2
Revisão Bibliográfica

2.1
Regeneração tecidual guiada

Através da doença periodontal, ocorrem perdas dos tecidos ao redor da raiz do dente. A superfície da raiz do dente após ser raspada para remoção do biofilme bacteriano pode ser repovoada por quatro diferentes tipos de células. Células epiteliais, células originárias do osso, células originárias do ligamento periodontal e células originárias do tecido conjuntivo gengival (Lindh 1999).

Após a perda dos tecidos que suportam os dentes – cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar – e a remoção do agente etiológico desta perda – o biofilme bacteriano – células que inicialmente povoarem a área determinarão o tipo de cicatrização. Portanto, a velocidade com que as diferentes células se dividem e migram são determinantes na cicatrização. Sob condições normais, as células epiteliais povoarão a área da ferida e formarão, sobre a superfície da raiz, um epitélio juncional longo. Este processo de cicatrização se chama reparo, pois o tecido neoformado não restaura a forma, função ou arquitetura do tecido original. Para que ocorra a formação de um tecido semelhante ao original, ou cicatrização por regeneração, o tecido epitelial deve ser excluído da cicatrização, assim como as células do osso e a do conjuntivo gengival, pois somente as células do ligamento periodontal teriam capacidade para formar novo cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar. Para que isto ocorra é necessário o uso de barreiras celulares para excluir as células indesejáveis.

A regeneração tecidual guiada (RTG) envolve, em periodontia, a colocação de uma barreira de membrana para garantir que a superfície radicular, sem a presença da inserção de suas fibras, se torne povoada por células do ligamento periodontal. O primeiro dente humano a ser tratado pela técnica da RTG foi relatado em um estudo de Nyman *et al.* (1982). Ao ser examinado, em um diagnóstico prévio, verificou que o melhor tratamento seria a extração do elemento dentário. Portanto, antes da extração foi feito, para fins de teste a RTG. O dente apresentava uma perda óssea de 11mm de profundidade verificada por uma sonda milimetrada. O tratamento realizado foi a raspagem e alisamento da

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

superfície radicular para remoção de todo o biofilme bacteriano. Antes da sutura, uma membrana foi ajustada para cobrir a raiz e impedir que a raiz fosse colonizada por células não adequadas. A análise histológica após três meses de cicatrização revelou uma nova formação de cemento com fibras colágenas inseridas na superfície radicular.

Em um estudo de Gottlow *et al.* (1984) foi realizado, em três macacos adultos da raça Cynomolgus, um procedimento de teste com 2 dentes de cada animal: 1 pré-molar e 1 molar. Os dentes contralaterais serviram como controle. Os dentes vizinhos de ambos os lados do grupo teste e do grupo controle foram extraídos. O osso alveolar vestibular, associado aos dentes extraídos, entre as raízes mesio-vestibular e disto-vestibular foi removido aproximadamente 50-75% do comprimento da raiz com a ajuda de um cinzel.

Após seis meses de acúmulo de biofilme bacteriano, foram retiradas as coroas dos dentes e o canal foi obturado. Realizou-se uma limpeza das raízes e foram instaladas membranas no grupo teste a fim de impedir que os tecidos conjuntivo e epitelial povoassem a região. Nenhuma membrana foi instalada no grupo controle. Após três meses, os macacos foram sacrificados e os espécimes preparados para histologia.

O resultado demonstrou no grupo teste, a formação de um novo cemento com a inserção de fibras. Nas áreas de controle não ocorreu regeneração tecidual. Das seis raízes do grupo teste ocorreu de 40 a 60% de neoformação dos tecidos periodontais de suporte, ou seja, cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar. A análise histológica do material do grupo controle mostrou a formação de novo tecido epitelial sobre uma superfície radicular previamente exposta ao biofilme bacteriano. O tratamento com RTG não é um procedimento a ser realizado em pacientes com doença periodontal ativa, mas sim nos pacientes que já tiveram a doença e hoje são pacientes controlados periodontalmente.

2.2
Materiais para barreira na cirurgia regenerativa

Para o funcionamento de uma membrana como material de barreira para RTG, o material precisa respeitar certos critérios essenciais. O material deverá ser biocompatível, agir como uma barreira para impedir que as células do tecido epitelial e conjuntivo interfiram na cicatrização desejada, deve se integrar ao tecido através da porosidade (Buser, 1994). Estudos demonstram que membranas

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

feitas com o polímero politetrafluoretileno (PTFE) apresentam todas as características necessárias para uma barreira Canullo & Malagnino (2008).

2.3
Regeneração óssea guiada

O desenvolvimento da regeneração óssea guiada (ROG) Figura 1 vem influenciando as possibilidades de utilizar implantes osseointegrados. A utilização do procedimento possibilitou esta ampliação principalmente em regiões maxilares, com o aumento ósseo vertical e horizontal, possibilitando a colocação de implantes osseointegrados em locais antes impróprios para instalação do implante (Buser, 1994).

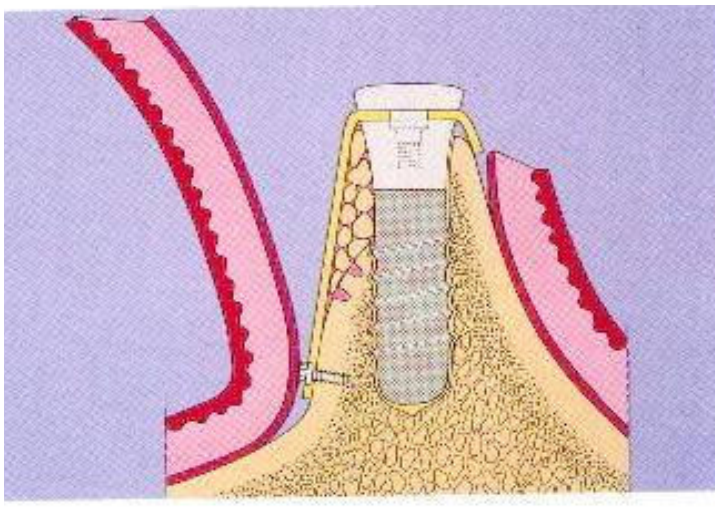


Figura 1 – Instalação de implante com enxerto ósseo particulado e instalação de uma membrana para a regeneração óssea guiada. Fonte: (Buser 1994).

A falta de volume ósseo pode ser devido aos defeitos pós-extrações, perda óssea pós-cirúrgica, pós-trauma ou resultado de doenças. Através da previsibilidade alcançada com o sucesso deste procedimento, pode-se alterar o planejamento e consequentemente o tratamento dos pacientes que tinham um tratamento comprometido (Buser 1994)

A técnica da regeneração óssea guiada provou ser eficaz no tratamento ósseo em defeitos localizados. Através disto, houve um aumento nos procedimentos odontológicos, e este crescimento vem ocorrendo principalmente

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

na área da implantodontia (Becker *et al.* 2003;Zellin & Linde 1996; Imbronito *et al.* 2002; Zhao *et al.* 2000; L. Dupoirieux 2001; Jung *et al.* 2007; De Marco *et al.* 2005; von Arx *et al.* 2005).

Um estudo feito por Marouf *et al*. (2000) comparou a eficácia da membrana Gore-Tex® (Gore-Tex, WL Gore & Assoc, Flagstaff, Ariz) com a TefGen-FD® (American Custom Medical Inc, Lubbock, Tex), ambas as membranas são produzidas com PTFE. A pesquisa foi realizada em três grupos de seis coelhos, nos quais foram realizadas duas perfurações no crânio, de cada lado da sutura sagital, com diâmetro de 7mm. As membranas foram cortadas em quadrados de 1cm. Em cada coelho o defeito do lado esquerdo foi coberto pela membrana TefGen-FD® e o lado direito pela membrana Gore-Tex®. O resultado demonstrou maior formação óssea dentro das margens do defeito para a membrana Gore-Tex® quando comparada com a membrana TefGen-FD®. Quando as membranas foram removidas a membrana Gore-Tex® apresentou um maior grau de dificuldade, em relação à membrana TefGen-FD®, na sua remoção da superfície óssea. Visualizando nas figuras 2 e 3 a diferença das superfícies de poros.

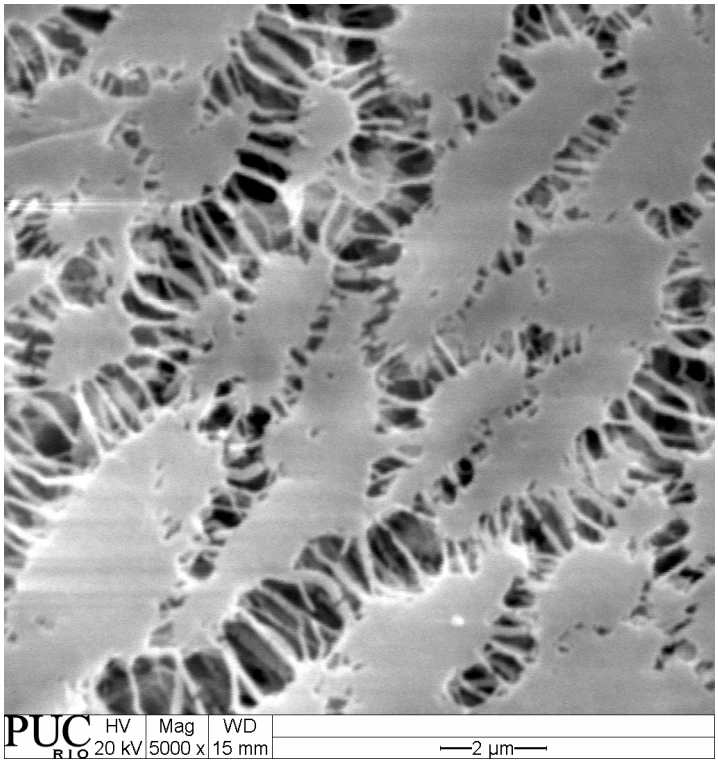


Figura 2 – Imagem no microscópio eletrônico de varredura (MEV) da membrana TefGen-FD®.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

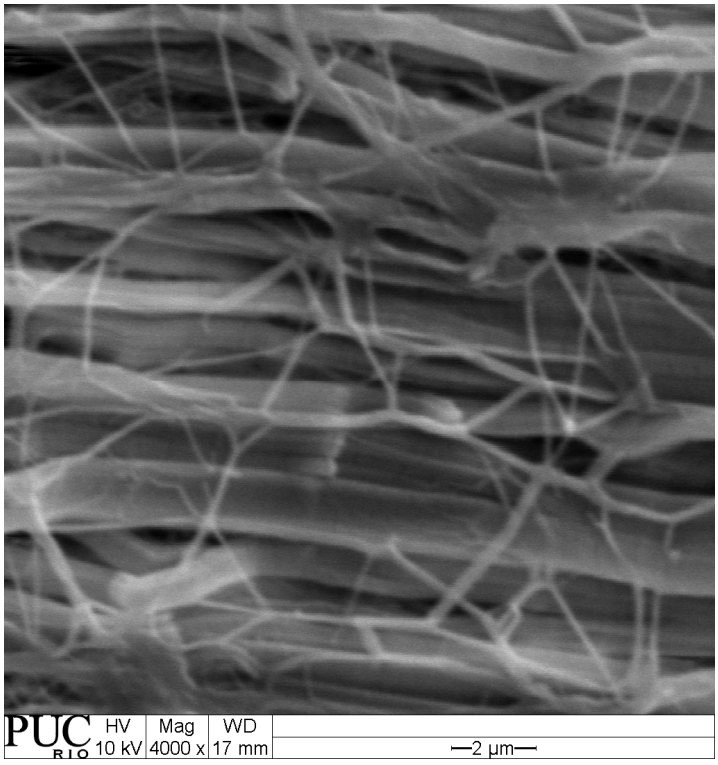


Figura 3 – Imagem no MEV da membrana Gore-Tex®.

A membrana de politetrafluoretileno expandido PTFE-e não é absorvível e necessita de um segundo passo cirúrgico para a sua remoção. Isto tem estimulado o uso das membranas absorvíveis, para evitar um segundo passo cirúrgico, mas as membranas absorvíveis exibem padrões variáveis de reabsorção, que introduz um grau de imprevisibilidade para o procedimento cirúrgico. O tempo de absorção da membrana influencia o tratamento de regeneração. Zhao *et al.* (2000) realizaram análise histológica em quatro casos de aplicação de membranas para ROG, empregaram três membranas absorvíveis e uma membrana não-absorvível. Eles observaram o início da desintegração da estrutura das membranas absorvíveis em quatro dias após a cirurgia que causou a falha na regeneração óssea guiada (ROG). Não houve alterações na membrana não-absorvível que cumpriu corretamente sua função.

2.4
Fabricação de Membranas de PTFE

2.4.1
O Polímero PTFE

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

O PTFE, politetrafluoretileno, é um polímero termoplástico, formado a partir do fluoretileno, em que quatro átomos de flúor ficam ligados aos dois átomos de carbono, altamente resistente à decomposição quando exposto ao meio ambiente, com ponto de fusão próximo de 327°C segundo a DuPont® e Huang *et al.* 2008. A Tabela 1 ilustra algumas características do PTFE desde a formação do polímero, preparação, propriedades, aplicações e nomes comerciais.

Tabela 1: Propriedades do polímero na produção industrial. (Mano 1999)

Monômero	$F_2C=CF_2$ Tetraflúor-etileno (gás) ponto de ebulição: - 76°C
Polímero	- (F_2C - CF_2) – Poli(tetrafluor-etileno)
Preparação	-Poliadição em emulsão. Monômero, persulfato de potássio, água, emulsificante, 40°C. -Poliadição em suspensão. Monômero, peróxido ou azonitrila, água, espessante, 70°C.
Propriedades	-Peso molecular: 10^5 – 10^6 g/mol densidade: 2,20 g/cm^3 -Cristalinidade: 95% Temperatura vítrea: 127°C Temperatura de fusão: 327°C -Material termoplástico, propriedades mecânicas elevadas, baixíssimo coeficiente de fricção, baixa aderência, excelentes resistências térmica e química.
Aplicações	-Válvulas cardíacas, torneiras, gaxetas, engrenagens, anéis de vedação, revestimentos antiaderentes para panelas, placas em geral, filamentos para componentes elétricos e eletrônicos, gesso sintético, membranas odontológicas, membranas de gás, roupas e etc.
Nomes comerciais	Teflon, fluon, polyflon
Origem	Não é fabricado no Brasil.
Observações	-PTFE tem um conjunto único de propriedades. É moldado por sinterização sob a forma de tarugos ou placas, dos quais as peças são cortadas e usinadas. -Polímeros relacionados ao PTFE: poli(cloro-triflúor-etileno)_(PCTFE), homopolímero, solúvel em solventes orgânicos comuns, empregados na fabricação de tintas e vernizes para revestimentos antiaderentes.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

2.4.2
Processo de polimerização

Quanto ao tipo de reação, a polimerização pode envolver reações de adição ou poliadições, e reações de condensação ou policondensações.

No caso do PTFE a reação é por adição. Uma vez que os polímeros, em geral, têm a cadeia regularmente constituída apenas por átomos de carbono, ligados covalentemente ao flúor. Esta reação apresenta três diferentes componentes reacionais: a iniciação, o crescimento ou propagação, e a terminação, todos com velocidade e mecanismos diferentes (Wall, 1972). Outras características dos processos de polimerização através da adição são: reação em cadeia, mecanismo homolítico, ou heterolítico, ou por coordenação, não há sub-produto na reação, velocidade de reação rápida, com formação imediata de polímeros, concentração de monômero diminui progressivamente e grau de polimerização alto, da ordem de 10^5 g/mol (Mano, 1999).

Em relação ao crescimento da macromolécula uma vez iniciada a cadeia, o crescimento é muito rápido, com alto grau de polimerização obtido logo no início do processo, mesmo com pouca conversão, isto é, a formação de produtos pelo consumo dos monômeros. A iniciação pode ser provocada por agentes químicos ou físicos. Dentre os agentes físicos destacam-se as radiações eletromagnéticas de baixa energia (calor, radiações ultravioletas e microondas), as radiações eletromagnéticas de alta energia (raios-γ e raios-X) e os elétrons (corrente elétrica) (Hsiao, 2005). Dentre os agentes químicos, incluem-se percomposto (peróxidos, hidroperóxidos) e azoderivados (azonirilas), ácidos de Lewis ($AlCl_3$, $FeBr_3$, BF_3, $TiCl_4$ e $SnCl_4$), bases de Lewis (Na, K, complexo sódio-naftaleno e reagentes de Grignard), e ainda os sistemas catalíticos de Ziegler-Natta ($TiCl_3$ / $AlEt_3$) e de Kaminsky (metil-aluminoxano / zirconoceno) (Mano 1999).

A propagação, que ocorre logo após a iniciação, é considerada a fase mais importante em uma polimerização. É muito rápida e nela ocorre o crescimento da cadeia, atingindo o peso molecular final (Kaush & Halary, 2005). Ao centro ativo, formado na base da iniciação, se adiciona a uma molécula de monômero, gerando um novo centro ativo na cadeia, maior, o qual imediatamente se adiciona outra molécula de monômero, e assim sucessivamente, até ocorrer a terminação.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

A terminação é a fase final de crescimento de uma cadeia polimérica obtida através de reações de poliadição. A desativação da cadeia propagante, contendo o centro ativo, seja um radical livre, um íon ou um complexo, pode ser conseguida através de reações com espécies químicas ativas ou inertes, ocasionando o término do crescimento. Assim, para a obtenção de peso molecular elevado, é essencial que não haja excesso de centros ativos no meio reacional (Dekker, 2000).

A técnica de polimerização em massa emprega monômero e iniciador, sem qualquer diluente; a reação ocorre em meio homogêneo e não há a formação de um sub-produto no meio reacional. Nas reações em que a iniciação é feita por agentes físicos (calor, radiações eletromagnéticas, etc.), têm-se apenas os monômeros; nos demais casos, é preciso adicionar um agente químico (percomposto, azocomposto, ácido ou base de Lewis, etc.) para iniciar a polimerização (Schildknecht, 1977).

A viscosidade do meio reacional cresce rapidamente, tornando cada vez mais difícil a acessibilidade do monômero aos centros ativos da cadeia em crescimento e a homogenização da mistura. Além disso, como a reação de poliadição é fortemente exotérmica, há problemas para o controle da temperatura. Isso causa heterogeneidade no tamanho das macromoléculas formadas. O peso molecular do polímero pode atingir valores muito elevados, da ordem de 10^6, e se apresenta sempre com larga curva de distribuição (Callister, 2002).

Na técnica de polimerização em solução, além do monômero e do iniciador organosolúvel, um solvente atua tanto sobre os reagentes quanto sobre o polímero e a reação se passa em meio homogêneo, sem a formação de sub-produtos. A iniciação é feita por agente químico (percomposto, azocomposto, etc.) (Allinson, 1956).

Quando comparada à polimerização em massa, a técnica em solução provoca o retardamento da reação devido ao efeito diluente do solvente; o controle de temperatura é favorecido, pois a viscosidade do meio reacional é relativamente baixa, e há uniformidade das condições de polimerização. O peso molecular pode atingir valores inferiores a 10^5, devido à ocorrência de reações de transferência de cadeia. Essa técnica é a mais adequada para trabalhos de pesquisa. A dificuldade de remoção e recuperação total do solvente da massa polimérica, a taxa de toxicidade e manuseio do solvente representam fatores limitativos do emprego industrial desta técnica. O solvente da solução polimérica

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

aplicada sobre o substrato deve ser progressivamente eliminado, com taxa de evaporação controlada, uma vez que a presença de solvente residual pode provocar microfissuras no filme de polímero (Chapiro & Seidler, 1965).

A polimerização em emulsão utiliza, além do monômero, um iniciador hidrossolúvel, um solvente, geralmente água, e um emulsificante, por exemplo, estearato de sódio, os quais propiciam um meio adequado à formação de micelas. A reação se passa em meio heterogêneo, e é feita por agente químico. No caso da polimerização em emulsão, a velocidade da reação é tão alta quanto à conseguida na polimerização em massa. Os radicais livres se formam na fase aquosa e migram para a fase orgânica, onde a reação tem lugar. A agitação do sistema reacional não pode ser intensa, pois isto poderia acarretar a coagulação da emulsão; em laboratório, cerca de 50 rpm são adequadas. Em geral, a temperatura do processo não deve exceder 50-60°C, o que permite o aquecimento com vapor ou mesmo água aquecida, e assim, facilita o controle da temperatura (Bassett, 2005).

O tamanho da partícula emulsionada varia entre 1nm a 1mm. Os pesos moleculares são elevados, da ordem de 10^5. Para a separação do polímero é preciso proceder à coagulação do látex, geralmente feita através da adição de salmoura ácida (Cahn, 1993).

Na prática, não é necessário realizar o processo de polimerização porque o polímero é distribuído em diferentes formas sólidas: flocos, barras e fitas, que podem ser conformadas empregando técnicas clássicas de extrusão, laminação, usinagem, entre outras.

2.4.3
Produção da membrana

A empresa W.L. Gore & Associates comercializa as membranas Gore-Tex® para tratamento odontológico. Esta membrana é considerada, pelos resultados clínicos e histológicos encontrados na literatura, como uma das melhores no comercio mundial, desde a década de 80. O processo de fabricação estava sob a proteção da patente US 3953566, de 1976, para a produção de uma membrana porosa, contendo nódulos interconectados por fibrilas. Esta patente já expirou e, por isso, a proposta desta pesquisa foi reproduzir as condições de fabricação descritas na patente para criar uma membrana similar.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

Segundo a patente US 3953566, o processo de fabricação de uma membrana porosa a partir do polímero de tetrafluoretileno consiste essencialmente na expansão de uma forma muito cristalina de politetrafluoretileno, realizado pela técnica de extrusão. Após a remoção do lubrificante, estica-se a fita com taxas de deformação entre 10% e 40000% por segundo, mantendo sua forma e uma temperatura de 35°C. O processo de expansão é efetuado por fixação e formação rápida de vácuo em um dos lados da fita, para que ocorra uma rápida expansão. A expansão é efetuada biaxialmente, promovendo uma variação do comprimento final da fita de três a vinte e quatro vezes o tamanho original. A expansão produz uma fita com até 97% de porosidade. Após a expansão, a fita porosa sofre uma compressão e, finalmente, a membrana é aquecida acima da temperatura de fusão e resfriada para aumentar a fração amorfa do polímero.

Uma das formas de produção da membrana foi avaliada por Huang *et al.*, em 2008, que introduziram o pó do polímero de e-PTFE na extrusora, com haste de 13 mm de diâmetro. Posteriormente, esta haste (fita) foi laminada entre dois rolos aquecidos em torno de 200°C, na primeira etapa de laminação a fita diminui a espessura para 5mm e após uma nova passagem para 1 mm de espessura. Após esta etapa a nafta evaporou da fita. O alongamento foi de 200% a 900%. E finalmente, para manter a estabilidade dimensional, a membrana foi aquecida por 1 segundo em um rolo liso de aço inoxidável, em uma temperatura superior a 320C°. As imagens foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura, para a observação das orientações das fibras (Figuras 4 a 7).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

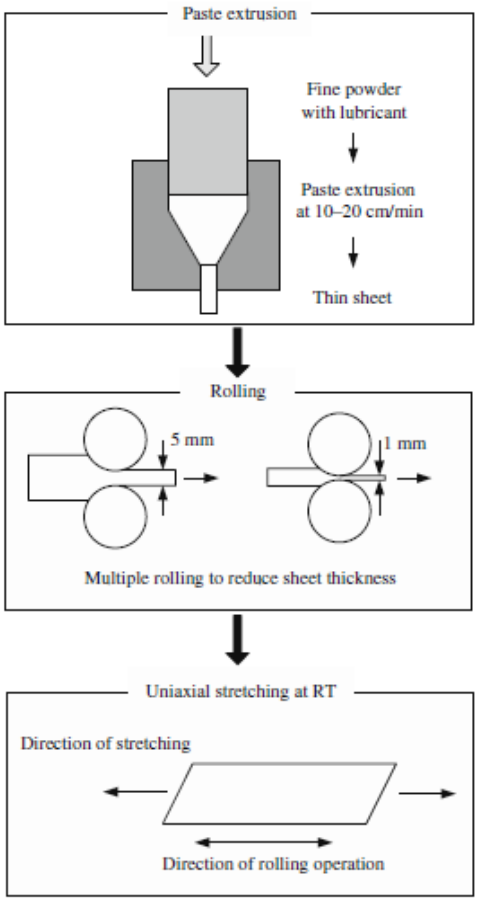


Figura 4 – Primeira etapa: extrusão do polímero. Segunda etapa: passagem do polímero por dois tipos de laminadores. Terceira etapa: tracionamento da fita. Fonte: Huang *et al.*, em 2008.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

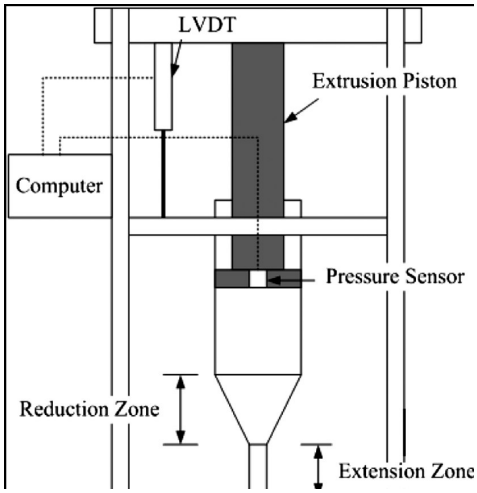


Figura 5 – Demonstração de como é realizado a extrusão do polímero, o pistão pressiona o material, que sofre um processo duplo de redução do diâmetro, em relação ao início do processo Huang *et al.*, em 2008.

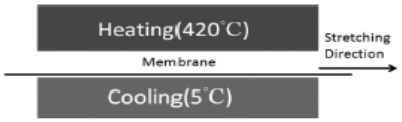
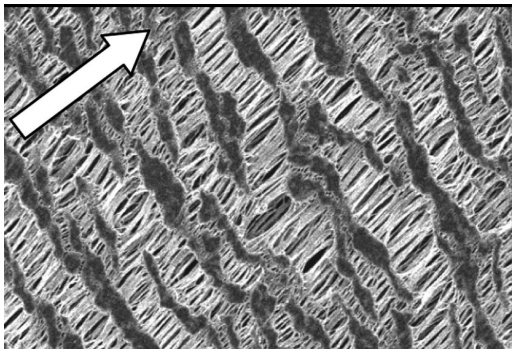


Figura 6 – No tracionamento, a membrana foi colocada entre duas placas: uma aquecida a 420°C e outra a 5°C. Fonte: Huang *et al.*, em 2008.



PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

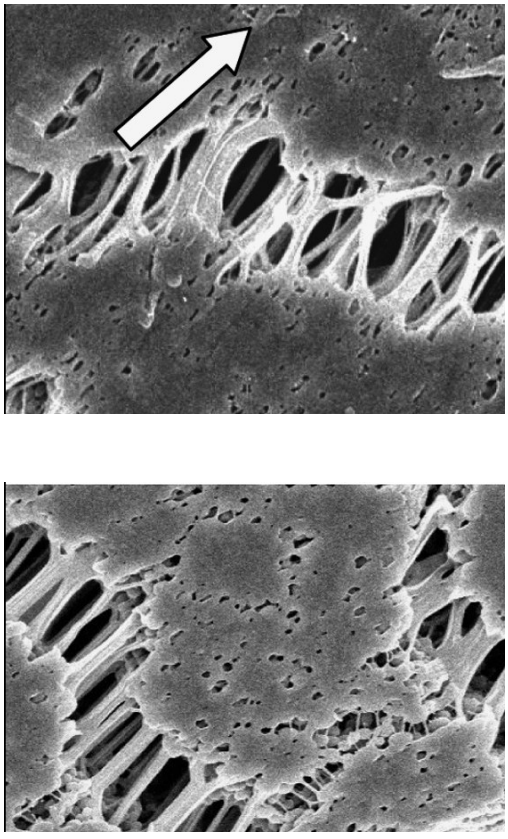


Figura 7 – Visualização no MEV das fibras poliméricas após o tracionamento. Fonte: Huang *et al.*, em 2008.

No trabalho apresentado por Kurumada *et al.*, em 1998, se observou, a produção de membrana de PTFE, a morfologia e a taxa de formação de porosidade nas fibras. Em seguida o polímero passou pelo processo de extrusão e, depois, a membrana foi tracionada bilateralmente, no sentido paralelo e perpendicular das fibras da membrana. O tracionamento o sentido paralelo, quando feito inicialmente não causou ruptura na membrana. Neste caso, o alongamento unilateral no sentido das fibras, seguido de uma segunda operação de alongamento no sentido perpendicular das fibras, formou uma estrutura porosa. O segundo alongamento deve ser inferior a 50% do primeiro alongamento, para evitar a ruptura da membrana (Figura 8 e 9). Quando a ordem do tracionamento for invertida, ou seja, o tracionamento no sentido perpendicular das fibras era o primeiro a ser feito, ocorria a ruptura da membrana.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

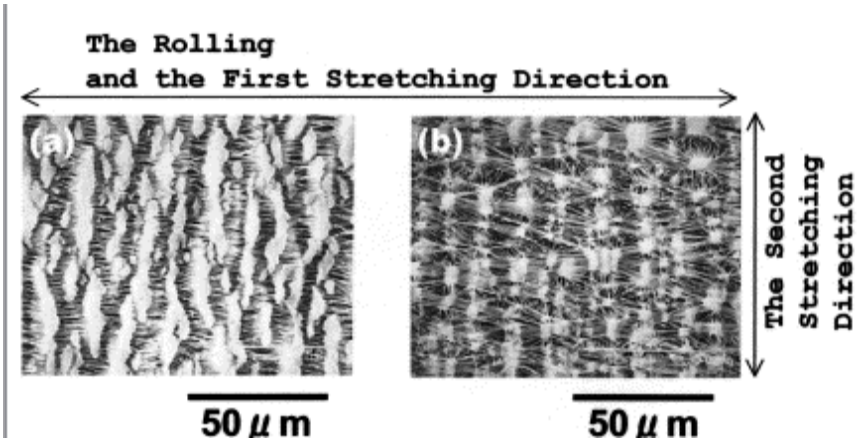


Figura 8 – Imagem no MEV da membrana após o tracionamento no sentido das fibras (a) e perpendicular ao sentido das fibras (b). Fonte: Kurumada *et al.*, em 1998.

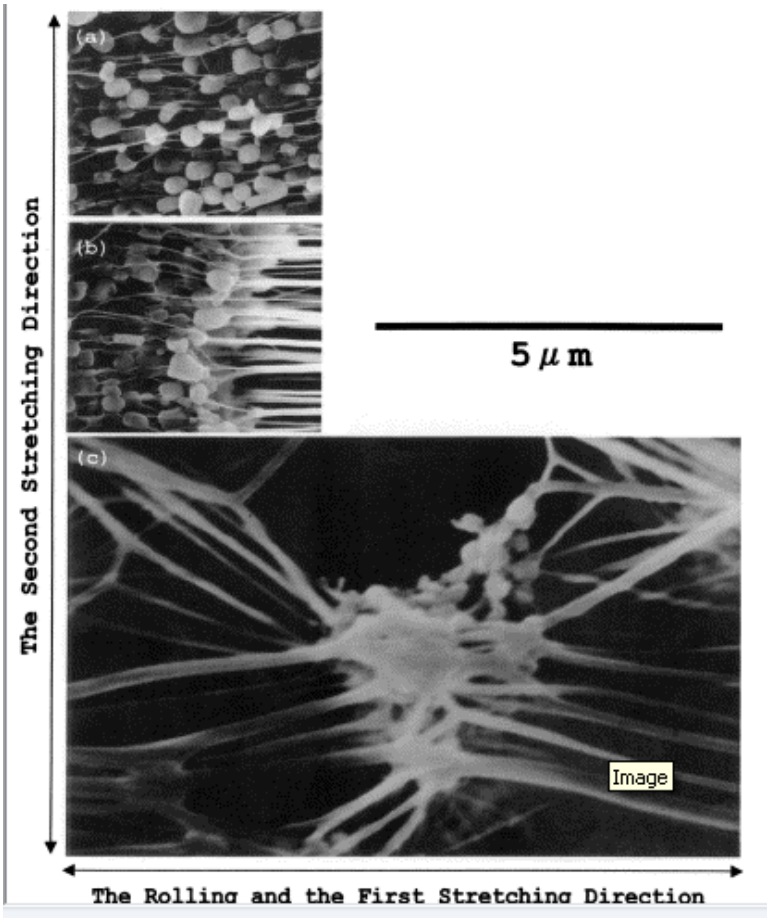


Figura 9 – Imagem no MEV após tracionamento bilateral, observando um aumento dos espaços entre as fibras poliméricas. Fonte: Kurumada *et al.*, em 1998.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

Huang *et al.* (2004) usou o pó de PTFE produzido por polimerização em emulsão misturado com 20% de lubrificante nafta para produzir uma fita por extrusão. Esta fita foi laminada a uma temperatura aproximada de 200°C, que acelerou a evaporação da nafta. O tracionamento neste estudo variou entre 100% e 400% em relação ao tamanho original da fita. E, para finalizar, a membrana passou por um forno aquecido a 320°C, por 1 segundo, para manter a estabilidade dimensional observadas nas Figuras 10 e 11. Estes procedimentos proporcionaram as porosidades.

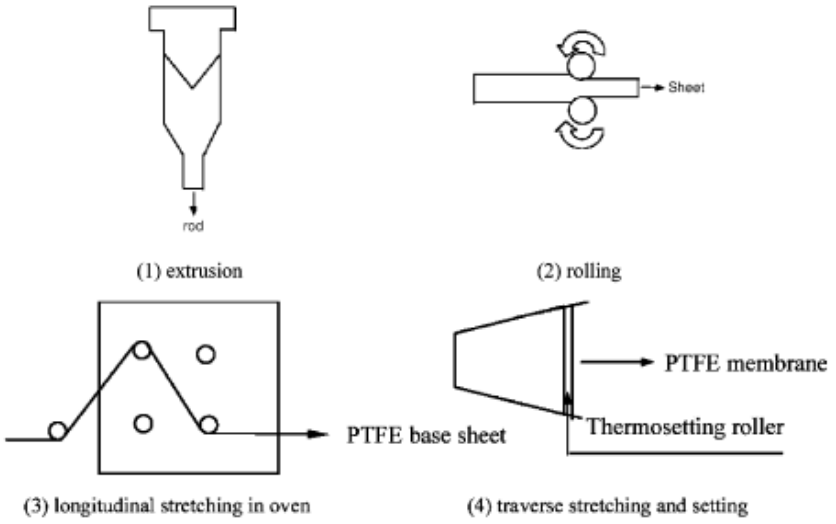


Figura 10 – Processo de fabricação da membrana: 1- extrusão do polímero. 2- Laminação para diminuir a espessura da fita. 3- Processo de tracionamento aquecido. 4- Ventilador aquecido. Fonte: Huang *et al.* (2004).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

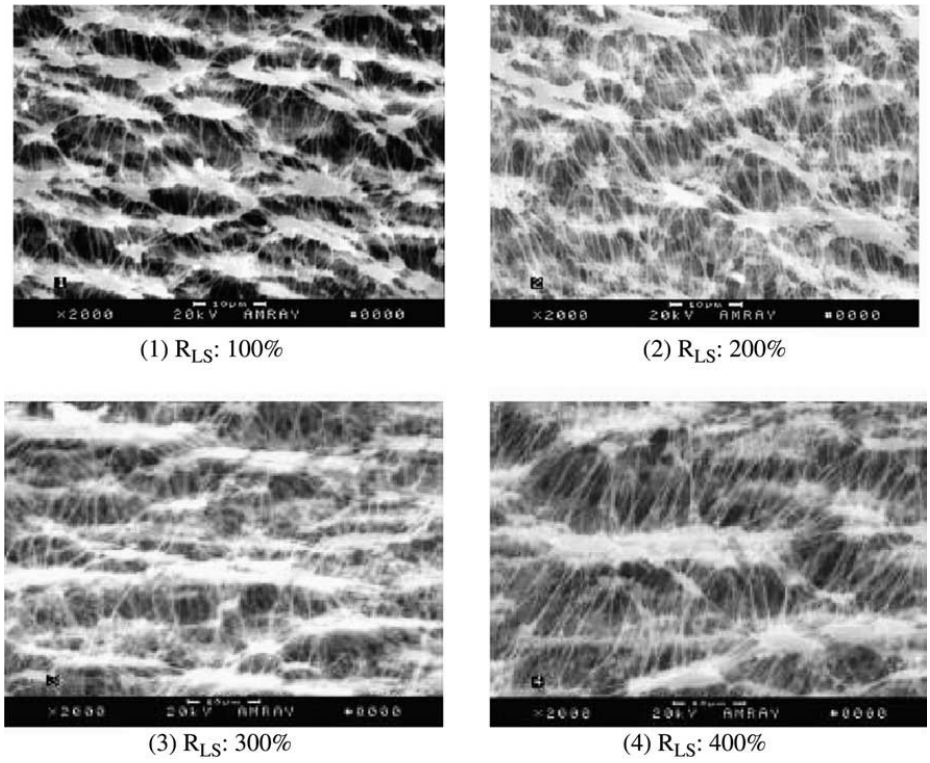


Figura 11 – Imagem da membrana no MEV. Observar o direcionamento das fibras. Fonte: Huang *et al.* (2004).

No trabalho de Huang *et al.* (2001) se realizou o tracionamento unilateral perpendicular as fibras do PTFE. Ao analisar as imagens no MEV se verificou porosidade (Figura 12).

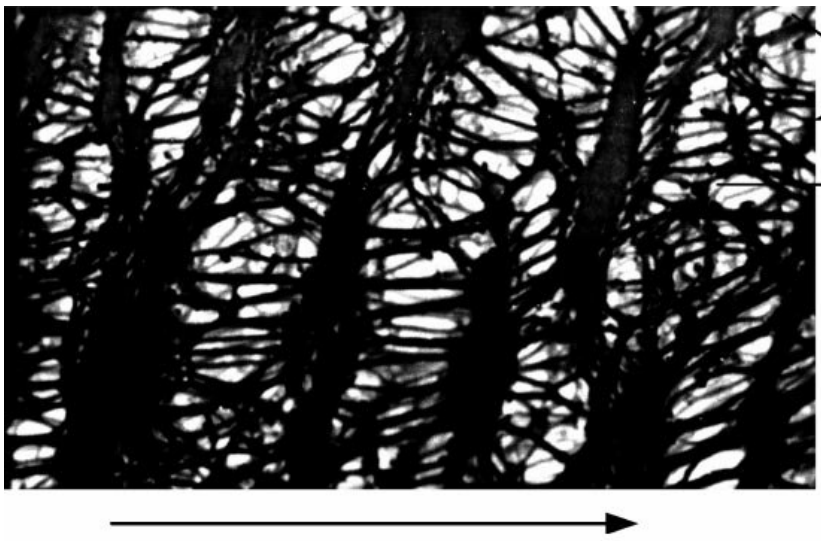


Figura 12 – O tracionamento foi realizado na direção da seta, observando que as fibras seguiram o sentido do tracionamento. Fonte: Huang *et al.* (2001).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB

Os trabalhos de Xu *et al.* (2004), Tu *et al.* (2005), Zhang *et al.* (2007), e Lin *et al.* (2007) verificaram também que o direcionamento das fibras na membrana influencia as porosidades no polímero. Esta porosidade é mais significativa quando ocorre o tracionamento no sentido perpendicular das fibras do polímero (Plummer, 2005).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813383/CB