

Aplicação de membrana experimental de PTFE em defeito cirúrgico periodontal de ratos

Experimental PTFE membrane in a surgically periodontal defect in rats

Roberto Nanami¹, Denise Piotto Leonardi¹, Tatiana Miranda Deliberador¹, Lucienne Miranda Ulbrich¹, João César Zielak¹, Allan Fernando Giovanini¹

¹Mestrado Profissional em Odontologia Clínica da Universidade Positivo, Curitiba-PR, Brasil.

Resumo

Objetivo – Avaliar a influência do uso de membrana alternativa de PTFE (politetrafluoretileno) na regeneração tecidual guiada em defeitos periodontais de ratos. **Métodos** – Foram utilizados 20 ratos, machos, divididos em grupos controle e teste. Foi criado um defeito ósseo em mandíbula no periodonto de suporte do incisivo inferior direito. O grupo teste recebeu a membrana de PTFE; o grupo controle foi preenchido por coágulo. Os resultados foram avaliados por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, aos 7 e 21 dias. **Resultados** – Ocorreu neoformação óssea parcial em todos os casos analisados; no grupo teste ocorreu separação entre a membrana e os tecidos circundantes, e houve diferença no sentido tanto das fibras colágenas quanto da deposição óssea. **Conclusão** – A membrana experimental de teflon foi eficaz como barreira física e separou o ambiente do defeito da mucosa e submucosa; no entanto, alterou a biologia do reparo, mudando o padrão de deposição de matriz óssea em relação à fisiologia normal.

Descritores: Regeneração óssea; Regeneração tecidual guiada; Politetrafluoretileno

Abstract

Objective – To assess the influence of an experimental PTFE membrane in guided tissue regeneration in rats. **Methods** – Twenty male rats were divided in control and test groups. A surgical defect was created in the mandible, at the periodontium of the right lower incisor. The test group received the PTFE membrane and in the control group the defect was filled with blood clot. The results were assessed by light microscopy and scanning electron microscopy at 7 and 21 days. **Results** – Partial bone neoformation was shown in all cases; in the test group it did not joined the surrounding tissues. There was a microscopic difference between the groups regarding the direction of the collagen fibers and osseous neoformation. **Conclusion** – The experimental PTFE membrane worked efficiently as a physical barrier, separating the defect environment from the mucosa and submucosa; however it changed the repair biology and the pattern of bone matrix deposition in relation to the normal physiology.

Descriptors: Bone regeneration; Guided tissue regeneration; Polytetrafluoroethylene

Introdução

O uso de barreiras físicas à base de materiais aloplásticos visa constituir um ambiente impermeável à migração de células indesejáveis que possam comprometer o reparo ósseo.

Regeneração tecidual guiada (RTG) pode ser definida como um tratamento para defeitos ósseos em periodonto de inserção e proteção por meio de barreira física ou membrana sobre o defeito periodontal¹. Com isso, objetiva-se proteger o tecido perirradicular, impedindo que células epiteliais e conjuntivas da lâmina própria entrem em contato com a superfície radicular dentária e impeça o usual reparo do periodonto de inserção²⁻⁴.

As membranas utilizadas para a realização da RTG podem ser classificadas em não absorvíveis ou absorvíveis. As membranas não-absorvíveis de maior utilização em procedimentos regenerativos são de celulose ou de PTFE (teflon expandido). Idealmente, uma membrana deve ser biocompatível, inerte, semipermeável, mecanicamente resistente, esterilizável, não alergênica e não carcinogênica. A ausência de uma ou mais características ideais do material escolhido, pode ser a razão para o desempenho insatisfatório na regeneração de defeitos periodontais⁵⁻¹⁰.

O politetrafluoretileno expandido (PTFE) é uma membrana não absorvível, inerte, que não desencadeia reação inflamatória a corpo estranho, resistente à autoclavagem, insolúvel a grande gama de solventes enzimáticos, resistente ao ataque químico, com módulo de elasticidade semelhante ao tecido fibroso e ósseo. Contudo, sua principal desvantagem é a necessidade de realização de dois tempos cirúrgicos, uma vez que este material precisa ser removido¹¹⁻¹².

Na literatura existem diversos estudos experimentais com o PTFE como barreira física. As membranas de PTFE foram testadas em fur-

cas, implantes subcutâneos, esqueleto craniofacial¹³⁻¹⁵. Os resultados mostraram, respectivamente, semelhança na cicatrização fisiológica e com PTFE, presença de encapsulamento fibroso ao redor da membrana, e maior formação óssea com uso de PTFE.

Alguns autores¹⁶⁻¹⁷ trabalharam com uma membrana alternativa de teflon (PTFE), e relataram que a mesma possuía um potencial de neoformação óssea, porém apresentou intenso processo inflamatório e formação de cápsula fibrosa ao redor do material. Por outro lado, um estudo comparativo¹⁸ apresentou regeneração óssea completa em mais de 80% dos espécimes.

O objetivo deste trabalho foi analisar histologicamente, por microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), a ação de membrana alternativa de teflon no reparo ósseo de defeitos periodontais cirúrgicos não-críticos em mandíbula de ratos.

Métodos

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Positivo sob número 203/2007.

O estudo foi realizado em 20 ratos machos, Wistar, de peso entre 450 e 500 gramas, com 4 meses de vida. Para o delineamento do estudo, os animais foram divididos em grupos, sendo (1) grupo controle - sem utilização de membrana e (2) grupo teste - com utilização de membrana. Os tempos experimentais foram de 7 e 21 dias pós-operatórios, com 5 animais por grupo.

Os procedimentos cirúrgicos seguiram o Protocolo de Biossegurança da Universidade Positivo. A anestesia foi realizada por sedação inalatória com halotano durante 2 minutos seguida de injeção intraperitoneal com quetamina (40 mg/Kg) e xilazina (5 mg/Kg). Uma incisão linear de um centímetro de comprimento foi realizada no lado direito da mandíbula, 5 milímetros

abaixo da região cérvico-distal do incisivo inferior até a região medial do forame mentoniano. Os tecidos moles foram devidamente afastados.

O defeito ósseo foi criado no processo alveolar distal ao incisivo inferior para exposição e sangramento do ligamento periodontal. Para tal, foi utilizada broca esférica carbide multilaminada de 3 mm de diâmetro (Antilope, Suíça), em baixa rotação (Dentec-405N, Brasil), sob irrigação e aspiração constantes, segundo protocolo previamente descrito. Em seguida, a região do defeito foi coberta com uma membrana de PTFE (Tigre, Joinville, Santa Catarina, Brasil), e o tecido mole foi suturado com fio de seda preta trançada 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil).

No pós-operatório foi administrado morfina, na dosagem de 0.1-0.25 mg/Kg, por via intramuscular, a cada 12 horas, por 24 horas. Paracetamol (gotas) na dosagem de 0,4 mg/ml foi adicionado à água dos animais por 1 semana. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com alimentação e água à vontade, durante todo o período experimental.

A eutanásia dos animais foi realizada aos 7 e 21 dias, em câmara de gás por meio de inalação de CO₂, conforme protocolo do Biotério da Universidade Positivo.

Para a remoção das peças, as mandíbulas foram seccionadas na linha média e as hemimandíbulas selecionadas removidas da articulação. As peças cirúrgicas foram fixadas em uma solução de Karnovsky modificado (0,03 de glutaraldeído em tampão 0,1 M cacodilato de sódio) por 48 horas. Após a fixação, promoveu-se a remoção dos tecidos moles, lavagem em água corrente e colocação em tubos de incubação com solução quelante para descalcificação – ácido fórmico 20%, a 37° C, em mesa agitadora acoplada ao pHmetro. O tempo de descalcificação foi de 5 dias. Em seguida, a região do defeito foi hemisseccionada com o auxílio de uma lupa. A região proximal foi corada com hematoxilina e eosina (HE) e encaminhada para análises em microscopia de luz (ML); a região posterior para microscopia eletrônica de varredura (MEV) (XL30, Philips, Holanda).

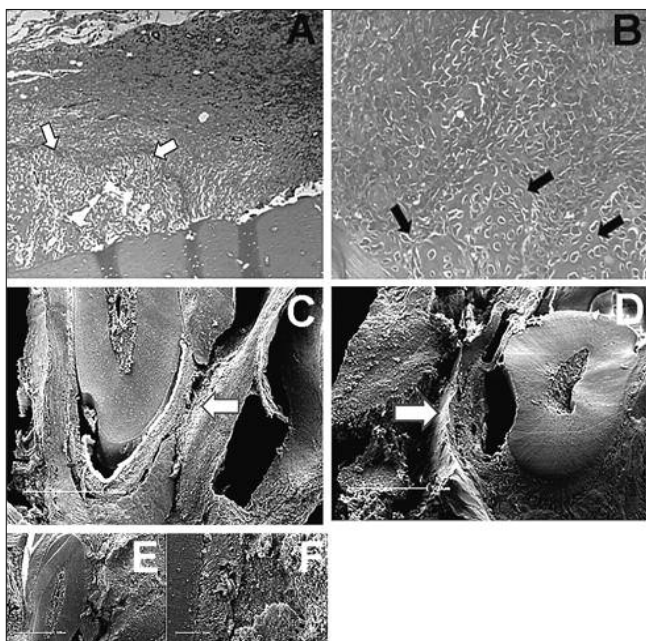


Figura 1. A – controle 7 dias: área de defeito com deposição inicial de tecido mineralizado (setas) (ML, HE, magnificação original 40x); B – controle 7 dias: área de defeito com intensa deposição de tecido ósseo (seta) e presença de osteoblastos (ML, HE, magnificação original 100x); C – controle 7 dias: área de defeito com tecido fibroso não modelado (seta), íntima comunicação entre leito cirúrgico e tecido da submucosa, discreta deposição de mineral nas bordas do defeito (MEV); D – teste 7 dias: membrana separando área de leito cirúrgico (seta) e submucosa (MEV); E – controle 7 dias: preenchimento do defeito com tecido cicatricial (seta) (MEV); F – fibras oblíquas na região do ligamento e reticulares na região do reparo ósseo (MEV)

Resultados

Grupo controle

Aos 7 dias apresentou, na ML (Figura 1A), um tecido de granulação com processo inflamatório crônico linfoplasmocitário e áreas de tecido osteóide, com a organização perpendicular de fibras em relação à superfície radicular. Na MEV, observou-se preenchimento por tecido cicatricial, com nítida distinção entre as áreas da inserção do ligamento periodontal e do reparo ósseo. O tecido ósseo foi aposto em camadas, com fibras dispostas de forma reticular. Na região de ligamento periodontal verificou-se uma organização das fibras semelhante à organização ligamentar original (Figura 1C, 1E e 1F).

Aos 21 dias, sob análise de ML (Figura 2A), verificou-se em 40% o fechamento ósseo do defeito quase total, com reparo ósseo em direção centrípeta. Notou-se ainda a presença de tecido reparador composto por processo inflamatório crônico difuso, em todos os cortes analisados. Por MEV, pode-se observar que o reparo ósseo ocorreu a partir das bordas do defeito, e à medida que a nova matriz óssea foi sendo depositada, ocorreu também a reinserção do ligamento periodontal (Figura 2C).

Grupo teste

Aos 7 dias, apresentou, sob ML, intenso processo inflamatório crônico granulomatoso circundando a membrana alternativa de PTFE. Na região interna do defeito, proliferação osteoblástica evidente com matriz osteóide circundante foi observada em permeio a intenso tecido de granulação (Figura 1B). Na região voltada para a porção gengival (epitelial) da película de teflon identificou-se processo inflamatório crônico inespecífico e tecido granulomatoso composto por inúmeras células gigantes de corpo estranho em íntimo contato com a membrana de PTFE. Em MEV, a membrana mostrou-se íntegra; a deposição das camadas de tecido cicatricial ocorreu paralela e aposicionalmente a partir da membrana. Na região interna do defeito foi verificada a proliferação de fibras colágenas de forma difusa (Figura 1D).

Aos 21 dias, em ML, foi verificado tecido ósseo presente no leito cirúrgico, sem a inserção perpendicular de fibras na superfície radicular, discreto processo crônico de granulação e exuberante processo granulomatoso próximo à superfície da membrana (Figura 2B). Sob MEV, os aspectos ultraestruturais foram muito semelhantes aos da

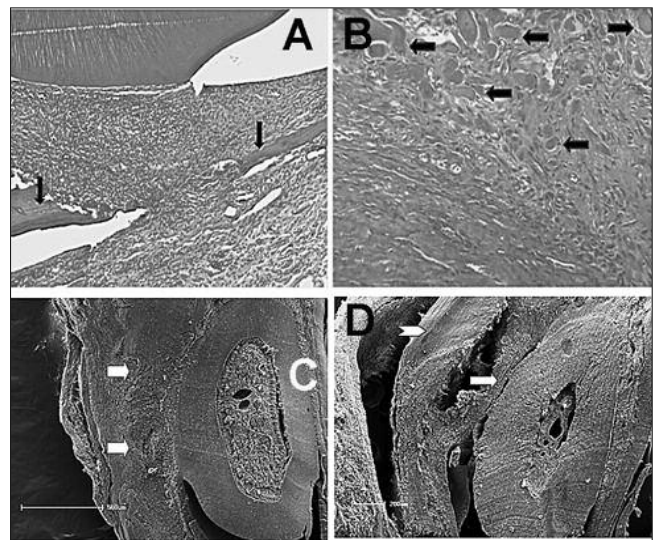


Figura 2. A – controle 21 dias: tecido de granulação, áreas de finas deposições ósseas (setas), sem o preenchimento completo do defeito. (ML, HE, magnificação original 40x); B – tecido conjuntivo denso, deposição de matriz mineral (setas) mimetizando ossificação intramembranosa. (ML, HE, magnificação original 100x); C – controle 21 dias: tecido de granulação, áreas de fino trabeculado ósseo (setas), sem preenchimento completo do defeito; D – teste 21 dias: fibras paralelas à superfície radicular (seta menor), e deposição óssea adjacente à parte interna da película (seta maior)

primeira semana, no entanto, uma deposição óssea internamente à membrana foi verificada, em aposição paralela à mesma (Figura 2D).

Discussão

Pesquisas envolvendo animais de laboratório são muito utilizadas uma vez que, diferentemente das pesquisas *in vitro*, fornecem informações relevantes para o debate sobre a eficiência ou ineficiência de possíveis biomateriais, além de simular a ação destes dentro de organismos vivos. A escolha de ratos como um modelo experimental tem como vantagens a fácil manipulação, o baixo custo, e uma resposta tecidual rápida e eficiente, especialmente quando se trabalha nas regiões crânio-mandibulares. Assim sendo, inúmeros trabalhos sobre cicatrização e ação reparadora de defeitos ósseos periodontais utilizaram ratos como modelo experimental¹⁹⁻²².

Neste estudo, por meio da utilização de uma broca esférica de 3 mm de diâmetro realizou-se um defeito cirúrgico intrabuca, de forma circular em osso, com comprometimento do ligamento periodontal e da superfície cemento-radicular, mimetizando um verdadeiro defeito periodontal^{16,23-24}. O modelo utilizado aqui não apresentou características de defeito crítico, o que pode diferir de um defeito que não se repara sem enxerto, por exemplo. No entanto, o modelo aqui apresentado simulou ao máximo uma situação clínica, em que o acesso é predominantemente intrabuca. Além disto, as funções normais de mastigação do animal não foram comprometidas, e juntamente com a salivação podem se constituir em fatores de influência importante no estudo do reparo ósseo/periodontal do complexo maxilo-mandibular¹⁹.

Alguns autores preconizam o uso de membranas absorvíveis para tratamento de defeitos periodontais²⁵⁻²⁶, destacando-se o aspecto de que estas barreiras não necessitam de um segundo procedimento cirúrgico para sua remoção. Por outro lado, algumas características da membrana alternativa de PTFE não-absorvível, como a propriedade de antiaderência, dificilmente podem ser reproduzidas em membranas absorvíveis.

Os resultados apresentados revelaram diferenças importantes entre grupos teste e controle no que se refere à deposição óssea. Enquanto no grupo controle ocorreu uma deposição fina e progressiva, perpendicular à raiz, com fechamento quase completo em 21 dias em alguns casos, o grupo teste demonstrou a presença de deposição de matriz óssea de maior espessura, paralela e aderida à membrana, porém com atraso no fechamento completo do defeito realizado.

Assim, o atual resultado pode ser comparado ao estudo¹⁸ que observou área de defeito com formação de osso incompleta no grupo de PTFE, em experimento também realizado em ratos. Devido à diferente metodologia para avaliação do ganho ósseo e dos tempos experimentais, não foi possível fazer uma comparação direta entre os resultados destes estudos.

Estudos similares^{1,27-28} revelaram que os defeitos do grupo controle apresentaram uma regeneração incompleta, e sua cicatrização limitou-se à formação de um capuz ósseo na base do defeito. Foi relatado²⁷, também, que esse capuz ósseo poderia selar as aberturas dos espaços medulares que foram expostas cirurgicamente no momento da criação do defeito, fato que poderia explicar a fina deposição de tecido ósseo no grupo controle.

Um fato importante e que também auxiliaria na diferença da aposição óssea, poderia ser atribuída à interação entre a membrana de PTFE e o conteúdo celular osteoblástico. Uma das hipóteses sugere que o grau de porosidade da membrana é um fator que pode influenciar na presença de tecido conjuntivo interposto entre o osso e a própria membrana. Os poros e irregularidades na porção externa da membrana poderiam permitir a passagem e adesão de células e de pequenos vasos, enquanto a porção central da mesma possui propriedades oclusivas, impedindo desta forma a invasão de células do tecido conjuntivo. Essa assertiva torna-se verossímil à medida que em alguns sítios encontram-se fragmentos mineralizados no interior dos poros da membrana, ou mesmo em regiões em que ocorre algum defeito na mesma²⁷. Segundo os resultados deste trabalho a membrana alternativa de PTFE funcionou como barreira física impermeável às células epiteliais e conjuntivas.

Pode-se sugerir também que a interação entre a película de PTFE e o conteúdo celular conjuntivo osteoblástico poderiam ocorrer pela quantidade de flúor contido na molécula do teflon. Essas ligações covalentes são extremamente estáveis e muito difíceis de serem rompidas, contudo a presença de flúor na molécula polimérica poderia desencadear uma interação intermolecular por pontes de hidrogênio, entre o polímero e as moléculas hidrogenadas da membrana das células conjuntivas, favorecendo assim a quimiotaxia e íntima adesão entre o conteúdo celular e o PTFE, similar ao fato que ocorre no processo laboratorial de cultivo celular *in vitro*^{5,16}.

Esta hipótese poderia contribuir não só para o desencadeamento da interação PTFE-osteoblasto, mas também para modificações entre teflon e fibroblastos, resultando, conseqüentemente, na alteração da disposição de fibras colágenas, impedindo desta forma a reconstituição de fibras de inserção periodontal. Esse fato ajudaria a explicar a intensa deposição de fibras colágenas de forma axial à membrana. Possivelmente também, isto potencializou o efeito da fibrose frente à reação de corpo estranho desencadeado pela PTFE, apresentada aqui pela inflamação granulosa que ocorreu apenas no grupo teste. A reação fibrótica que encapsulou a membrana foi demonstrada previamente em outros estudos¹⁶⁻¹⁷.

Outra característica a ser observada refere-se à espessura das membranas. Estas devem ser da ordem de 0,2 mm quando secas e de 0,4 mm quando úmidas. Devem ser semipermeáveis contendo poros de aproximadamente 0,004 mm. Este diâmetro é importante pois impede o trespasse de células epiteliais e conjuntivas, mas permitem a permeabilidade de nutrientes, moléculas e íons que constituem fatores essenciais para a neoformação óssea²⁹. A membrana de PTFE utilizada neste estudo, de 0,4 mm de espessura, agiu como barreira física por ser um material antiaderente. Além disto, ao criar separação entre a raiz e a crista óssea alveolar, modificou o padrão de deposição de matriz óssea. Na região próxima ao osso alveolar, a deposição de novo osso foi paralela à membrana, enquanto que na região próxima à raiz, a deposição seguiu o padrão fisiológico de fibras perpendiculares ao cemento.

Conclusão

Com base nos parâmetros metodológicos e tempos experimentais utilizados, as análises de ML e MEV demonstraram que: a membrana de teflon foi eficaz como barreira física e separou o ambiente do defeito da mucosa e submucosa; no entanto, alterou a biologia do reparo, mudando o padrão de deposição de matriz óssea em relação à fisiologia normal.

Referências

1. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81(5):672-6.
2. Scantlebury TV. 1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. *J Periodontol*. 1993;64(11 Suppl):1129-37.
3. Majzoub Z, Berengo M, Giardino R, Aldini NN, Cordioli G. Role of intramarrow penetration in osseous repair: a pilot study in the rabbit calvaria. *J Periodontol*. 1999;70(12):1501-10.
4. Silva Pereira SL, Sallum AW, Casati MZ, Caffesse RG, Weng D, Nociti FH *et al*. Comparison of bioabsorbable and non-resorbable membranes in the treatment of dehiscence-type defects. A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol*. 2000;71(8):1306-14.
5. Campos L, Sipes E. Laparoscopic hernia repair: use of a fenestrated PTFE graft with endo-clips. *Surg Laparosc Endosc*. 1993;3(1):35-8.
6. Augthun M, Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S. Healing of bone defects in combination with immediate implants using the membrane technique. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995;10(4):421-8.
7. Pineda LM, Busing M, Meinig RP, Gogolewski S. Bone regeneration with resorbable polymeric membranes. III. Effect of poly(L-lactide) membrane pore size on the bone healing process in large defects. *J Biomed Mater Res*. 1996;31(3):385-94.
8. Tatakis DN, Trombelli L. Gingival recession treatment: guided tissue regeneration with bioabsorbable membrane versus connective tissue graft. *J Periodontol*. 2000;71(2):299-307.
9. Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. *Biomaterials*. 2005;26(35):7447-56.

10. Jakus SM, Shapiro A, Hall CD. Biologic and synthetic graft use in pelvic surgery: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2008;63(4):253-66.
11. Lekovic V, Kenney EB, Carranza FA Jr, Danilovic V. Treatment of class II furcation defects using porous hydroxyapatite in conjunction with a polytetrafluoroethylene membrane. *J Periodontol.* 1990;61(9):575-8.
12. Ferreira JN, Ko CC, Myers S, Swift J, Friction JR. Evaluation of surgically retrieved temporomandibular joint alloplastic implants: pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66(6):1112-24.
13. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. *Histologic and histometric study in dogs.* *J Periodontol.* 1994;65(6):583-91.
14. Crump TB, Rivera-Hidalgo F, Harrison JW, Williams FE, Guo IY. Influence of three membrane types on healing of bone defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(4):365-74.
15. Monteiro AS, Macedo LG, Macedo NL, Balducci I. Polyurethane and PTFE membranes for guided bone regeneration: histopathological and ultrastructural evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(2):e401-6.
16. Azevedo Neto RD, Lopes SK, Almeida U, Zielak JC, Deliberador TM, Giovanini AF *et al.* Avaliação histológica de película alternativa para técnicas regenerativas: estudo experimental em mandíbula de ratos. *RSBO.* 2009;6(3)257-63.
17. Zhang J, Xu Q, Huang C, Mo A, Li J, Zuo Y. Biological properties of an anti-bacterial membrane for guided bone regeneration: an experimental study in rats. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(3):321-27.
18. Kostopoulos L, Karring T. Guided bone regeneration in mandibular defects in rats using a bioresorbable polymer. *Clin Oral Implants Res.* 1994;5(2):66-74.
19. Zielak JC, Mathias AS, Giovanini AF, Mathias AL. Oral bone grafting in a rat model and the use of scanning electron microscopy for tissue morphology evaluation. *Scand J Lab Anim Sci.* 2007;34(3):201-9.
20. Gordh M, Alberius P, Lindberg L, Johnell O. Bone graft incorporation after cortical perforations of the host bed. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;117(6):664-70.
21. Redondo LM, Verrier Hernandez A, Garcia Cantera JM, Torres Nieto MA, Vaquero Puerta C. Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralised, frozen and fresh bone. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997;35(3):166-9.
22. Zahedi S, Legrand R, Brunel G, Albert A, Dewe W, Coumans B. Evaluation of a diphenylphosphorylazide-crosslinked collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rats. *J Periodontol.* 1998;69(11):1238-46.
23. Brett JA, Heimendinger J, Boender C, Morin C, Marshall JA. Using ethnography to improve intervention design. *Am J Health Promot.* 2002;16(6):331-40.
24. Shimazu A, Morishita M. Basic fibroblast growth factor induces the expression of matrix metalloproteinase-3 in human periodontal ligament cells through the MEK2 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Periodontol Res.* 2003;38(2):122-9.
25. Barboza EP. Clinical and histologic evaluation of the demineralized freeze-dried bone membrane used for ridge augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999;19(6):601-7.
26. Chen CC, Chueh JY, Tseng H, Huang HM, Lee SY. Preparation and characterization of biodegradable PLA polymeric blends. *Biomaterials.* 2003;24(7):1167-73.
27. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994;9(1):13-29.
28. Ohnishi T, Maruyama T, Higashi S, Awazu S. Blood-brain barrier transport of L-tyrosine Conjugates: a model study for the brain targeting using large neutral amino acid transport system. *J Drug Target.* 2000;8(6):395-401.
29. Wang HL, O'Neal RB, MacNeil LM. Regenerative treatment of periodontal defects utilizing a bioresorbable collagen membrane. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1995;7(5):59-66; quiz 68.

Endereço para correspondência:

Allan Fernando Giovanini
Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5300 – Campo Comprido
Curitiba-PR, CEP 81280-330
Brasil

E-mail: afgiovanini@gmail.com

Recebido em 28 de abril de 2011
Aceito em 10 de junho de 2011