

Avaliação da combinação de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®): estudo histológico em ratos

Evaluation of the combination of poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) and polyisoprene (Cellprene®) materials: histological study in rats

Isabella Fernanda dos SANTOS^a , Luis Alberto Loureiro dos SANTOS^b ,
Cassio Rocha SCARDUELI^a , Luis Carlos SPOLIDORIO^a , Elcio MARCANTONIO-JUNIOR^a ,
Camila Chiérici MARCANTONIO^a , Rosemary Adriana Chiérici MARCANTONIO^{a*}

^aUNESP – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Araraquara, SP, Brasil

^bUFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Materiais, Laboratório de Biomateriais, Porto Alegre, RS, Brasil

Como citar: Santos IF, Santos LAL, Scardueli CR, Spolidorio LC, Marcantonio-Junior E, Marcantonio CC, Marcantonio RAC. Avaliação da combinação de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®): estudo histológico em ratos. Rev Odontol UNESP. 2019;48:e20190108. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.10819>

Resumo

Introdução: A quantidade e qualidade óssea na implantodontia é um fator de alta relevância quando se tem por objetivo instalar implantes e reabilitar pacientes. No entanto, essa disponibilidade é comprometida na maioria dos casos, havendo a necessidade da busca de novos biomateriais, membranas e substâncias para uma regeneração mais favorável. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta da neoformação óssea em defeitos críticos em calvárias de ratos utilizando scaffolds de fibras de blenda polimérica a partir de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal. **Material e método:** Neste estudo, foram utilizados 36 ratos (*Rattus Norvegicus*), variação albinus, Holtzman, adultos. Os animais foram submetidos à tricotomia na região da calota craniana e à confecção de defeitos ósseos circulares bilaterais com 5 mm de diâmetro. Os animais foram divididos em três grupos: GC – defeito sem colocação de biomaterial; GCol – scaffolds de colágeno (Bio-Gide, da empresa Geistlich Pharma Ag – Biomaterials); GPoli – scaffolds de fibras de blenda polimérica a partir de poli (ácido láctico-co-glicólico - Cellprene®). Cada grupo foi avaliado em quatro períodos experimentais (7, 15, 30 e 60 dias). Após esses períodos, os animais foram sacrificados, e as peças passaram por tramitação laboratorial de rotina e inclusão em parafina. Foram obtidos cortes semisseriados e corados pela técnica de hematoxilina e eosina para análise histométrica e histológica. Foi executada análise histométrica para avaliar a composição do tecido ósseo reparado (% osso). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente com nível de significância de 95%. **Resultado:** Foi verificado que o GCol apresentou maior preenchimento do defeito nos períodos de 30 e 60 dias em comparação aos GC e GPoli. **Conclusão:** Os scaffolds de fibras de blenda polimérica a partir de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®) não apresentaram vantagens quando utilizados em defeitos críticos.

Descritores: Histometria; regeneração óssea; biomaterial.

Abstract

Introduction: The bone quantity and quality in implant dentistry is a highly relevant factor when it aims the use of implants and rehabilitation in patients. However, this availability is compromised in most cases, with the need to research new biomaterials, membranes and substances for more favorable regeneration. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the response of bone neoformation in critical defects in rat calvaries using polymeric blend fiber scaffolds from Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) and Polyisoprene (Cellprene®). The project was approved by the Animal Experimentation Ethics Committee. **Material and method:** In this study 36 rats (*Rattus Norvegicus*), variation albinus, Holtzman, adults were used.



The animals had trichotomy in the region of the skull and the confection of bilateral circular bone defects with a diameter of 5 mm. The animals were divided into 3 groups: Group GC - defect without biomaterial placement, Group GCol - collagen scaffolds (Bio-Gide, from Geistlich Pharma Ag - Biomaterials), Group GPoli - polymeric blend fiber scaffolds from Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid)-Polyisoprene. Each group was evaluated in 4 experimental periods (7, 15, 30 and 60 days). After these periods the animals were sacrificed and the pieces underwent routine laboratory procedures and paraffin embedding. Semi-serial sections were obtained and stained by hematoxylin and eosin technique for histometric and histological analysis. Histometric analysis was performed to evaluate the composition of repaired bone tissue (% Bone). The data obtained were statistically analyzed with a significance level of 95%. **Result:** It was found that the GCol group presented greater defect filling in the 30 and 60 days periods compared to the GC and GPoli groups. **Conclusion:** Polymer blend fiber scaffolds from Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) and Polyisoprene (Cellprene®) did not have advantages when used in critical defects.

Descriptors: Histometry; bone regeneration; biomaterial.

INTRODUÇÃO

A regeneração óssea de defeitos, tanto na periodontia quanto na implantodontia, mantém-se um desafio a ser desvendado. No entanto, mesmo diante das dificuldades, é de grande importância conhecer as características do defeito e as propriedades dos biomateriais, bem como, conseqüentemente, ter maiores previsibilidades para reconstruções ósseas¹. Os defeitos, de forma geral, podem ser divididos em críticos, que representam uma maior dificuldade de reparo por causa da ausência de paredes ou por sua grande extensão, ou não críticos, que são considerados defeitos de maior facilidade de reparo por apresentarem tamanho reduzido ou até somente uma parede ausente^{2,3}.

Independentemente das características dos defeitos, muitas vezes é preciso lançar mão da associação de biomateriais como substitutos ósseos, que irão auxiliar no processo de reparo ósseo. Esses biomateriais, de diferentes origens e características, são classificados como autógenos, heterógenos, homogêneos e sintéticos e podem ser incorporados em defeitos. No entanto, não importa qual seja o tipo de biomaterial, é imprescindível utilizar barreiras teciduais para proteger o leito receptor e evitar que tecidos de maior rapidez cicatricial (células não osteogênicas) invadam a região e não permitam a formação óssea. Para isso, membranas são utilizadas com esse propósito⁴.

Atualmente, existem diversos tipos de membrana para barreira tecidual: feitas de polímeros sintéticos, polímeros naturais, metais e compostos inorgânicos⁵. As características desejáveis para uma membrana incluem: biocompatibilidade⁵ e manutenção da estabilidade mecânica e do volume durante o período inicial de cicatrização, havendo totalmente reabsorção⁶. Esses materiais podem ser absorvíveis ou não reabsorvíveis e implicam uma segunda fase cirúrgica para sua remoção, acarretando maior desconforto e comorbidade.

A membrana de colágeno, muito estudada, apresenta bom vedamento tecidual, porém a manutenção do arcabouço é muito prejudicada pela sua alta maleabilidade^{7,8}. Em virtude dessa desvantagem, novos polímeros vêm ganhando atenção.

Os polímeros sintéticos são obtidos industrialmente a partir de moléculas de baixo peso molecular, como o poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), um dos polímeros biorreabsorvíveis mais comuns, e o poli-isopreno (PI). O PLGA de forma isolada tem característica de fragilidade, porém, quando misturado ao PI, formando uma blenda, tem uma melhora nas suas propriedades mecânicas⁹. Esses materiais, ao serem degradados, podem liberar compostos de baixo peso molecular, entrando e atuando no sistema metabólico, e depois sendo excretados ou reabsorvidos⁹. Além dessa importante característica, a blenda possui um grande potencial de revascularização e integração com o tecido ósseo adjacente⁹.

Com base nas propriedades da associação de PLGA/PI e na busca por um biomaterial com características ideais, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta da neoformação óssea em defeitos críticos de calvárias de ratos utilizando scaffolds de fibras poliméricas.

MATERIAL E MÉTODO

Amostra

Neste estudo, foram utilizados 36 ratos (*Rattus Norvegicus*, variação albinus, Holtzman), adultos, com peso variando entre 300 e 330 g (Proc. CEUA nº 06/2017). Os animais foram mantidos em caixas (três animais por caixa) e tratados com água e ração ad libitum antes e durante todo o período experimental, acondicionados em ambiente com luz e temperatura controladas.

Grupos Experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos:

Grupo controle (GC) – defeito sem colocação de biomaterial.

Grupo colágeno (GCol) – scaffolds de colágeno (Bio-Gide, da empresa Geistlich Pharma Ag – Biomaterials).

Grupo Poli (GPoli) – scaffolds de fibras de blenda polimérica a partir de poli (ácido láctico-co-glicólico - Cellprene®).

Confecção dos Defeitos Ósseos

Os animais foram anestesiados por associação de quetamina com xilazina, na proporção de 8 mg/kg de massa corporal (cloridrato de quetamina – Francotar, Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda) e 4 mg/kg de massa corporal (cloridrato de xilazina - Virbaxyl 2% – Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda), respectivamente. Foram submetidos à tricotomia na região da calota craniana com o animal posicionado em decúbito ventral sobre a mesa cirúrgica. O acesso cirúrgico à calota craniana foi obtido por meio de uma incisão anteroposterior cutânea e muscular, com aproximadamente 5 mm de extensão, permitindo a exposição do periósteo, o qual foi incisado e removido até a exposição do tecido ósseo.

Foram confeccionados defeitos ósseos circulares bilaterais na região da calvária com 5 mm de diâmetro e aproximadamente 1,5 mm de espessura, dada pela remoção total do tecido ósseo, utilizando uma fresa trefina (Dentoflex, São Paulo, Brasil) de 5 mm de diâmetro externo, montada em contra-ângulo (Anthogyr, Injecta, Diadema, Brasil) com redução de 16:1, acoplada em motor para implante (BML 600 Plus Driller, CK Driller, Brasil) de 1.500 rpm, sob irrigação constante com solução salina. Os scaffolds foram colocados sobre o defeito ósseo de tal maneira a ultrapassar 1 mm a borda do defeito.

Os animais foram randomicamente distribuídos entre os grupos, e cada um deles recebeu dois scaffolds (um de cada lado). Cada grupo foi avaliado em quatro períodos experimentais (7, 15, 30 e 60 dias), com seis membranas em cada grupo/período.

Após os procedimentos cirúrgicos, os animais receberam, em dose única, pentabiótico® (Wyeth-Whitehall Ltda., São Paulo, Brasil), na dose de 0,1 mg/Kg, intramuscular, e paracetamol (Medley, Campinas, Brasil), na dose de 50 mg/100 g de peso, via oral.

Obtenção das Peças Cirúrgicas

Após os períodos correspondentes de 7, 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, os animais foram sacrificados com sobredose dos anestésicos utilizados (quetamina e xilazina). Foi então realizada uma incisão circular na calota do animal, removendo tecidos moles e duros, utilizando tesouras e alicate de corte. Esses blocos foram fixados em formol tamponado a 10% por aproximadamente 48 horas.

Processamento Histológico

As peças foram processadas para realização de cortes histológicos. Foram obtidos cortes de 6 micrometros corados com hematoxilina e eosina (HE). Na sequência, foram realizadas avaliações histométricas e obtenção de imagens utilizando microscópio ótico DIASTAR (Leica Reichert & Jung products, Alemanha), com objetiva para aumento de 4.0/10 vezes, por meio do qual as imagens foram selecionadas e enviadas para um microcomputador via câmera de vídeo DXC-107A/107AP (Sony Eletronics Inc., Japão), acoplada ao microscópio.

Avaliação Histológica Descritiva e Histométrica

Para avaliação dos cortes histológicos por meio de microscopia ótica, foram analisadas as seguintes características: contorno geral do defeito criado, assim como suas bordas e delimitações, alterações na matriz orgânica do tecido ósseo, regiões de necrose, mudanças na morfologia de células dos espaços medulares subjacentes ao sítio de tratamento e presença ou ausência de resposta tecidual, observando possível regeneração óssea, presença de células gigantes, osteoclastos, osteoblastos e células características de processo inflamatório.

A análise histométrica foi realizada utilizando as mesmas lâminas histológicas que representavam o centro do defeito crítico. Por meio do programa de análise de imagens Image J (Image J Launcher, 1.37b), foram realizadas medidas do comprimento do defeito a partir da distância linear entre as bordas dele. Essas medidas foram realizadas três vezes com um intervalo de uma semana entre cada uma delas por um examinador cego para os grupos e treinado. Os valores para a área do defeito ocupada por tecido ósseo foram obtidos em pixels e pixels ao quadrado, respectivamente, convertendo-se, depois, para mm e mm².

Análise dos Resultados

Os dados gerados pelas análises histométricas foram numéricos. Dessa forma, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para avaliar se os dados respeitaram a distribuição de acordo com o teorema da distribuição central. Como os dados se apresentaram não normais, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, complementado pelo teste de Dunn, foi utilizado para a análise dos dados. Todos os testes deste estudo foram aplicados com nível de significância de 95%.

RESULTADO

Análise Histológica Descritiva

Após 7 dias, o defeito ósseo do grupo controle estava preenchido por um clássico tecido de granulação, que era basicamente formado por novos e pequenos vasos sanguíneos, células fusiformes em proliferação e variável infiltrado de leucócitos polimorfonucleares e

mononucleares, que estavam envoltos por delgados feixes de fibras de colágeno (Figura 1). Nos períodos posteriores, observou-se maturação do tecido de granulação, e, nas bordas laterais do defeito, havia crescente presença de matriz óssea e osso neoformado envoltos perifericamente por variável quantidade de osteoblastos globosos e, no seu interior, globosos osteócitos.

Nos períodos experimentais iniciais do grupo preenchido por colágeno, notou-se abreviação da fase proliferativa do tecido de granulação, o que se confirmou nos períodos posteriores, quando o tecido se apresentou em fase de maturação com clara deposição de grossos feixes de fibras de colágeno, entremeando-se e acompanhando os fibroblastos fusiformes, e acentuada queda do infiltrado de células inflamatórias. Com a evolução dos períodos experimentais, percebeu-se que, em contato com as laterais do defeito ósseo, havia áreas de neoformação óssea, osteoblastos ativos alinhados à superfície e, no seu interior, osteócitos globosos, com clara permissão de migração das células responsáveis pela produção ou reparação do tecido ósseo. Em alguns cortes, foi possível observar que o material implantado permitia que a neoformação óssea se dirigisse ao centro do defeito. Constatou-se reabsorção parcial do tecido colagenoso implantado.

Por outro lado, o material utilizado no grupo poli não foi reabsorvido em qualquer um dos períodos experimentais. Notou-se que a reação ao implante foi maior, e, nesse caso ilustrado, pelo aumento do período da fase proliferativa do tecido de granulação. No transcorrer dos períodos experimentais, verificou-se que o material foi encapsulado por densos feixes de fibras de colágeno. Foi possível observar a persistência de infiltração leucocitária ao redor da cápsula.

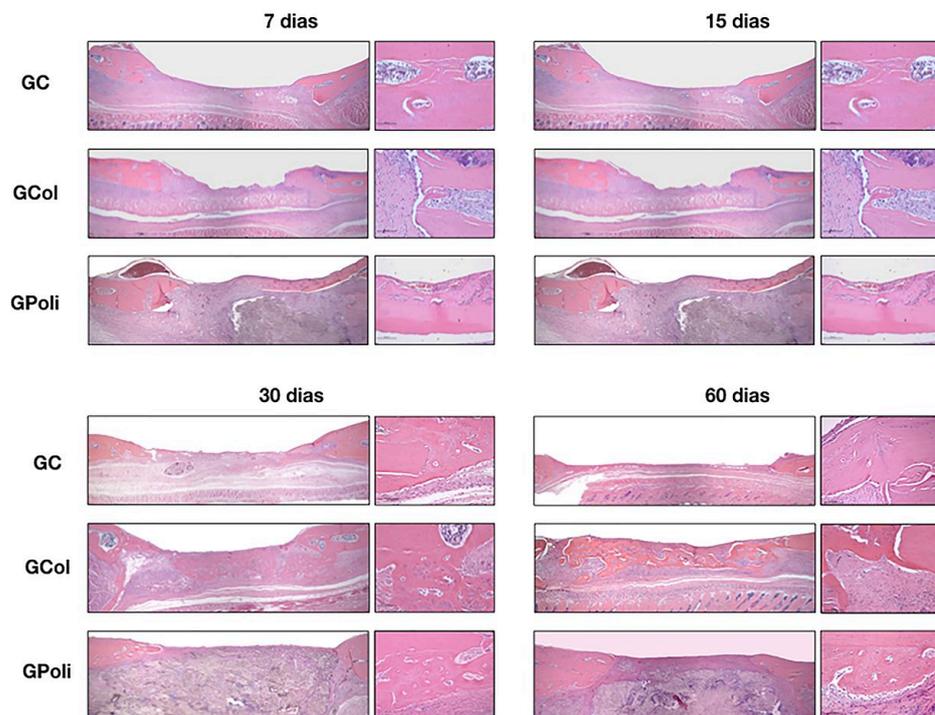


Figura 1. Prancheta com imagens histológicas representativas dos grupos experimentais nos diferentes períodos. A coluna à esquerda mostra o defeito completo (25x), e à direita, uma maior magnificação (200x). Foi observada maior formação óssea nos limites dos defeitos, dirigindo-se ao centro com maior tendência no GCol, principalmente a partir do período de 30 dias. Inflamação é notada no GPoli, com maior infiltrado inflamatório.

Análise Histométrica

Na análise intragrupos, foi verificado que, no GC, houve diferenças estatísticas entre o período de 7 dias e os demais, enquanto, no GPoli, o período de 7 dias apresentou diferenças estatísticas apenas com os de 15 e 60 dias. O GCol teve diferenças estatísticas entre os períodos de 7 e 15 dias com os demais, ao passo que 30 e 60 dias não tiveram diferença entre si, mas sim com os períodos de 7 e 15 dias, sendo que, quanto maior o período, maior quantidade de tecido ósseo foi observada ($p < 0,05$)(Figura 2).

Na análise entre os grupos por período, observou-se que, aos 15 dias, o GCol apresentou menor quantidade de tecido ósseo que todos os outros. Adicionalmente a isso, foi verificado que, nos períodos de 30 e 60 dias, o GCol apresentou significativamente maior quantidade de tecido ósseo que os demais grupos (Figura 3).

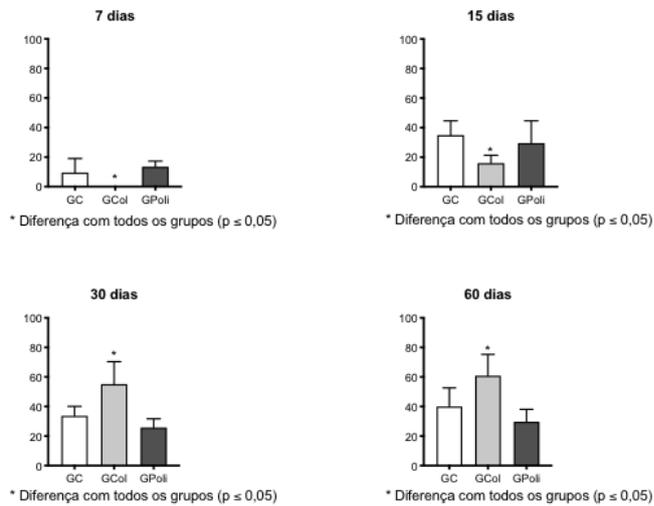


Figura 2. Gráfico mostrando a porcentagem de preenchimento ósseo nos diferentes grupos experimentais por período. Maior diferença de formação óssea foi obtida no GCol a partir do período de 30 dias ($p \leq 0,05$).

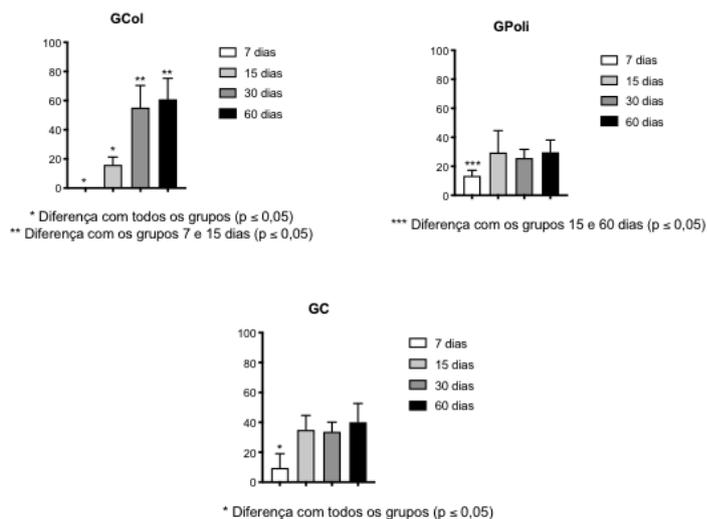


Figura 3. Gráfico mostrando a evolução nos períodos experimentais do preenchimento do defeito por grupo. Há uma progressão da neoformação óssea de forma mais uniforme no grupo GCol e mais variação nos outros grupos ($p \leq 0,05$).

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a formação óssea em defeitos críticos em calvárias de ratos usando scaffolds feitos de blenda polimérica a partir de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®). Os resultados mostraram que a membrana não apresentou vantagens, porém também não prejudicou a neoformação óssea.

No período de 15 dias, o GCol teve o pior resultado em relação aos outros grupos, com menor formação óssea. Nesse período, constatou-se vascularização ao redor da membrana, com trabéculas ósseas recém-formadas no entorno dos vasos. Em 1991, estudo atestou que o uso de membrana atrasava o reparo, principalmente os estágios iniciais da regeneração óssea¹⁰. A degradação da membrana pode causar atraso da reparação, que envolve (1) hidratação, (2) perda de força, (3) perda de massa e (4) solubilização em razão de fagocitose¹¹. A neoformação óssea apresentou aumento gradativo com o tempo, tendo sua menor atividade no período de 15 dias; nessa fase, também há uma maior taxa de absorção da Bio-Gide¹². Ao analisar os GC e GPoli, obteve-se um resultado semelhante em relação à neoformação óssea e também à análise histológica, uma vez que G3 não apresentou processo inflamatório assim como G1.

Ao analisar o período de 30 dias, observou-se uma mudança acentuada dos resultados: o GCol teve maior formação óssea quando comparado com GC e GPoli. Isso se deve ao fato de a neoformação óssea com o uso da membrana Bio-Gide ser diretamente proporcional ao tempo¹². Nesse período, houve grandes sinais de degradação, altos níveis de remodelação e diminuição considerável da espessura da membrana¹³, o que é confirmado por outro trabalho, o qual mostrou significativa redução na espessura da membrana de 14 para 30 dias¹⁴. Com a absorção maior da membrana comparada com o período de 15 dias, foi possível que uma maior quantidade de osso se formasse em direção ao centro do defeito, resultando no melhor resultado histométrico.

Com 60 dias, o GCol se destacou apresentando melhor resultado em relação aos GC e GPoli, tendo diferença estatística. A membrana de colágeno, na análise histológica, permitiu que a neoformação óssea se dirigisse ao centro do defeito nesse período mais longo, o que explica seu melhor resultado. O GPoli teve uma queda do seu resultado, e uma razão para o menor preenchimento ósseo no grupo é a formação de ácido poliláctico, que é um produto da reabsorção que pode afetar negativamente a formação óssea por causa de seus efeitos citotóxicos^{11,15}. Já o maior preenchimento ósseo no GCol pode estar relacionado com o processo de reabsorção da membrana, a qual se apresenta mais reabsorvida, o que dá espaço para mais formação óssea, em comparação com os demais períodos.

Embora os resultados histométricos tenham apresentado semelhança na utilização da membrana de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli-isopreno (Cellprene®) em relação ao GC, houve uma reação inflamatória persistente nesse grupo. Polímeros de PLGA têm sido associados a problemas de hidrofobia, o que acaba comprometendo a resistência do material e facilitando a liberação de resíduos ácidos na degradação, provocando diminuição do pH e favorecendo proliferação bacteriana e reações inflamatórias¹⁶.

Em 2015, estudo demonstrou a presença de células inflamatórias como linfócitos e células gigantes multinucleadas nos tecidos subcondrais reparadores com 6 semanas, porém suas quantidades passaram a diminuir com 12 semanas. No presente trabalho, a reparação foi avaliada apenas até 8ª semana, quando ainda apresentava inflamação¹⁷.

Diante deste estudo, outros trabalhos deverão ser realizados com o intuito de verificar novas metodologias que avaliem a formação óssea e a aplicação em diferentes tipos de defeito ósseo comprovando sua atividade.

Os resultados mostraram que o grupo que utilizou a membrana de colágeno (GCol) obteve maior neoformação óssea em relação aos outros dois grupos. A blenda polimérica (GPoli) se mostrou equivalente ao GC em preenchimento do defeito ósseo, mas apresentou reação inflamatória que não cessou.

CONCLUSÃO

A utilização dos scaffolds de fibras de blenda não apresentou superioridade no preenchimento do defeito ósseo em relação à utilização ou não de biomaterial e teve menor neoformação óssea comparada ao uso de Bio-Gide. Novos estudos devem ser realizados com a incorporação de materiais para indução de tecido ósseo nos scaffolds testados.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento da pesquisa (2017/16699-4), e à Ana Claudia Gregolin Costa Miranda, pelo auxílio no processamento histopatológico.

REFERÊNCIAS

1. Gosain AK, Song L, Yu P, Mehrara BJ, Maeda CY, Gold LI, et al. Osteogenesis in cranial defects: Reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF- β isoforms. *Plast Reconstr Surg*. 2000 Aug;106(2):360-71. <http://dx.doi.org/10.1097/00006534-200008000-00018>. PMID:10946935.
2. Needleman I, Worthington HV, Giedrys-Leeper E, Tucker RJ. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Apr;(2):CD001724. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD001724.pub2>. PMID:16625546.
3. Murphy KG, Gunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):266-302. <http://dx.doi.org/10.1902/annals.2003.8.1.266>. PMID:14971257.
4. Laney WR. Glossary of oral and maxillofacial implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2017 Jul/Aug;32(4):Gi-G200. <http://dx.doi.org/10.11607/jomi.2017.4.gomi>. PMID: 28708903.
5. 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://dx.doi.org/10.1111/eos.12364>. PMID:28833567.
6. Isaksson S. Aspects of bone healing and bone substitute incorporation. An experimental study in rabbit skull bone defects. *Swed Dent J Suppl*. 1992;84:1-46. PMID:1334579.
7. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J*. 2014 May 29;8(1):56-65. <http://dx.doi.org/10.2174/1874210601408010056>. PMID: 24894890.
8. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Calori GM, Giannoudis PV. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: Current experimental and clinical evidence. *BMC Med*. 2012 Jul;10(1):81. <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-10-81>. PMID:22834465.
9. Kim JH, Marques DR, Faller GJ, Collares MV, Rodriguez R, Santos LA, et al. Experimental comparative study of the histotoxicity of poly(lactic-co-glycolic acid) copolymer and poly(lactic-co-glycolic acid)-poly(isoprene) blend. *Polímeros*. 2014 Sep;24(5):529-35. <http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.1490>.
10. Gotfredsen K, Warrer K, Hjorting-Hansen E, Karring T. Effect of membranes and porous hydroxyapatite on healing in bone defects around titanium dental implants. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res*. 1991 Oct-Dec;2(4):172-8. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0501.1991.020403.x>. PMID:8597619.
11. Hämmerle CHF, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol* 2000. 2003;33(1):36-53. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0906-6713.2003.03304.x>. PMID:12950840.
12. Schwarz F, Rothamel D, Hertzen M, Wüstefeld M, Sager M, Ferrari D, et al. Immunohistochemical characterization of guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using different barrier

membranes: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Apr;19(4):402-15. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01486.x>. PMID:18324961.

13. Calciolari E, Ravanetti F, Strange A, Mardas N, Bozec L, Cacchioli A, et al. Degradation pattern of a porcine collagen membrane in an in vivo model of guided bone regeneration. *J Periodontol Res.* 2018 Jun;53(3):430-9. <http://dx.doi.org/10.1111/jre.12530>. PMID:29446096.
14. Moses O, Vitrial D, Aboodi G, Sculean A, Tal H, Kozlovsky A, et al. Biodegradation of three different collagen membranes in the rat calvarium: a comparative study. *J Periodontol.* 2008 May;79(5):905-11. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2008.070361>. PMID:18454670.
15. Alpar B, Leyhausen G, Günay H, Geurtsen W. Compatibility of resorbable and nonresorbable guided tissue regeneration membranes in cultures of primary human periodontal ligament fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin Oral Investig.* 2000 Dec;4(4):219-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s007840000079>. PMID:11218492.
16. Khang G, Jeon JH, Lee JW, Cho SC, Lee HB. Cell and platelet adhesions on plasma glow discharge-treated poly(lactide-co-glycolide). *Biomed Mater Eng.* 1997;7(6):357-68. PMID:9622103.
17. Chang NJ, Lin CC, Shie MY, Yeh ML, Li CF, Liang PI, et al. Positive effects of cell-free porous PLGA implants and early loading exercise on hyaline cartilage regeneration in rabbits. *Acta Biomater.* 2015 Dec;28:128-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2015.09.026>. PMID:26407650.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Rosemary Adriana Chiérics Marcantonio, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Rua Humaitá, 1680, Centro, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil, e-mail: adriana.marcantonio@unesp.br

Recebido: Dezembro 5, 2019

Aprovado: Dezembro 27, 2019