

**AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DE MEMBRANAS
ABSORVÍVEIS DE COLÁGENO ASSOCIADO À HIDROXIAPATITA
PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA**

Ana Maira Pereira Baggio¹, Stéfani Caroline Ferriolli², Edith Umasi Ramos³, Izabela Fornazari Delamura⁴, Vinícius Ferreira Bizelli⁵, Ana Paula Farnezi Bassi⁶

¹ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(anamairabaggio@gmail.com)

² Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(stefani.ferriolli@outlook.com)

³ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(edith.umasi@unesp.br)

⁴ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(izabela.delamura@unesp.br)

⁵ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(vinciusbizelli@unesp.br)

⁶ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FOA UNESP,
(ana.bassi@unesp.br)

Resumo

O uso de membranas que auxiliam no processo de regeneração óssea guiada (ROG) é também uma vertente dos estudos de biomateriais compatíveis que auxiliam nesse processo de reparo. O objetivo desse trabalho foi avaliar uma membrana de colágeno bovino associado a hidroxiapatita sintética (Col.HAP-91®) e comparar por meio de estudo microscópico e histomorfométrico a regeneração óssea guiada utilizando membranas de origens diferentes em defeitos críticos (8mm) criados em calvária de ratos. Foram utilizados 72 ratos Albinus Wistar divididos em 3 grupos sendo 24 para cada grupo: grupo controle somente com coágulo; grupo que recebeu a membrana de colágeno porcina e grupo de membrana de colágeno bovino associado a hidroxiapatita sintética (Col.HAP-91®). Os animais foram eutanasiados aos 7, 15, 30 e 60 dias pós-operatórios. Decorrido os tempos experimentais, foram realizados os processos laboratoriais e as amostras submetidas à análise histomorfométrica. Os resultados obtidos mostraram que a membrana de colágeno bovino associado a hidroxiapatita sintética possui capacidade para realizar osteocondução e osteopromoção no processo de neoformação óssea, resultando em defeitos ósseos praticamente fechados em vários espécimes ao final do período de 60 dias.

Palavras-chave: Biomaterial; Regeneração; Membrana; Tecido ósseo.

Área Temática: Inovações e Tecnologias na Área Clínica e Cirúrgica;

Modalidade: Trabalho completo

1. INTRODUÇÃO

Com a finalidade de superar algumas deficiências associadas ao uso de enxertos autógenos, as atividades de pesquisa têm se voltado ao desenvolvimento de técnicas e biomateriais alternativos. Estudos documentam que por meio de membranas é possível selecionar o tipo celular do tecido mais indicado para repopular determinada ferida cirúrgica (ACEVEDO-ANDRADE *et al.*, 2004; CAFESSE *et al.*, 1988; IMBROMITO; CHAVEZ; TODESCAN, 2001).

A técnica de Regeneração Óssea Guiada (ROG), se baseia no conceito de osteopromoção e é caracterizada pelo uso de meios físicos para promover um selamento de um local anatômico. Esse selamento serve para prevenir que outros tecidos, principalmente o tecido conjuntivo, invadam a região uma vez que sua formação é mais rápida que a do tecido ósseo, interferindo na osteogênese. Portanto, a ROG também auxilia no direcionamento da formação óssea (ANDRADE-ACEVEDO *et al.*, 2004). A literatura mostra que certos tecidos no interior do organismo possuem potencial biológico para regeneração, sempre que exista um ambiente adequado durante a cicatrização (SCHENK *et al.*, 1994). As principais indicações do uso das membranas biológicas em processos de ROG são: correção de rebordos edêntulos ou defeitos residuais (CORTELLINI; PINI PRATO; TONETTI, 1993); alvéolos após exodontias (WILSON; WEBER, 1993); deiscências e fenestrações após colocação de implantes mediatos e imediatos (BECKER *et al.*, 1994).

Uma das mais utilizadas e documentadas membranas de colágeno, é derivada de suínos e não reticulada (Bio-Gide[®], Geistlich, Wohlhusen, Suíça). As características de hidrofília e maleabilidade desta membrana a tornam fácil de ser adaptada sobre o enxerto e, quando colocada em dupla camada, ocorre uma melhor estabilização dispensando assim a utilização de tachinhas ou parafusos para fixação, além disso quando expostas não causam infecção local porque os tecidos moles geralmente cicatrizam por segunda intenção (BUSER, 2010; CAFESSE *et al.*, 1988).

A associação de membranas com materiais osteocondutores também é uma vertente de inúmeras pesquisas, em especial com a hidroxiapatita (ARMENTANO *et al.*, 2010; CUI *et al.*, 2010; NIRMALA *et al.*, 2010; WUTTICHAROENMONGKOL; PAVASANT; SUPAPHOL, 2007). Esta cerâmica possui propriedades semelhantes ao tecido mineral do osso e dentes humanos incrementado a composição das membranas (FOOK *et al.*, 2010). A Col.Hap-91[®] (JHS, Biomateriais Sabará, Minas Gerais, Brasil), é uma membrana xenógena bovina composta

por 25% de colágeno e 75% de hidroxiapatita, sendo a princípio biocompatível e absorvível (ONO et al., 2000). Os poros de sua estrutura auxiliam na formação óssea de modo que atua como uma barreira impedindo o crescimento do tecido fibroso indesejado e auxiliando na estabilidade do material enxertado.

2. OBJETIVOS

Avaliar o potencial de osteopromoção de uma membrana de colágeno bovino associado à hidroxiapatita sintética (Col-Hap91®) durante o processo de reparo de defeitos ósseos críticos em calvárias de ratos por meio de análise histomorfométrica.

3. MÉTODO

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética Animal, protocolo: FOA n: 01062-2017.

Delineamento do Estudo: Para o desenvolvimento deste trabalho, foi utilizado um total de 72 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), machos, adultos (3 a 4 meses), com aproximadamente 200g a 300g, os quais foram divididos em 3 grupos (n= 6 por grupo), submetidos à eutanásia em quatro momentos do experimento, aos 7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia. Estes animais foram mantidos em gaiolas, e alimentados com ração balanceada contendo 1.4%Ca e 0.8%P e água ad libitum no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Sendo assim, em cada animal foi realizado um defeito ósseo crítico na calvária (8mm), como discriminado a seguir:

Grupo Experimental (Col.Hap-91® JHS, Biomateriais Sabará, Minas Gerais, Brasil -COP - n=24: O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de hidroxiapatita sintética associada ao colágeno.

Grupo controle positivo (Bio-Gide® Geistlich Wolhusen, Switzerland - BG) – n= 24: O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de colágeno porcino.

Grupo controle negativo (Coágulo - GC) – n= 24: O defeito ósseo crítico foi preenchido com coágulo sanguíneo sem o recobrimento do defeito. Em cada um dos 3 grupos, 6 ratos foram submetidos à eutanásia em cada período para a análise (7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia).

Cirurgia Experimental: Os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de doze horas e submetidos à sedação por meio da administração via intramuscular, com Cloridrato de Ketamina associado à Xilazina, na dosagem de 70 mg/Kg e 30 mg/Kg, respectivamente. Foi adotado um rigoroso protocolo asséptico, incluindo a esterilização do instrumental utilizado, delimitação da área a ser operada com campos estéreis, uso de aventais e luvas cirúrgicas

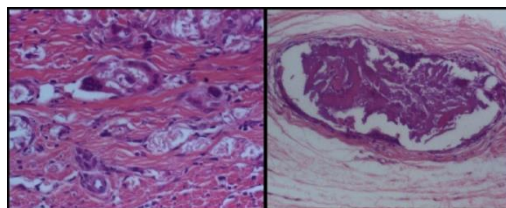
estéreis. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados na sala cirúrgica do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Em seguida foi realizada a tricotomia na região da calvária, antissepsia com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante associado ao PVPI tópico e aposição de campos estéreis. Foi realizada incisão em “V” no sentido occipito-frontal de aproximadamente 2 cm, com lâmina nº15 montada em cabo de bisturi nº 3 e o descolamento total do retalho com descolador tipo Molt. Com auxílio de broca trefina de 7 mm de diâmetro interno acoplada em baixa-rotação sob irrigação abundante com solução de cloreto de sódio 0,9%, foi confeccionado um defeito cirúrgico crítico de 8mm de diâmetro na porção central da calvária envolvendo a sutura sagital, mantendo-se a integridade da dura-máter. De acordo com os tratamentos propostos os defeitos foram preenchidos somente com coágulo sanguíneo (Grupo Controle Negativo - n = 24) e os demais grupos preenchidos com coágulo sanguíneo e sobre o defeito colocado uma membrana de colágeno associada com hidroxiapatita (Grupo Experimental 1 Col.Hap-91[®] - n=24) e o Grupo Controle Positivo foi recoberto por uma membrana de colágeno porcino (Grupo Bio-Gide[®] - n=24). Finalizando o procedimento, os tecidos moles foram cuidadosamente reposicionados e suturados em planos empregando-se fio reabsorvível no plano profundo e fio monofilamentar (Nylon 5.0), com pontos interrompidos no plano mais externo. No pós-operatório imediato cada animal recebeu dose única intramuscular de 0,2 ml de Penicilina G-benzatina (Pentabiótico). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante todo o experimento com ração e água *ad libitum*.

Os animais foram submetidos à eutanásia nos períodos de 7, 15, 30 e 60 dias pós-operatórios por meio de dose excessiva de anestésico e foram realizados os trâmites laboratoriais. Previamente a realização da análise histométrica as amostras foram codificadas de maneira que somente o orientador conhecia quais grupos pertenciam.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Grupo Experimental (Col-Hap91[®]) – 7 dias: Observou-se a presença de alguns grânulos de hidroxiapatita por vezes no meio da membrana e outras vezes no meio do tecido de granulação. Um tecido infiltrado inflamatório mais intenso em algumas lâminas e um tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado com muitas células gigantes. Notou-se discreta orientação das fibras colágenas numa possível tentativa de organização destas. Também foi possível notar a presença de partículas de hidroxiapatita (Figura 1).

Figura 1- A. células gigantes no centro do defeito. B. grânulo de hidroxiapatita no centro do defeito.



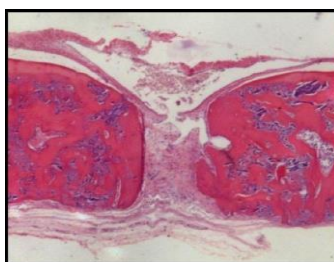
Fonte: Autores, 2021.

15 dias: Presença de um tecido conjuntivo denso organizado evidenciando um maior direcionamento das fibras colágenas. Há uma diminuição da reação inflamatória com presença de células gigantes, fagocitando os grânulos de HA e a presença de ilhas de neoformação óssea na região central e também a partir dos cotos do defeito. Ainda é possível observar a integridade da membrana e em algumas lâminas a presença de grânulos de hidroxiapatita que compõem o biomaterial no interior do conjuntivo, com infiltração dos grânulos demonstrando sua porosidade.

30 dias: É possível constatar o processo de degradação da membrana em alguns espécimes, em outros, porém, nota-se a presença da membrana quase íntegra. Há presença de tecido conjuntivo fibroso organizado, intercalado com maior neoformação óssea e pequenas partículas de grânulos de hidroxiapatita envolvidos por neoformação óssea. O centro do defeito ainda não foi fechado.

60 dias: Alguns espécimes tiveram o defeito preenchido por neoformação óssea, outros quase fechados, notando-se a presença de periósteo. É possível observar fragmentos da membrana e dos grânulos de hidroxiapatita.

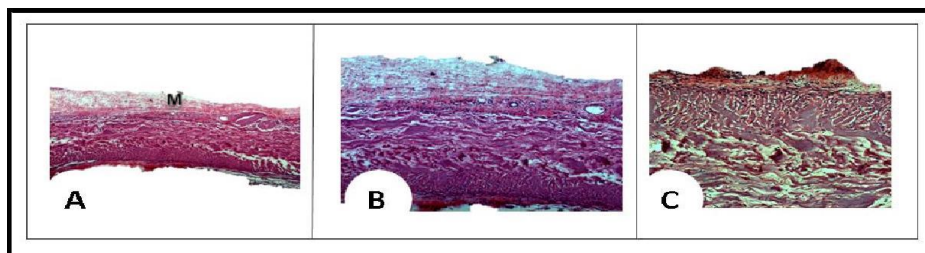
Figura 2- presença de tecido conjuntivo.



Fonte: Autores, 2021.

Grupo Controle Positivo (Bio-Gide®) - 7 dias: No aumento de 6.3x (Figura 3) nota-se a presença de tecido de granulação bem organizado e nos aumentos de 12,5 e 25x (Figura 3, B e C) verifica-se que esse tecido de granulação é altamente vascularizado, sem infiltrado inflamatório, e é possível observar início de neoformação óssea próximo aos cotos. Também é possível observar células gigantes indicando fagocitose da membrana, com início de neoformação óssea no centro do defeito.

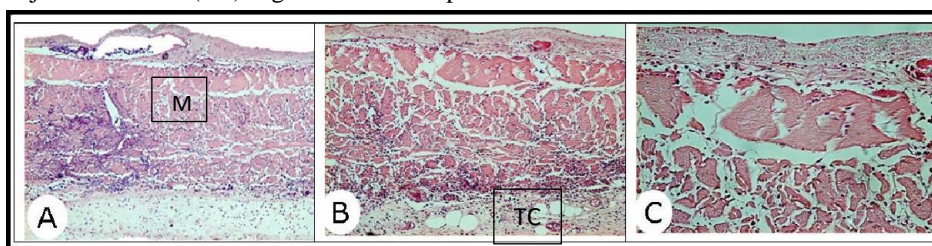
Figura 3- A. presença da membrana no centro do defeito – aumento de 6.3x. B. aumento de 12,5x. C. aumento de 25x.



Fonte: Autores, 2021.

15 dias: Presença de tecido conjuntivo frouxo recobre toda área do defeito ósseo. Nas análises com maior magnitude (6.3,12.5 e 25x), pode-se observar um tecido conjuntivo frouxo sem infiltrado inflamatório significativo, ainda bem vascularizado e áreas de tecido ósseo neoformado a partir do coto, com presença de tecido osteóide no centro do defeito (Figura 4A, B e C).

Figura 4- A. aumento de 6.3x. B. aumento de 12.5x. C. aumento de 25x. Presença de membrana (M) sob um tecido conjuntivo frouxo (TC) organizado sem aspecto de infiltrado inflamatório.



Fonte: Autores, 2021.

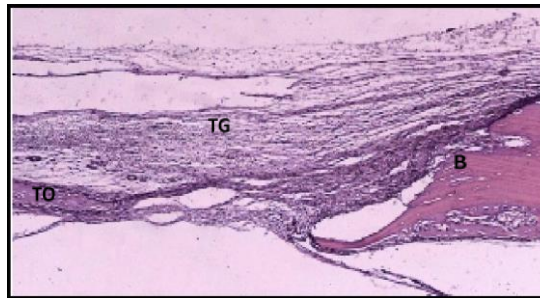
30 dias: Verifica-se uma grande quantidade de tecido ósseo neoformado entremeadado por fragmentos da membrana de colágeno porcino. Nota-se a presença de neoformação óssea a partir dos cotos ósseos e no centro do defeito, com a presença de remanescente da membrana entre a área de tecido ósseo neoformado e o tecido conjuntivo organizado sobre a membrana remanescente. Em alguns espécimes verificou-se o fechamento do defeito.

60 dias: Há imagens da neoformação óssea tanto no coto esquerdo quanto no coto direito como no centro do defeito. Eram as mesmas dos animais sacrificados com 30 dias, mas com imagem mais nítida de tecido ósseo neoformado preenchendo praticamente toda a cavidade. Verificou-se também a presença de membrana remanescente, tecido conjuntivo fibroso bem organizado.

Grupo Controle Negativo (Coágulo) – 7 dias: Presença de hipervascularização no tecido ósseo neoformado (TON) e presença de atividade fibroblástica. Verificou-se na borda do defeito ósseo, indo em direção ao centro da ferida, neoformação óssea, com tecido ósseo primário e aleatoriamente distribuído, ricamente celularizado por osteócitos e recoberto em suas

superfícies por osteoblastos. O início da neoformação óssea somente foi notada nos cotos da ferida cirúrgica, sendo ausente na região central, com abundância de tecido de granulação jovem, contendo macrófagos, neoformação vascular, fibroblasto e pouca matriz extracelular preenchendo a região central da ferida. (Figura 5).

Figura 5- Tecido de granulação (TG) com algumas fibras organizando-se de forma paralela à borda (B) do defeito e pequena neoformação óssea osteóide.

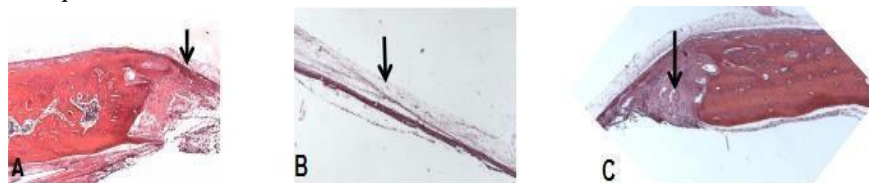


Fonte: Autores, 2021.

15 dias: A neoformação óssea continuava apenas nos cotos da ferida cirúrgica, com tecido ósseo primário, sendo ausente na região central, que estava preenchida por tecido conjuntivo.

30 dias: o GC apresentou uma área óssea neoformada maior próximo aos cotos do defeito. O espaço entre estes estava preenchido por um tecido conjuntivo. Foi possível observar, em maior aumento, indicados pela seta, a área de osteotomia com os cotos ósseos esquerdo (Figura 6A) e direito (Figura 6C) com discreta neoformação óssea em suas margens, e o centro do defeito crítico preenchido por tecido conjuntivo fibroso (Figura 6B).

Figura 9- A. coto esquerdo. B. centro do defeito. C. coto direito.



Fonte: Autores, 2021.

60 dias: O osso neoformado pareceu mais maduro do que os de 30 dias, contudo, desconsiderou-se a sua análise histológica por falhas no processamento das lâminas do grupo de 60 dias.

Membranas absorvíveis vêm sendo cada vez mais utilizadas como barreira física na técnica da Regeneração Óssea Guiada (ROG), principalmente por não necessitarem de um segundo tempo cirúrgico (BUSER, 2010; SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2014). A hidroxiapatita e o colágeno são alguns dos vários materiais que vêm recebendo atenção especial em diversas pesquisas na busca dos materiais ideais para a osteocondução, biocompatibilidade e resistência biomecânica durante o processo de reparo dos defeitos ósseos (SHIRANE *et al.*, 2010).

A hidroxiapatita tem boa condutibilidade óssea (NANDI *et al.*, 2008), a qual influencia na sua velocidade de reabsorção, sendo regulada principalmente pela porosidade do material. O contato direto e estável da hidroxiapatita com o osso estimula a osteogênese e, portanto, a sua osteointegração (SHIRANE *et al.*, 2010). O grau de reabsorção e o tempo que a membrana permanecerá no organismo cumprindo a função de barreira para a ROG são fatores extremamente importantes (SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2014). Em nosso estudo nota-se que a presença da hidroxiapatita na membrana Col.HAP-91®, não alterou a biocompatibilidade e não induziu nenhuma reação inflamatória importante que pudesse interferir na osteopromoção, mas sim contribuiu para o processo de ROG, pois ao redor dos grânulos pudemos observar a presença de tecido ósseo neoformado.

Membranas absorvíveis têm obtido resultados satisfatórios (DUPOIRIEUX *et al.*, 2001) e as membranas de colágeno vêm sendo cada vez mais utilizadas por serem biocompatíveis, absorvíveis e por permitirem colonização por células osteogênicas (SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2014). Esses resultados positivos podem estar associados com as particularidades do colágeno, um polímero natural, que permite a fácil manipulação das membranas e consequente facilidade de adaptação desta no defeito, além de função hemostática, semipermeabilidade permitindo a passagem de nutrientes, quimiotaxia por fibroblastos quando há reação inflamatória e alta resistência e estabilidade que o habilita como um bom material para ROG, tendo a sua eficiência comprovada como barreira em vários estudos (QUESADA; BRENNER; FELTRACO, 2011; SHIRANE *et al.*, 2010; SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2014; ZITMANN; NAF; SCHARER, 1997). As membranas absorvíveis provenientes do colágeno representam um avanço da implantodontia. Tanto a membrana Bio-Gide® como a Col.HAP-91®, apresentaram resultados similares quanto à neoformação óssea aos 7 e 15 dias pós operatório. Aos 30 dias a membrana Bio-Gide® apresentou um salto de neoformação óssea maior quando comparada a Col.HAP-91®, entretanto aos 60 dias foi possível constatar que ambas apresentaram resultados satisfatórios, cumprindo seu papel de barreira mecânica e consequentemente favorecendo a eficácia da regeneração óssea guiada.

Entretanto, a presença de grânulos de hidroxiapatita na sua composição permitiu que parte desses grânulos ficassem no interior do coágulo e/ou tecido de granulação, o que em última análise também funcionou como um material osteocondutor nesse processo de neoformação óssea ao final do período de 60 dias, permitindo observar um defeito ósseo praticamente fechado em muitos espécimes. Desta forma, podemos verificar que essa membrana realizou duas funções nesse processo de regeneração óssea: osteopromoção quando protegeu o defeito

no seu papel de barreira física e de osteocondução devido a presença dos grânulos de HA que auxiliaram na neoformação óssea ao redor dos grânulos no interior do tecido de granulação.

4. CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho, concluímos que a membrana de colágeno bovino associada à hidroxiapatita (Col.HAP-91®) cumpriu sua função de barreira promovendo a ROG em defeitos ósseos críticos em calvárias de ratos.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO-ANDRADE, R. *et al.* Bases clínicas e biológicas da regeneração óssea guiada (ROG) associada à barreiras ou membranas. *Revista Bra de Implant e Prótese sobre Implan.*, v.11, n.43, p. 251-257, 2004.

ARMENTANO, I. *et al.* Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. *Polym. Deg. Stabil.*, v. 95, n. 11, p. 2126-2146, 2010.

BECKER, W. *et al.*, Biodegradable Polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. *Polym Ded Stabil.* V.95, n.11, p.2126-2146, 2010.

BOSTMAN, O.M. Osteolytic changes accompanying degradation of absorbable fracture fixation implants. *J. Bone Joint Surg. Br.*, v. 73, n. 4, p. 679-682, 1991.

BRUNEL, G. *et al.* Bioabsorbable Materials for Guided Bone Regeneration Prior to Implant Placement and 7-Year Follow-up: report of 14 cases. *J periodontol.*, v. 72, n. 2, p. 257-264, 2001.

BUSER, D. *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry.* 2. ed. Chicago: Quintessence, 2010.

BUSER, D. *et al.* Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clin. Oral Implants Res.*, v. 1, n. 1, p. 22-32, 1990.

CAFESSE, R.G. *et al.* New Attachment Achieve guided tissue regeneration in beagle dogs. *J. Periodontol.*, v. 59, n. 9, p. 589-594, 1988.

CORTELLINI, P., *et al.* Periodonto regeneration of human infrabony defects. *J. Periodontol.*, v. 64, n. 4, p. 261-268, 1993.

CUI, W. *et al.* Hydroxyapatite nucleation and growth mechanism on electrospun fibers functionalized with different chemical groups and their combinations. *Biomaterials*, v. 31, n. 17, p. 4620- 4629, 2010.

DAHLIN, C. *et al.* Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique: an experimental study in monkeys. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg Hand. Surg.**, v. 24, n. 1, p. 13-19, 1990.

DUPOIRIEUX, L. *et al.* Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 30, n. 1, p. 58-62, 2001.

FOOK, A.C.B.M. *et al.* Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como scaffolds para regeneração óssea. *Matéria (Rio J.)* vol.15 no.3 Rio de Janeiro, 2010.

- IMBRONITO, A.V. *et al.* Regeneração óssea guiada: revisão de literatura. *Periodontia Rev.*, v.10, n.2, p.45-50, 2001.
- MINABE, M. *et al.* Clinical significance of antibiotic therapy in guided tissue regeneration with bioresorbable membrane. *Periodontal Clin. Investig.*, v. 23, n. 1, p. 20-30, 2010.
- NANDI, S.K. *et al.* Efficacy of nano-hydroxyapatite prepared by na aqueous solution combustion technique in healing boné defects of goat. *J Vet Sci.*, v.9, n.2, p.183-191, 2008.
- NIRMALA, R. *et al.* Structural thermal, mechanical and bioactivity evaluation of silver- loaded bovine bone hydroxyapatite grafted poly (ϵ - caprolactone) nanofibers via electrospinning. *Surf. Coat Technol.*, v. 205, n. 1, p. 174-181, 2010.
- PARK, J.W. *et al.* Evaluation of boné healing with eggshell-derived bone graft substitutes in rat calvaria: a pilot study. *J Biomed Mater Res.*, v.87, n.1, p.203-2014, 2008.
- PHILLIPS, J.H. *et al.* Fixation effects on membranous and endochondral onlaybone graft resorption. *Plast. Reconstr. Surg.*, v. 82, n. 5, p. 872-877, 1988.
- QUESADA, G.A.T. *et al.* Análise das membranas de colágeno bovino, comparativamente às membranas de politetrafluoretileno expandido, como barreira de proteção em regenerações ósseas guiadas para posterior colocação de implantes e no tratamento de periimplantes com e sem o uso de enxertos bovinos. *Rev. Dentística online*, v. 10, n. 20, p. 29-38, 2011.
- ROTHAMEL, D. *et al.* Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat. *Clin. Oral Implants Res.*, v. 16, n. 3, p. 369-378, 2005.
- SCHENK, R.K. *et al.* Healing pattern Membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v. 9, n. 1, p. 13- 29, 1994.
- SCHMITZ, J.P. Isolation of particulate degradation debris 1 year after implantation of membrane of guided bone regeneration case report. *J Oral Maxillofac Surg*, v.58, n.8, p.888-893, 2000.
- SHIRANE, H. Y. *et al.* Implantes de biomateriais em falha óssea produzida na fíbula de ratos. *Rev. Bras. Ortop.*, v. 45, n. 5, p. 478-482, 2010.
- SILVA, E. D.; OLIVEIRA, L. J. & SOUZA, P. E. A. Membranas de colágeno em Implantodontia: revisão de literatura. *Arq. Bras. Odontol.*, v.10, n. 1, p. 26-31, 2014.
- TRENTIN, M. S.; SHIBLIN, J. A. Bases clínicas e biológicas da regeneração óssea guiada (ROG) associada à barreiras ou membranas. *Rev. Bras. Implantodont. Prótese Implante.*, v. 11, n. 43, p. 251-257, 2004.
- WILSON, G.J. & WEBBER, B.A. A compliant Corethane/Dracon composite vascular prosthesis: comparasion with 4-mm ePTFE grafts in a canine model. *J ASAIO.*, v.39, n.3, p.526-531, 1993.
- WUTTICHAROENMONGKOL, P. *et al.* Osteoblastic phenotype expression of MC3T3-E1 cultured on electrospun polycaprolactone fiber mats filled with hydroxyapatite nanoparticles. *Biomacromolecules.*, v. 8, n. 8, p. 2602- 2610, 2007.
- ZITZMANN, N. U.; NAF, R.; SCHARER, P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.*, v. 12, n. 6, p. 844-852, 1997.