

Avaliação do uso de membranas na infiltração de tecido conjuntivo em alvéolos de dentes recém-extraídos

Comparison of the use of membranes in conjunctive infiltration in alveoli freshly extracted teeth

Humberto Nesi

Mestre em Ciências da Saúde pela Unisul/SC
Professor da Disciplina de CTBMF da Unisul/SC

Marcelo Tomás de Oliveira

Doutor em Odontologia UFSC/SC
Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Unisul/SC

Gustavo Otoboni Molina

Doutor em Reabilitação Oral pela FORP/USP
Professor Titular Periodontia da Unisul/SC

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho da membrana de celulose impregnada em doxiciclina e comparar esta com as membranas existentes na infiltração de tecido conjuntivo em alvéolos de ratos pós-exodontia. Utilizaram-se 36 ratos divididos em quatro grupos (controle - GC, membrana teflon - GT, membrana de polipropileno - GP e membrana de celulose impregnada com doxiciclina - GCD). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0856$). Todas as membranas apresentaram um comportamento semelhante. Destaque-se o menor grau de infiltração observado no grupo das membranas de teflon.

Palavras-chave: regeneração óssea guiada; membranas; perda óssea.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the behavior of new membrane comparing to others trademarks available in the market as for decrease conjunctive tissue infiltration in the rat's alveoli after extractions. 36 rats were randomly divided in four groups (control - GC, Teflon membrane (Gore-tex) -GT, polypropylene membrane (bone heal) - GP, Test membrane (cellulose impregnated doxycycline - GCD). Anova test showed no statistic difference between groups (p value = 0,0852). Despite no statistical difference all the membranes showed similar behavior and was possible noticed that have been reduced the depth of tissue infiltration.

Keywords: guided bone regeneration; membranes; bone loss.

Introdução

Manter a arquitetura do osso alveolar durante o reparo pós-exodontia é um desafio a ser vencido. O processo de reparação alveolar está associado a uma remodelação tecidual que resulta em grande perda de volume ósseo (15).

A reabsorção e o remodelamento do rebordo alveolar, após a remoção do dente, é um fenômeno natural da cicatrização, fisiologicamente indesejável e possivelmente inevitável que pode prejudicar a colocação do implante (17, 26). Esta situação é particularmente importante na região anterior da maxila, onde uma posição proeminente da raiz é geralmente acompanhada por uma parede vestibular extremamente fina e frágil, que pode ser danificada durante a extração dentária (21).

A perda óssea alveolar, nos doze meses subsequentes à extração dentária, está em torno de 40 a 60% do volume ósseo inicial, sendo que a perda vertical do rebordo alveolar tem sido mais acentuada na parede vestibular (1, 2).

Com o intuito de manter o osso alveolar, após a exodontia, estratégias têm sido adotadas para reduzir ou eliminar futuras intervenções cirúrgicas para aumento de rebordo, tais como: regeneração óssea guiada, enxertos ósseos, implantes dentários, utilizados separadamente ou associados (23).

Sabe-se que as dimensões do rebordo são extremamente importantes, pois é mais vantajoso preservar a dimensão do mesmo pós-exodontia em vez de reconstruí-lo depois. Assim a manutenção de suas dimensões vertical e horizontal ideais diminuindo a morbidade para o paciente (14). Portanto, técnicas que assegurem conjunto com a colocação de implantes dentários, parecem ser essenciais em manter suas estruturas, otimizando o sucesso da reabilitação estética e funcional (12).

Vários estudos têm sido realizados sugerindo métodos para facilitar a formação óssea em alvéolos de dentes recém-extraídos, minimizando dessa forma a perda de altura e espessura do vestibulo lingual (22). Estes estudos com regeneração óssea guiada com ou sem material de enxerto (4), enxertos com substituto ósseo (14), plasma rico em fatores de crescimento (3), colocação imediata de implantes em alvéolos pós-exodontias, está com resultados controversos (8).

A regeneração óssea guiada foi introduzida como uma terapêutica que busca a nova formação do tecido ósseo reabsorvido através do uso de membranas (11).

A definição de regeneração óssea guiada foi elaborada com base no princípio da regeneração tecidual guiada, onde certos tecidos se regeneram quando células com esta capacidade povoam o defeito durante o reparo, sendo assim a exclusão mecânica do tecido mole permite que células osteogênicas estimulem a formação de tecido ósseo (10).

As membranas comumente são confeccionadas por materiais classificados em reabsorvíveis e não reabsorvíveis, independentemente disto, estas devem apresentar biocompatibilidade, semipermeabilidade clínica e capacidade de manutenção do espaço. Apesar das membranas não reabsorvíveis serem mais utilizadas para a regeneração óssea, o fato de requerer uma segunda intervenção cirúrgica levou o desenvolvimento de materiais reabsorvíveis. Mas,



o tempo para degradação dos diferentes materiais é difícil de ser controlado, o que pode comprometer a cicatrização e o processo de regeneração, assim, a membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFEe) ainda é vista como o padrão ouro e, portanto, os novos materiais deveriam ter os seus resultados comparados aos do PTFEe (13).

As membranas não reabsorvíveis podem ser constituídas por politetrafluoretileno expandido (PTFEe), PTFEe reforçado com titânio, PTFEe de alta densidade ou malhas de titânio (6, 16) e as de polipropileno (25).

Membranas de polipropileno em forma de tela são utilizadas em Medicina e esse material é considerado biocompatível, sem consequências deletérias ao organismo. Seu uso na cavidade oral contribui para estabilizar o coágulo e regenerar o rebordo alveolar pós-exodontia (24).

O objetivo do artigo é avaliar um novo tipo de membrana (celulose impregnada em doxiciclina) como alternativa na melhora do prognóstico pós-operatório da estrutura óssea

Material e Método

• Seleção da Amostra

Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos para pesquisas em animais, conforme parecer aprovado pelo Comitê de Ética em Animais da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Para a realização deste estudo, foram selecionados 48 ratos (*Rattus norvegicus*, *Albinus*, *Wistar*) machos, com peso entre 180 e 200 gramas, e idade variando entre 50 e 70 dias, provenientes do biotério geral da Universidade do Sul de Santa Catarina - Campus Tubarão. Estes foram mantidos em gaiolas individuais semimetabólicas em condições controladas de iluminação (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (21° a 25°C) e alimentados com ração sólida balanceada.

Estes animais foram divididos em quatro grupos. Os três primeiros grupos foram submetidos à cirurgia de exodontia seguida de regeneração óssea guiada em alvéolo de dente recém-extraído, pelo uso de membranas. O grupo controle foi submetido à cirurgia de exodontia pelo método convencional, ou seja, sem uso de membranas.

O quadro I apresenta as membranas utilizadas no presente estudo. Duas são produtos comercializados e uma desenvolvida nos laboratórios de química industrial da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL).

Quadro I. Descritivo dos grupos e membranas utilizadas no estudo

Grupo	Fabricante	Composição básica
1 (GCD)	Teste (Unisul)	celulose impregnada em doxiciclina
2 (GP)	INP (Bone heal)	Polipropileno
3 (GT)	Gore-tex (PTFE)	Teflon

Para a membrana de celulose (teste) utilizaram-se os seguintes materiais: Acetato de celulose butirato (ACB) (*AldrichChemistry*), policaprolactona-triol (PCL-T) (*AldrichChemical*), doxiciclina (Dx) (Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.).

O processo de obtenção destas membranas seguiu as recomendações de MARQUES & KANIS (2011) (19). As proporções de ACB/PCL-T/Dx (8:2:1), as quais foram solubilizadas em 20 mL de acetona, a temperatura ambiente. Após a dissolução total, a solução foi vertida sobre placa petri e essas foram colocadas em capela de fluxo sob temperatura ambiente para a evaporação total do solvente até a formação da membrana.

Já as membranas controle Teflon (Gore-tex PTFE) e Polipropileno (INP, Bone heal) são produtos comerciais e foram cedidas pelos fabricantes para o presente estudo.

• Procedimentos Cirúrgicos

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos inicialmente anestesiaram-se os animais com quetamina mais cloridrato de xilazina a 2%. A via de administração foi intraperitoneal e a dosagem 0,3 ml para cada 100 gramas de peso corporal. Utilizou-se também anestésias locais infiltrativas de Mepivacaína 2% com epinefrina 1:100000, com finalidades hemostáticas e para melhor manipulação dos ratos, estes foram sedados pela inalação de éter sulfúrico.

Após a antisepsia, extraíram-se os incisivos superiores direito de cada um dos animais. Para tal utilizou-se uma alavanca reta especialmente desenvolvida para aplicação nos animais. Ato contínuo a exodontia, os alvéolos dos dentes extraídos foram curetados e lavados com soro fisiológico. Independentemente do grupo a que pertencia, a sutura foi feita com fio de nylon 5,0 de agulha de secção triangular de 1,5 cm.

Excetuando-se o grupo controle, onde se procedeu apenas a sutura dos bordos gengivais, cada animal de acordo com o grupo a que pertenciam, teve a área cirúrgica recoberta pela membrana selecionada, junto ao periósteo.

No grupo onde estava prevista a antibioticoterapia, os animais receberam penicilina, na dosagem 0,2 ml para cada 100 gramas de peso corporal.

No pós-operatório imediato, foi utilizado antibiótico sistêmico, intramuscular, Pentabiótico (0,5ml/kg).

• Preparo das Amostras

Após 30 dias dos procedimentos cirúrgicos experimentais, os animais foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico mais pentobarbital sódico a 3%, na dose 150 mg/kg, por via intraperitoneal, sendo os quatro grupos sacrificados em um mesmo período. Os animais foram decapitados e as mandíbulas separadas das maxilas, em seguida, com auxílio de uma lanceta, separou-se a maxila esquerda da maxila direita, realizando uma incisão na altura do plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar. Um corte com tesoura reta foi realizado, tangenciando a face distal dos molares, com a finalidade de obter o alvéolo experimental e suas estruturas anexas.

A seguir, as amostras foram descalcificadas por quatro dias em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 30%, lavadas por 24 horas em água corrente, desidratadas, diafanizadas. Incluiu-se em parafina de maneira a permitir cortes seriados longitudinais no sentido vestibulo-lingual. Corou-se com hematoxilina-eosina.

Removeram-se as amostras das áreas cirúrgicas em blocos (alvéolo e tecidos circunvizinhos moles e duros). A seguir, as amostras foram descalcificadas por quatro dias em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 30%, lavadas por 24 horas em água corrente, desidratadas, diafanizadas. Incluíram-se os blocos em parafina, posicionados de maneira a permitir cortes longitudinais de 6 µm de espessura, os quais foram corados por hematoxilina-eosina (HE). Foram obtidas 108 lâminas com três cortes cada uma.

• Análise Histomorfométrica

Para análise histométrica, foi selecionada uma imagem de cada animal (corte central). Com auxílio de uma lupa Carl Zeis Stemi DV4 sob aumento de 8 vezes, a qual acoplou-se uma câmera digital (Canon EOS Rebell), capturou-se uma imagem de cada lamina selecionada.

Estas imagens foram levadas a um computador e inseridas num software chamado "Image J®" (Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA), onde se mensurou a maior profundidade de tecido conjuntivo invaginado nos alvéolos, a partir da crista óssea alveolar (figura 1).

Os resultados relativos à maior profundidade de penetração de infiltrado conjuntivo medido, a partir da crista óssea alveolar, foram dispostos em uma planilha excell e analisados estatisticamente pelo teste Anova *one way* e ao teste Tuckey para comparações entre os grupos, ao nível de significância de 5%.

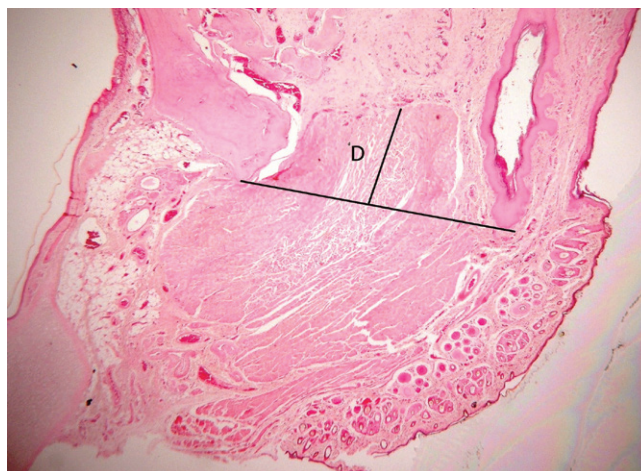


Figura 1. Desenho esquemático representativo de como foram realizadas as mensurações para comparação entre os grupos (D = comprimento em mm da maior profundidade encontrada)

Resultados

Os resultados relativos à média dos grupos pesquisados estão dispostos na tabela I. Nela pode-se observar que apesar da redução nas médias de infiltração tecidual ocorrida em todas as membranas testadas, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos.

Tabela I. Representativa das médias e desvios-padrões dos resultados obtidos em cada grupo e do valor de significância para análise estatística aplicada

Grupo	GCD	GP	GT	GC
Mean	1,57	1,67	1,42	2,67
Std. Deviation	0,55	1,33	0,38	1,85
Anova one way p value			0,0856	

A tabela II apresenta todos os valores mensurados em cada grupo, de onde se obteve as medias apresentadas na tabela I.

Tabela II. Representativa dos valores de profundidade de invaginação de tecido conjuntivo por amostra avaliada. Obs.: nd – amostra perdida, onde houve perda dos animais no pós-operatório

Controle	Polipropileno	Doxiciclina	Teflon
1,484	1,03	1,156	0,59
4,746	3,5	1,413	2,09
2,95	1,9	1,575	1,09
2,238	1,3	1,033	2,16
1,879	2,9	1,231	1,8
1,939	0	3,196	1,4
1,084	0,3	1,38	0,8
4,939	2,4	Nd	Nd
2,727	1,7	Nd	Nd

Discussão

Manter a arquitetura do rebordo alveolar é fundamental para uma reabilitação satisfatória, seja no aspecto funcional e/ou estético. A regeneração óssea guiada tem sido sugerida como alternativa para manter o osso alveolar, após a exodontia. Esta se baseia na seleção tecidual na área do reparo. A utilização de barreiras mecânicas tais como as membranas, parece favorecer este processo.

A tabela I apresenta o desempenho de três tipos de membranas quanto ao controle de invaginação tecidual para o interior do alvéolo pós-exodontia. Nela pode-se observar que apesar de não haver significância estatística, um comportamento mais favorável, com medias de infiltração menor, foi obtido para qualquer um dos tipos de membrana testados. Estes resultados são corroborados por diversos autores (7, 24).

Outro detalhe a ser observado na tabela I diz respeito ao comportamento uniforme quanto ao desempenho das membranas pesquisadas. Atualmente existem diversos tipos de membranas disponíveis no mercado. As mais utilizadas e que servem como padrão de referência são as não reabsorvíveis, mais especificamente teflon (PTFE) e polipropileno. Razão pela qual foram avaliadas no presente estudo.

Além destas, utilizaram-se membranas de celulose impregnadas com antibiótico tipo doxiciclina, desenvolvidas no laboratório de tecnologia farmacêutica. A composição básica desta membrana é de acetato de celulose butirato (70%) e policatrolactona-triol (30%), o que confere além da resistência mecânica, adequada tolerância biológica, características manipulatórias e econômicas extremamente interessantes.

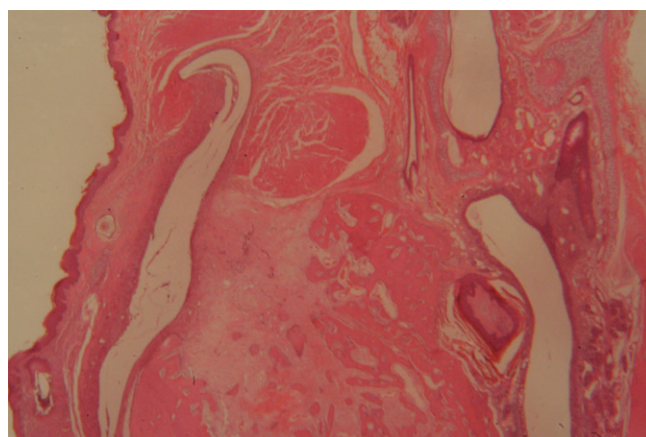


Figura 2. Lâmina obtida de corte dos alvéolos de ratos submetidos à exodontia e recobrimento do alvéolo com membranas de celulose impregnada em doxiciclina

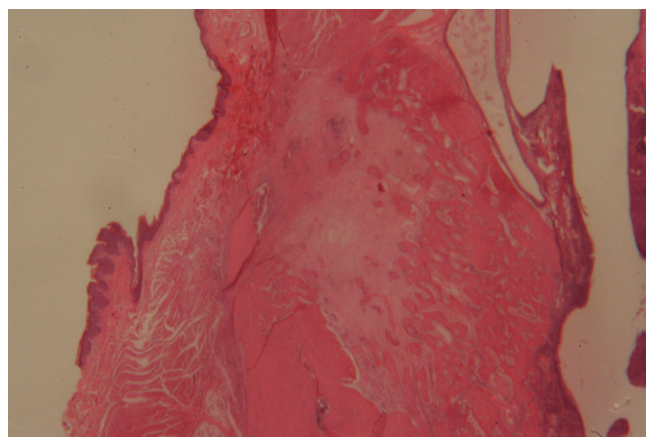


Figura 3. Lâmina obtida de corte dos alvéolos de ratos submetidos à exodontia e recobrimento do alvéolo com membranas de polipropileno

No caso destas membranas impregnou-se antibiótico do tipo doxiciclina, isto se deveu ao fato de que em estudos prévios observou-se a manutenção das propriedades além da redução do processo inflamatório no entorno da membrana e a consequente diminuição da colonização bacteriana sobre a mesma.

A escolha por este antibiótico, o qual é um derivado sintético da tetraciclina, deveu-se ao fato de sua compatibilidade com a celulose permitindo sua difusão através da mesma. Além disto, estes medicamentos possuem um amplo espectro de ação e atuam contra micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos, gram-positivos e gram-negativos, os quais colonizam frequentemente a cavidade bucal (9).

Pesquisas em animais, como o presente estudo, apresentam limitações. Entretanto, o uso de animais como os ratos tem como vantagens fácil manipulação, baixo custo e uma resposta tecidual baixa e eficiente. Especialmente quando se trabalha nas regiões crânio-mandibulares, assim sendo, inúmeros trabalhos sobre cicatrização e reparação de tecidos ósseos utilizam ratos como modelo experimental (20).

Apesar de nossos resultados apontarem na direção de que o uso de membranas pode trazer resultados positivos ao reparo ósseo, estes devem ser vistos com ponderação. Onde se deve considerar as limitações do presente estudo e direcionar-se pesquisas no sentido de solucionar as dúvidas que permanecem a respeito do assunto.

Neste caso pode-se relacionar desde dúvidas quanto ao tipo ideal de membrana, objeto de nosso estudo, quanto a melhoramentos da composição das existentes, tais como a impregnação com produtos medicamentosos que facilitem o processo cicatricial ou até a definição da melhor técnica de aplicação.

A impregnação das membranas com produtos medicamentosos é uma proposta nova que este estudo apresenta. No caso foi adicionado um antibiótico, mas sugere-se que outros produtos sejam avaliados, tais como: antissépticos, analgésicos, anti-inflamatórios entre outros.

Especificamente, quanto à técnica de aplicação, cabe destacar a pertinente discussão na literatura sobre onde deve ser posicionada a membrana. No presente estudo, a membrana ficou totalmente submersa no tecido conjuntivo, fixada junto ao periósteo, seguindo o recomendado por LUNDGREN *et al.* (1998) (19), que sugerem o recobrimento total por tecido mole, onde reduzir-se-á a contaminação

bacteriana, principalmente aquela resultante do acúmulo de placa sobre a membrana.

Entretanto, autores como BARBOZA (2010) (5), SALOMÃO (2009) (24) e BARTEE (2001) (6) relatam que as membranas podem ficar intencionalmente expostas ao meio bucal sem consequências deletérias no reparo.

Preferencialmente, estudos com modelo de ensaios clínicos randomizados devem ser conduzidos de maneira a solucionar estes questionamentos *in vivo*. Avaliando-se desde a resposta inflamatória dos tecidos adjacentes até a melhor técnica de aplicação clínica. Resolvendo dúvidas quanto ao sítio de colocação da membrana (exposta ou não ao meio bucal) e a maneira de estabilizar-se a mesma sobre o alvéolo.

Conclusão

De acordo com a metodologia aplicada pode-se concluir que: todas as membranas apresentaram um comportamento semelhante, onde se observou uma tendência de redução da profundidade de infiltração de tecido conjuntivo. Neste caso destaque-se o menor grau de infiltração observado no grupo das membranas de teflon. 

Referências Bibliográficas

1. ARAÚJO, M. G., LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* 2005; 32 (2): 212-8.
2. ARAÚJO, M. G., LINDHE, J. Ridge following tooth extraction with and without flap elevation: na experimental study in the dog. *Clin. Oral Implants Res.* 2009; 20 (6): 545-9.
3. ANITUA, E. Plasma rich em growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 1999; 14 (4): 529-35.
4. BARONE, A., ALDINI, N. N., FINI, M. *et al.* Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal; a clinical and histomorphometric study. *Journal of Periodontology.* 2008; 79: 1370-77.
5. BARBOZA, E. P., STULTZ, B., FERREIRA, V. F. *et al.* Guided bone regeneration using nonexpanded polytetrafluoroethylene membranes in preparation for dental implant placements-A report of 420 cases. *Implant Dent.* 2010; 19 (1): 2-5.
6. BARTEE, B. K. Extraction site reconstruction for alveolar ridge preservation. Part 1: rationale and materials selection. *J. Oral Implantol.* 2001; 27 (4): 187-93.
7. BECKER, T. A., ARANEGA, A. M., ESTEVES, J. C. *et al.* Análise histomorfométrica do reparo ósseo de cavidades recobertas por membranas ósseas homogênea ou bovina liofilizada em tibia de ratos. 2008.
8. BOTTICELLI, D., RENZI, A., LINDHE, J. *et al.* Implants in fresh extraction sockets: a prospective 5-year follow-up clinical study. *Clin. Oral Implants Res.* 2008; 19: 1226-32.
9. BORGES, D. C. Análise microbiológica in vitro da dispersão de doxiciclina impregnada em membranas absorvíveis utilizadas nos procedimentos regenerativos periodontais e implantares. Dissertação de mestrado. Uberlândia: Mestrado em Área de Concentração em Reabilitação Oral - Universidade Federal de Uberlândia; 2008. 83 f.
10. BOYNE, P. J. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1966; 21 (6): 805-13.
11. DAHLIN, C., LINDE, A., GOTTLÖW, J. *et al.* Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.* 1988; 81 (5): 672-6.
12. DARBY, I., CHEN, S. T., BUSER, D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2009; 24 (Suppl.): 260-71.
13. HAMMERLE, C. H., JUNG, R. E. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol.* 2000. 2003; 33: 36-53.
14. IASELLA, J. M., GREENWELL, H., MILLER, R. L. *et al.* Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J. Periodontol.* 2003; 74 (7): 990-9.
15. JAHANGIRI, L., DEVLIN, H., TING, K. *et al.* Current perspectives in residual ridge remodeling and its clinical implications: A review. *J. Prosthet. Dent.* 1998; 80 (2): 224-37.
16. JOVANOVIĆ, S. A., NEVINS, M. Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 1995; 15 (1): 56-69.
17. LEKOVIC, V., CAMARGO, P. M., KLOKKEVOLD, P. R. *et al.* Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J. Periodontol.* 1998; 69 (9): 1044-9.
18. LUNDGREEN, A. K., SENNERBY, L., LUNDGREEN, D. Guided jaw-bone regeneration using na experimental rabbit model. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1998; 27: 135-40.
19. MARQUES, M. S., KANIS, L. A. Caracterização de membranas de acetato de celulose butirato/policaprolactona-triol/doxiciclina para regeneração óssea guiada. Monografia. Tubarão: Curso em Farmácia - Universidade do Sul de Santa Catarina; 2011.
20. NANAMI, R., LEONARDI, P. D., DELIBERADOR, T. M. *et al.* Aplicação de membrana experimental de PTFE em defeito cirúrgico periodontal de ratos. *J. Health Sci. Inst.* 2011; 29 (4): 239-42.
21. NEVINS, M. L., KARIMBUX, N. Y., WEBER, H. P. *et al.* Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2002; 13 (5): 249-57.
22. PELEGRINE, A. A., COSTA, C. E. S., CORREA, M. E. P. *et al.* Clinical and histomorphometric evaluation of extraction sockets treated with an autologous bone marrow graft. *Clin. Oral Impl. Res.* 2010; 21 (5): 535-42.
23. PROFF, P., BAYERLEIN, T., FANGHANEL, J. *et al.* The application of bone graft substitutes for alveolar ridge preservation after orthodontic extractions and for augmentation of residual cleft defects. *Folia Morphol (Warsz)*. 2006; 65 (1): 81-3.
24. SALOMÃO, M., SIQUEIRA, J. T. T. Uso de barreira de polipropileno pós-exodontia. Relato de três casos clínicos. *Rev. Bras. Implant.* 2009; 12 (5): 12-5.
25. SALOMÃO, M., ALVAREZ, F. K., SIQUEIRA, J. T. T. Regeneração óssea guiada em defeitos extensos pós-exodontias utilizando membrana exposta ao meio bucal. *Implant News.* 2010; 7 (6): 753-9.
26. YILMAZ, S., EFEOGLU, E., KILIC, A. R. Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *J. Clin. Periodontol.* 1988; 25 (10): 832-9.

Recebido em: 26/04/2013 / Aprovado em: 29/05/2013

Humberto Nesi

Rua Recife, 795/601 - Vila Moema - Tubarão

Santa Catarina/SC, Brasil - CEP: 88705-720

E-mail: humberto.nesi@unisul.br