na calota pós-eutanásia. Em dois animais, não foi possível encontrar partes da membrana após esse período, em razão de a mesma ter causado uma reação do tipo corpo estranho e sido deslocada do defeito ósseo.

Análise Histomorfométrica e Histológica

O grupo controle positivo (BioGide®) apresentou maior fechamento do defeito ósseo, em comparação com o grupo teste (Membrana Bioativa) e com o controle negativo (sem tratamento) ($p < 0.05$). As fotomicrografias representativas dos grupos estão demonstradas na Figura 2A, B, C e na Figura 3 I, II e III. Nela, observam-se os seguintes aspectos histológicos:

- A: trata-se de um corte histológico do controle negativo. O círculo sinalizado mostra uma pequena ilha de neoformação óssea apresentando um defeito remanescente maior do que o encontrado no grupo que recebeu a Membrana BioGide® e semelhante ao Grupo Membrana Bioativa;
- B: na imagem central do corte histológico, há uma área branca, que representa o espaço onde se encontrava a membrana, sem nenhuma formação óssea na região. Observa-se um possível início de processo celular para formação óssea e, discretamente, osteoblastos ao redor dessas células;
- C: na imagem do Grupo Controle Positivo, observa-se muito tecido colágeno em suas bordas laterais, dando a aparência de um único tecido e, nos círculos, a presença de osteoblastos ao redor das células de formação óssea.

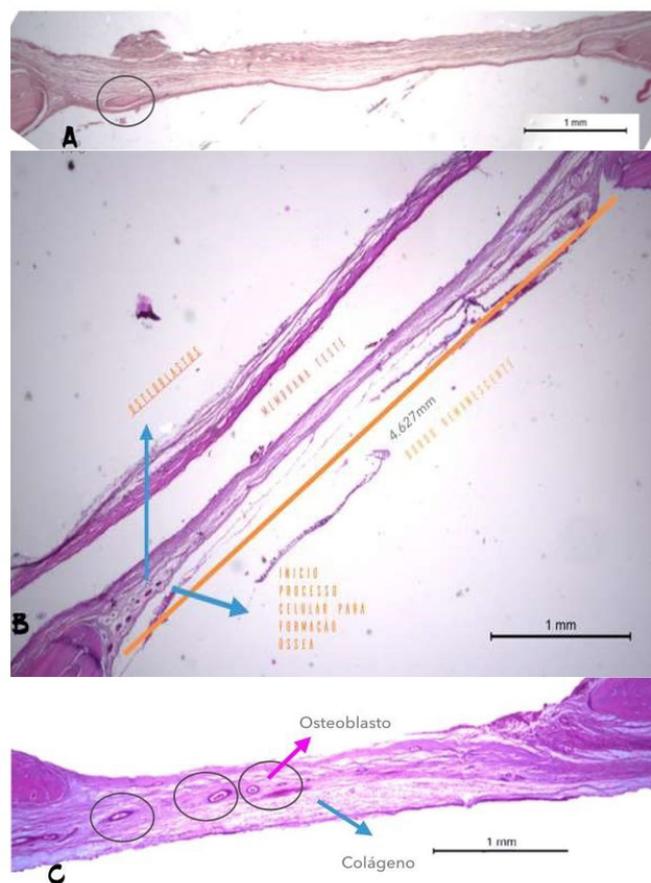


Figura 2. Fotomicrografias representativas que ilustram os achados histológicos em (A) Controle negativo; (B) Membrana Teste; (C) Grupo Controle Positivo – BioGide. (A) No Grupo Controle Negativo, observam-se as bordas do defeito e uma ilha de neoformação óssea dentro do círculo; (B) Grupo Membrana Teste: o traço entre os bordos mostra um defeito remanescente de 4.627mm. As bordas entre a membrana descrita na imagem apresentam tecido conjuntivo, sem formação óssea. As setas azuis sinalizam a única região com início de processo de formação óssea e, discretamente, ao redor dessas células, a presença de osteoblasto; (C) Pode-se observar, nesse corte histológico com um tecido mais uniforme, organizado, a presença de muito colágeno. Nota-se, também, sinalizada com a seta rosa, a presença de osteoblastos. A principal característica histológica, nesse grupo, é a uniformidade do tecido, dando impressão de um “corpo único” e denotando a ocorrência de reparo ósseo.

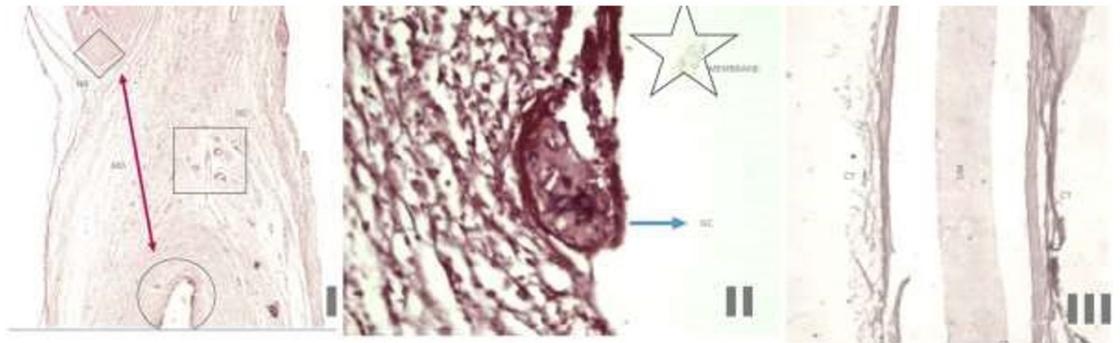


Figura 3. I, II e III - As três imagens, representam o Grupo Membrana Teste. (I) as letras NB + losângulo representam a junção de um novo osso com o bordo remanescente. O círculo mostra o deslocamento da membrana e a seta representa a distância existente entre o bordo remanescente e uma ponta da membrana (MD). O quadrado sinaliza os vasos sanguíneos e a sigla BD indica uma região com defeito ósseo e tecido fibroso; (II) mostra a presença de uma Célula Gigante (GC) em um processo de fagocitose da membrana teste, em consequência à reação do tipo corpo estranho, sem a presença de infiltrado inflamatório. Mais acima, observa-se uma porção da membrana que foi expelida do bordo remanescente, mostrada na forma de estrela; (III) nota-se a membrana deslocada (DM), sem a presença de nenhuma formação óssea ao seu redor, com as bordas compostas por tecido conjuntivo (CT).

A análise histológica permitiu verificar que a Membrana Bioativa teve um comportamento semelhante ao do grupo controle negativo. Dessa forma, a porosidade da membrana teste foi comparada à da membrana BioGide® por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Observou-se que a membrana teste apresenta baixíssima porosidade, prejudicando o processo de adesão celular à mesma (Figura 4).

Os resultados da análise histomorfométrica estão descritos na Figura 5.

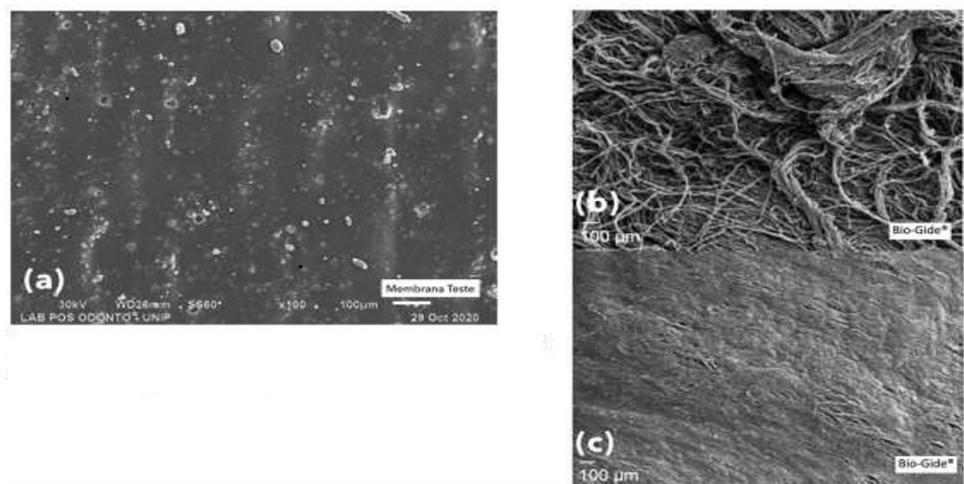


Figura 4. Imagem comparando a falta de porosidade na membrana teste (a); membrana controle positivo Bio-Gide (b), (c).

Análise Estatística

Para todas as avaliações, foi adotado um nível de significância de 5%. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk), para escolha de métodos paramétricos ou não paramétricos e, então, submetidos ao teste ANOVA/Tukey. Na realização da análise estatística foi usada a SAS versão 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, EUA).

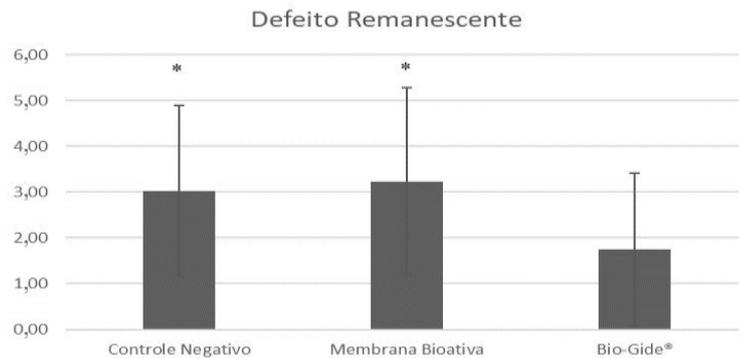


Figura 5. Média = Desvio Padrão dos defeitos remanescentes das calvárias. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao Grupo BioGide® ($p < 0,05$; Anova/Tukey).

DISCUSSÃO

Muitas vezes, a ausência dentária resulta em defeitos ósseos alveolares, situação que torna desafiadora sua reconstrução, a despeito dos avanços das técnicas e das biomaterias disponíveis no mercado^{4,6,24}. Nesses casos, indica-se a regeneração óssea guiada (RGO) com membranas bioreabsorvíveis e não bioreabsorvíveis⁶, com ou sem a presença de enxertos ósseos, principalmente na reabilitação com implantes dentários para um tratamento previsível, com um adequado volume ósseo^{4,6,13,24}. O presente estudo teve, como principal objetivo, avaliar o uso de uma membrana reabsorvível contendo bioativos por meio da avaliação de medidas histométricas em defeitos críticos de calvária de rato. De forma geral, o grupo controle positivo apresentou maior regeneração óssea, quando comparado aos grupos controle negativo e teste.

No presente estudo, após 30 dias do procedimento cirúrgico, o grupo contendo a membrana bioativa experimental apresentou menor neoformação óssea, quando comparado ao grupo controle negativo (coágulo) e de controle positivo (BioGide®). Diferentemente dos resultados desse estudo, Martinez et al.¹⁶ utilizando a mesma membrana bioativa utilizada neste estudo, observando neoformação óssea, nos períodos de 30, 60 dias.

O uso das membranas em ROG tem como principal objetivo, evitar a entrada do tecido de fibrose no defeito e permitir a migração de células osteoblásticas para região alveolar²⁵. Em uma revisão sistemática de meta-análise a ROG com uso de membrana, foi relatada como tendo capacidade de diminuir a proliferação de tecido conjuntivo não mineralizado, favorecendo a reabilitação com implantes dentários²⁶.

As membranas utilizadas na ROG precisam seguir os princípios básicos de biocompatibilidade, oclusividade celular (para evitar a invasão de tecido mole), capacidade de manutenção de espaço (ser regida o necessário para criar e manter o espaço físico e, ao mesmo tempo, não danificar o tecido adjacente) e integridade estrutural^{2,4,10,16}. De acordo com Martinez et al.¹⁶, a membrana utilizada nesse estudo respeita tais parâmetros.

Seguindo o princípio da biocompatibilidade, a composição e os polímeros utilizados na fabricação de um biomaterial devem ser inertes e estáveis ao sistema biológico. O primeiro polímero sintético utilizado e descrito na literatura a apresentar esse princípio foi o e-PTFE, por resistir à degradação dos tecidos e não provocar reações imunológicas, além de manter a integridade estrutural e a função de exclusão tecidual da membrana graças a sua estabilidade química¹⁷. Neste estudo, a membrana teste é um poliéster alifático. Suas principais vantagens, se comparada a outros polímeros, são capacidade de gerenciamento, processabilidade e biodegradação ajustada. No entanto, essa degradação pode acabar provocando uma forte resposta inflamatória, como foi descrito nesse estudo, e levar a uma reabsorção do osso regenerado. Gentile et al.²⁷ relatam, por meio de meta-análise, que as membranas compostas por copolímeros são sugeridas para reduzir a taxa de reabsorção e a capacidade de manutenção do espaço.

A membrana bioativa utilizada neste estudo, como mostrado nos resultados clínicos e histológicos, apresentou, na maioria dos animais, uma resposta inflamatória significativa e, em três deles, acabou sendo expulsa do defeito crítico de calvária. Sua pouca biocompatibilidade pode estar correlacionada a algum polímero que, provavelmente, apresentou alto grau de citotoxicidade, além de falta de porosidade, o que será discutido mais à frente. Estudos têm mostrado que a taxa de sucesso e biocompatibilidade no uso da Membrana BioGide é de 92%, quando utilizada de maneira correta^{28,29}. Clínica e histologicamente, o grupo controle negativo apresentou melhor resultado, quando comparado ao grupo membrana bioativa.

Talvez um dos princípios mais buscados, do ponto de vista clínico das membranas para ROG, seja a maleabilidade. Essa propriedade mecânica é responsável por manter o arcabouço cirúrgico, ou seja, agir e manter-se como uma barreira, evitando a compressão do tecido mole subjacente³⁰. Ela também deve possuir o grau ideal de plasticidade, para ser facilmente moldada na forma do defeito ósseo. Assim, um balanço entre essas propriedades mecânicas se faz necessário para manter ou criar um espaço adequado.

De acordo com a literatura, as membranas de titânio têm se mostrado melhores do ponto de vista mecânico, em comparação às membranas de compostos como e-PTFE, colágeno e outros. Porém, precisam ser removidas e, se o cirurgião não tiver treinamento adequado, as margens cortantes da membrana podem causar um processo inflamatório, diminuindo o processo de cicatrização. A membrana bioativa desse estudo apresentou maleabilidade satisfatória do ponto de vista de uso clínico. Não precisou ser hidratada, para aumentar a maleabilidade, apresentando facilidade de manipulação por um cirurgião treinado^{16,25}.

Outro requisito de extrema importância para um resultado clínico satisfatório é a integração da membrana com os tecidos. Cada vez mais discutido na literatura, esse fator está relacionado com a porosidade das membranas, pois o tamanho e presença do poro pode estar relacionado com um maior grau de regeneração óssea^{1,3,9,11,16,17}. Segundo estudos, essa porosidade nas membranas facilita a difusão de fluidos, bem como a entrada de oxigênio, nutrientes e substâncias bioativas para o crescimento celular^{1,3,9,11,16,17}. Poucos poros ou poros muito finos acabam prejudicando a integração da membrana com o tecido, ou seja: quanto menos porosa a membrana, maior sua oclusividade e mais lento o tempo de formação óssea²⁵. Clinicamente, histologicamente e por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura, foi possível observar que a falta de porosidade da membrana bioativa desse estudo pode ter interferido no resultado clínico final de pouca formação óssea.

O biomaterial deve apresentar efeito osteopromotor *in vivo* e evitar que a biorreabsorção esteja totalmente ligada ao seu design e arquitetura¹³. As membranas de colágeno têm espessura e estrutura diferentes, dependendo da fonte que, na maioria das vezes, é de origem bovina, equina, ovina e ou caprina. Essas membranas consistem em uma matriz homogênea de colágeno^{9,27}. As membranas com fibras de colágeno orientadas em diferentes formas e linhas obtiveram melhores resultados *in vivo*, por promoverem uma forte ligação multidirecional⁸. A membrana teste possui uma estrutura microporosa que interage rapidamente com o coágulo sanguíneo e, em conjunto com os componentes cerâmicos, cria um microambiente estimulador, seja permitindo a passagem de nutrientes, seja impedindo a passagem de células e invaginação de tecido mole para o interior do defeito ósseo. Porém, na Microscopia Eletrônica de Varredura, observou-se a pouca porosidade/rugosidade do material. É provável que essa característica tenha levado a não adesão da membrana nos tecidos adjacentes, como observado em cinco animais, nos quais o material sofreu deslocamento para fora do defeito.

As membranas que têm, como principal base a hidroxiapatita (HA), também foram sugeridas para ROG. Elgali et al.²⁵ acreditam que, devido a sua semelhança com os minerais ósseos, biocompatibilidade e osteocondutividade, a hidroxiapatita tem se tornado fosfatos de cálcio, utilizado na produção de biomateriais. Para alguns autores, mesmo sendo um material relativamente frágil, a hidroxiapatita possui propriedades mecânicas adequadas, o que permite um suporte adequado do tecido mole, levando a um espaço maior para regeneração óssea²⁹. O

fabricante adicionou, além dos copolímeros, agentes catalisadores no processo de osseointrodução, como a HA e HAnano¹⁶.

Outro composto que vem sendo incorporado às membranas, para alcançar melhor desempenho biológico *in vivo*, é o beta-fosfato tricálcio, que leva a satisfatórios efeitos a próosteogênicos⁷. A presença de Beta- tricálcio fosfato (β -TCF), na composição da membrana, não possibilitou neoformação óssea, como se pressumia. É possível que a junção de diversos compostos na formulação do biomaterial tenha influenciado no efeito benéfico já reportado para cada composto, quando usado isoladamente ou com poucas combinações, quando se adiciona fosfato β -tricálcico e outros biomateriais (gel de ácido polilático e poliglicólico e cimento de fosfato de cálcio) para preenchimento de defeitos ósseos de 5 mm em calvária de ratos. Esses biomateriais foram usados sozinhos ou suplementados com 5 μ g de proteína morfogenética óssea (BMP-2)¹⁵.

Diversos estudos mostram que o β -TCF isolado promoveu a formação óssea de forma mais eficiente, em comparação com os autoenxertos e que a suplementação de BMP-2 não foi necessária para o preenchimento de defeitos ósseos^{2,4,11,13,15,16}. No presente estudo, é provável que a adição de muitos compostos no veículo da membrana teste tenha impedido a liberação ou limitado o efeito dos agentes utilizados em sua composição. Assim, novos ensaios devem ser conduzidos, a fim de avaliar tais variáveis e o efeito dos componentes de forma isolada, bem como a inserção desses agentes em outras formas de apresentação, como enxertos e membranas.

O estudo mostrou as vantagens do HA e como as cargas elétricas das superfícies dos polímeros podem contribuir para a migração e adesão celular. A diferença significativa e negativa observada nesse estudo pode estar relacionada à utilização do biomaterial apenas na forma de membrana e, como descrito anteriormente, do ponto de vista de biocompatibilidade, se um dos compostos apresentar alta taxa de citotoxicidade, o resultado não será positivo.

Hao et al.¹⁸ acreditam que os efeitos citotóxicos dos reagentes de reticulado das membranas de colágeno tornaram-se uma preocupação recorrente na fabricação das membranas. Sugeriram o uso de fibras colágenas reticuladas por calor, incorporando pó de hidroxiapatita de estrôncio misturado em solução gelatinosa. Por a hidroxiapatita de estrôncio ser um mineral naturalmente existente no osso, é mais fácil de ser sintetizado, além de apresentar menor toxicidade e baixo custo. Mesmo sabendo que a incorporação de elementos cerâmicos como a hidroxiapatita tem sem mostrado cada vez mais promissora, no que diz respeito à neoformação óssea, novos estudos devem abordar a citotoxicidade desses compostos, a fim de mostrar resultados mais promissores em relação à biocompatibilidade e à bioativação das membranas.

Também são necessários novos estudos para avaliar maiores períodos de adaptação da membrana bioativa. A maioria deles avalia a remodelação óssea nos períodos de 30, 60 e 90 dias^{15,17,19}. Porém, após os primeiros resultados deste estudo, o fabricante realizou um recall de todas as membranas, por apresentarem uma resposta inflamatória exarcebada, mostrando grande bioincompatibilidade com os tecidos. Outro fator extremamente importante, avaliado neste estudo por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi a porosidade, considerada, para a maioria dos materiais, de importante relevância. Estudos têm mostrado que a Membrana BioGide® é o material reabsorvível que mais respeita esse princípio, apresentando porosidade adequada^{14,25}. Já a membrana Bioativa avaliada mostrou falta de porosidade/rugosidade, característica que prejudica o processo de adesão da mesma e de neoformação óssea.

CONCLUSÃO

Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que o uso da membrana com propriedade bioativa, composta por polímeros ácido polilático (PLA), policaprolactona (PCL) e polietileno glicol (PEG), associada à incorporação de bioativos sintéticos [beta-tricálcio fosfato (β -TCF), hidroxiapatita (HA) e nano-HA] não proporcionou regeneração óssea dos defeitos críticos em

calvária de ratos nem apresentou as características necessárias para a regeneração até o período final de acompanhamento do estudo.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Flávio Fidêncio de Lima: Conceituação; Escrita - Revisão e Edição (Contribuições substanciais para a concepção e design do trabalho, Elaboração do trabalho e revisão crítica para conteúdo intelectual importante).

Matheus Uzai: Conceituação, Escrita - Revisão e Edição (Contribuições substanciais para a concepção e design do trabalho, Elaboração do trabalho e revisão crítica para conteúdo intelectual importante).

Natalia Nunes de Souza: Conceitualização, Revisão e Edição (Contribuições substanciais para a concepção ou design do trabalho).

Suzana Peres Pimentel: Conceitualização, Supervisão (Contribuições substanciais para a concepção ou design do trabalho), Escrita - Revisão e Edição.

Fabiano Ribeiro Cirano: Conceituação, Supervisão (Contribuições substanciais para a concepção ou desenho do trabalho).

Raissa Micaella Marcello Machado: Conceitualização, Supervisão (Contribuições substanciais para a concepção ou design do trabalho).

Andrea Rodrigues Esposito Cabrera: Conceitualização, Supervisão (Contribuições substanciais para a concepção do trabalho).

Marcio Zaffalon Casati: Conceituação, Escrita - Revisão e Edição, Aquisição de financiamento, Recursos, Administração de Projetos (Contribuições substanciais para a concepção e design do trabalho, Revisão crítica do trabalho para conteúdo intelectual importante).

Mônica Grazieli Corrêa: Curadoria de Dados, Redação - preparação do rascunho original (Análise e interpretação de dados para o trabalho, Análise laboratorial, Elaboração do trabalho), Administração de Projetos, Análise Formal (Análise estatística dos dados), Validação, Administração de Projetos (Contribuições substanciais para a concepção e design do trabalho, Revisão crítica do trabalho para conteúdo intelectual importante, Aprovação final da versão a ser publicada, Acordo para ser responsável por todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e resolvidas).

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa recebeu o apoio concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), apoio código 001.

REFERÊNCIAS

1. Aghaloo TL, Moy PK. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22(Suppl):49-70. PMID:18437791.
2. Altıparmak N, Akdeniz SS, Akcay EY, Bayram B, Araz K. Effect of induced membrane on guided bone regeneration in an experimental calvarial model. *J Craniofac Surg*. 2020 May/Jun;31(3):879-83. <http://doi.org/10.1097/SCS.0000000000006154>. PMID:31934967.
3. Casarin RC, Casati MZ, Pimentel SP, Cirano FR, Algayer M, Pires PR, et al. Resveratrol improves bone repair by modulation of bone morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014 Jul;43(7):900-6. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2014.01.009>. PMID:24530035.

4. Brignardello-Petersen R. Membrane exposure may decrease the benefits of guided bone regeneration on bone levels in the short term. *J Am Dent Assoc.* 2018 Aug;149(8):e119. <http://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.02.009>. PMID:29653671.
5. Carbonell JM, Martín IS, Santos A, Pujol A, Sanz-Moliner JD, Nart J. High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014 Jan;43(1):75-84. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.05.017>. PMID:23810680.
6. Chang YY, Lee JS, Kim MS, Choi SH, Chai JK, Jung UW. Comparison of collagen membrane and bone substitute as a carrier for rhBMP-2 in lateral onlay graft. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(1):e13-9. <http://doi.org/10.1111/clr.12320>. PMID:24350566.
7. Nociti FH Jr, Caffesse RG, Sallum EA, Machado MA, Stefani CM, Sallum AW. Evaluation of guided bone regeneration and/or bone grafts in the treatment of ligature-induced peri-implantitis defects: a morphometric study in dogs. *J Oral Implantol.* 2000;26(4):244-9. [http://doi.org/10.1563/1548-1336\(2000\)026<0244:EOGBRA>2.3.CO;2](http://doi.org/10.1563/1548-1336(2000)026<0244:EOGBRA>2.3.CO;2). PMID:11831229.
8. Shim JH, Yoon MC, Jeong CM, Jang J, Jeong SI, Cho DW, et al. Efficacy of rhBMP-2 loaded PCL/PLGA/ β -TCP guided bone regeneration membrane fabricated by 3D printing technology for reconstruction of calvaria defects in rabbit. *Biomed Mater.* 2014 Nov;9(6):065006. <http://doi.org/10.1088/1748-6041/9/6/065006>. PMID:25384105.
9. Teng SH, Lee EJ, Wang P, Shin DS, Kim HE. Three-layered membranes of collagen/hydroxyapatite and chitosan for guided bone regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008 Oct;87B(1):132-8. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.31082>. PMID:18395825.
10. Ribeiro FV, Suaid FF, Ruiz KG, Rodrigues TL, Carvalho MD, Nociti FH Jr, et al. Effect of autologous bone marrow-derived cells associated with guided bone regeneration or not in the treatment of peri-implant defects. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012 Jan;41(1):121-7. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2011.06.025>. PMID:21924867.
11. Ji W, Yang F, Ma J, Bouma MJ, Boerman OC, Chen Z, et al. Incorporation of stromal cell-derived factor-1 α in PCL/gelatin electrospun membranes for guided bone regeneration. *Biomaterials.* 2013 Jan;34(3):735-45. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.10.016>. PMID:23117215.
12. Cirano FR, Pimentel SP, Casati MZ, Corrêa MG, Pino DS, Messoria MR, et al. Effect of curcumin on bone tissue in the diabetic rat: repair of peri-implant and critical-sized defects. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018 Nov;47(11):1495-503. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.04.018>. PMID:29857981.
13. Garagiola U, Grigolato R, Soldo R, Bacchini M, Bassi G, Roncucci R, et al. Computer-aided design/computer-aided manufacturing of hydroxyapatite scaffolds for bone reconstruction in jawbone atrophy: a systematic review and case report. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2016 Jan;38(1):2. <http://doi.org/10.1186/s40902-015-0048-7>. PMID:26767187.
14. Buser D, Urban I, Monje A, Kunrath MF, Dahlin C. Guided bone regeneration in implant dentistry: basic principle, progress over 35 years, and recent research activities. *Periodontol 2000.* 2023;93(1):9-25. <http://doi.org/10.1111/prd.12539>. PMID:38194351.
15. Khojasteh A, Kheiri L, Motamedian SR, Khoshkam V. Guided bone regeneration for the reconstruction of alveolar bone defects. *Ann Maxillofac Surg.* 2017 Jul-Dec;7(2):263-77. http://doi.org/10.4103/ams.ams_76_17. PMID:29264297.
16. Martinez EF, Rodrigues AEA, Teixeira LN, Esposito AR, Cabrera WIR, Demasi APD, et al. Histological evaluation of a new beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite/poly (L-lactide-Co-caprolactone) composite biomaterial in the inflammatory process and repair of critical bone defects. *Symmetry (Basel).* 2019 Nov;11(11):1356. <http://doi.org/10.3390/sym11111356>.
17. Garcia J, Dodge A, Luepke P, Wang HL, Kapila Y, Lin GH. Effect of membrane exposure on guided bone regeneration: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2018 Mar;29(3):328-38. <http://doi.org/10.1111/clr.13121>. PMID:29368353.

18. Hao J, Acharya A, Chen K, Chou J, Kasugai S, Lang NP. Novel bioresorbable strontium hydroxyapatite membrane for guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(1):1-7. <http://doi.org/10.1111/clr.12289>. PMID:24191781.
19. Horowitz R, Holtzclaw D, Rosen PS. A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *J Evid Based Dent Pract.* 2012 Sep;12(3 Suppl):149-60. [http://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70029-5](http://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70029-5). PMID:23040345.
20. Teotia AK, Raina DB, Singh C, Sinha N, Isaksson H, Tägil M, et al. Nano-hydroxyapatite bone substitute functionalized with bone active molecules for enhanced cranial bone regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017 Mar;9(8):6816-28. <http://doi.org/10.1021/acsami.6b14782>. PMID:28171719.
21. Jo JY, Jeong SI, Shin YM, Kang SS, Kim SE, Jeong CM, et al. Sequential delivery of BMP-2 and BMP-7 for bone regeneration using a heparinized collagen membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015 Jul;44(7):921-8. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.02.015>. PMID:25769221.
22. Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr, Caffesse RG, Sallum AW. Enamel matrix derivative and bone healing after guided bone regeneration in dehiscence-type defects around implants. A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol.* 2002 Jul;73(7):789-96. <http://doi.org/10.1902/jop.2002.73.7.789>. PMID:12146539.
23. Lee S-H, Lee K-G, Hwang J-H, Cho YS, Lee K-S, Jeong H-J, et al. Evaluation of mechanical strength and bone regeneration ability of 3D printed kagome-structure scaffold using rabbit calvarial defect model. *Mater Sci Eng C.* 2019 May;98:949-59. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.050>. PMID:30813102.
24. Messori MR, Nagata MJ, Mariano RC, Dornelles RC, Bomfim SR, Fucini SE, et al. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Periodontol Res.* 2008 Apr;43(2):217-23. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01017.x>. PMID:18302625.
25. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci.* 2017 Oct;125(5):315-37. <http://doi.org/10.1111/eos.12364>. PMID:28833567.
26. Pino DS, Casarin RC, Pimentel SP, Cirano FR, Corrêa MG, Ribeiro FV. Effect of resveratrol on critical-sized calvarial defects of diabetic rats: histometric and gene expression analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017 Dec;75(12):2561.e1-10. <http://doi.org/10.1016/j.joms.2017.07.167>. PMID:28859925.
27. Gentile P, Chiono V, Tonda-Turo C, Ferreira AM, Ciardelli G. Polymeric membranes for guided bone regeneration. *Biotechnol J.* 2011 Oct;6(10):1187-97. <http://doi.org/10.1002/biot.201100294>. PMID:21932249.
28. Proussaefs P, Lozada J. The use of resorbable collagen membrane in conjunction with autogenous bone graft and inorganic bovine mineral for buccal/labial alveolar ridge augmentation: a pilot study. *J Prosthet Dent.* 2003 Dec;90(6):530-8. [http://doi.org/10.1016/S0022-3913\(03\)00521-3](http://doi.org/10.1016/S0022-3913(03)00521-3). PMID:14668753.
29. Zitzmann NU, Naef R, Schärer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997 Nov-Dec;12(6):844-52. PMID:9425767.
30. Zablotzky M, Meffert R, Caudill R, Evans G. Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehisced hydroxylapatite-coated and titanium endosseous implant surfaces: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991;6(3):294-303. PMID:1667524.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

***AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA**

Mônica Grazieli Corrêa, UNIP – Universidade Paulista, Departamento de Odontologia, Av. Dr. Bacelar, 1212, 4º andar, Vila Clementino, 04026-002 São Paulo, SP - Brasil, e-mail: monica.giorgi@docente.unip.br

Recebido: Outubro 21, 2024

Aprovado: Outubro 30, 2024