

## RESSALVA

Alertamos para ausência de figuras não incluídas pelo(a) autor(a) no arquivo original.



*Flávia Aparecida Chaves Furlaneto*

***Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histológico e histométrico em calvárias de rato.***

ARAÇATUBA -SP  
2004

*Flávia Aparecida Chaves Furlaneto*

***Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histológico e histométrico em calvárias de rato.***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de Periodontia).

Orientadora: Professora Adjunto Maria José Hitomi Nagata

ARAÇATUBA -SP  
2004

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

F985p

Furlaneto, Flávia Aparecida Chaves

Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histológico e histométrico em calvárias de rato. -- Araçatuba : [s.n.], 2004.

194 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2004

Orientador: Profa. Dra. Maria José Hitomi Nagata

1.Regeneração óssea. 2.Substitutos ósseos. 3.Vidro. 4.Bioativo. 5.Sulfato de cálcio.

Black D64  
CDD 617.601



## *Dados Curriculares*

---

# *Flávia Aparecida Chaves Furlaneto*

Nascimento: 10.02.1978 – Londrina/PR

Filiação: Luiz Antonio Furlaneto  
Tereza Chaves Furlaneto

1996-1999: Curso de Graduação em Odontologia  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

2000-2001: Curso de Especialização em Periodontia  
Associação Brasileira de Odontologia – Seção MS (ABO/MS)

2003-2004: Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de  
Periodontia  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

A large, faceted, light blue crystal or gemstone is positioned in the lower half of the page. The crystal has multiple facets and a pointed bottom, resembling a diamond or a similar high-quality stone. It is rendered with a soft, ethereal glow, making it stand out against the plain white background.

# *Dedicatória*



## *Dedicatória*

---

A Deus:

**“Quando o Senhor está em primeiro lugar,  
Todas as coisas estão em seu devido lugar.”**

Obrigada pela experiência de Te conhecer e Te ouvir.

Obrigada por me mostrar o Seu tempo e a Sua vontade.

Por todas as minhas oportunidades e por me presentear com pessoas tão  
maravilhosas na minha vida.

**A** meus pais, **Luiz e Tereza:**

As palavras parecem tão pequenas quando me refiro a vocês...

Pai,

Obrigada por sua paciência, pelo seu exemplo de humildade e perseverança e por ter me amado tanto.

Mãe,

Sinto em você a presença viva de Maria.

Que exemplo de serenidade, equilíbrio e resignação! É muito bom estarmos sempre juntas na oração.

Obrigada por terem abdicado dos seus sonhos em vista dos nossos, sempre.

Amo vocês.

**“AMOR igual ao seu eu nunca mais terei**

**AMOR que eu nunca vi igual, que eu nunca mais verei**

**AMOR que não se pede**

**AMOR que não se mede, que não se repete. . .”**

(Nando Reis/ Marisa Monte)

**A**o meu irmão **Emerson** e à minha cunhada **Luciana:**

Guinga,

Você é a referência de luta e determinação que eu procurei seguir.

Obrigada por ter me ajudado a direcionar tão bem a minha vida.

Lú, minha irmã do coração,

Muito obrigada pela luz que você traz à nossa família.

É um privilégio poder partilhar com você a minha vida.

Devo muito a vocês.

Obrigada pela torcida de sempre, mesmo à distância.

Amo vocês.



*Agradecimento  
Especial*



## *Agradecimento Especial*

---

À minha orientadora Professora Dra. **Maria José Hitomi Nagata**

Pela acolhida desde o primeiro dia, pelo incentivo, pela amizade e por me ensinar tanto, e tão sutilmente, com suas atitudes e palavras.

Por sua orientação acadêmica e pessoal, em todos os momentos, de quedas e de êxitos.

Pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e aprender com a sua capacidade de discernimento e o seu exemplo de dedicação à docência.

Por ter tornado possível a realização de um sonho...

Meu eterno agradecimento por ter confiado em mim.

**“Dê um peixe a um homem faminto e você o  
alimentará por um dia. Ensine-o a pescar e você o estará  
alimentando pelo resto da vida”.**

(Provérbio chinês)



*Agradecimientos*



## *Agradecimentos*

---

### ***A MINHA SINCERA GRATIDÃO. . .***

À Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, nas pessoas de seu Diretor Prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Vice-Diretor Prof. Dr. Célio Percinotto  
Pela oportunidade da realização deste curso e desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa de seu Coordenador Prof. Dr. Wilson Roberto Poi e de todo o corpo docente  
Pela valiosa contribuição na minha formação.

“Pois, para transbordar, é preciso preencher-se. . .”

Aos Professores da Disciplina de Periodontia Dr. Alvaro Francisco Bosco e Dr. Valdir Gouveia Garcia

Pelos valiosos ensinamentos transmitidos, pela paciência, pela confiança em nós depositada e pela agradável convivência.

Pela capacidade de tornarem tudo bem mais simples. . .

Ao Professor do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada Dr. Tetuo Okamoto  
Por toda a disponibilidade e carinho com que sempre me atendeu e pelos ensinamentos imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada Dr. Michel Saad Neto, Dra. Sônia Regina Panzarini Barioni e Dr. Wilson Roberto Poi  
Pela amizade, encorajamento e prontidão em ajudar sempre.

Ao Dr. Dietmar Weng

Pelo estímulo e grande oportunidade de aprendizado com a realização das pesquisas.

Aos meus Professores Dra. Margareth Coutinho e Dr. Luiz Massaharu Yassumoto

Sem a força de vocês, certamente eu não estaria aqui. Obrigada por terem acreditado em mim!

Ao meu Professor Dr. José Peixoto Ferrão Junior

Por ter me apresentado a Periodontia. Pelos primeiros passos nesta especialidade, dados ao seu lado e com o seu apoio.

À Professora Dra. Maria Lucia Marçal Mazza Sundefeld

Pelo empenho na realização da análise estatística.

Ao Professor da Disciplina de Endodontia Dr. João Eduardo Gomes Filho

Pelas boas idéias e assistências na análise histológica deste trabalho.

Ao meu amigo Oscar Ennes

Pela primeira oportunidade em exercer a Periodontia. Pela amizade e estímulos tão verdadeiros!

À Tatiana, minha querida companheira desde antes do início do Mestrado

Pelos sorrisos e lágrimas. . . Por tudo o que aprendemos juntas. . .

O resultado é fruto do nosso esforço!

Ao meu amigo Michel

Pela cumplicidade, compreensão e companhia em todos os momentos de aprendizado. Pelo exemplo de altruísmo. Sem você, os dias seriam muito mais difíceis e certamente menos divertidos!

Ao meu amigo Luiz Gustavo

Por todo o apoio na condução deste trabalho. Por tantas dúvidas esclarecidas. . .

Aos meus amigos Juliano e Valmir

Pelo companheirismo e pela disposição no ensinamento das técnicas cirúrgicas.

Por me ensinarem a tornar as coisas mais simples. . .

Às minhas amigas de casa, Tatiana e Danielle

Pelo respeito mútuo, convivência amistosa e dificuldades divididas.

Por terem me ensinado tanto, talvez sem perceber que o faziam.

Aos meus amigos do Mestrado e Doutorado em Periodontia Célia, Danielle,

Fernando, Juliano, Luciana, Luiz Gustavo, Michel, Samara, Tatiana, Thiago e Valmir

Por tudo o que pude aprender com vocês. Pelas alegrias e desafios compartilhados.

Aos colegas do Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em

Odontologia, nas Áreas de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial,

Estomatologia, Odontopediatria, Ortodontia e Prótese Dental

Pela partilha do nosso crescimento.

Ao Dr. Mário e à Sra. Hermínia Nagata

Pelo carinho e atenção com que me acolheram.

Ao Dr. Stephen Fucini

Pela ajuda nas traduções e pelo intermédio do financiamento recebido.

Aos meus amigos Carla e Alex

Por serem sempre presença de Deus na minha vida. Pelo incentivo e amor que, mesmo com a distância, fazem-se vivos nos meus dias.

À minha amiga Juliana Setti

Deus certamente não faz as pessoas chegarem em nossa vida por acaso. Que bom poder compartilhar da sua alegria e companhia!

À minha amiga Melissa Mari

Que foi o anjinho que Deus enviou para me guiar até Araçatuba.

Ao meu amigo Renato Baldan

Pelo companheirismo, preocupação, reflexões. . .

Pela arte em fazer amigos e uma ótima culinária!

À minha amiga Renata Gondo

Pelo incentivo e exemplo de determinação e paixão pela docência.

Ao meu amigo Rodrigo Leonardo e sua família

Por toda a ajuda e preocupações de sempre.

Aos meus amigos Flávio, Fred, Junior, Luciana, Rafael, Rogério, Simone, *Tiago*, Toninho, Victório e Viviane

Meus finais de tarde puderam ser muito mais alegres graças a vocês!

À Carmem

Por ter cuidado não só da nossa casa e das nossas coisas, mas também de nós!

Aos funcionários do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,  
Odair, Camilo, José Lúcio, João Batista e Romildo Bandeira

Pela disponibilidade em ajudar sempre. . .

Por todas as alegrias e dificuldades compartilhadas.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de  
Araçatuba – UNESP, Marina e Valéria

Por terem me recebido tão bem antes mesmo do início do Curso de Mestrado.

Pela eficiência, presteza e bom-humor diários. . . Fundamentais ao prosseguimento  
dos nossos trabalhos.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, da Faculdade de  
Odontologia de Araçatuba – UNESP, Antônia, Bernadete, Claudiomiro, Cleide, Dirce  
e Gilmar

Pela convivência tão agradável e por terem me ensinado tanto.

Em especial à Bernadete, Dirce e Gilmar, pela destreza em todo o processamento  
laboratorial deste trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP:  
Alexandra, Ana Claudia, Claudia, Cláudio, Helena, Isabel, Ivone, Izamar, Jessica,  
Luzia e Maria Cláudia

Pela eficiência, paciência e alegria com que sempre me atenderam.

Em especial à Claudia e à Ivone, por toda a disponibilidade na busca por trabalhos científicos e à Ana Claudia, pela excelente revisão bibliográfica.

À Ana Cláudia Macedo, pela paciência e atenção na arte final deste trabalho.

À empresa "3i Implant Innovations, Inc." (4555 Riverside Drive - Palm Beach Gardens, FL 33410, USA), na pessoa do seu Diretor de Pesquisas Clínicas Dr. James N.

Kenealy

Pelo patrocínio dos materiais utilizados neste trabalho.

À empresa "Johnson & Johnson" (São José dos Campos, SP, Brasil)

Pela doação dos fios de sutura utilizados nesta pesquisa.

A todos os pacientes, pela confiança depositada a cada atendimento.

Aos animais que, não tendo escolha, simplesmente dispõem-se.



*Epígrafe*



## *Epígrafe*

---

**“O trabalho agradável é o remédio do cansaço”.**

(William Shakespeare)



*Resumo*



## Resumo

---

FURLANETO, F. A. C. **Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio: estudo histológico e histométrico em calvárias de rato.** 2004. 194 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

O propósito deste estudo foi avaliar, histologicamente, a cicatrização óssea em defeitos de tamanho crítico (DTC), na calvária de ratos, tratados com: a) partículas de vidro bioativo (VB) (Biogran<sup>®</sup>); b) partículas de VB/barreira de sulfato de cálcio (SC) (Calcigen<sup>TM</sup>). Um DTC de 5 mm de diâmetro foi realizado na calvária de 48 ratos, divididos em 3 grupos: a) C (Controle): defeito preenchido com coágulo sangüíneo; b) VB: defeito preenchido com VB; c) VB/SC: defeito preenchido com VB, com barreira de SC. Cada grupo foi subdividido para eutanásia em 4 ou 12 semanas pós-operatórias (n=8). Foram realizadas análises histológica e histométrica. A quantidade de osso neoformado foi calculada como uma porcentagem da área total do defeito. Esses valores foram transformados em arcoseno para a análise estatística (ANOVA, Tukey, p<0,05). Nenhum defeito regenerou completamente com tecido ósseo. Partículas de VB foram observadas nos Grupos VB e VB/SC em ambos os períodos de análise. A espessura da área do defeito foi similar à da calvária original nos Grupos VB e VB/SC, enquanto o Grupo C apresentou um tecido conjuntivo fino na área central do defeito em ambos os tempos de observação. Após 4 semanas, os Grupos C (22,04%±5,42) e VB/SC (19,17%±11,61) apresentaram significativamente mais neoformação óssea que o Grupo VB (9,21%±3,81). Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os Grupos C e VB/SC. Após 12 semanas, o Grupo VB/SC (30,40%±14,28) apresentou mais formação óssea que os Grupos C (26,88%±11,83) e VB (21,02%±9,76). Contudo, as diferenças não foram significativas. Comparando-se os resultados de 4 e 12 semanas, observou-se um aumento significativo na neoformação óssea nos Grupos VB e VB/SC,

mas não no Grupo C. As partículas de VB podem ser usadas, associadas ou não à barreira de SC, para tratar DTC, visando impedir o colapso da área cirúrgica.

Palavras-chave: Regeneração óssea; substitutos ósseos; vidro, bioativo; sulfato de cálcio.



*Abstract*



## *Abstract*

---

FURLANETO, F. A. C. **Bone healing in critical-size-defects treated with bioactive glass/calcium sulfate: a histological and histometric study in rat calvaria.** 2004. 194 p. Dissertation (Master in Periodontics) - Dental School of Araçatuba, São Paulo State University, Araçatuba.

The purpose of this study was to histologically analyze the influence of the following materials on bone healing in surgically created critical-size-defects (CSD) in rat calvaria: a) Bioactive glass (BG) particles (Biogran<sup>®</sup>); b) BG/calcium sulfate (CS) barrier (Calcigen<sup>™</sup>). A 5 mm diameter CSD was made in each calvarium of 48 rats. They were divided into 3 groups: a) C (control): defect filled by blood clot only; b) BG: defect filled with bioactive glass; c) BG/CS: defect filled with BG covered by a CS barrier. Groups were divided into subgroups and euthanized at either 4 or 12 weeks (n=8). Histometric, using image analysis software, and histologic analyses were performed. Amount of new bone was calculated as percentage of total area of original defect. Percentage data were transformed into arccosine for statistical analysis (ANOVA, Tukey, p<0.05). No defect completely regenerated with bone. BG particles were observed in Groups BG and BG/CS at both periods of analysis. Thickness throughout entire healing area in Groups BG and BG/CS was similar to that of original calvarium, while Group C presented a thin connective tissue in the central area of the defect at both periods of analysis. At 4 weeks, Groups C (22.04%±5.42) and BG/CS (19.17%±11.61) presented significantly more bone formation than Group BG (9.21%±3.81). No significant differences were found between Groups C and BG/CS. At 12 weeks, Group BG/CS (30.40%±14.28) presented more bone formation than Groups C (26.88%±11.83) and BG (21.02%±9.76). However, the differences were not significant among the 3 groups. When comparing 4 and 12 weeks, there was a significant increase in new bone formation within groups BG and BG/CS, but not C. BG particles used with or without a CS barrier can be used to treat CSD in order to avoid collapse of the area.

Key words: Bone regeneration; bone substitutes; glass, bioactive; calcium sulfate.



*Lista de Figuras*



## *LISTA DE FIGURAS*

---

- Figura 1 - Defeito de tamanho crítico (5 mm de diâmetro) e marcações com amálgama criados na calvária 57
- Figura 2 - Imagem do defeito capturada a partir do corte histológico. A Área Total (AT) é delimitada pela linha rosa e corresponde à área da calvária onde o defeito cirúrgico foi originalmente criado. A altura da Área Total (X) corresponde à espessura do osso original da calota (Y). A Área de Osso Neoformado (AON) é delimitada pelas linhas azuis e a Área de Vidro Bioativo (AVB) pelas linhas verdes 57
- Figura 3 - Cálculo da Área Total (AT) 58
- Figura 4 - Cálculo da Área de Osso Neoformado (AON) 58
- Figura 5 - Cálculo da Área de Vidro Bioativo (AVB) 59
- Figura 6 - Grupo C (controle). 4 semanas. Defeito cirúrgico com tecido conjuntivo fibroso de espessura inferior à do tecido ósseo original da calota. H.E. Original 25x 65
- Figura 7 - Grupo VB (vidro bioativo). 4 semanas. Partículas de vidro bioativo circundadas por tecido conjuntivo fibroso rico em fibroblastos, matriz osteóide e osteoblastos. H.E. Original 160x 65

- Figura 8 - Grupo VB (vidro bioativo). 4 semanas. Partículas de vidro bioativo apresentando fissuras e centros escavados, com invaginação de tecido conjuntivo. Material amorfo também pode ser observado nos centros escavados. Tricrômico de Masson. Original 160x 66
- Figura 9 - Grupo VB (vidro bioativo). 4 semanas. As partículas de vidro bioativo e o tecido conjuntivo circunjacente formam uma faixa com espessura similar à do tecido ósseo original da calota. Tricrômico de Masson. Original 25x 66
- Figura 10 - Grupo VB/SC (vidro bioativo/ sulfato de cálcio). 4 semanas. Partículas de vidro bioativo circundadas por tecido conjuntivo invaginando pelas fissuras e centros escavados. H.E. Original 160x 67
- Figura 11 - Grupo C (controle). 12 semanas. Defeito cirúrgico com tecido conjuntivo fibroso de espessura inferior à do tecido ósseo original da calota. Tricrômico de Masson. Original 25x 67
- Figura 12 - Grupo VB (vidro bioativo). 12 semanas. Partículas de vidro bioativo circundadas por tecido conjuntivo fibroso e matriz osteóide com osteoblastos. H.E. Original 160x 68
- Figura 13 - Grupo VB (vidro bioativo). 12 semanas. Partículas de vidro bioativo e tecido conjuntivo circunjacente formam uma faixa com espessura similar à do tecido ósseo original da calota. H.E. Original 25x 68

- Figura 14 - Grupo VB/SC (vidro bioativo/ sulfato de cálcio). 12 semanas. Presença de tecido ósseo neoformado separado das bordas do defeito por tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. H.E. Original 25x 69
- Figura 15 - Grupo VB/SC (vidro bioativo/ sulfato de cálcio). 12 semanas. Partículas de vidro bioativo circundadas por tecido conjuntivo fibroso e matriz osteóide com osteoblastos. H.E. Original 160x 69
- Figura 16 - Médias (%) e desvios-padrão da Área de Osso Neoformado (AON). 4 e 12 semanas pós-operatórias 70
- Figura 17 - Médias (%) e desvios-padrão da Área de Vidro Bioativo (AVB). 4 e 12 semanas pós-operatórias 71



*Lista de Tabelas*



# *LISTA DE TABELAS*

---

Tabela 1 -	Porcentagem média da Área de Osso Neoformado (AON) na área do defeito cirurgicamente criado, com comparação entre os grupos. 4 e 12 semanas pós-operatórias	70
Tabela 2 -	Porcentagem média da Área de Vidro Bioativo (AVB) na área do defeito cirurgicamente criado dos Grupos VB e VB/SC, com comparação entre 4 e 12 semanas pós-operatórias	71
Tabela 3 -	Testes de normalidade	182
Tabela 4 -	Análise de variância da variável Área de Osso Neoformado (AON), medida em porcentagem, com transformação em arcoseno	182
Tabela 5 -	Teste de Tukey para comparação das médias dos dois períodos de tempo analisados (medidas em arcoseno)	183
Tabela 6 -	Teste de Tukey para a comparação das médias dos grupos (medidas em arcoseno)	183
Tabela 7 -	Médias e desvios-padrão para a variável Área de Osso Neoformado (AON) (medidas em arcoseno)	184



*Lista de Anexos*



# *LISTA DE ANEXOS*

---

Anexo A	-	Revisão da Literatura	86
Anexo B	-	Referências	154
Anexo C	-	Tabelas de Resultados da Análise Estatística	182
Anexo D	-	Autorização da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)	185
Anexo E	-	Normas para Publicação segundo o Periódico “Clinical Oral Implants Research”	186



*Lista de  
Abreviaturas  
e Siglas*



## *LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS*

---

ANOVA	=	Análise de Variância
AODSC	=	Aloenxerto Ósseo Desmineralizado, Seco e Congelado
AON	=	Área de Osso Neoformado
ASC	=	Área de Sulfato de Cálcio
AT	=	Área Total
AVB	=	Área de Vidro Bioativo
C	=	Controle
CADIA	=	Análise Densitométrica de Imagem por Computador
CEEA	=	Comissão de Ética na Experimentação Animal
cm	=	Centímetro
DP	=	Desvio-padrão
DTC	=	Defeito(s) de Tamanho Crítico
EAC	=	Esponja Absorvível de Colágeno
EDTA	=	Ácido Etilenodiaminotetracético
FNT- $\alpha$	=	Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$
g	=	Gramma
G.L.	=	Graus de Liberdade
HE	=	Hematoxilina e Eosina
IAM	=	Índice de Atividade Metabólica
IEMR	=	Implante Endósseo de Manutenção do Rebordo
kg	=	Quilograma
Ltda.	=	Limitada
mg	=	Miligramma
ml	=	Mililitro

mm	=	Milímetro
mm <sup>2</sup>	=	Milímetro quadrado
µm	=	Micrometro
MOD	=	Matriz Óssea Desmineralizada
N	=	Newton
PJL	=	Periodontite Juvenil Localizada
POM	=	Proteína(s) Óssea(s) Morfogenética(s)
POM rh-2	=	Proteína Óssea Morfogenética Recombinante Humana 2
PRP	=	Plasma Rico em Plaquetas
PTFE-e	=	Politetrafluoretileno Expandido
ROG	=	Regeneração Óssea Guiada
RTG	=	Regeneração Tecidual Guiada
SC	=	Sulfato de Cálcio
VB	=	Vidro(s) Bioativo(s)



*Lista de  
Símbolos*



# *LISTA DE SÍMBOLOS*

---

$\alpha$	=	Alfa
$\beta$	=	Beta
$^{\circ}\text{C}$	=	Graus Celsius
%	=	Por cento
F	=	Valor do teste da análise de variância
n	=	Tamanho da amostra
p	=	Probabilidade do valor do teste
$\text{H}_2\text{O}$	=	Água
$\text{Al}_2\text{O}_3$	=	Alumina
Ca	=	Cálcio
$\text{SiO}_2$	=	Dióxido de silício
P	=	Fósforo
CaO	=	Óxido de cálcio
$\text{Na}_2\text{O}$	=	Óxido de sódio
$\text{P}_2\text{O}_5$	=	Pentóxido de difósforo
$\text{CaSO}_4$	=	Sulfato de cálcio



# *Sumário*



# *SUMÁRIO*

---

Manuscrito para Publicação	41
Página de título	43
Resumo	45
Introdução	48
Material e métodos	52
Resultados	61
Discussão	73
Referências	80
Anexos	85



*Manuscrito para  
Publicação\**

---

\*Segundo as normas do periódico "Clinical Oral Implants Research"



*Página de Título*

Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histológico e histométrico em calvárias de rato.

Flávia A. C. Furlaneto, Cirurgiã-Dentista <sup>1</sup>

Maria J. H. Nagata, Cirurgiã-Dentista, Doutora<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Disciplina de Periodontia, Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Brasil.

Título resumido (“Running title”): **Cicatrização de defeitos críticos com vidro bioativo/sulfato de cálcio**

**Autora responsável pela correspondência:**

Maria José Hitomi Nagata

Telephone: +55 18 3636 3239

Fax: +55 18 3636-3333

Rua José Bonifácio, 1193

CEP: 16015 - 050 Araçatuba, SP, Brazil

e-mail: [mjnagata@uol.com.br](mailto:mjnagata@uol.com.br)

Palavras-chave: regeneração óssea; substitutos ósseos; vidro, bioativo; sulfato de cálcio.



# *Resumo*

Furlaneto, F. A. C.; Nagata M. J. H. Processo de cicatrização óssea em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico tratados com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histológico e histométrico em calvárias de rato. *Clin Oral Impl Res*

## Resumo

**Objetivo:** O propósito deste estudo foi avaliar, histologicamente, a cicatrização óssea em defeitos de tamanho crítico (DTC), na calvária de ratos, tratados com: a) partículas de vidro bioativo (VB) (Biogran<sup>®</sup>); b) partículas de VB/barreira de sulfato de cálcio (SC) (Calcigen<sup>TM</sup>). **Material e Método:** Um DTC de 5 mm de diâmetro foi realizado na calvária de 48 ratos, divididos em 3 grupos: a) C (Controle): defeito preenchido com coágulo sangüíneo; b) VB: defeito preenchido com VB; c) VB/SC: defeito preenchido com VB, com barreira de SC. Cada grupo foi subdividido para eutanásia em 4 ou 12 semanas pós-operatórias (n=8). Foram realizadas análises histológica e histométrica. A quantidade de osso neoformado foi calculada como uma porcentagem da área total do defeito. Esses valores foram transformados em arcoseno para a análise estatística (ANOVA, Tukey,  $p < 0,05$ ). **Resultados:** Nenhum defeito regenerou completamente com tecido ósseo. Partículas de VB foram observadas nos Grupos VB e VB/SC em ambos os períodos de análise. A espessura da área do defeito foi similar à da calvária original nos Grupos VB e VB/SC, enquanto o Grupo C apresentou um tecido conjuntivo fino na área central do defeito em ambos os tempos de observação. Após 4 semanas, os Grupos C ( $22,04\% \pm 5,42$ ) e VB/SC ( $19,17\% \pm 11,61$ ) apresentaram significativamente mais neoformação óssea que o Grupo VB ( $9,21\% \pm 3,81$ ). Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os Grupos C e VB/SC. Após 12 semanas, o Grupo VB/SC ( $30,40\% \pm 14,28$ ) apresentou mais formação óssea que os Grupos C ( $26,88\% \pm 11,83$ ) e VB ( $21,02\% \pm 9,76$ ). Contudo, as diferenças não foram significativas. Comparando-se os resultados de 4 e 12 semanas, observou-se um aumento significativo na neoformação óssea nos Grupos VB e VB/SC, mas não no Grupo C. **Conclusão:** As partículas de VB podem ser usadas, associadas ou não à barreira de SC, para tratar DTC, visando impedir o colapso da área cirúrgica.



# *Introdução*

## Introdução

O tecido ósseo tem um grande potencial para regeneração e pode restaurar sua estrutura e função originais completamente. Porém, freqüentemente os defeitos ósseos não reparam totalmente com tecido ósseo. A fim de facilitar e/ou promover a cicatrização, diversos tipos de enxerto e substitutos ósseos têm sido colocados no interior dos defeitos ósseos (Lang et al. 1999). Dentre eles, destacam-se os materiais sintéticos, ou aloplásticos, pela disponibilidade ilimitada e por dispensarem o procedimento cirúrgico de um sítio doador (Topazian et al. 1971; Norton & Wilson 2002).

O princípio da Regeneração Óssea Guiada (ROG), que postula que o processo de cicatrização óssea ocorre pela competição entre células ósseas e do tecido conjuntivo para colonização e preenchimento de determinada área, representa um dos princípios básicos da engenharia tecidual (Buser et al. 1993; Pecora et al. 1997; Wikesjö & Selvig 1999). Foi demonstrada a importância crucial da manutenção de um espaço na ROG para evitar o colapso da barreira para dentro do defeito ósseo, o que pode ser obtido com o uso adjunto de enxertos ou implantes de materiais de preenchimento (Dahlin et al. 1991). Há numerosas barreiras absorvíveis e não absorvíveis no mercado, assim como materiais de preenchimento ósseo particulado.

O sulfato de cálcio (SC) tem sido utilizado para facilitar a regeneração óssea há mais de 40 anos na Odontologia (Kim et al. 1998). Além de ser um material absorvível e osteocondutivo, é considerado seguro, biocompatível, de fácil manipulação e custo razoável (Pietrzak & Ronk 2000). Tem sido usado também como barreira, associado a materiais de preenchimento ósseo, como o aloenxerto ósseo desmineralizado, seco e congelado (AODSC) e o enxerto de osso autógeno, levando a respostas previsíveis de regenerações óssea e periodontal (Sottosanti 1992; Kim et al. 1998; MacNeill et al. 1999).

Dentro do grupo dos materiais sintéticos usados como substitutos ósseos, o vidro bioativo (VB) particulado, que age formando uma união química com os tecidos circundantes (Hench et al. 1971; Hench & Paschall 1973), tem sido alvo de considerável investigação, sendo sugerida a sua associação a barreiras, como a de SC (Camargo et al. 2000; Nagata et al. 2003; Sottosanti & Anson 2003).

Tem sido demonstrado que, além de serem altamente osteocondutivas (Schepers et al. 1991; Furusawa et al. 1998; Froum et al. 2002), as partículas de VB possuem a propriedade da osteoestimulação (Schepers et al. 1991; Schepers & Ducheyne 1997; Furusawa et al. 1998; Froum et al. 2002; Norton & Wilson 2002). De acordo com Schepers et al. (1991), este efeito osteoestimulatório é visto como uma erosão interna das partículas de VB na qual formação óssea, separada do osso externo, pode ser observada. Células mesenquimais indiferenciadas penetram nas partículas de vidro erodidas e são estimuladas pelo meio interno a diferenciarem-se em osteoblastos. Essas ilhas de tecido ósseo recentemente formado funcionariam como áreas de nucleação para reparo ósseo subsequente.

Camargo et al. (2000) realizaram estudo clínico onde fizeram uso da associação de VB, como material de preenchimento ósseo, à barreira de SC, para o tratamento de alvéolos após exodontias. Segundo os autores, esta combinação de materiais foi benéfica para a preservação das dimensões do rebordo alveolar após extração dental. Com o objetivo de avaliar os resultados histológicos dessa associação, Nagata et al. (2003) realizaram um estudo histomorfométrico onde foram criados defeitos cirúrgicos em tíbias de ratos, que foram tratados com o VB e a barreira de SC, usados isoladamente ou associados. Os defeitos do grupo controle, preenchidos somente com coágulo sanguíneo, apresentaram maior formação óssea que os defeitos dos grupos experimentais. Esses resultados foram atribuídos à natureza não crítica dos defeitos criados.

O propósito do presente estudo foi avaliar, histologicamente, a influência das partículas de VB de limitada variação de tamanho, associadas ou não à barreira de SC, na cicatrização óssea de defeitos de tamanho crítico (DTC) cirurgicamente preparados na calvária de ratos.



*Material e  
Métodos*

## Material e métodos

### Modelo experimental

Para a realização deste estudo, foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) adultos machos, com 3 a 4 meses de idade e peso variando de 350 a 400 g (Biotério da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP). O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da referida instituição. Os animais foram mantidos sob temperatura ambiente variando de 22 a 24°C, com ciclos de 12 horas de luz por dia. Durante a realização do estudo experimental, os ratos consumiram ração sólida e água *ad libitum*. Os animais foram aleatoriamente divididos em 3 grupos: Grupo C (controle), Grupo VB (implante de vidro bioativo) (Biogran®, 3i Implant Innovations, Inc., Palm Beach Gardens, USA) e Grupo VB/SC (implante de vidro bioativo e barreira de sulfato de cálcio) (Calcigen™ Oral, Biomet Orthopedics, Inc., Warsaw, Indiana, USA/ 3i Implant Innovations, Inc., Palm Beach Gardens, USA).

### Procedimento cirúrgico

Os animais foram anestesiados por injeção intramuscular de cloridrato de quetamina (0,7 ml/kg) associado à xilazina (0,3 ml/kg). Após tricotomia e anti-sepsia da área a ser operada, foi realizada uma incisão em formato de “U”, com sua base voltada para a região posterior, e um retalho de espessura total foi elevado. A seguir, um defeito crítico padrão de 5 mm de diâmetro (Bosch et al. 1998) foi criado no osso da calvária, envolvendo a sutura sagital. O defeito foi realizado usando uma broca trefina de 5 mm de diâmetro externo (3i Implant Innovations, Inc., Palm Beach Gardens, EUA) acoplada a uma peça de mão de baixa rotação, sob irrigação abundante de solução salina estéril. A seguir, foram criadas duas marcações para localização do centro do defeito durante o processamento laboratorial e, também, para servir como referências para localização das margens ósseas originais do defeito durante a análise histométrica. Para tanto, um eixo imaginário longitudinal foi traçado de modo a dividir o defeito exatamente ao meio. Sobre esse eixo longitudinal, foram medidas distâncias de 2 mm para anterior e 2 mm para posterior, a partir das margens da cavidade, com auxílio de uma

sonda milimetrada. Em cada ponto correspondente às distâncias medidas, foi confeccionado um orifício, com broca “carbide” cirúrgica tronco-cônica nº 701, que foi preenchido com amálgama (Bosch et al. 1998) (Figura 1).

No Grupo C, a cavidade óssea foi preenchida somente com coágulo sangüíneo. No Grupo VB, ela foi preenchida com vidro bioativo. No Grupo VB/SC, a cavidade óssea foi preenchida com vidro bioativo e protegida por uma barreira de sulfato de cálcio. Os tecidos moles foram cuidadosamente reposicionados e suturados, de modo a obter fechamento primário da ferida (Seda 4.0, Ethicon, São Paulo, SP, Brasil). Cada animal recebeu dose única de 24.000 unidades de Penicilina G-benzatina (Pentabiótico\* Veterinário Pequeno Porte, Fort Dodge® Saúde Animal Ltda., Campinas, SP) via intramuscular.

### **Processamento tecidual**

Cada grupo de animais foi subdividido em dois, para realização de eutanásia em 4 e 12 semanas pós-operatórias. As áreas de interesse foram removidas e as peças obtidas foram fixadas em solução de formol neutro a 10%, lavadas e descalcificadas em solução de Ácido Etilenodiaminotetracético (E.D.T.A.) a 16%. Após descalcificação inicial, cada peça foi cortada em duas, no sentido longitudinal, no local correspondente ao centro do defeito, indicado pelas marcações de amálgama. Cortes transversais foram também realizados, tangencialmente a ambas as marcações de amálgama, tal que cada peça ficou com aproximadamente 9 mm de comprimento (5 mm do diâmetro original do defeito, mais 2 mm de osso original da calvária de cada lado). Após um período de descalcificação adicional, as peças foram lavadas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina. As peças foram incluídas de maneira que, na realização dos cortes, estes foram iniciados a partir do centro do defeito. Foram realizados cortes seriados, com 6 µm de espessura, corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (H.E.) ou Tricrômico de Masson para análise histológica com auxílio de microscópio óptico binocular.

### **Análise histomorfométrica**

Um critério objetivo foi estabelecido para a avaliação da intensidade do infiltrado inflamatório agudo e crônico. Em um microscópio óptico binocular, com aumento de 400x do original, o seguinte critério foi determinado por meio de contagem visual de células inflamatórias por campo: a) Leve: de 01 a 100 células inflamatórias; b) Moderado: de 100 a 250 células inflamatórias; c) Intenso: mais de 250 células inflamatórias.

A análise histométrica foi realizada com um sistema de avaliação de imagens por computador, utilizando o “software” ImageLab 2000 (Diracon Bio Informática Ltda., Vargem Grande do Sul, SP, Brasil). Foram selecionados 4 cortes histológicos de cada espécime, correspondentes à região central do defeito. As imagens dos cortes histológicos foram capturadas por meio de câmera digital acoplada a microscópio de luz, com aumento de 32x do original, e transferidas para um computador. As imagens digitalizadas foram transferidas para o “software” ImageLab 2000.

Os seguintes critérios foram usados para padronizar a análise histomorfométrica da imagem digitalizada:

- 1) Delineou-se a Área Total (AT) a ser analisada, correspondente à área do defeito cirúrgico original. Esta área foi determinada da seguinte forma: a espessura do osso original da calota foi medida à direita e à esquerda do defeito cirúrgico; essas duas extremidades de osso original da calota foram então unidas com duas linhas, uma traçada seguindo a superfície interna da calota e outra seguindo a superfície externa da mesma, reproduzindo a ligeira curvatura dessa estrutura anatômica. Foi localizado o centro do corte histológico no sentido do seu comprimento e, a partir deste centro, foram medidos 2,5 mm de cada lado, para estabelecer os limites do defeito cirúrgico original (Figura 2).
- 2) Dentro da AT, foram delineadas a Área de Osso Neoformado (AON) (Figura 2) bem como as áreas ocupadas pelos remanescentes dos materiais implantados, denominadas de Área de Vidro Bioativo (AVB) (Figura 2) e Área de Sulfato de Cálcio (ASC).

3) A Área Total (AT) foi medida em  $\text{mm}^2$  e foi considerada 100% da área a ser analisada. (Figura 3). As Áreas de Osso Neoformado (AON) (Figura 4), de Vidro Bioativo (AVB) (Figura 5) e de Sulfato de Cálcio (ASC) foram também medidas em  $\text{mm}^2$  e calculadas como uma porcentagem de AT, de acordo com as seguintes fórmulas, respectivamente (Nagata et al. 2003):

$$\text{AON (mm}^2\text{)} / \text{AT (mm}^2\text{)} \times 100$$

$$\text{AVB (mm}^2\text{)} / \text{AT (mm}^2\text{)} \times 100$$

$$\text{ASC (mm}^2\text{)} / \text{AT (mm}^2\text{)} \times 100$$

#### **Análise estatística**

Os valores de AON de cada animal foram representados pela porcentagem média dos 4 cortes histológicos, com o objetivo de minimizar o erro da medida. Sobre esses valores foi aplicada a análise de variância, com transformação em arcoseno, seguida por um teste de Tukey *post hoc* quando diferença significativa foi detectada entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

Do mesmo modo, os valores de AVB nos Grupos VB e VB/SC e os valores de ASC no Grupo VB/SC, de cada animal, foram representados pela porcentagem média dos 4 cortes histológicos. Tanto para o Grupo VB, como para o Grupo VB/SC, foi realizado o teste de proporção ao nível de 5%, para comparação dos valores de AVB entre 4 e 12 semanas. Os valores de ASC no grupo VB/SC, nos períodos de 4 e 12 semanas, foram praticamente zero, não havendo necessidade de serem analisados.



*Resultados*

## Resultados

Devido a problemas no processamento laboratorial, houve perda de um espécime do Grupo VB/SC de 4 semanas pós-operatórias e de um espécime do Grupo VB/SC de 12 semanas pós-operatórias.

### **Análise histológica qualitativa. 4 semanas.**

*Grupo C (Controle):* Nenhum espécime apresentou fechamento completo da cavidade com tecido ósseo. Observou-se neoformação óssea restrita às proximidades das bordas dos defeitos na maioria dos espécimes. Em todos os espécimes, a espessura do tecido conjuntivo que ocupava a parte central do defeito era menor que a do tecido ósseo original da calota (Figura 6). Era um tecido bem vascularizado, com fibras colágenas orientadas e elevado número de fibroblastos. Em algumas regiões, observou-se presença de matriz osteóide. O infiltrado inflamatório presente era leve, distribuído ao longo do defeito e composto de histiócitos, linfócitos, plasmócitos e quantidade mínima de neutrófilos. Em alguns casos, observaram-se áreas com intenso infiltrado inflamatório, predominantemente crônico.

*Grupo Vidro Bioativo (VB):* Em nenhum espécime foi observado fechamento total da cavidade com tecido ósseo. Observou-se tecido ósseo neoformado e bem desenvolvido somente nas adjacências das bordas do defeito, circundado por matriz osteóide. Partículas de VB estavam distribuídas em grande quantidade por todo o defeito e também sobre a superfície externa dos cotos ósseos originais. As partículas de VB estavam circundadas por tecido conjuntivo rico em fibroblastos, ora denso e organizado, com presença de matriz osteóide e osteoblastos (Figura 7), ora frouxo e pouco organizado. A maioria das partículas apresentou aspecto fissurado, sendo que várias delas mostraram invaginação de tecido conjuntivo em suas fissuras e centros escavados (Figura 8). Várias partículas apresentaram material amorfo nesses centros (Figura 8). Em todos os espécimes, as partículas de VB, juntamente com o tecido conjuntivo circunjacente, formaram uma faixa com espessura similar à do tecido ósseo original da calota (Figura 9). Os infiltrados inflamatórios agudo e crônico apresentaram-se leves na maior parte dos espécimes. Em alguns casos, observou-se intenso infiltrado inflamatório crônico, composto principalmente de linfócitos, plasmócitos e histiócitos, entre as partículas.

*Grupo Vidro Bioativo/Sulfato de Cálcio (VB/SC):* Nenhum dos espécimes mostrou fechamento ósseo total da cavidade cirúrgica. Observou-se tecido ósseo neoformado bem desenvolvido adjacente às paredes do defeito, com matriz osteóide e osteoblastos circundando-o. Em um espécime, o tecido ósseo neoformado ultrapassou os limites externos da cavidade. Foram observadas partículas de VB circundadas por tecido conjuntivo invaginando pelas fissuras presentes na maioria delas (Figura 10). As partículas de VB e o tecido conjuntivo circunjacente formavam uma faixa de espessura próxima à do tecido ósseo original da calota. O tecido conjuntivo mostrou-se bem celularizado e fibroso e, em alguns locais, menos denso. Resíduos mínimos do material de SC foram observados, às vezes circundados por tecido ósseo neoformado. Na maioria dos casos, observou-se presença de infiltrados inflamatórios agudo e crônico leves; em outros, infiltrado inflamatório crônico mostrou-se intenso próximo a partículas de VB.

#### **Análise histológica qualitativa. 12 semanas.**

*Grupo Controle (C):* Nenhum dos espécimes apresentou completo fechamento do defeito com tecido ósseo. O tecido ósseo neoformado mostrou-se bem desenvolvido, com áreas adjacentes de matriz osteóide rica em osteoblastos, e restrito às proximidades das bordas do defeito. Em todos os espécimes, a espessura do tecido conjuntivo que ocupava a parte central do defeito era bem inferior à do tecido ósseo original da calota (Figura 11). Este tecido conjuntivo bem vascularizado apresentava-se rico em fibras colágenas e bem organizado. Foram observados infiltrados inflamatórios agudo e crônico leves ao longo de todo o defeito. Em alguns espécimes, foram observadas regiões com concentração intensa de células inflamatórias, predominantemente crônicas.

*Grupo Vidro Bioativo (VB):* Não houve fechamento total com tecido ósseo em nenhum espécime. Observou-se tecido ósseo lamelar neoformado restrito às proximidades das bordas do defeito e, em alguns espécimes, estendendo-se em direção ao centro. Em um espécime, observou-se tecido ósseo neoformado isolado, separado das bordas do defeito por tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. Observaram-se partículas de VB distribuídas ao longo do defeito, a maioria delas com aspecto

fissurado e várias mostravam invaginação de tecido conjuntivo em suas fissuras e centros escavados. As partículas de VB encontravam-se circundadas por tecido conjuntivo rico em fibroblastos, ora denso e organizado, com presença de matriz osteóide e osteoblastos (Figura 12), ora frouxo e desorganizado. Estes formavam uma faixa com espessura semelhante a do tecido ósseo original da calota (Figura 13). Observou-se infiltrado inflamatório leve, disperso pelo defeito e predominantemente crônico.

*Grupo Vidro Bioativo/ Sulfato de Cálcio (VB/SC):* Nenhum espécime mostrou fechamento total da cavidade com tecido ósseo. O tecido ósseo formado era bem desenvolvido e estendia-se da periferia do defeito em direção ao centro. Em dois espécimes, observou-se novo tecido ósseo isolado, localizado distante das bordas do defeito (Figura 14). Na maioria dos casos, foram observadas algumas partículas de VB pequenas e dispersas. A maioria delas apresentou fissuras e várias mostraram invaginação de tecido conjuntivo. Outras partículas apresentaram resíduos de material em seu interior. Mínimos resíduos de SC foram também observados em poucos espécimes. Em um espécime, estes estavam circundados por tecido ósseo neoformado. As partículas de VB estavam circundadas por tecido conjuntivo fibroso e matriz osteóide rica em osteoblastos (Figura 15), formando uma faixa com espessura similar à do tecido original da calota. Foram observados, na maioria dos espécimes, infiltrados inflamatórios leves, agudo e crônico, sendo os linfócitos, plasmócitos e histiócitos as células predominantes, dispersas pelo defeito. Em alguns casos, o infiltrado inflamatório crônico mostrou-se intenso próximo às partículas de VB.

#### **Histometria e análise estatística**

A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram comprovadas. As médias e os desvios-padrão de AON para cada grupo de 4 e 12 semanas pós-operatórias estão apresentados na Tabela 1 e na Figura 16, assim como os resultados da comparação entre os grupos. A Tabela 2 e a Figura 17 mostram a evolução da reabsorção das partículas de VB, de 4 para 12 semanas, nos Grupos VB e VB/SC.

Tabela 1 – Porcentagem média da Área de Osso Neoformado (AON) na área do defeito cirurgicamente criado, com comparação entre os grupos. 4 e 12 semanas pós operatórias

Grupo	N	Médias de AON (%) 4 semanas	Desvios-padrão 4 semanas	Médias de AON (%) 12 semanas	Desvios-padrão 12 semanas
C	8	22,04 ad	± 5,1450	26,88 ac	± 11,8301
VB	8	9,21 b	± 3,8136	21,02 ac	± 9,7639
VB/SC	7	19,17 a	± 11,6117	30,40 cd	± 14,2802

Letras iguais indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ )

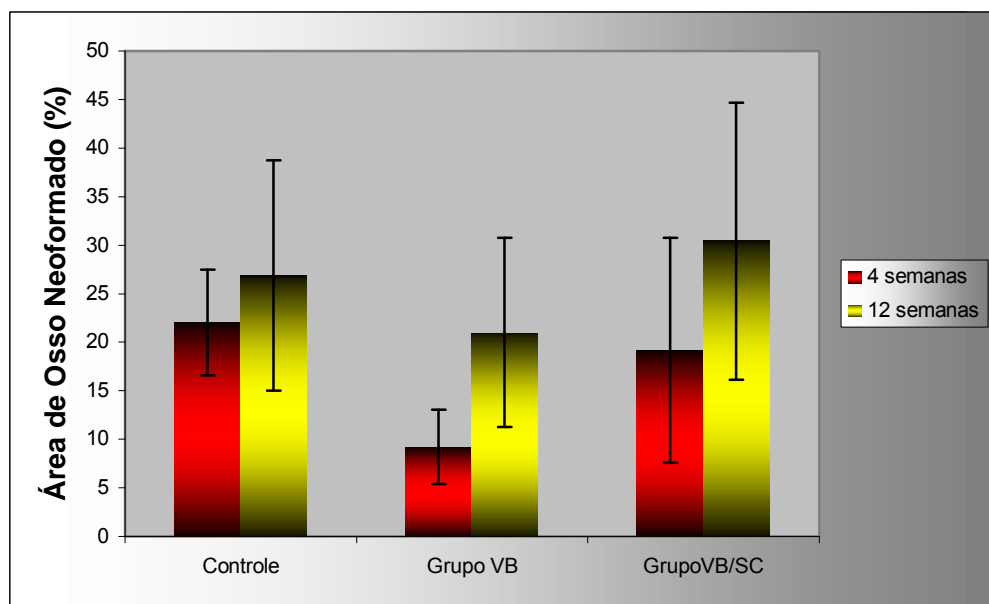


FIGURA 16 - Médias (%) e desvios-padrão da Área de Osso Neoformado (AON). 4 e 12 semanas pós-operatórias.

Tabela 2– Porcentagem média da Área de Vidro Bioativo (AVB) na área do defeito cirurgicamente criado dos Grupos VB e VB/SC, com comparação entre 4 e 12 semanas pós-operatórias

Grupo	n	Médias de AVB (%) 4 semanas	Desvios-padrão 4 semanas	Médias de AVB (%) 12 semanas	Desvios-padrão 12 semanas	Teste de proporção	p valor
VB	8	56,18	± 6,0609	20,45	± 7,7439	0,27	0,6056
VB/SC	7	19,00	± 11,7508	8,26	± 7,3642	0,58	0,4450

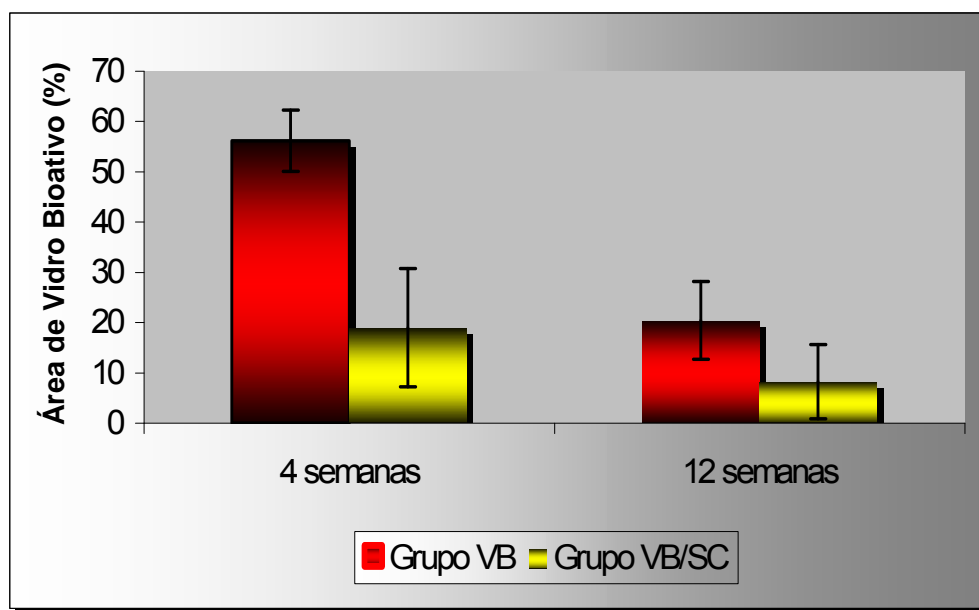


FIGURA 17 - Médias (%) e desvios-padrão da Área de Vidro Bioativo (AVB). 4 e 12 semanas pós-operatórias.



*Discussão*

## Discussão

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência das partículas de VB de limitada variação de tamanho (300-355  $\mu\text{m}$ ), associadas ou não à barreira de SC, em defeitos cirúrgicos de tamanho crítico em calvárias de ratos. O osso neoformado e os materiais implantados remanescentes foram avaliados por análises histológica e histométrica.

Nenhum defeito cicatrizou completamente com tecido ósseo, em qualquer grupo ou período de tempo analisados, o que confirmou a natureza crítica das cavidades de 5 mm de diâmetro em calvárias de ratos Wistar adultos (Bosch et al. 1998).

Nos Grupos VB e VB/SC, em ambos os períodos de análise, as partículas de VB, juntamente com o tecido conjuntivo circunjacente, formaram uma faixa com espessura similar à do osso original da calota. Já no Grupo C, um tecido conjuntivo fibroso fino ocupou o centro do defeito criado. Sabe-se que o resultado de qualquer tipo de terapia regenerativa é fortemente dependente do espaço disponível sob o retalho mucoperiosteal (Wikesjö & Selvig 1999). Assim como no estudo de Sculean et al. (2002), o VB provavelmente impediu o colapso do retalho e contribuiu para um aumento na estabilidade da ferida no presente trabalho. As qualidades do VB como bom preenchedor ósseo e como material de aumento previsível em deiscências ou defeitos ósseos já tinham sido evidenciadas anteriormente e atribuídas à formação da carapaça externa de cálcio e fosfato, que possibilitaria a manutenção do volume da matriz partículas/osso (Furusawa et al. 1998).

Os grupos que receberam o VB mostraram diferenciação óssea intimamente associada com partículas de VB em ambos os períodos de análise, demonstrando as propriedades osteocondutivas do material (Schepers et al. 1991). Foram observadas fissuras e centros escavados nas partículas de VB, com a invasão de células, provavelmente do tipo mesenquimais indiferenciadas, nos períodos de 4 e 12 semanas, similarmente a outros estudos realizados (Furusawa et al 1998; Cordioli et al. 2001; Tadjedin et al. 2002). Matriz osteóide rica em osteoblastos e, principalmente, tecido conjuntivo fibroso envolveram a maior parte das partículas de VB. Segundo Wheeler et al. (1997), essas fibras colágenas podem indicar desenvolvimento de matriz para futura infiltração celular, mineralização e formação óssea. Contudo, não foi observada a propriedade de “osteoestimulação”, com tecido ósseo

formado nesses centros escavados, conforme relatado anteriormente em outros estudos histológicos realizados em humanos e em animais (Schepers et al. 1991; Schepers & Ducheyne 1997; Furusawa et al. 1998; Froum et al. 2002; Norton & Wilson 2002).

No presente trabalho, foram observadas partículas de VB nos Grupos VB e VB/SC em ambos os períodos analisados, confirmando o lento processo de reabsorção desse material, observado em estudos histológicos em humanos (Tadjoedin et al. 2000, 2002; Cordioli et al. 2001; Norton & Wilson 2002) e em animais usando diferentes modelos experimentais (Schepers & Ducheyne 1997; Cancian et al. 1999; Stavropoulos et al. 2003). Schepers & Ducheyne (1997) relataram a presença de partículas de VB até 24 meses após sua implantação em defeitos ósseos cirurgicamente preparados em cães.

Em 4 semanas pós-operatórias, os Grupos C e VB/SC apresentaram neoformação óssea significativamente maior (22,04% e 19,17%, respectivamente) do que o Grupo VB (9,21%), não sendo constatada diferença estatisticamente significativa entre os dois primeiros grupos. A superioridade do Grupo C em relação ao Grupo VB pode ser atribuída à alta velocidade de “turnover” ósseo fisiológico e resposta de cicatrização de alguns modelos experimentais, como o rato (Enneking et al. 1975). Além disso, de acordo com MacNeill et al. (1999), os materiais de enxerto que requerem períodos longos de tempo para completa reabsorção reduzem a quantidade total de osso neoformado devido a sua presença contínua. Os efeitos combinados de uma resposta de cicatrização fisiológica rápida e uma lenta reabsorção do VB provavelmente contaram para uma quantidade maior de osso neoformado observada no Grupo C quando comparado ao Grupo VB, como observado nos estudos de MacNeill et al. (1999) e Nagata et al. (2003).

A lenta reabsorção das partículas de VB também pode ser apresentada como um dos motivos pelos quais o Grupo VB teve significativamente menos osso neoformado (9,21%) que o Grupo VB/SC (19,17%) no período de 4 semanas pós-operatórias, pois o VB foi colocado em menor quantidade neste último grupo, devido ao espaço ocupado pela barreira de SC. Além disso, a rápida velocidade de reabsorção do SC observada nos espécimes do presente trabalho provavelmente permitiu o ingresso precoce de células osteoprogenitoras, antecipando a regeneração óssea em relação a outros materiais que requerem um longo período para serem reabsorvidos (Peltier 1959; Bell 1960).

Resultados semelhantes foram obtidos por MacNeill et al. (1999) ao compararem defeitos ósseos, criados em tíbias de coelhos, que receberam VB a aqueles protegidos pela barreira de SC, com o mesmo tempo de cicatrização. Em concordância com alguns estudos que demonstraram, radiográfica e histologicamente, em tecidos musculares de cães, que o SC foi reabsorvido em aproximadamente 4 semanas (Bell 1960; Bell & Sills 1964), o presente estudo verificou reabsorção quase completa da barreira de SC neste mesmo período. A biocompatibilidade deste material foi também constatada, corroborando outros estudos realizados (Bell 1960; Sottosanti 1992; Pietrzak & Ronk 2000).

No tempo pós-cirúrgico de 12 semanas, o Grupo VB/SC apresentou mais formação óssea (30,40%) do que os Grupos C (26,88%) e VB (21,02%). Contudo, as diferenças não foram estatisticamente significativas entre os 3 grupos.

Houve um aumento estatisticamente significativo na quantidade de osso neoformado nos grupos tratados com VB (Grupos VB e VB/SC) de 4 para 12 semanas, provavelmente devido à combinação do processo de neoformação óssea com o processo de reabsorção do material (Tadjoedin et al. 2000).

No Grupo VB, as partículas de VB ocupavam 56,18% da área total de análise (AT) após 4 semanas da implantação e diminuíram para 20,45% após 12 semanas. No Grupo VB/SC, as partículas de VB ocupavam 19% da AT após 4 semanas e diminuíram para 8,26% após 12 semanas. Embora essa diminuição na quantidade de partículas de VB em ambos os grupos não tenha alcançado significância estatística, uma inquestionável diminuição das partículas em valores percentuais pode ser constatada.

O crescimento ósseo provavelmente ocorreu de forma significativa de 4 para 12 semanas pós-operatórias nos Grupos VB e VB/SC, estimulado pelas propriedades osteocondutivas do VB (Schepers et al. 1991; Schepers & Ducheyne 1997; Cordioli et al. 2001).

É interessante notar que, no período de análise de 4 semanas pós-operatórias, o Grupo VB/SC apresentou significativamente mais neoformação óssea que o Grupo VB. Contudo, após 12 semanas, esses grupos apresentaram-se estatisticamente similares em relação à quantidade de neoformação óssea. Esses resultados podem ser explicados pelo fato, anteriormente discutido, de que uma neoformação óssea mais rápida deve ter ocorrido no Grupo VB/SC no período de 4 semanas pós-operatórias devido à menor quantidade inicial de partículas de VB usadas e à rápida reabsorção do

SC. Um importante fator a ser considerado na neoformação óssea ocorrida no Grupo VB é que as partículas de VB apresentaram uma lenta reabsorção, mas provavelmente agiram como uma barreira, impedindo a invasão do defeito por células epiteliais e permitindo a invaginação de vasos sangüíneos para a deposição de células com potencial osteogênico, como mencionado anteriormente por Anderegg et al. 1999.

O tempo necessário para reabsorção completa das partículas de VB ainda é desconhecido. Contudo, Norton & Wilson (2002) recomendam o seu uso para preenchimento de defeitos e preservação de rebordo alveolar, para posterior colocação de implantes endósseos, mesmo sem a completa reabsorção do VB.

A insignificante evolução da neoformação óssea no Grupo C de 4 para 12 semanas pós-operatórias deve ser ressaltada. Os resultados do presente estudo corroboram os obtidos por Takagi & Urist (1982), que criaram um DTC em calotas de ratos e verificaram que, após 4 semanas da cirurgia, a formação óssea havia praticamente terminado, não notando diminuição significativa do diâmetro do defeito de 6 para 12 semanas, tanto na análise histométrica como na radiográfica.

Os estudos histológicos mais recentes sobre reparo ósseo têm procurado apresentar resultados mais objetivos e precisos. Assim, evoluções nas metodologias de análise têm sido observadas. A análise histométrica do presente estudo baseou-se na metodologia apresentada por Nagata et al. (2003), com análises adicionais da quantidade de materiais implantados remanescentes.

Dentro dos limites deste trabalho, pode-se concluir que as partículas de VB, associadas ou não à barreira de SC, mostraram-se osteocondutivas e foram capazes de evitar o colapso da área cirúrgica quando usadas no tratamento de defeitos de tamanho crítico (DTC).

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem a “3i Implant Innovations” pelo patrocínio parcial deste trabalho e a “Johnson & Johnson” pela doação dos fios de sutura. Os autores agradecem, também, o auxílio inestimável do Prof. Dr. Tetuo Okamoto na análise histológica deste estudo.



# *Referências*

## Referências

- Anderegg, C.R., Alexander, D.C. & Freidman, M. (1999) A bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. *Journal of Periodontology* **70**: 384-387.
- Bell, W.H. (1960) Resorption characteristics of bone and plaster of Paris. *Journal of Dental Research* **39**: 727.
- Bell, W.H. & Sills, A.H. (1964) Histologic study of intramuscular implants of bone and bone substitutes. *Journal of Dental Research* **43**: 828.
- Bosch, C., Melsen, B. & Vargervik, K. (1998) Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regeneration materials. *Journal of Craniofacial Surgery* **9**: 310-316.
- Buser, D., Dula, K., Belser, U., Hirt, H.P. & Berthold, H. (1993) Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. *International Journal of Periodontics Restorative Dentistry* **13**: 29-45.
- Camargo, P.M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Klokkevold, P.R., Kenney, E.B., Dimitrijevic, B., Nedic, M., Jancovic, S. & Orsini, M. (2000) Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* **90**: 581-586.
- Cancian, D.C.J., Hochuli-Vieira, E., Marcantonio, R.A.C. & Marcantonio Júnior, E. (1999) Use of BioGran and Calcitite in bone defects: histologic study in monkeys (*Cebus apella*). *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **14**: 859-864.
- Cordioli, G., Mazzocco, C., Schepers, E., Brugnolo, E. & Majzoub, Z. (2001) Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clinical Oral Implants Research* **12**: 270-278.
- Dahlin, C., Alberius, P. & Linde, A. (1991) Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. *Journal of Neurosurgery* **74**: 487-491.
- Enneking, W.F., Burchardt, H., Puhl, J.J. & Piotrowski, G. (1975) Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. *Journal of Bone Joint Surgery America* **57**: 237-252.

- Froum, S., Cho, S., Rosenberg, E., Rohrer, M. & Tarnow, D. (2002) Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *Journal of Periodontology* **73**: 94-102.
- Furusawa, T., Mizunuma, K., Yamashita, S. & Takahashi, T. (1998) Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **13**: 672-676.
- Hench, L.L. & Paschall, H.A. (1973) Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *Journal of Biomedical Materials Research* **7**: 25-42.
- Hench, L.L., Splinter, R.J., Allen, W.C. & Greenlee, T.K. (1971) Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research* **2**: 117-141.
- Kim, C.K., Kim, H.Y., Chai, J.K, Cho, K.S., Moon, I.S., Choi, S.H., Sottosanti, J.S. & Wikesjö, U.M. (1998) Effect of a calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs. *Journal of Periodontology* **69**: 982-988.
- Lang, N.P., Becker, W. & Karring, T. (1999) Formação do osso alveolar. In: Lindhe, J. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*, 3rd ed., p. 665-689. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- MacNeill, S.R., Cobb, C.M., Rapley, J.W., Glaros, A.G. & Spencer, P. (1999) *In vivo* comparison of synthetic osseous graft materials: a preliminary study. *Journal of Clinical Periodontology* **26**: 239-245.
- Nagata, M.J.H., Melo, L.G.N., Leite, C.M., Ribeiro, L.L.G. & Bosco, A.F. (2003) Bone healing with bioactive glass and/or calcium sulfate. *Journal of Periodontology* **74**: 1559-1560.
- Norton, M.R. & Wilson, J. (2002) Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **17**: 249-257.
- Pecora, G., Andreana, S., Margarone, J.E., Covani, U. & Sottosanti, J.S. (1997) Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* **84**: 424-429.

- Peltier, L.F. (1959) The use of plaster of Paris to fill large defects in bone. A preliminary report. *American Journal Surgery* **97**: 311-315.
- Pietrzak, W.S. & Ronk, R. (2000) Calcium sulfate bone void filler: a review and a look ahead. *The Journal of Craniofacial Surgery* **11**: 327-333.
- Schepers, E., De Clercq, M., Ducheyne, P. & Kempeneers, R. (1991) Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *Journal of Oral Rehabilitation* **18**: 439-452.
- Schepers, E.J. & Ducheyne, P. (1997) Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *Journal of Oral Rehabilitation* **24**: 171-181.
- Sculean, A., Barbé, G., Chiantella, G.C., Arweiler, N.B., Berakdar, M. & Brex, M. (2002) Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Periodontology* **73**: 401-408.
- Sottosanti, J.S. (1992) Calcium sulfate: a biodegradable and a biocompatible barrier for guided tissue regeneration. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* **13**: 226-234.
- Sottosanti, J.S. & Anson, D. (2003) Using calcium sulfate as a graft enhancer and membrane barrier. *Dental Implantology Update* **14**: 1-8.
- Stavropoulos, A., Kostopoulos, L., Nyengaard, J.R. & Karring, T. (2003) Deproteinized bovine bone (Bio-Oss®) and bioactive glass (Biogran®) arrest bone formation when used as an adjunct to guided tissue regeneration (GTR): an experimental study in the rat. *Journal of Clinical Periodontology* **30**: 636-643.
- Tadjoedin, E.S., De Lange, G.L., Holzmann, P.J., Kuiper, L. & Burger, E.H. (2000) Histological observations on biopsies harvested following sinus floor elevation using a bioactive glass material of narrow size range. *Clinical Oral Implants Research* **11**: 334-344.
- Tadjoedin, E.S., De Lange, G.L., Lyaruu, D.M., Kuiper, L. & Burger, E. H. (2002) High concentrations of bioactive glass material (BioGran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation: histomorphometrical observations on three split mouth clinical cases. *Clinical Oral Implants Research* **13**: 428-436.

Takagi, K. & Urist, M.R. (1982) The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Annals of Surgery* **196**: 100-109.

Topazian, R.G., Hammer, W.B., Boucher, L.J. & Hulbert, S.F. (1971) Use of alloplastics for ridge augmentation. *Journal of Oral Surgery* **29**: 792-798.

Wheeler, D.L., Stokes, K.E., Park, H.M. & Hollinger, J.O. (1997) Evaluation of particulate Bioglass® in a rabbit radius ostectomy model. *Journal of Biomedical Material Research* **35**: 249-254.

Wikesjö, U.M.E. & Selvig, K.A. (1999) Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology* **2000** **19**: 21-39.



*Anexos*



## 1. Modelo Experimental Animal e Defeito de Tamanho Crítico

Investigações têm sido feitas, há muitos anos, com o intuito de encontrar um modelo experimental animal adequado para testes de diferentes substitutos ósseos. Existem dificuldades na comparação dos resultados de diversos experimentos devido à falta de padronização na escolha de um modelo apropriado (BOSCH et al., 1998).

Muitos fatores devem ser levados em consideração na avaliação dos resultados de experimentos em animais (BOSCH et al., 1998). A quantidade e a qualidade do osso formado em um defeito ósseo são influenciadas por vários fatores, tais como a espécie e o tipo de animal usado no experimento (BOSCH et al., 1998), a idade do animal (BOSCH et al., 1998; MARDAS et al., 2002; SATO; URIST, 1985; TAKAGI; URIST, 1982), a estabilidade do defeito (BOSCH et al., 1998), a localização anatômica do defeito (BOSCH et al., 1998; NAJJAR; KAHN, 1977), o tamanho do defeito (BOHNING et al., 1999; BOSCH et al., 1998; FRAME, 1980b; SCHMITZ et al., 1990; SCHMITZ; HOLLINGER, 1986), as implicações funcionais (BOSCH et al., 1998), as condições cirúrgicas (BOSCH et al., 1998), o tipo de osso (HARRIS et al., 1968), os períodos de observação pós-operatória (BOSCH et al., 1998), a presença do perióstio e da dura-máter (BRAZ et al., 2003; MELCHER, 1969; PRITCHARD, 1946; SCHMITZ et al., 1990; TAKAGI; URIST, 1982; WANG; GLIMCHER, 1999b) e, ainda, os métodos e critérios de avaliação (BOSCH et al., 1998).

Existem algumas características desejáveis em um animal experimental para que ele satisfaça os requisitos de um modelo de estudo ideal para a regeneração óssea dos maxilares (BOSCH et al., 1998; FRAME, 1980b):

- 1) Deve ser barato, prontamente disponível e fácil de ser manipulado e anestesiado;
- 2) Deve prover um volume de osso adequado para o preparo de cavidades de tamanho suficiente para que não cicatrizem espontaneamente com osso e que esta condição

permaneça com o passar do tempo. Uma grande quantidade de osso também é necessária para evitar o risco de fratura após o preparo da cavidade;

- 3) O defeito ósseo deve ser estável e não permitir mobilidade;
- 4) O sítio do implante deve consistir tanto de osso cortical como de osso medular;
- 5) O leito teste deve ser similar aos ossos maxilares embriologicamente e fisiologicamente. Idealmente, deve ser um osso membranoso e ter um padrão de cicatrização semelhante ao dos maxilares;
- 6) Deve permitir acompanhamento e avaliação precisos da regeneração óssea, tanto histologicamente como radiograficamente.

Cavidades experimentais em animais grandes de laboratório têm sido utilizadas por muitos autores, como as produzidas em fêmur de macacos *Rhesus* (GRAVES et al., 1971), rádio (PELTIER et al., 1957), calvária (SATO; URIST, 1985) e mandíbula (CALHOUN et al., 1965; RADENTZ; COLLINGS, 1965) de cães e ossos longos de carneiros (KRAMER et al., 1964). A vantagem em se usar esses grandes animais é que defeitos ósseos extensos podem ser criados e a regeneração óssea ao redor dos implantes pode ser examinada. Entretanto, esses animais são difíceis de anestésiar, caros para adquirir e manter e requerem espaço adequado (FRAME, 1980b).

Para tentar resolver os problemas acima relacionados, outros autores têm utilizado modelos experimentais pequenos, como a mandíbula (BAHN, 1966) e o trocânter maior de coelhos (HJORTING-HANSEN, 1970) e a tíbia de ratos (NAGATA et al., 2003). Contudo, deve-se considerar que existe um aumento na capacidade de regeneração óssea espontânea em espécies de baixa ordem filogenética (ENNEKING et al., 1975) e, ainda, que é comum que feridas criadas cirurgicamente cicatrizem espontaneamente (BOSCH et al., 1998), o que pode ocorrer também devido ao fato de que os defeitos preparados nesses animais são pequenos. Além disso, defeitos extensos criados em ossos longos desses animais freqüentemente resultam em fraturas (FRAME, 1980b).

Os ratos são animais pequenos, baratos, podem ser utilizados em grande quantidade e proporcionam uma análise de resultados mais fácil do que a de animais maiores (SCHMITZ;

HOLLINGER, 1986; SWEENEY et al., 1995). Por isso, são animais freqüentemente usados no estudo dos fenômenos biológicos básicos (WIKESJÖ; SELVIG, 1999).

Na avaliação da regeneração óssea em um determinado modelo experimental, há muitos fatores envolvidos, tais como os nutricionais, hormonais e metabólicos, que influenciam a circulação sangüínea, o consumo de oxigênio, a velocidade metabólica e, conseqüentemente, os ciclos celulares (SATO; URIST, 1985). Conforme observado por Coulson (1983), o Índice de Atividade Metabólica (IAM) dos ratos é de 5,15, não estando tão próximo do valor encontrado nos humanos (1,0) quanto outros modelos experimentais, como o cão (1,58) e o macaco (1,67), mas em posição melhor do que modelos como o camundongo (15,6).

Dentre as regiões ósseas onde são criados defeitos experimentais em animais, destaca-se a calvária, que tem sido utilizada há mais de um século no estudo de substitutos para o enxerto de osso autógeno (SENN, 1889; TAKAGI; URIST, 1982). A abóbada óssea craniana, ou calvária, pode ser definida como a porção da cabeça que se estende a partir do pico supra-orbital até a protuberância occipital externa (PAFF, 1973). Ela compreende o par de ossos parietais, a porção escamosa dos ossos temporais e occipital, a escama do frontal e uma pequena parte da asa maior do esfenoide (SIROLA, 1960).

A capacidade regenerativa da calvária é baixa, tanto em animais como em humanos (SIROLA, 1960), principalmente em adultos (BUSCH et al., 1996; DAHLIN et al., 1991; TAKAGI; URIST, 1982). Por ser considerado o teste mais crítico para um implante ósseo, a calvária tem sido um sítio muito freqüentemente utilizado (SATO; URIST, 1985; SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Segundo Takagi e Urist (1982), a cicatrização do osso craniano é tão lenta que costuma falhar em operações de cranioplastia, particularmente em humanos adultos. Em um estudo que testou o reparo de defeitos ósseos trefinados em calvárias de ratos, que receberam implantes de proteína óssea morfogenética (POM), os autores confirmaram as observações encontradas na literatura de que a calvária adulta é uma fonte extremamente limitada de osteoblastos e de neoformação óssea. Concluíram, portanto, que essa unidade é favorável para pesquisa animal e clínica na indução óssea devido a sua lenta e incompleta regeneração.

A inércia biológica da calvária, quando comparada a outros ossos, pode ser atribuída ao seu pobre suprimento sangüíneo, à relativa deficiência de osso medular (PROLO et al., 1982) e às mínimas forças musculares fisiológicas que agem nesta região óssea (NAJJAR; KAHN, 1977). Enquanto muitos ossos longos possuem uma artéria nutriente principal, isto não ocorre na calvária (SIROLA, 1960). O sangue é principalmente fornecido pela artéria meningeana média, com fontes secundárias de perfusão, que são arteríolas acessórias a partir da dura-máter (PAFF, 1973). Em adição, pode haver suprimento sangüíneo que entra por pontos de inserção dos músculos na calota (SIKAVITSAS et al., 2003).

O formato do defeito em calvárias, particularmente a relação entre a largura e a profundidade, é exigente biologicamente, devido ao seu aspecto raso, diferentemente dos modelos que usam defeitos fechados ou do tipo deiscência. O defeito em calvária influencia o potencial de neoformação óssea, pois a proliferação óssea pode ocorrer somente a partir das bordas do defeito. Os defeitos fechados ou do tipo deiscência são caracterizados por uma variedade de superfícies ósseas adjacentes à cavidade, representando fontes de células osteoprogenitoras (DONOS et al., 2004; SCHLIEPHAKE et al., 2004).

Outras áreas do complexo crânio-facial, como o corpo mandibular (HJORTING-HANSEN; ANDREASEN, 1971) e o zigoma (EL DEEB et al., 1990), também têm sido usadas para o teste de materiais de regeneração óssea, mas a interação de funções musculares com a superfície óssea torna-as menos apropriadas. Áreas intra-orais, como as que incluem defeitos alveolares, apresentam a desvantagem de potencial contaminação com a microflora oral, embora este modelo possa ser de grande importância em situações clínicas (BOSCH et al., 1998).

O potencial de regeneração da calota craniana é inferior ao potencial de regeneração dos ossos longos (SATO; URIST, 1985; TAKAGI; URIST, 1982). Diferentemente de modelos que usam fraturas em ossos longos ou defeitos em ossos longos segmentares, os defeitos cranianos evitam a mobilidade e a fratura do sítio do defeito, bem como o uso de dispositivos de fixação interna (WANG et al., 1998).

O modelo de ferida em calvária possui várias similaridades com a região maxilo-facial. Anatomicamente, a calvária consiste de duas lâminas corticais com tecido ósseo reticulado intervindo, de modo semelhante à mandíbula e, fisiologicamente, o padrão de cicatrização também é similar aos maxilares (FRAME, 1980b).

Em relação à morfologia e embriologia, a calvária desenvolve-se a partir de um precursor membranoso, assim como os ossos da face, incluindo os maxilares superior e inferior (BOSCH et al., 1998; SCHMITZ; HOLLINGER, 1986). A formação óssea intramembranosa é assim chamada por acontecer no interior de membranas de tecido conjuntivo frouxo e não sobre um molde cartilaginoso, característico da ossificação endocondral (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; TEN CATE, 2001).

O defeito em calvária de rato é um modelo experimental que tem sido muito utilizado ao longo dos anos (BOHNING et al., 1999; BOSCH et al., 1998; DAHLIN et al., 1991; DEPORTER et al., 1988; KIM et al., 2001, 2004; PRITCHARD, 1946; SCHMITZ; HOLLINGER, 1986; TAKAGI; URIST, 1982; TURNBULL; FREEMAN, 1974; VERNA et al., 2002; ZANCHETTA et al., 2003). Representa um modelo de estudo simples, reproduzível, fácil de manusear, estável, barato, com risco mínimo de complicações e que não requer fixação (FOWLER et al., 2002; MARDEN et al., 1993; VERNA et al., 2002), sendo apropriado para avaliação de técnicas de regeneração óssea na região maxilo-facial (BRUNEL et al., 1996; LIM et al., 2000).

A craniotomia circular é fácil de ser obtida tecnicamente em calotas cranianas de ratos, com pronta padronização do tamanho do defeito. O modelo permite a investigação de vários tipos de tratamento, cujos resultados podem ser facilmente avaliados (BUSCH et al., 1996). Outra vantagem é que apenas pequenas quantidades do agente experimental são requeridas para os testes iniciais, sendo os agentes particulados e gelatinosos apropriados para a implantação nesse tipo de defeito (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Como o reparo de defeitos cranianos em ratos é efetuado predominantemente pela síntese direta de novo osso, esse modelo tem ainda a vantagem de permitir a investigação, ao longo do tempo, do acúmulo e da velocidade do acúmulo de fosfoproteínas ósseas, como osteopontina e

sialoproteína, que têm sido avaliadas por representarem um papel importante na formação e reabsorção ósseas e no mecanismo de calcificação (WANG et al., 1998).

Dois métodos têm sido usados para a criação de não-uniões maxilo-faciais em modelos animais. Um deles causa uma não-união artificial por impedir ou prejudicar a regeneração óssea. O outro resulta em uma não-união porque o defeito ósseo é muito amplo e, portanto, incapaz de alcançar regeneração óssea espontaneamente (BOSCH et al., 1998; SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Santos Neto e Volpon (1984) revisaram as técnicas que prejudicam a união óssea normal. Elas incluem: a manutenção de movimento no local da osteotomia por meio de uma fixação instável, a manipulação e a distração dos fragmentos, a falta de uso de uma fixação, o uso de osteossíntese instável seguida por manipulação e a colocação de um material estranho no defeito para impedir a cicatrização.

Segundo Bosch et al. (1998), as técnicas revistas por Santos Neto e Volpon (1984) apresentam muitas variáveis de difícil controle, não sendo adequadas para o teste de materiais que visam à regeneração óssea. Por outro lado, as técnicas que usam defeitos descontínuos representam uma condição onde ocorre o processo fisiológico de reparo ósseo, que chega ao seu limite com uma falha na osteogênese somente porque o tamanho do defeito excede a habilidade do corpo em regenerar o tecido ósseo (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

A habilidade dos defeitos de craniotomia em cicatrizar espontaneamente por ponte óssea é relacionada ao tamanho do defeito. É possível que o tamanho do defeito influencie a disponibilidade de fatores de diferenciação presentes no osso que o circunda. Dependendo da extensão da cavidade, podem ocorrer falhas das células em calcificar a matriz, talvez pela falta de fatores de diferenciação e de crescimento apropriados, derivados do osso. Eventualmente, o tecido pode ser substituído por tecido conjuntivo fibroso (SCHMITZ et al., 1990).

Um defeito ósseo experimental utilizado para avaliar o reparo ósseo deve ser, portanto, amplo o suficiente para prevenir que o coágulo organize-se levando ao fechamento espontâneo por tecido ósseo, ocorrendo, em vez deste, a formação de um tecido conjuntivo fibroso. Dessa maneira, o potencial de reparo ósseo de determinado enxerto ou implante poderá ser considerado evidente

(FRAME, 1980b). Um defeito ósseo dessa natureza pode ser denominado defeito de tamanho crítico (DTC) (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Em 1986, Schmitz e Hollinger definiram DTC como o menor tamanho de ferida intra-óssea, em um determinado osso e espécie de animal, que não cicatriza espontaneamente durante toda a vida do animal.

Segundo Hollinger e Kleinschmidt (1990), os DTC foram definidos como os defeitos que mostram menos de 10% de cicatrização óssea durante a vida do animal. Se o fechamento completo do defeito por osso não foi alcançado em um ano, especialmente em animais que não estão mais em fase de crescimento, é improvável que ele ainda ocorrerá.

Os DTC só podem cicatrizar por regeneração óssea se um material osteogênico, osteocondutivo ou osteoindutor é colocado dentro ou sobre os mesmos (BOSCH et al., 1998). A osteogênese é a formação e desenvolvimento de tecido ósseo mesmo na ausência de células mesenquimais locais indiferenciadas, sendo que o material osteogênico é orgânico e derivado de tecido vivo (GROSS, 1997). O material osteocondutor age como uma armação adequada para a deposição de novo tecido ósseo e a osteocondução pode ser definida como o reparo que acontece por meio de células ósseas previamente diferenciadas a partir do leito do hospedeiro (GROSS, 1997; TAKAGI; URIST, 1982). A osteoindução refere-se ao recrutamento de células mesenquimais indiferenciadas e subsequente diferenciação em células formadoras de osso no defeito (GROSS, 1997).

Quando não tratados, os DTC são preenchidos por tecido conjuntivo fibroso, embora limitada regeneração óssea possa ser encontrada nas margens do defeito (BOSCH et al., 1998; ZANCHETTA et al., 2003). Contudo, segundo Sikavitsas et al. (2003), esta regeneração óssea que parece ocorrer a partir do “crescimento” das paredes do defeito não é indicativa de uma osteocondução das células ósseas a partir do segmento cortado, mas provavelmente representa o resultado de um gradiente de difusão de fatores osteoindutivos liberados a partir de células das bordas do defeito, que, no caso das calvárias, atuam nas células que migram para dentro do defeito a partir da dura-máter.

O DTC provê um modelo padronizado para avaliar a eficácia do reparo ósseo (FRAME, 1980b) e ajuda a minimizar as dificuldades referentes a diferenças na área anatômica, idade e espécie

do animal utilizado (SWEENEY et al., 1995). Por esses motivos, é essencial que qualquer defeito experimental que represente os eventos de cicatrização tecidual satisfaça claramente os critérios de um DTC (WIKESJÖ; SELVIG, 1999).

Schmitz e Hollinger (1986) explicaram dois possíveis mecanismos através dos quais a patogênese de um DTC provavelmente ocorre. Primeiramente, um DTC pode prevenir o revestimento periosteal de agir como um esqueleto de suporte para a cicatrização, pois o periósteo pode dobrar para dentro em direção aos segmentos ósseos e formar uma barreira fibroblástica que bloqueia a repopulação do defeito por células osteoprogenitoras, impedindo assim a união óssea. O outro mecanismo que provavelmente ocorre é que o hematoma formado no momento da injúria pode não ser capaz de organizar-se e estender-se sobre o amplo espaço, havendo uma falha na estrutura necessária para a migração dos vasos sanguíneos e outros elementos osteogênicos.

O conceito de um DTC como um modelo para não-uniões possibilita a padronização de controles para a avaliação de qualquer material com potencial de reparo ósseo maxilo-facial (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986), pois o defeito representa um desafio biológico e permite a observação da cicatrização tanto por osteocondução como por osteoindução (CHESMEL et al., 1998).

Os modelos de DTC em calvárias de ratos são excelentes para o teste de novos materiais de reparo ósseo (MARDEN et al., 1993; SWEENEY et al., 1995). Como a quantidade e a velocidade de reparo variam muito entre animais da mesma espécie (ENNEKING et al., 1975; HARRIS et al., 1968), há divergências entre os autores sobre a extensão exata de um DTC em calvárias de ratos (BRUNEL et al., 1996). Verifica-se, na literatura, grande variação de resultados entre os protocolos cirúrgicos apresentados (MARDAS et al., 2002), o que provavelmente ocorre devido a outros fatores, além do tamanho do defeito, que podem influenciar a qualidade do reparo ósseo sob condições experimentais ótimas, ou seja, em defeitos estabilizados e não infectados (SCHMITZ; HOLLINGER, 1986).

Como já citado anteriormente, algumas dessas variáveis experimentais são: a idade do animal (BOSCH et al., 1998; MARDAS et al., 2002; SATO; URIST, 1985; TAKAGI; URIST, 1982), a integridade do periósteo e da dura-máter (BOSCH et al., 1998; BRAZ et al., 2003; MELCHER, 1969; PRITCHARD, 1946; SCHMITZ et al., 1990; TAKAGI; URIST, 1982; WANG; GLIMCHER, 1999b) e a remoção ou a

presença de ambas as placas corticais (HJORTING-HANSEN; ANDREASEN, 1971), além das condições cirúrgicas (BOSCH et al., 1998; DEPORTER et al., 1988). Foi sugerido, ainda, que diferenças sutis nas respostas dos animais hospedeiros poderiam levar a resultados discrepantes dentro de um mesmo grupo de tratamento (DEPORTER et al., 1988).

Animais imaturos de uma determinada espécie podem reparar mais ativamente um defeito ósseo do que um animal mais velho. Portanto, um teste verdadeiro para um substituto ósseo deve ser realizado com um animal adulto (TAKAGI; URIST, 1982; MARDAS et al., 2002), pois assim a regeneração óssea aumentada atribuída ao crescimento não é esperada (BOSCH et al., 1998). Ratos recém-desmamados são modelos insatisfatórios em experimentos de osteoindução devido à sua enorme capacidade de reparar defeitos ósseos (TAKAGI; URIST, 1982).

Em relação à integridade do perióstio e da dura-máter, vários estudos têm demonstrado a importância de sua manutenção no processo de reparo ósseo. Um dos primeiros estudos que atentaram para este fato foi o de Pritchard (1946). Ele realizou um estudo em ratos com o objetivo de determinar os fatores responsáveis tanto pela deficiência de neoformação óssea como pela falha da união óssea em defeitos realizados em calvárias. Foi concluído que a presença de um perióstio intacto unindo os fragmentos ósseos influencia no reparo ósseo, pois o primeiro novo osso a se estender sobre o espaço da cavidade segue a linha do perióstio intacto. Em relação à influência da dura-máter, o autor comentou que, em seu experimento, ela foi rompida, ocorrendo sempre uma união fibrosa. O autor ainda citou os trabalhos de Heine (1837) e Troitzky (1932), onde foi observado que, em fraturas lineares e em extensos defeitos em calvária, o reparo ósseo acontecia somente se a dura-máter estivesse intacta. Baseado nesses fatos, Pritchard (1946) afirmou que o rompimento da dura-máter é a maior causa de falha na união óssea por dois motivos: (1) a dura-máter provê uma camada de osteoblastos ao longo do defeito, reduzindo, conseqüentemente, a extensão da migração que essas células precisam realizar; (2) a presença da dura-máter previne o ingresso prematuro de fibroblastos no coágulo sangüíneo. Wang e Glimcher (1999b) acrescentaram ainda que, para o reparo de um DTC na calvária, é necessário que ocorram indução, proliferação e diferenciação apropriadas de um número suficiente de células-tronco indiferenciadas, as quais eles encontraram

principalmente na dura-máter. A mobilidade e a divisão de osteoblastos a partir das paredes do defeito contribuiriam insignificamente para a formação óssea. Somente as células precursoras imaturas da dura-máter teriam as propriedades simultâneas de serem móveis, proliferarem e diferenciarem-se. Posteriormente, diversos estudos concordaram com a provável influência do perióstio e da dura-máter no processo de reparo ósseo (BOSCH et al., 1998; MABBUTT et al., 1979; MATZEBBACHER et al., 2003; PERSSON et al., 1979; TAKAGI; URIST, 1982).

Deste modo, a manutenção da integridade da dura-máter foi considerada essencial para a completa regeneração (REID et al., 1981) e tem sido rotina nos procedimentos experimentais para evitar diferenças nos resultados obtidos (BOSCH et al., 1998; BRAZ et al., 2003; SCHMOEKEL et al., 2004; TAKAGI; URIST, 1982; WANG; GLIMCHER, 1999a, 1999b). Foi postulado também que a realização da sutura do perióstio no topo dos defeitos ósseos de calota craniana pode influenciar a velocidade de regeneração óssea, o que pode levar a diferenças na determinação do verdadeiro tamanho de um defeito crítico de um estudo para o outro (BOSCH et al., 1998).

Algumas condições relacionadas ao procedimento cirúrgico também podem influenciar na correta determinação do tamanho de um defeito crítico em calvárias de ratos. O procedimento comum empregado para garantir a padronização do tamanho dos defeitos experimentais é o uso de trefinas circulares, o qual parece ser o único em que o tamanho do defeito e o tipo de trauma produzido podem ser padronizados (BOSCH et al., 1998).

A ampla diferença de resultados encontrada na literatura quanto ao verdadeiro diâmetro crítico de um defeito ósseo em calvária deve-se às variáveis anteriormente apresentadas e também às diferenças nas raças de ratos usados nos experimentos (BUSCH et al., 1996; SOLHEIM et al., 1992; SWEENEY et al., 1995).

Freeman e Turnbull (1973, 1974) foram os primeiros a estudar o tamanho de um defeito crítico em calvárias de ratos. Eles demonstraram que perfurações de 2 mm de diâmetro, realizadas através do perióstio e dos ossos parietais de ratos Wistar *albinus* machos, de média idade e 500 g de peso, cicatrizaram com pequena formação óssea, contendo tecido conjuntivo frouxo após 12 semanas da cirurgia. Com um tempo menor de observação pós-operatória (7 semanas), Herold et al. (1974)

também verificaram, em ratos *albinus* adultos, que defeitos de 2 mm de diâmetro não permitiram a regeneração óssea.

Posteriormente, Mulliken e Glowacki (1980) e Glowacki et al. (1981) verificaram que defeitos de 4 mm de diâmetro cumpriram os requisitos de um DTC, em calotas cranianas de ratos Charles River machos, de 28 dias de idade, pois não cicatrizaram com tecido ósseo mesmo após 6 meses de observação.

Takagi e Urist (1982) criaram defeitos ainda maiores, de 8 mm de diâmetro, em calvárias de ratos Sprague-Dawley de 6 meses de idade. Os defeitos reduziram para 5 mm em 4 semanas, ou seja, não houve fechamento nem de 50% do tamanho do defeito e nem melhora na cicatrização do defeito até o período de 12 semanas.

Vários trabalhos foram realizados seguindo o padrão realizado por Takagi e Urist (1982), com um defeito na calvária de 8 mm de diâmetro (CHESMEL et al., 1998; DAHLIN et al., 1991; FOWLER et al., 2002; KIM et al., 2001, 2004; LIM et al., 2000; MARDEN et al., 1993; MATZENBACHER et al., 2003; MUKHERJEE et al., 2003; SCHLIEPHAKE et al., 2004; SCHMOEKEL et al., 2004; SWEENEY et al., 1995; WANG et al., 1998; WANG; GLIMCHER, 1999a, 1999b), inclusive em ratos Long-Evans, Walter Reed (HOLLINGER et al., 1989) e Fisher (SIKAVITSAS et al., 2003).

Em 1988, entretanto, Deporter et al. demonstraram que defeitos de 4 mm, em calvárias de ratos Wistar, cicatrizaram com uma redução no diâmetro do defeito ósseo, mas que o centro do defeito permaneceu composto por um denso tecido conjuntivo. Outros trabalhos também utilizaram ratos Wistar (SOLHEIM et al., 1992) ou da raça Sprague-Dawley (KRUKOWSKI et al., 1990) e igualmente demonstraram o não fechamento de defeitos circulares de 4 mm de diâmetro em calotas cranianas.

Com o objetivo de caracterizar o processo de cicatrização de não uniões ósseas com auxílio da microscopia de luz e eletrônica, Schmitz et al. (1990) realizaram defeitos de craniotomia de 8, 4 e 3 mm de diâmetro em ratos Sprague-Dawley e verificaram que os defeitos de 3 e 4 mm demonstraram maior grau de neoformação óssea e evidência de reparo ósseo normal do que os defeitos de 8 mm, mas também não fecharam completamente com formação óssea.

Ainda outros estudos utilizaram ratos adultos Wistar com defeitos cranianos de 6 mm (BRUNEL et al., 1996) e de 5 mm de diâmetro (BUSCH et al., 1996), que também não cicatrizaram espontaneamente em um período de observação de, no mínimo, 30 dias.

Nesse contexto, Bosch et al. (1998) realizaram um trabalho exclusivamente com o intuito de verificar se defeitos de 5 mm de diâmetro, em calvárias de ratos Wistar adultos, de 5 a 6 meses de idade e 400 a 600 g de peso, preencheriam os requisitos de um DTC. Os autores foram motivados a buscar um DTC menor do que o de 8 mm, amplamente utilizado, por algumas inconveniências dos defeitos amplos, como: (1) este tamanho de defeito na calvária inclui a sutura sagital, conseqüentemente introduzindo o tecido conjuntivo da sutura na avaliação da regeneração óssea; (2) não é possível a realização de um estudo experimental pareado comparando o sítio controle com o sítio teste ou dois sítios testes diferentes nos dois ossos parietais; (3) o risco de lesar o seio sagital, localizado sob a sutura sagital, é alto, aumentando a possibilidade de hemorragia durante a cirurgia.

Utilizando os critérios “não fechamento”, “fechamento parcial” e “fechamento completo” dos defeitos, Bosch et al. (1998) verificaram que nenhum dos defeitos confeccionados revelou sinais de regeneração óssea espontânea aos 6 e 12 meses após a cirurgia, exceto por pequenas quantidades de formação óssea limitadas às margens dos defeitos. Portanto, os defeitos de 5 mm de diâmetro foram considerados DTC, representando um modelo experimental adequado para avaliar a eficiência de materiais osteopromotores na cicatrização de defeitos ósseos na região crânio-maxilo-facial.

Na literatura, podem ser encontrados diversos estudos que seguiram o modelo de DTC estabelecido por Bosch et al. (1998) (BLOM et al., 2001; BRAZ et al., 2003; DONOS et al., 2004; MARDAS et al., 2002; VERNA et al., 2002; ZANCHETTA et al., 2003), inclusive em ratos da raça Sprague-Dawley (BOHNING et al., 1999), que confirmaram a natureza crítica do defeito de 5 mm de diâmetro.

Quanto à possibilidade de serem realizadas inferências para a prática clínica, Schmitz e Hollinger (1986) afirmaram que os testes de substitutos ósseos podem iniciar-se em calvárias de rato e de coelho e serem seguidos por testes em mandíbulas de cães e macacos. O início em DTC em

ratos adultos proporciona uma maneira barata de analisar os materiais para reparo ósseo quanto à toxicidade e eficácia.

## 2. Sulfato de Cálcio

Atualmente, os materiais para reposição óssea podem ser classificados, de acordo com suas origens, em: autógenos, alógenos, xenógenos e sintéticos ou aloplásticos. Dentre os materiais sintéticos, está situado o sulfato de cálcio (DELLOYE et al., 2003).

Os povos romanos e egípcios da Antigüidade já utilizavam o sulfato de cálcio (SC) para cobrir as bandagens que envolviam as múmias. O SC, que ficou conhecido como “gesso Paris”, pois sua melhor fonte conhecida era uma aldeia ao norte desta cidade, é intimamente relacionado à história da Ortopedia (VAN RENS, 1987).

O SC que é usado até hoje em bandagens foi introduzido por Mathijsen, em 1850. Este oficial holandês relata ter visto Hendriksz, um médico prático, usar moldes de gesso para o tratamento de fraturas, o que teve início em 1814 (VAN RENS, 1987).

O primeiro relato do uso do gesso Paris para preencher defeitos ósseos foi publicado por Dressman (1892 apud BAHN, 1966), que descreveu os resultados obtidos no tratamento de 8 pacientes. Em cinco deles, os defeitos foram totalmente preenchidos por novo tecido ósseo e em dois pacientes isto não ocorreu. No oitavo paciente, que possuía duas cavidades, uma foi preenchida e a outra não. Dois anos depois, Stachow aplicou o material em ovelhas e observou completa reabsorção do gesso e regeneração óssea, enquanto que Martin obteve resultados semelhantes em cães (BAHN, 1966).

Nenhum interesse adicional no material foi evidente até 1925, quando um trabalho de Kofmann relatou o sucesso do uso do gesso Paris para preencher cavidades localizadas em diferentes ossos do corpo, em vários pacientes, sendo que um deles vinha sendo acompanhado por 13 anos. A partir de então, realizaram-se outros estudos em pacientes e em animais (BAHN, 1966).

O primeiro relato do uso do SC em ossos maxilares data de 1931, quando Edberg tratou dois pacientes com amplos cistos dentígeros. Contudo, não foram obtidos bons resultados devido à expulsão do material. Em 1944, Nielsen publicou um extenso relato sobre o tratamento de 16 pacientes com cavidades infectadas, inclusive por tuberculose, e 14 com cavidades não infectadas, alguns acompanhados por longos períodos de tempo. Todos os casos apresentaram resultados satisfatórios. O gesso Paris passou a ser utilizado em diversos estudos como veículo para administração de antibióticos e como material de escolha em casos de cavidades infectadas, pois parecia ser útil para carregar medicação para dentro dessas áreas, além de sua reabsorção permitir uma liberação sustentada do medicamento (BAHN, 1966; PELTIER, 1961).

Os primeiros americanos que investigaram o gesso Paris foram Peltier e Lillo (1956), que observaram que o material, confeccionado na forma de cilindro e implantado em defeitos cirúrgicos críticos subperiosteais preparados em raios de cães, desapareceu completamente nos exames radiográficos após 45 a 72 dias. Este estudo também mostrou evidência histológica da reabsorção total do gesso e completa regeneração óssea em alguns casos. Além deste, outros trabalhos, em humanos e em animais, observaram neoformação óssea com o uso do SC e atestaram a ausência de reação de corpo estranho, demonstrando a boa tolerância ao material pelos tecidos (BAHN, 1966; CALHOUN et al., 1963, 1965; EDBERG, 1931; ELKINS; JONES, 1988; NIELSEN, 1944; PELTIER, 1959, 1961; PELTIER et al., 1957; PELTIER; ORN, 1957).

Ao ser comparado com o enxerto de osso autógeno para o preenchimento de cavidades, foi demonstrado que o SC levaria à regeneração do osso completamente normal mais cedo, dentro de poucas semanas, provavelmente porque ele seria mais rapidamente reabsorvido, quando comparado aos longos períodos necessários para a reabsorção dos enxertos autógenos, homogêneos e outros tipos de substitutos ósseos (BAHN, 1966; PELTIER, 1959). Bell (1960) comprovou esses resultados quando demonstrou, por meio de análises radiográficas, que o implante de SC em tecidos musculares de cães foi reabsorvido em 4,7 semanas, em comparação às 7 semanas necessárias para a reabsorção do enxerto ósseo autógeno. Além disso, notou que, quanto maior o tamanho da partícula de qualquer um dos diversos materiais testados, mais lenta seria a reabsorção (BELL, 1964). Em 1964, o mesmo

autor, confirmando os achados anteriores, concluiu que o gesso Paris seria o material de segunda opção, após o enxerto de osso autógeno, para a regeneração óssea. No mesmo ano, em parceria com outro pesquisador, Bell complementou esses resultados com comprovação histológica dos tempos de reabsorção (BELL; SILLS, 1964). Entretanto, o mecanismo pelo qual a reabsorção aconteceria permanecia obscuro (CALHOUN et al., 1965).

Um estudo importante para a Odontologia foi realizado por Lebourg e Biou (1961), que utilizaram o SC para preencher defeitos ósseos nos maxilares de alguns pacientes. Eles observaram evidência radiográfica de que a massa de SC foi totalmente reabsorvida após 3 a 4 semanas da implantação e que a cicatrização dos defeitos tratados foi muito acelerada em relação aos controles. Outros trabalhos, em pacientes e em animais, foram realizados com a implantação do gesso Paris em defeitos localizados nos ossos maxilares (ALDERMAN, 1969; AL RUHAIMI, 2001b; CALHOUN et al., 1965). Enquanto McKee e Bailey (1984) demonstraram que o material seria capaz de estimular a osteogênese, outros discordaram (BIER, 1970; PELTIER, 1961).

O grupo de pesquisadores que não concordava com a ação osteogênica do gesso Paris podia ser dividido em outros dois: aqueles que achavam que o gesso Paris não seria osteogênico, mas estimularia a formação óssea na presença de osso ou de periósteo e aqueles que acreditavam que o material não inibiria nem aceleraria o processo de neoformação óssea, atuando principalmente como um preenchedor de espaço, cuja propriedade mais importante seria a velocidade de reabsorção, coincidente com a do crescimento ósseo para dentro de um defeito. A maioria dos estudiosos concordava com a importância da manutenção de um coágulo saudável e organizado para o reparo ósseo, o que depende de um suprimento sanguíneo adequado. Para isso, o risco de o tecido de granulação colapsar ou necrosar e retardar a cicatrização poderia ser diminuído com um material inócuo que ocupasse o espaço, restringindo o hematoma primário à periferia da lesão (BAHN, 1966; BIER, 1970; CALHOUN et al., 1967; PELTIER, 1961; PELTIER; LILLO, 1956). Posteriormente, os autores passaram a concordar em relação à opinião de que o SC seria apenas osteocondutivo (CHO et al., 2002; KIM et al., 2002; PIETRZAK; RONK, 2000), propriedade definida hoje como a atuação do

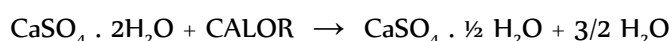
implante ósseo como um arcabouço para o crescimento de células precursoras de osteoblastos para o interior do defeito, seguida de reabsorção gradual do material (LANG et al., 1999).

Foi sugerido que o SC constituiria um ambiente favorável para a regeneração óssea devido a sua habilidade em suprir íons inorgânicos de cálcio e fósforo. Embora íons inorgânicos suficientes para o reparo ósseo de fraturas possam ser supridos pela reabsorção osteoclástica do osso, a partir das paredes do defeito, isso pode não acontecer em defeitos muito amplos ou onde a perda óssea é extensa. Conseqüentemente, a implantação do SC em tais defeitos aceleraria a cicatrização, desde que matriz orgânica e osteoblastos viáveis estivessem presentes (BAHN, 1966; LEBOURG; BIOU, 1961). Não foi demonstrado aumento significativo dos níveis de cálcio no soro sanguíneo com o uso do material (PELTIER, 1961).

Em todos os estudos relatados anteriormente, o SC usado foi confeccionado em elementos de formato padrão, como cilindros ou pelotas, antes da esterilização e implantação nos tecidos. Era considerado um material seguro, simples, barato, estável, completamente reabsorvível, prontamente disponível, fácil de esterilizar e com resistência à compressão, se comparado ao osso medular. Além de ser bem tolerado pelos tecidos moles e duros, poderia ser implantado em áreas infectadas e não inibiria o reparo ósseo, podendo ser usado efetivamente tanto em defeitos ósseos endocondrais como em intramembranosos (BAHN, 1966; BEESON, 1981; BIER, 1970; KIM et al., 2002; PELTIER, 1961; PIETRZAK; RONK, 2000).

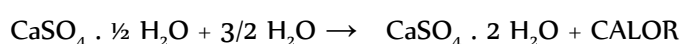
Uma limitação dos estudos anteriormente mencionados é a falta de especificação do tipo de SC empregado, o que torna difícil a comparação entre os diversos trabalhos. Como eles o utilizavam na forma sólida, Frame (1975) afirmou que seria um SC di-hidratado, embora preparado a partir do SC hemi-hidratado. Já Coetzee (1980) e Pietrzak e Ronk (2000) opinaram que, como os autores da época utilizavam freqüentemente o termo “gesso Paris”, estariam referindo-se ao SC hemi-hidratado. As informações quanto à pureza, preparação, esterilização e efeito da esterilização nas propriedades do material também não eram bem esclarecidas (FRAME, 1975). Devido a essas controvérsias, alguns esclarecimentos quanto à terminologia do SC são oportunos.

O termo “sulfato de cálcio” refere-se ao sal cristalino que pode existir em diferentes graus de hidratação, ou seja, o grau em que a água está associada à estrutura do cristal. O termo “gesso natural” ou “gipsita” refere-se ao mineral natural comum, que consiste na forma di-hidratada ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ). Uma forma menos hidratada do SC, a hemi-hidratada ( $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ ), é produzida pelo processo de calcinação ou aquecimento da forma di-hidratada, de maneira que esta perde  $\frac{3}{4}$  de sua quantidade de água. Esta reação pode ser demonstrada como se segue (PIETRZAK; RONK, 2000):



O processo de calcinação pode ser realizado sob pressão de vapor em uma autoclave entre 120°C e 130°C ou ao ar livre entre 110°C e 120°C. Ambos os métodos produzem a forma hemi-hidratada, mas com propriedades cristalinas diferentes. O aquecimento sob pressão de vapor produz a forma  $\alpha$ -hemi-hidratada, que é o constituinte principal do gesso odontológico, usado para confecção de moldes e troquéis. Já o aquecimento ao ar livre produz a forma  $\beta$ -hemi-hidratada, conhecida popularmente como “gesso Paris” (PARSONS et al., 1988; PIETRZAK; RONK, 2000).

De forma inversa, quando as formas hemi-hidratadas reagem com pequenas quantidades de água, ocorre uma reação exotérmica, com liberação de calor, e elas transformam-se em SC di-hidratado, processo conhecido como reidratação (PELTIER, 1961; PIETRZAK; RONK, 2000):



Segundo Coetzee (1980), a qualidade do SC para uso odontológico, na confecção de moldes, está relacionada ao fato de que, quando misturado com água, ele torna-se sólido. Uma mistura ideal tem como características: presa rápida, alta expansão, boa dureza de superfície e resistência.

Frame (1975) destaca-se na literatura científica por ter especificado que utilizava o SC di-hidratado. O autor, inclusive, preparou um tipo diferente de SC di-hidratado poroso, pois estava em busca de um material que pudesse substituir o enxerto de osso autógeno para restaurar defeitos nos maxilares. Estudos prévios em animais tinham demonstrado que os espécimes porosos de SC di-hidratado sozinho reabsorveram muito rapidamente (talvez devido a sua alta solubilidade), em sítios subcutâneos, para serem efetivos na indução de substituição óssea (FRAME, 1975; TOPAZIAN et al., 1971). Então Frame (1975) sugeriu uma maneira de controlar a velocidade de degradação, aplicando

cuidadosamente um polímero sobre o material, implantado em subcutâneo de ratos, tal que a degradação dos cilindros porosos fosse proporcional à velocidade de crescimento do novo osso. Posteriormente, o autor repetiu o implante deste material em calvárias de coelhos, onde foi bem tolerado pelos tecidos e não retardou a cicatrização óssea. Ainda era obscuro, contudo, se o material seria capaz de resistir às forças mastigatórias quando empregado nos maxilares (FRAME, 1980a).

A partir de 1974, o SC, especificado como hemi-hidratado, passou a ser utilizado também na Otorrinolaringologia, como implante em cavidades mastóides e no seio frontal, devido a sua capacidade de auxiliar na reconstrução da estrutura óssea facial (BEESON, 1981; COETZEE, 1980). Coetzee (1980) usou o SC em 110 pacientes para preencher defeitos ósseos depois de variados tipos de cirurgia na Otorrinolaringologia. Mais de 90% desses pacientes tiveram completo preenchimento ósseo após o primeiro procedimento cirúrgico e o restante desenvolveu osso após um procedimento subsequente. Até hoje são estudadas novas formulações do SC para aplicação na Ortopedia, como, por exemplo, em fraturas distais de ossos rádios (LADD; PLIAM, 1999).

Na Odontologia, o gesso Paris passou a ser considerado particularmente útil como veículo para transportar medicamentos para áreas infectadas, onde sua reabsorção poderia causar liberação prolongada do medicamento. O gesso poderia também ser efetivo em feridas de extração ou de cistos e em defeitos cirúrgicos e osteomielíticos, para facilitar a restauração do contorno morfológico normal e reconstruir rebordos alveolares reabsorvidos (BAHN, 1966).

Nos estudos voltados para a Odontologia, a nomenclatura do SC inicialmente utilizada foi “gesso Paris”, o que sugere que a forma  $\beta$ -hemi-hidratada teria sido empregada na maioria das pesquisas. Posteriormente, o termo “sulfato de cálcio” passou a ser utilizado, também se referindo à forma  $\beta$ -hemi-hidratada.

Muitos estudos foram realizados em animais e em humanos, tanto clínicos como histológicos, com o intuito de verificar o desempenho do SC em tratamentos de defeitos ósseos bucais, com resultados controversos. Isso provavelmente se deve a diferenças nos métodos de avaliação (clínico, radiográfico e/ou histológico), nos tempos de observação e na própria resposta do hospedeiro (APAYDIN; TORABINEJAD, 2004; GUARNIERI et al., 2004).

Calhoun et al. (1967), ao realizarem um estudo histológico para verificar o efeito do SC na reconstrução de rebordos alveolares de cães, não observaram vantagem na cicatrização óssea com o material, em comparação aos controles, que não receberam os implantes. De forma semelhante, Victor et al. (1975) realizaram um estudo histológico com a implantação do SC em alvéolos dentais de ratos e também não obtiveram bons resultados. Eles afirmaram que o material não deveria ser usado em cirurgias ósseas bucais devido à intensa reação inflamatória, reabsorção óssea e reação de corpo estranho que ele provocou. Al Ruhaimi (2000), que também usou o SC como implante ósseo em côndilos femurais de coelhos, chegou à conclusão que o SC não seria um bom material para ser utilizado sozinho como preenchimento. O autor pôde confirmar este resultado quando usou o material da mesma maneira para tratar fissuras palatais de coelhos (AL RUHAIMI, 2001a). No tratamento de defeitos ósseos relacionados ao sítio periapical, o recente estudo de Apaydin e Torabinejad (2004) também não mostrou vantagens em usar o SC em relação a deixar o defeito cicatrizar por si só. Em cães acompanhados por 4 meses, a implantação do SC não levou à neoformação óssea.

Por outro lado, resultados satisfatórios foram relatados com o uso do SC em outros estudos histológicos realizados em animais, como na substituição de partes perdidas do corpo mandibular (MCKEE; BAILEY, 1984), em tratamentos de defeitos ósseos endodônticos amplos e do tipo “through-and-through” em cães (MURASHIMA et al., 2002) e na distração osteogênica em mandíbulas de coelhos (AL RUHAIMI, 2001b) e de cães (CHO et al., 2002).

Diversos estudos histológicos destinaram-se a analisar a associação do SC a outros materiais, pois suas características de biocompatibilidade e reabsorção poderiam ajudar sua atuação como um agente de ligação, quando misturado a outras substâncias. Além disso, sua velocidade de reabsorção aumenta e sua invasão nos tecidos circundantes é facilitada conforme sua densidade diminui (KIM et al., 2002).

Foram produzidos, portanto, compósitos de SC hemi-hidratado com hidroxiapatita ou com biopolímeros, sugeridos como opção aos enxertos de osso autógeno e alógeno (AL RUHAIMI, 2000; FRAME et al., 1987; PARSONS et al., 1988). Bons resultados foram obtidos e foi enaltecida a

qualidade do SC em facilitar a manipulação das partículas de hidroxiapatita durante sua colocação, limitando a migração das mesmas (FRAME et al., 1987).

Quando utilizado com o enxerto de osso autógeno, em proporções iguais, o SC não demonstrou diferenças estatisticamente significativas em relação ao enxerto de osso autógeno sozinho. Em um estudo histológico e radiográfico, que avaliou a neoformação óssea em ossos femurais de cães, as cavidades foram implantadas também com o SC sozinho. Os dois implantes, associados ou não, levaram a resultados superiores aos dos defeitos deixados vazios (controles) (ELKINS; JONES, 1988).

Yamazaki et al. (1988) encontraram outra importante finalidade para o uso do SC hemi-hidratado. Ele foi associado às POM em implantes realizados em músculos femurais de camundongos e houve formação de osso trabecular após 3 semanas e de osso lamelar, incluindo a medula óssea, após 6 semanas. Portanto, o SC seria um meio efetivo de liberação das POM, pois não influenciaria na reabsorção e no deslocamento das POM, como outros materiais aloplásticos previamente testados.

Kim et al. (2001) associaram o SC à dentina particulada, a um osso bovino mineral natural (Bio-Oss<sup>®</sup>) ou a ambos, avaliando estes compósitos em DTC criados em calvárias de ratos. A associação do SC à dentina particulada não foi tão satisfatória na neoformação óssea quanto a sua associação ao Bio-Oss<sup>®</sup>. Não satisfeitos com a pouca vantagem obtida com o uso da combinação de SC com dentina particulada, os mesmos autores verificaram a influência do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) quando acrescentado a este compósito. Foram realizados defeitos ósseos em cristas ilíacas de cães, nos quais foram inseridos implantes de titânio, associados ou não ao compósito de SC/dentina particulada ou compósito de SC/dentina particulada/PRP. Por análise histomorfométrica, observou-se que o compósito de SC/dentina particulada levou ao completo preenchimento ósseo do defeito e à osseointegração, sendo estes resultados melhorados quando o PRP foi usado como adjunto (KIM et al., 2002).

Já na prática clínica, a preocupação com a preservação dos rebordos alveolares após exodontias fez os pesquisadores empenharem-se em buscas por materiais com esta finalidade, principalmente quando se descobriu que 70% a 80% da perda óssea total, referente a um período

de 2 anos, acontece nos primeiros 3 meses (LAM, 1972). Foi sugerido que a presença de um implante no alvéolo do dente extraído atuaria da mesma maneira que um dente em posição. Com esta finalidade, Lam (1972) testou o SC em pacientes. Ele observou que, após uma semana da cirurgia, os tecidos ao redor dos implantes apresentaram-se inflamados, o que pode ter acontecido por uma esterilização imprópria do SC, e concluíram que o material não seria bem tolerado biologicamente. Todavia, um resultado satisfatório, estética e funcionalmente, foi relatado quando o SC associado a uma hidroxiapatita não absorvível foi usado para o aumento de rebordo alveolar de um caso clínico apresentado na literatura. (JACKSON, 2000).

Estudos histológicos realizados em pacientes demonstraram que o SC poderia ser usado em procedimentos de levantamento de seio maxilar, com colocação imediata ou tardia de implantes endósseos. Pecora et al. (1998) apresentaram os casos de dois pacientes em que as observações clínicas, radiográficas e histológicas sugeriram que o SC seria um material viável para ser usado sozinho nessas intervenções. Porém, eles alertaram para a necessidade de pesquisas adicionais para avaliar o tempo de reabsorção e a redução no volume do material neste período. De Leonardis e Pecora publicaram, em 1999, os resultados de um ano de acompanhamento de 45 pacientes que receberam o implante de SC para levantamento de seio. Eles apresentaram algumas alternativas na técnica de manipulação do SC, para retardar sua reabsorção e, conseqüentemente, contração durante a fase de cicatrização. Na complementação deste estudo, com análises histológica e histomorfométrica, foi observado que o SC poderia levar a uma apropriada osseointegração dos implantes endósseos e que o novo tecido ósseo formado seria adequado, em quantidade e qualidade, para a colocação dos mesmos (DE LEONARDIS; PECORA, 2000; GUARNIERI; BOVI, 2002). A ausência do material enxertado, após 8 meses de cicatrização, sugeriu uma transformação completa do SC em osso trabeculado (GUARNIERI; BOVI, 2002).

Outro importante estudo clínico, histológico e histométrico demonstrou a efetividade do SC para preenchimento de alvéolos após extrações, com o intuito de preservação do rebordo alveolar. Após 3 meses de cicatrização de alvéolos de 10 pacientes, foi visto que o SC foi totalmente reabsorvido e permitiu a organização do osso trabecular (GUARNIERI et al., 2004).

Em relação ao uso do SC para o tratamento de defeitos ósseos periodontais, também não houve unanimidade nos resultados apresentados por diversos estudos. Além dos fatores anteriormente citados que podem ter acarretado nessa disparidade, também pode ser considerado que, quanto mais profundo um defeito periodontal, maior a chance de uma melhora mais significativa (HARRIS, 2004).

Radentz e Collings (1965), em um estudo histológico que simulou defeitos ósseos periodontais em cães, verificaram que aqueles preenchidos com SC pareceram ter uma cicatrização facilitada. Este resultado provavelmente estaria relacionado ao efeito selador do SC, que proibiria a entrada de material externo e a migração apical da superfície do epitélio para dentro da ferida. Entretanto, nos tempos de cicatrização mais tardios, os defeitos deixados vazios (controles) praticamente se igualaram aos preenchidos com SC.

Posteriormente, uma série de experimentos foi realizada por Kim et al. (1998a), com o objetivo de verificar a atuação do SC como material de enxerto em defeitos periodontais de uma ou duas paredes ósseas, criados cirurgicamente em cães. Após um período de 8 semanas de cicatrização, o material mostrou-se eficaz, histológica e histometricamente, na regeneração do osso e do cemento e na prevenção da migração apical do epitélio juncional, por prover um ambiente adequado para a estabilidade e cicatrização da ferida.

Foram realizados também estudos clínicos dedicados a determinar se os implantes de SC, em lesões periodontais infra-ósseas, cumpririam os bons resultados indicados pelos prévios estudos em animais. O SC não levou a reações adversas, como edema, reação de corpo estranho, rejeição do implante ou infecção. Sustentou o periodonto enfraquecido dos dentes e foi extremamente benéfico em ajudar o organismo a reconstruir e reparar o osso alveolar perdido (ALDERMAN, 1969). Em defeitos periodontais preenchidos com SC e acompanhados por pelo menos 1 ano, foi demonstrada melhora em parâmetros clínicos como profundidade de bolsa e mobilidade dental. Radiograficamente, observou-se que a regeneração óssea ocorreu somente nos defeitos de três paredes e que o material foi prontamente reabsorvido de 3 a 5 semanas (BIER, 1970).

O SC foi utilizado, com sucesso, no tratamento de defeito periodontal associado a sulco palato-gengival, em um caso clínico apresentado por Andreana (1998). Por ser uma região estética, de incisivo lateral superior, foi destacada a vantagem de ser um material totalmente absorvível, evitando uma segunda intervenção cirúrgica. Bons resultados também foram obtidos em casos de lesões amplas periapicais, com envolvimento endo-periodontal e em tratamento de lesões de furca grau III, onde o SC foi associado à tetraciclina e agiu como um veículo para a liberação do medicamento (BIER; SINENSKY, 1999).

Entretanto, um estudo clínico demonstrou que o SC não induziu nova formação óssea em 10 defeitos infra-ósseos de 5 pacientes. Além de evidências clínicas e radiográficas de que nenhum osso havia sido formado, não foram encontradas paredes ósseas finas ou nítidas na cirurgia de re-entrada, após 6 meses (SHAFFER; APP, 1971).

Bissada e Hangorsky (1980) chegaram a afirmar que, embora alguns estudos tivessem observado boas características do SC, o seu uso na terapia periodontal não havia gerado entusiasmo. Eles relataram que o material teria sido abandonado e não acreditavam que ele voltaria a ser usado como alternativa terapêutica na doença periodontal.

Então o SC passou a ser associado a outras substâncias, formando compósitos com o objetivo de possíveis interações sinérgicas benéficas, para aplicação clínica em defeitos periodontais. Assim, Pepelassi et al. (1991) elaboraram um compósito de SC, tricálcio-fosfato e doxiciclina para o tratamento de lesões de furca graus II e III. Os pacientes foram avaliados por medidas no tecido ósseo no momento da implantação e em re-entradas, após 6 meses, quando os defeitos tratados com o compósito apresentaram melhores preenchimentos, profundidades de sondagem e níveis de inserção clínica do que os sítios que receberam apenas o debridamento cirúrgico. O SC serviria de veículo para carregar e reter a doxiciclina no sítio tratado, conforme tinha sido indicado pelos estudiosos que iniciaram o uso do SC como material de preenchimento (BAHN, 1966; PELTIER, 1961). Outros estudos aplicaram princípios semelhantes, com resultados satisfatórios, mas variaram as substâncias formadoras dos compósitos. Dentre eles, o de DiBattista et al. (1995) usou compósito semelhante ao do estudo anterior, mas substituiu o tricálcio-fosfato pelo aloenxerto ósseo

desmineralizado, seco e congelado (AODSC), para o tratamento de pacientes com a doença denominada, na época, Periodontite Juvenil Localizada (PJL). Já Rosen e Reynolds (1999) utilizaram um compósito para enxerto constituído de SC, AODSC e tetraciclina, em combinação com uma barreira de ácido poliláctico, para aplicação em defeitos infra-ósseos e de furca graus II e III, em uma abordagem relacionada ao princípio da Regeneração Tecidual Guiada (RTG).

Houve uma mudança nas opções de tratamento periodontal, com a introdução dos princípios da RTG (NYMAN et al. 1982a, 1982b). Foi sugerido que a exclusão de células dos tecidos epitelial e conjuntivo gengival da área de cicatrização, por meio de uma barreira física, permitiria que células do ligamento periodontal repovoassem a superfície radicular sem inserção, o que seria desejado, pois estudos anteriores mostraram que essas células dariam origem à formação de nova inserção de tecido conjuntivo (GOTTLOW et al., 1984).

Posteriormente, o termo Regeneração Óssea Guiada (ROG) foi introduzido por Buser et al. (1993), seguindo o mesmo princípio da RTG. Na presença de um defeito ósseo, o processo de cicatrização ocorreria com uma competição, entre células ósseas e células do tecido conjuntivo frouxo, para a colonização e preenchimento da área (PECORA et al., 1997b). De acordo com o princípio desta osteopromoção, poder-se-ia prevenir a invasão da região por células do tecido conjuntivo, permitindo que células ósseas crescessem e subseqüentemente promovessem a regeneração óssea (LINDE et al., 1993). A técnica facilitaria a expressão da capacidade osteogênica das populações celulares dos canais Haversianos, de Volkmann e do endósteo (VERNA et al., 2002), além de auxiliar na manutenção do coágulo (LEKOVIC et al., 1997, 1998).

A partir desses princípios, iniciou-se uma nova era no tratamento cirúrgico de defeitos ósseos e periodontais, com o interesse crescente no desenvolvimento de numerosos materiais que pudessem servir como barreiras. Neste contexto, Sottosanti (1992b) propôs o uso do SC hemi-hidratado como uma barreira. Andreana (1998) relatou que, em 1970, Ewen já havia sugerido o uso do SC com esta finalidade, o que provavelmente ficou esquecido até 1992. Até então, a barreira mais popularmente usada era a de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e), que apresenta algumas desvantagens, tais como: aumentar o tempo do procedimento cirúrgico, pois precisa ser ajustada e suturada em posição;

não ser absorvível, requerendo um segundo procedimento cirúrgico e ter a possibilidade de ser infectada, principalmente se os tecidos moles não puderem recobri-la completamente. Em caso de tornar-se exposta, o paciente pode ainda ter dor durante a mastigação e a higiene oral, devido à movimentação da barreira (ANSON, 1996; SOTTOSANTI, 1992b).

O trabalho pioneiro de Sottosanti (1992b) apresentou 4 casos clínicos, incluindo tratamento de defeitos infra-ósseos periodontais, deiscências ósseas sobre implantes endósseos e preenchimento de alvéolos imediatamente após a extração dental. Também enumerou as razões para que o SC fosse usado como barreira: 1) é biocompatível, não causa aumento da inflamação e não impede a cicatrização dos defeitos ósseos; 2) é reabsorvida completamente entre 2 e 4 semanas; 3) adere aos contornos radiculares, mesmo se sulcos profundos estão presentes; 4) é porosa para permitir trocas de fluido, não sendo a necrose do retalho um problema; 5) é densa o suficiente para excluir a invasão dos tecidos epitelial e conjuntivo; 6) é um material abundante e relativamente barato; 7) não causa desconforto adicional ao paciente. Essas qualidades foram constatadas por numerosos estudos posteriormente (AL RUHAIMI, 2001a; COURI et al., 2002; ORSINI et al., 2001; PAYNE et al., 1996). Recentemente, foram acrescentadas outras qualidades à barreira de SC, tais como: permite esterilização segura, sem risco de contaminação cruzada; provê estabilidade do coágulo; ajuda na retenção de partículas de enxertos, além de ser fonte de cálcio no início do processo de mineralização, tal que o SC transforma-se em fosfato de cálcio e, finalmente, em novo osso. Outra vantagem atribuída à barreira de SC é que não há necessidade de ajustá-la durante sua instalação, diminuindo a manipulação da mesma e, conseqüentemente, o potencial para contaminação bacteriana (SOTTOSANTI; ANSON, 2003).

Sottosanti (1992a, 1992b) explicou, ainda, como deveria ser procedido o preparo da barreira, que se inicia pela adição de água estéril ao pó de SC. O preparo e a colocação da barreira, que deve ter idealmente 1,5 a 2 mm de espessura, constituem a parte mais sensível da técnica. Isso porque o tempo de colocação é afetado por vários fatores, como a temperatura ambiente, a velocidade de mistura e a quantidade de hidratação. Segundo a técnica descrita por Sottosanti (1992a, 1992b), a barreira deveria ser usada sobre um material de preenchimento, o compósito de AODSC com SC na

proporção de 4:1, e deveria cobrir todas as partículas do mesmo e estender-se no osso circundante por 2 a 3 mm adicionais. O autor recomendou o uso em conjunto com o AODSC por ter considerado que o SC não teria propriedades osteogênicas, enquanto que o enxerto alógeno possuiria a habilidade de estimular a regeneração óssea. Além disso, o fato de o SC ser reabsorvido em aproximadamente 4 semanas seria uma desvantagem em defeitos ósseos amplos, o que estaria certamente resolvido se a barreira fosse associada ao AODSC. Se uma superfície radicular estiver presente, o SC deve ser empurrado contra a mesma até se aderir. Se for possível obter um fechamento dos tecidos moles, não há problemas em suturar sem perturbar a barreira, já que o seu endurecimento inicial ainda não aconteceu. Porém, se a barreira endurece, qualquer pressão durante a sutura pode quebrá-la. Nos casos em que a barreira de SC fica exposta ao meio bucal, foi aconselhado que ela endurecesse mais rápido para que a saliva e o sangue não a levassem embora. Para acelerar a sua presa, pode-se misturar previamente o SC em água e deixá-lo endurecer. Posteriormente, ele é quebrado em pequenas partículas e uma pequena quantidade dessas partículas (10% do volume total) é espalhada no pó que está sendo usado para fabricar a barreira, antes da adição da água estéril (ANSON, 2000; SOTTOSANTI, 1992b).

Nos casos clínicos apresentados por Sottosanti (1992b), o SC como barreira retardou a invaginação dos tecidos epitelial e conjuntivo e produziu uma resposta óssea regenerativa previsível. Prudentemente, o autor alertou para a necessidade de estudos histológicos para evidenciar a formação de novo cemento e ligamento periodontal. Em outro trabalho, o autor descreveu as vantagens em se usar a técnica em casos de defeitos ósseos periodontais, manutenção de rebordo alveolar após extração dental, colocação de implantes imediatamente após exodontia e em resolução de variados tipos de defeitos de rebordos edêntulos (SOTTOSANTI, 1992a).

Posteriormente, o referido autor apresentou outros casos clínicos em que empregou a mesma técnica descrita em 1992. Em 1995, relatou o caso de um grave defeito periodontal em um incisivo lateral superior, em que obteve bons resultados clínicos e radiográficos após 6 meses de acompanhamento. Em 1997, Sottosanti descreveu novamente a técnica, agora mais detalhadamente, para ser empregada em casos de colocação de implante endósseo imediatamente após extração

dentária. Chamou a atenção para diversos métodos que poderiam ser seguidos para que a barreira de SC não ficasse exposta ao meio bucal (SOTTOSANTI, 1995, 1997).

Outros autores realizaram estudos clínicos com a técnica proposta por Sottosanti (1992b) e confirmaram a efetividade da mesma em defeitos ósseos periodontais, incluindo situações de prognóstico periodontal tradicionalmente desfavorável e casos de amputação radicular de molar (ANSON, 1996, 1998; BIER; SINENSKY, 1999; CONNER, 1996; KIM et al., 1998a, 1998b), com a vantagem de que o defeito ósseo, radiograficamente, poderia ser diferenciado do compósito de preenchimento, que é mais radiolúcido (ANSON, 2000). Por todas as qualidades já relatadas, a referida barreira foi recomendada especialmente para uso em áreas estéticas e em defeitos periodontais extensos ou múltiplos em um mesmo quadrante (ANSON, 2000; ORSINI et al., 2001; ROSEN; REYNOLDS, 1999).

De acordo com Anson (2002), o uso da técnica proposta por Sottosanti (1992b), em casos de extração dental em áreas estéticas, permite a posterior instalação de um implante específico de estágio único, com características para obter um melhor perfil de emergência. Como um resultado estético mais previsível ocorre quando as papilas não são elevadas, a técnica proposta por Sottosanti (1992b) é ideal por não implicar em levantamento de retalho. Com o uso de uma membrana de PTFE-e, frequentemente é necessário o rebatimento ou a eliminação das papilas na porção interproximal do retalho, para facilitar sua coaptação e fechamento completo da área cirúrgica (LEKOVIC et al., 1997). Devido à habilidade do retalho cicatrizar sobre a barreira de SC sem infecção ou inflamação, ele poderia ser reposicionado normalmente, e não coronalmente, reduzindo a chance de deteriorização da papila. Além disso, a estética já seria favorecida pelo fato de não ser necessária uma segunda intervenção cirúrgica (ANSON, 2000).

Inicialmente, a RTG e a ROG usavam membranas não absorvíveis sem material de preenchimento ósseo particulado, evoluindo para a inclusão do mesmo posteriormente. Na prática clínica de hoje, os procedimentos estão em contínuo desenvolvimento. Há numerosas barreiras absorvíveis e não absorvíveis no mercado, assim como substitutos ósseos particulados. Dentre as membranas não absorvíveis, as que tiveram maior destaque foram a de PTFE-e, com e sem reforço de

titânio, e a Millipore® (GOTTLOW et al., 1984). No grupo das absorvíveis, no qual a barreira de SC está situada, encontram-se as de colágeno, ácido poliláctico, ácido poliglicólico e seus copolímeros (BLUMENTHAL, 1988; MAGNUSSON et al., 1988), dentre outras. De qualquer modo, existem controvérsias em relação à qual combinação de barreira com substituto ósseo leva ao melhor resultado clínico (ANSON, 2000).

Vários estudos foram realizados com o objetivo de comparar a barreira de SC a outras, absorvíveis e não absorvíveis (COURI et al., 2002; MAZE et al., 1994; PAYNE et al., 1996). A barreira de SC obteve resultados superiores à de PTFE-e e de ácido poliláctico em relação à promoção de um ambiente com menos contaminação bacteriana (PAYNE et al., 1996). Por outro lado, outros estudos que compararam a barreira de SC e a de PTFE-e chegaram a resultados conflitantes em relação à superioridade de uma ou de outra (COURI et al., 2002; MAZE et al., 1994; YOSHIKAWA et al., 2002). Quando foi comparada às barreiras de ácido poliláctico e de osso laminar, em um estudo *in vitro*, a de SC não demonstrou resultados satisfatórios em relação ao seu potencial antibacteriano. Em meios de cultura de bactérias *Prevotella nigrescens* e *Enterococcus faecalis*, a barreira de SC não levou a zonas de inibição de crescimento desses microorganismos (CHOGLE; MICKEL, 2003).

Alguns estudos clínicos e radiográficos que utilizaram a barreira de SC sobre implantes ósseos, compostos por AODSC e doxiciclina, observaram resultados favoráveis em lesões de furca grau III, em relação aos sítios que receberam apenas o debridamento a campo aberto (SETYA; BISSADA, 1995, 1999). De maneira semelhante, mas com a exclusão da doxiciclina, foi demonstrado sucesso da técnica em tratamentos de peri-implantite e de lesão endo-periodontal associada à reabsorção radicular externa (DEPORTER; TODESCAN JUNIOR., 2001; WHITE JUNIOR.; BRYANT, 2002).

Contudo, Harris (2004) atentou para a necessidade de estudos que utilizassem o SC na condição de barreira, mas que envolvessem uma amostra maior de pacientes. Segundo ele, a maioria dos trabalhos que relatou o uso do material até então consistia de casos clínicos ou de amostras relativamente pequenas. Com a finalidade de estudarem um grupo maior, de 100 pacientes, os autores trataram defeitos periodontais, excluindo-se os de furca, com um material de preenchimento

composto de AODSC, SC, tetraciclina e hidroxiapatita porosa coberto pela barreira de SC. Verificaram melhora dos parâmetros clínicos avaliados com o uso desses biomateriais.

Poucos estudos histológicos foram realizados com o intuito de avaliar o potencial da barreira de SC nas regenerações óssea e periodontal.

Kim et al. (1998a, 1998c) realizaram estudos histológicos e histométricos, com o objetivo de comparar a técnica proposta por Sottosanti (1992b) a outras alternativas. Eles confeccionaram defeitos infra-ósseos de três paredes em cães, que receberam, como material de preenchimento, o AODSC, o SC ou os dois em associação, cobertos pela barreira de SC, ou foram deixados vazios (controles). Os defeitos que foram tratados com a combinação dos dois materiais de preenchimento mais a barreira de SC obtiveram boa regeneração óssea alveolar. Foi concluído que as propriedades de manutenção de espaço dos implantes levariam à regeneração, o que também poderia ser possível com outros substitutos ósseos.

Com o objetivo de avaliar o efeito do SC como barreira no princípio da ROG, Pecora et al. (1997b) aplicaram discos de SC pré-endurecidos para cobrirem, bilateralmente, defeitos criados em mandíbulas de ratos. Os defeitos controle foram deixados descobertos. Os animais foram sacrificados em períodos pós-operatórios de até 22 semanas. Foi verificado o potencial do SC em agir como uma barreira para promover a ROG, já que ele impediu o crescimento de tecido conjuntivo para o interior das cavidades, possibilitando neoformação óssea completa ou parcial nos tempos testados, o que não aconteceu com os defeitos controle. Com o mesmo objetivo e resultados igualmente positivos, Al Ruhaimi (2001a) tratou fissuras palatais de coelhos com a barreira de SC associada a um enxerto de osso bovino desmineralizado, como material de preenchimento.

Um estudo histológico realizado em tíbias de coelhos, por MacNeill et al. (1999), teve o objetivo de comparar o desempenho de alguns materiais para implante ósseo com controles positivos, que consistiam de enxerto de osso autógeno, e negativos, onde as cavidades cirúrgicas eram preenchidas somente por coágulo sangüíneo. Os materiais avaliados foram dois tipos de vidro bioativo, uma hidroxiapatita e o osso autógeno associado à barreira de SC. Os defeitos que receberam a última opção exibiram um potencial de cicatrização consideravelmente maior, inclusive em relação

aos controles positivos. Isso se deve também, segundo os autores, à rápida velocidade de reabsorção do SC, permitindo o ingresso precoce de células osteoprogenitoras, e não só ao efeito osteogênico e osteoindutivo do osso autógeno.

A barreira de SC teve o seu valor reconhecido também na Endodontia, quando Alhadainy e Himel (1994) realizaram um estudo *in vitro*, em molares que apresentavam perfurações de furca, e o material foi eficaz em prevenir o extravasamento de amálgama e ionômero de vidro, usados para tratar as perfurações. A partir deste estudo, outros autores passaram a reconhecer o valor da barreira de SC em tratamentos endodônticos (PECORA et al., 1997a). O material foi indicado e aplicado no tratamento de defeitos ósseos após apicetomia, lesões endodônticas “through-and-through”, lesões periapicais com envolvimento de furca e comunicações endo-periodontais (PECORA et al., 1997a, 2001). Seu uso ainda foi recomendado como um agente hemostático absorvível em microcirurgias endodônticas, pois, quando do seu endurecimento, a barreira de SC vedaria mecanicamente todos os canais vasculares, além de não retardar a cicatrização e não aumentar o risco de infecção (KIM; RETHNAM, 1997).

Diante de todo o exposto, torna-se evidente a versatilidade do SC no tratamento de diversas situações clínicas, usando pequenas modificações de técnicas, conforme escreveram Bier e Sinensky (1999). É considerada a mais antiga e uma das mais simples alternativas de substitutos ósseos sintéticos (PIETRZAK; RONK, 2000). Por todas as suas qualidades, o SC foi eleito recentemente, por Cho et al. (2002), como o melhor custo-benefício dentre os implantes ósseos disponíveis.

Sabe-se que o resultado de qualquer tipo de terapia regenerativa é fortemente dependente do espaço disponível sob o retalho mucoperiosteal (KARRING et al., 1993; WIKESJÖ; SELVIG, 1999). Materiais sintéticos absorvíveis têm sido usados com sucesso para prevenir o colapso de tecido mole ou de barreiras para dentro da ferida óssea, melhorando assim o processo de regeneração (CAMARGO et al., 2000; MARDEN et al., 1993).

Ainda são escassos, na literatura, estudos histológicos que associem a barreira de SC a materiais para implante ósseo aloplásticos.

### 3. Vidro Bioativo

Historicamente, diversos tipos de biomateriais, com características de resistência e relativa inércia tecidual, foram utilizados na substituição protética do esqueleto e em osteossínteses. Os metais são exemplos de materiais que foram amplamente utilizados. Entretanto, alguns estudos demonstraram que diferentes metais não deveriam ser inseridos em um mesmo paciente e que poderiam ocorrer danos teciduais com a dissolução eletroquímica dos mesmos (HENCH, 1980, 1986; HENCH et al., 1971).

Os implantes de aço inoxidável e de polímeros passaram a ser utilizados, porém, era freqüente a perda desses materiais devido à sua ruptura, a do osso ou de ambos, levando à dor e à perda de função. Além disso, ocorria geralmente a formação de uma cápsula fibrosa circundante, demonstrando a resposta celular àquele corpo estranho, tendendo a isolá-lo do organismo. Outro problema dos materiais usados na época era a fixação ortopédica. Se não havia união na interface material/osso, relatavam-se perdas de parafusos, placas e próteses, como as de quadril (HENCH, 1986; HENCH et al., 1971).

Devido aos problemas de interface dos biomateriais usados, chamados “quase inertes”, pois, embora fossem atóxicos, levavam à formação de uma fina cápsula fibrosa entre eles e o tecido do hospedeiro, os pesquisadores passaram a buscar mecanismos que possibilitassem a estabilidade da interface entre o tecido e o material. Assim, eles concluíram que o ideal seria uma união química direta através da interface do implante ortopédico e o osso, para ligação e aderência tecidual adequadas (HENCH, 1980; HENCH et al., 1971).

Uma significativa evolução ocorreu a partir de 1960, quando as cerâmicas passaram a ser utilizadas no reparo, reconstrução e substituição de partes doentes ou lesadas do corpo humano, sendo denominadas “biocerâmicas”. As biocerâmicas geraram não apenas novos e importantes biomateriais usados em próteses clínicas, mas também a descoberta científica de que os implantes poderiam ser produzidos pelo homem e não serem rejeitados pelo organismo (HENCH, 1986, 1998).

As biocerâmicas foram posteriormente classificadas em bioinertes (alumina e zircônia), reabsorvíveis (tricálcio-fosfato), bioativas (vidro bioativo, cerâmicas de vidro, hidroxiapatita) ou porosas, para o crescimento de tecido internamente (metais cobertos por hidroxiapatita). O material bioativo é aquele que induz uma resposta biológica específica na sua interface, o que resulta na formação de união entre os tecidos e o material (HENCH, 1986, 1998).

Deste modo, na Universidade da Flórida, em 1969, Hench et al. desenvolveram uma classe de cerâmicas bioativas com propriedades físicas adequadas para aplicações na bioengenharia. O principal atrativo era que, pela primeira vez, um material desenvolvido pelo homem teria a capacidade de união química ao tecido ósseo. Elas foram denominadas cerâmicas de vidro bioativo (VB), por serem ricas em dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), componente freqüentemente encontrado nos vidros industriais (HENCH, 1986, 1998; HENCH et al., 1971; HENCH; WILSON, 1984). Os autores basearam-se em estudos de Carlisle (1970), segundo os quais o silício exerceria papel fundamental no início do processo de mineralização dos tecidos.

A composição de vidro selecionada pelos pesquisadores é composta de 45% de  $\text{SiO}_2$ , 24,5% de óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ), 24,5% de óxido de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) e 6% de pentóxido de difósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) por peso, pois foi a que obteve melhor desempenho ao se ligar ao tecido ósseo. As concentrações de cálcio e fósforo foram selecionadas para igualarem-se às concentrações destes minerais presentes na hidroxiapatita óssea humana. Os íons de sódio foram acrescentados à composição do vidro por dois motivos. O  $\text{Na}_2\text{O}$  é um fundente efetivo, tornando a cerâmica de VB mais susceptível à liquefação, homogeneização e moldagem. Outra vantagem é que os íons de sódio são liberados quando o vidro entra em contato com os fluidos teciduais, mantendo um equilíbrio fisiológico de sódio na interface da cerâmica de vidro e modificando o pH local. O  $\text{SiO}_2$  age como um formador de rede que mantém a estrutura tridimensional do vidro, além de regular a solubilidade e fornecer estabilidade ao material. A nomenclatura estabelecida para definir esta composição de VB é 45S5, pois contém 45% de  $\text{SiO}_2$ , representado pela letra "S", enquanto que o número 5 representa a proporção molar de cálcio e fósforo (Ca/P) na estrutura (HENCH, 1998; HENCH et al., 1971).

Outros estudos desenvolvidos por Hench et al. mostraram evidências de que uma união química aconteceria na interface do VB com os tecidos duros e moles adjacentes, prevenindo o movimento na interface material/tecidos. Eles realizaram estudos *in vitro* e *in vivo*, com técnicas de análise histológica, microscopia eletrônica e marcadores de tetraciclina e verificaram que a interface do VB com os tecidos resistiu a forças mecânicas essenciais (HENCH; PASCHALL, 1973, 1974; HENCH; WILSON, 1984; PIOTROWSKI et al., 1975). Estudos subseqüentes em ratos, cães e macacos mostraram que a força de união do VB ao osso é mais forte do que os implantes de vidro e do que o tecido ósseo (HENCH, 1986).

Em 1974, Hench e Paschall descreveram o mecanismo da união histoquímica que acontece entre as cerâmicas de VB e o tecido ósseo. Após o contato com fluidos teciduais, há uma troca de íons na superfície do VB, formando-se uma camada de gel rica em sílica na superfície do material. Essa camada acelular, que contém também íons de cálcio e fosfato, é biologicamente ativa e provê uma interface de união com o osso, pois é semelhante, química e estruturalmente, à fase mineral do osso normal em osteogênese, sendo, portanto, reconhecida como algo natural e não sintético. Os osteoblastos a reconhecem como uma superfície sobre a qual podem depositar colágeno e mucopolissacarídeos, desencadeando um efeito em rede, com a incorporação de fibras colágenas ao gel, o qual faz parte da superfície da cerâmica de VB. A união das fibras colágenas com o VB pode ser comparada à inserção do ligamento periodontal ao dente. Quando os mucopolissacarídeos interagem com o gel e as fibras colágenas são ligadas à superfície, a estabilidade do gel aumenta e a corrosão é prevenida. A mineralização ocorre dentro da camada de maneira ectópica, produzindo cristais que fazem ponte entre a superfície do implante e o osso maduro (HENCH, 1998; HENCH; PASCHALL, 1974; HENCH; WILSON, 1984).

Outros estudos foram realizados com o intuito de estudar a interface de união do VB com os tecidos adjacentes, o que poderia ser reproduzido *in vitro*. Eles ajudavam a elucidar por que é impedida a formação de uma cápsula fibrosa na superfície do VB, ocorrendo, em vez disso, a união óssea, já que o material provê um ambiente favorável para proliferação e função de osteoblastos humanos (MATSUDA; DAVIES, 1987; MATSUDA et al. 1987; PRICE et al., 1997; SEITZ et al., 1982).

Para que a ligação ao osso ocorra, há modificações dinâmicas e dependentes do tempo na superfície do material bioativo após a sua implantação (HÄKKINEN et al., 1988).

Inicialmente, o VB foi empregado na forma sólida na Odontologia, Ortopedia e Otorrinolaringologia (HENCH; WILSON, 1984), pois foi observado que ele não seria tóxico, local ou sistemicamente, nem induziria resposta inflamatória ou de corpo estranho a longo prazo e ainda se uniria aos tecidos moles e duros sem intervenção de cápsula fibrosa (HENCH, 1998).

Wilson et al. (1981) apresentaram os resultados de vários testes realizados *in vitro* e *in vivo*, em diferentes animais, para testar a biocompatibilidade do VB sólido, quando implantado em tecidos moles e duros. O material foi considerado compatível biologicamente, já que permitia o crescimento e a divisão de células em cultura e o contato íntimo com células vivas na sua superfície, além de não produzir reação inflamatória. Foi demonstrado também que o VB sólido teria a propriedade de ser osteocondutivo, levando à disseminação do tecido ósseo ao longo de sua superfície, sendo possível a ocorrência de um completo encapsulamento do vidro por osso (SCHEPERS et al., 1989).

Como os estudos iniciais demonstraram que o VB tinha força e resistência limitadas às fraturas, o uso deste material foi dividido em dois tipos: as aplicações clínicas em que a força mecânica não seria importante e aquelas onde esta força seria crítica (HENCH; WILSON, 1984).

Dentre as aplicações clínicas do primeiro tipo, pode-se citar o uso do VB para confecção de próteses do ouvido médio, reposição e aumento ósseo facial e o uso como mantenedores de altura e espessura do rebordo alveolar (HENCH; WILSON, 1984; KIRSH; GARG, 1994; MERWIN et al., 1986).

Os implantes de VB eram cones da composição 45S5 e foram amplamente utilizados como próteses do ouvido médio ou MEPs (“middle-ear prostheses”), com a finalidade de reconstruir a cadeia ossicular de pacientes que perderam a audição como resultado de infecções crônicas do ouvido e destruição de um ou mais ossos do ouvido médio (HENCH, 1986, 1998).

Para minimizar a atrofia óssea que ocorre após extrações dentais e obter melhor ajuste e função das próteses totais, dispositivos cônicos de VB 45S5 foram colocados no rebordo alveolar, mantendo a morfologia do mesmo e evitando a reabsorção que normalmente acompanha a perda dental. Este tipo de implante, conhecido como Implante Endósseo de Manutenção do Rebordo

(IEMR), foi desenvolvido de maneira que os cones aproximassem-se ao tamanho das raízes dos dentes extraídos e passou a ser experimentado clinicamente (HENCH, 1998; STANLEY et al., 1976, 1987, 1997; WILSON et al., 1993). A camada de ligação entre o IEMR e o tecido ósseo atuava como uma interface complacente que funcionava de maneira similar ao ligamento periodontal (WEINSTEN et al., 1980).

Um dos estudos pioneiros testando os cones de VB de diferentes formulações, para implantação em rebordo, foi conduzido por Stanley et al., em 1976. Em babuínos, eles inseriram os cones, de formato semelhante às raízes dentais extraídas, e os observaram por 2 anos. Embora não tivessem obtido cementogênese, esses autores propuseram, posteriormente, o uso do material como um dispositivo para a manutenção do rebordo alveolar após perdas dentais.

Assim, em 1987, Stanley et al. publicaram um trabalho com os resultados da implantação de 249 cones de VB em 29 pacientes. Os cones foram colocados em alvéolos frescos, imediatamente após exodontias, com a intenção de manutenção da altura do rebordo alveolar. Os implantes de VB pareceram altamente biocompatíveis, conforme evidenciado por cicatrização normal da mucosa, ausência de infecção e evidência radiográfica de cicatrização óssea em torno dos cones. A avaliação de alguns implantes expostos cirurgicamente revelou novo tecido ósseo circunferencialmente, em contato direto com os cones implantados, que se apresentavam imóveis.

Após 10 anos, o mesmo grupo de pesquisadores reavaliou 20 dos pacientes participantes do estudo publicado em 1987, verificando baixos índices de perdas de implantes de VB (14,3%) e de deiscências ósseas (7,7%) (STANLEY et al., 1997).

Também foi recomendado o uso desses implantes em deformidades do rebordo alveolar onde a exodontia já tinha ocorrido há bastante tempo. Nessas situações, era realizada uma clivagem óssea anteriormente à implantação dos cones (BUNTE; STRUNZ, 1977; YILMAZ et al., 1998).

Como foi constatado que o VB seria frágil e não ideal para suportar cargas, pois poderia potencialmente se fragmentar em partículas, Wilson et al. (1981) testaram os efeitos das mesmas nos tecidos, verificando que elas poderiam ser eliminadas sem conseqüências. Posteriormente, Bendall et al. (1998) realizaram outro estudo com o mesmo objetivo, em cultura de células humanas sinoviais.

Embora as partículas tenham apresentado um baixo efeito citotóxico, elas induziram a secreção de Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (FNT-  $\alpha$ ). Os autores recomendaram, inclusive, a aplicação do VB como cobertura de implantes, como por exemplo os articulares, mas de maneira que fosse minimizado o risco de degradação do material em finas partículas.

Deste modo, as limitações mecânicas das cerâmicas de vidro estimularam o desenvolvimento de meios que usassem sua superfície ativa controlada como componente de sistemas de compósitos. As coberturas de VB passaram a ser aplicadas a substratos de aço inoxidável, “vitalium”, metais de titânio, cerâmicas de alumina ( $Al_2O_3$ ) de alta densidade e ligas cirúrgicas. Também foi produzido um composto de VB 45S5 e fibras de aço inoxidável (HENCH, 1980; HENCH; WILSON, 1984). As aplicações clínicas do VB, desta forma, estavam presentes na Ortopedia e na Odontologia (DUCHEYNE, 1985).

Na Ortopedia, as coberturas de VB, em aparelhos ortopédicos para fixação, originaram a esperança de uma geração de próteses de quadril de vida útil maior (HENCH; WILSON, 1984).

Na Odontologia, o uso do VB como cobertura também foi avaliado. Assim, as superfícies de contato formadas entre o osso e os implantes de titânio ou de VB foram comparadas em um estudo histomorfométrico realizado em tíbias de coelhos. Foi demonstrado que um contato melhor é obtido com os implantes de VB. Portanto, o material passou a ser indicado como cobertura para implantes (TURUNEN et al., 1997). Na Ortodontia, utilizou-se implantes de alumina e de metal, cobertos com o VB, para fins de ancoragem ortodôntica (GREY et al., 1983)

Gheysen et al. (1983) realizaram um trabalho com o objetivo de analisar a união do compósito formado por VB e fibras de metal aos tecidos. Concluíram que o reforço com fibras de metal provavelmente não impediu a efetividade de união do VB, sendo um método justificável para transformar o material quebradiço em um composto estruturalmente confiável.

Outras pesquisas foram realizadas com o intuito de avaliar as propriedades biológicas e mecânicas dos cones de VB reforçados com fibras de aço inoxidável. Estudos realizados em maxilares parcialmente edêntulos de cães “beagle” demonstraram que a resposta tecidual, a união ao osso e a

osteocondução apresentadas pelos materiais reforçados por metal são similares às apresentadas pelos cones de VB tradicionais. (SCHEPERS et al., 1988a, 1988b, 1989).

As cerâmicas de VB na forma sólida foram usadas, portanto, durante vários anos, para unirem-se aos tecidos duros e moles do corpo, em aplicações médicas e odontológicas. Uma outra aplicação potencial dos VB, na forma de pasta ou de pó, passou a ser utilizada em defeitos ósseos de formato irregular, causados por doenças locais ou sistêmicas, malformações congênitas ou traumas, em aplicações craniais, maxilo-faciais e dentais, em campos da Otorrinolaringologia e da Odontologia (WARREN et al., 1989). Na Ortopedia, o VB particulado também foi usado em reparos de quadris, joelhos e tratamentos de fusão de espinha dorsal (HENCH, 1998). Os VB não perdem sua bioatividade após a pulverização e agem como suportes para a formação óssea e regeneração de defeitos de tecidos duros (WARREN et al., 1989).

Foi demonstrado que as partículas de VB são altamente osteocondutivas, isto é, provêem um suporte para que reparo e crescimento ósseos sejam alcançados. Desta maneira, esses materiais atuam como preenchedores de espaço e a neoformação óssea pode acontecer ao longo de suas superfícies (FROUM et al., 2002; FURUSAWA et al., 1998; LEONETTI et al., 2000; PIATTELLI et al., 2000; SCHEPERS et al., 1991).

Embora tenha sido postulado que o VB não é osteoindutivo (SCHEPERS et al., 1988b, 1989), uma outra propriedade foi associada ao material, por Schepers et al., em 1991. Eles constataram, em um estudo histológico onde implantaram o VB em cavidades mandibulares de cães, que a maioria das partículas tornou-se escavada internamente por meio de pequenas fissuras, sendo observado, nesses centros escavados, um novo tecido ósseo, não conectado àquele que se encontrava externamente às partículas. Para explicar este fenômeno, foi sugerida a hipótese de que a troca de íons entre as partículas de vidro e os fluidos teciduais resultaria na formação de um gel rico em sílica que se estenderia por toda a partícula. Ao mesmo tempo, uma camada rica em cálcio e fósforo formar-se-ia no topo do gel. Células fagocitárias poderiam penetrar no gel rico em sílica por meio de pequenas fraturas na camada de cálcio e fósforo e começariam a reabsorver o gel. Subseqüentemente à reabsorção, células mesenquimais penetrariam pelos pequenos ductos entre o centro escavado da

partícula e os tecidos circundantes. A área escavada ofereceria um ambiente com mínimo fluxo de fluido, permitindo que células mesenquimais tornassem-se aderidas internamente à camada de cálcio e fósforo. Neste momento, quando as células primitivas são imobilizadas em uma superfície semelhante à do tecido ósseo, foi sugerido que elas diferenciar-se-iam em osteoblastos, o que seria possível considerando que isso tudo ocorre em um sítio de tecido ósseo contendo todos os fatores de crescimento. Desta maneira, ilhas ósseas seriam formadas sem a necessidade de proliferação dos osteoblastos a partir do osso pré-existente, isto é, das paredes da cavidade. As ilhas de osso funcionariam como núcleos para posterior crescimento ósseo, aumentando o volume total da formação óssea ativa. Portanto, os autores atribuíram esta propriedade, que foi denominada osteoestimulação, às cerâmicas de VB.

Em um estudo histológico realizado em tíbias de coelhos, MacNeill et al. (1999) confirmaram a teoria de Schepers et al. (1991). Eles observaram, surpreendentemente, que havia pouco osteóide ou osso trabecular na superfície das partículas de VB, após 28 dias de implantação. Entretanto, os centros de muitas delas mostraram-se reabsorvidos, formando uma escavação dentro da qual células puderam migrar e diferenciar-se em osteoblastos. Esse espaço interno foi preenchido por osso neoformado, osteóide e células. Além disso, as partículas apresentaram microfraturas. Outros trabalhos histológicos comprovaram a propriedade osteoestimulatória do material, verificando neoformação óssea dentro das partículas (FROUM et al., 2002; FURUSAWA et al., 1998; FURUSAWA; MIZUNUMA, 1997; NORTON; WILSON, 2002; SANTOS, 2000).

Estudos em biologia molecular indicaram que o VB pode conduzir à osteogênese por meio do controle que exerce diretamente sobre os genes dos osteoblastos, estimulando o seu ciclo celular e conseqüente “turnover”. Para que isso aconteça, entretanto, é essencial que as células osteoprogenitoras estejam em um ambiente adequado para que possam chegar às fases de síntese e mitose celular (XYNOS et al., 2000b, 2001). Além disso, foi demonstrado, *in vitro*, que o material estimularia a disponibilidade de fatores de crescimento nos osteoblastos (XYNOS et al., 2000a) e não inibiria linfócitos e monócitos do sangue periférico (SHIMIZU et al., 1997). Outros estudos *in vitro* têm sido desenvolvidos com o intuito de associar essas propriedades do VB a outros materiais, como

o ácido polilático, para a formação de arcabouços para uso na engenharia óssea tecidual (ROETHER et al., 2002).

Em relação à atuação das partículas de VB nos tecidos, foi observado que, conforme elas vão sendo reabsorvidas, são substituídas por novo tecido ósseo (MACNEILL et al., 1999). Como o VB não leva à ativação de osteoclastos, é plausível que processos mediados por solução ou um fenótipo celular diferente sejam os responsáveis pela reabsorção de suas partículas (SCHMITT et al., 1997; STAVROPOULOS et al., 2003; TADJOEDIN et al., 2002).

Deste modo, vários estudos constataram o lento processo de reabsorção do VB, que variou de 6 meses a mais de 24 meses para animais como ratos, macacos e cães (CANCIAN et al., 1999; SCHEPERS; DUCHEYNE, 1997; STAVROPOULOS et al., 2003). Em humanos, verificou-se um mínimo de 16 meses para a total reabsorção do material (TADJOEDIN et al., 2000).

Tadjoedin et al. (2002) comentaram sobre uma propriedade adicional que o VB também possuiria, chamada “”. Ela refere-se ao processo pelo qual um biomaterial é substituído por tecido ósseo.

Outra vantagem do VB é a formação de uma carapaça de cálcio e fosfato no local, que serve para manter todo o volume da matriz partículas/osso, fazendo do VB um ótimo material de aumento e de preenchimento ósseos onde modificações previsíveis de determinado defeito são desejadas (FURUSAWA et al., 1998). Isso fornece ao material a capacidade de manter espessuras de estruturas ósseas, quando inserido em defeitos cirurgicamente preparados (CAMARINI, 2001).

Além disso, foram atribuídas ao VB algumas qualidades clínicas, como condensação favorável, bom mantenedor de coágulo e ação hemostática (FETNER et al., 1994; LOW et al., 1997; SCHEPERS et al., 1991; SCHEPERS; PINRUETHAI, 1993; SHAPOFF et al., 1997). Os elogios relativos à manipulação do material não foram, entretanto, unânimes entre os autores, pois Chan et al. (2002) relataram dificuldades na manipulação e colocação do VB em cavidades grandes. Além disso, Gross (1997) relatou ter observado rápida falha e perda do material quando exposto aos fluidos orais.

Devido à radiopacidade do VB ser semelhante à do osso, foram relatadas dificuldades na análise radiográfica (LOW et al., 1997; NEVINS et al., 2000).

O VB particulado, assim como aconteceu com a sua forma sólida, passou a ser aplicado com vários propósitos em diferentes áreas da Medicina, como em tratamentos de fusão da espinha dorsal e de fraturas em ossos rádios (LADD; PLIAM, 1999), em osteoplastias do seio frontal (PELTOLA et al., 1998) e em reconstruções de cabeça e pescoço, como, por exemplo, no reparo do assoalho da órbita (GOSAIN et al., 2004).

Mas é evidente o destaque do VB na Odontologia. Para este uso, o VB particulado teve seus potenciais de neoformação óssea e resistência mecânica testados em vários estudos com animais (SCHEPERS; DUCHEYNE, 1993, 1997; SCHEPERS et al., 1991; WHEELER et al., 1997), que puderam comprovar que o material representa um substituto ósseo promissor devido às suas propriedades bioativa e osteocondutiva.

A alta biocompatibilidade do VB foi confirmada nos estudos com animais (FURUSAWA et al., 1998; KARATZAS et al., 1999; PIATTELLI et al., 2000; RIBEIRO, 2003; WANG et al., 1989; WHEELER et al., 1998, 2000), tendo sido encontradas apenas poucas áreas com células multinucleadas ao redor do material, em defeitos criados em tíbias de coelhos (PIATTELLI et al., 2000; TURUNEN et al., 1997).

Simulando situações de perdas dentárias e necessidade de aumento do rebordo alveolar, Wang et al. (1989) realizaram um experimento em cães, onde os dentes foram extraídos, os sítios cicatrizaram por 3 meses e então foram realizadas cavidades cirúrgicas nos rebordos, com a implantação de VB particulado poroso. Devido aos resultados satisfatórios e à alta biocompatibilidade, o material foi considerado um bom substituto ósseo.

Tendo sido demonstrado que o VB levou a uma quantidade aceitável de tecido ósseo neoformado em alvéolos de extração, passou-se a questionar sobre a capacidade desse osso para suportar implantes. Por isso, Schepers et al. (1998) estudaram a eficácia do uso do VB no tratamento de defeitos ósseos antes da colocação de implantes. Foram criados defeitos, pela remoção dos septos intra-alveolares, em mandíbulas de 6 cães “beagle”. Um lado foi preenchido com partículas de VB e o outro apenas por coágulo. Após 4 meses de cicatrização, implantes foram colocados em ambas as áreas. Em 3 cães, os implantes não receberam cargas, enquanto que, nos outros 3, os implantes foram colocados em função, com uma prótese parcial fixa. Foi encontrado mais tecido

ósseo, tanto na interface como a uma distância de 3 mm do implante, no grupo tratado, mesmo sujeito às cargas funcionais. Os autores concluíram que o VB não só não interfere na cicatrização do implante como aumenta a quantidade de osso na sua interface. Foi demonstrada também, em estudos histomorfométricos em tíbias de ratos e coelhos, a ocorrência de união entre VB e tecidos ósseos peri-implantares (GORUSTOVICH et al., 2002; JOHNSON et al., 1997).

Encontram-se na literatura numerosos estudos em animais que compararam o desempenho do VB ao de outros biomateriais no reparo ósseo. Schepers et al. (1991) compararam o VB a dois tipos de grânulos de hidroxiapatita. Os autores consideraram o VB um material adequado para o preenchimento de cavidades criadas cirurgicamente em mandíbulas de cães, prevenindo o colapso do rebordo alveolar com sua propriedade osteoestimulatória, o que não foi observado com as partículas de hidroxiapatita.

Em uma linha de pesquisa voltada para comparar o desempenho de biomateriais particulados, Oonishi et al. (1997) criaram um método de análise histométrica, em cavidades experimentais bicorticais, criadas em côndilos femurais de coelhos. Compararam o VB da composição 45S5 à hidroxiapatita sintética e relataram a formação de um tecido ósseo mais denso, em maior quantidade e de maneira mais rápida com o primeiro material (OONISHI et al., 1997, 1999, 2000). Outros trabalhos experimentais em animais também demonstraram a superioridade das partículas de VB em relação às hidroxiapatitas (CANCIAN et al., 1999; SCHEPERS; DUCHEYNE, 1993, 1997) e aos grânulos de carbonato de cálcio (TURUNEN et al., 1997) no processo de neoformação óssea.

O VB foi também comparado a um osso bovino poroso mineral (Bio-Oss<sup>®</sup>), com resultados controversos. Enquanto Carvalho et al. (2002) observaram que ambos os materiais levaram ao reparo integral das cavidades cirurgicamente criadas em tíbias de ratos, Schmitt et al. (1997) concluíram, embasados em um estudo histomorfométrico em rádio de coelhos, que houve maior regeneração óssea quando o osso mineral foi empregado. Entretanto, em um estudo histológico em mandíbula de ratos, nenhum dos dois materiais mostrou-se eficaz como material de preenchimento em técnicas de ROG (STAVROPOULOS et al., 2003).

A característica de lenta reabsorção apresentada pelo VB pode contribuir para um desempenho não tão favorável em relação a outros materiais de preenchimento ósseo. Barboza et al. (2004) realizaram um estudo em que o VB ou a matriz óssea desmineralizada (MOD) foram associados à esponja absorvível de colágeno (EAC) com proteína óssea morfogenética recombinante humana-2 (POM rh-2), visando a manutenção de espaço em defeitos de rebordo alveolar em cães. Embora os dois materiais tenham suportado, clínica e histologicamente, o aumento de rebordo, o VB não teve um desempenho tão favorável quanto a MOD, provavelmente, segundo os autores, devido a sua lenta reabsorção.

Quanto às aplicações clínicas, o material de VB foi utilizado com sucesso, em humanos, em diversas situações onde implantes ósseos são necessários para preenchimento e manutenção de espaços ou para melhorar o processo natural de reparo (FROUM et al., 2002; HENCH, 1998; NOVAES JÚNIOR et al., 2002; ROSENBERG et al., 2000; SCHEPERS et al., 1993a, 1993b; SY, 2002; THRONDSO, 2000). Demonstrou ser biocompatível também nos tecidos de humanos (LOW et al., 1997; NEVINS et al., 2000; NORTON; WILSON, 2002; ONG et al., 1998; ROSENBERG et al., 2000; SCULEAN et al., 2002).

Em um estudo que envolveu 87 pacientes e 106 sítios de implantação das partículas de VB, Schepers et al. (1993a, 1993b) puderam verificar a efetividade das mesmas no reparo ósseo em sítios de extração dental, defeitos císticos e em áreas de ressecção apical e que necessitavam de correção do rebordo alveolar devido à reabsorção óssea. Análises clínicas e radiográficas foram realizadas em acompanhamentos de, pelo menos, 2 anos.

O VB particulado foi utilizado, com resultados satisfatórios, em diversos estudos para preservação de rebordo alveolar após extração dentária (FROUM et al., 2002; KIRKLAND et al., 2000; NORTON; WILSON, 2002; SY, 2002; THRONDSO, 2000; THRONDSO; SEXTON, 2002). No preenchimento de alvéolos de terceiros molares impactados, o uso do material resultou em reparo mais rápido e melhora no nível de inserção clínica na distal dos segundos molares, o que pode contribuir muito para a não formação de defeitos ósseos significativos, frequentes nesta área. Outra

vantagem foi o relato unânime dos pacientes sobre a ocorrência de menos desconforto pós-operatório nos sítios tratados com VB (THRONDSON, 2000; THRONDSON; SEXTON, 2002).

Algumas outras aplicações dos VB ainda estão sendo exploradas, com poucos relatos na literatura. Recentemente, Novaes Júnior et al. (2002) relataram um caso clínico onde as partículas de VB foram empregadas em procedimento de implante imediato, com defeito ósseo local. O biomaterial foi indicado como opção em defeitos ósseos também antes da colocação não imediata de implantes, auxiliando na estabilidade do mesmo. Foi relatado que o osso formado a partir das partículas possui resistência de 200 a 390 N/mm<sup>2</sup>, similar à do osso pré-existente (256 a 405 N/mm<sup>2</sup>) (FERGUSON, 1999).

A associação do VB a outros biomateriais também tem sido avaliada por experiências clínicas, como em um caso clínico onde o material foi aplicado para tratamento de fissuras alveolares, juntamente com o AODSC, em paciente portador de fissura lábio-palatal unilateral. Após a reconstituição da estrutura, foi possível a realização da movimentação ortodôntica com sucesso (YILMAZ et al., 2000). Em um caso de expansão de rebordo alveolar extremamente fino e mineralizado, o VB associado ao PRP também levou a resultados satisfatórios pela técnica da Piezoelectricidade, com colocação imediata de implante (VERCELLOTTI, 2000).

Estudos *in vitro* (XYNOS et al., 2001) demonstraram rápida osteogênese na presença de VB e alguns estudos em animais mostraram consistentemente resultados previsíveis, com a formação de novo tecido ósseo em tempo relativamente curto de cicatrização (JOHNSON et al., 1997; TURUNEN et al., 1997; WILSON et al., 1993). Contudo, é importante considerar os resultados encontrados em estudos histológicos em humanos. Alguns autores criticaram os estudos conduzidos em pacientes que realizaram apenas avaliações clínicas, radiográficas ou por cirurgias de re-entrada. Parâmetros como profundidades de bolsa reduzidas e aparência radiográfica do material implantado podem concluir erroneamente que o mesmo levou a resultados de sucesso. Outros opinaram que os estudos que obtiveram bons resultados com o uso do VB eram meramente descritivos ou sem controles apropriados. Eles questionaram a suposta propriedade osteocondutiva do material e sugeriram que

ele poderia ser apenas um material de preenchimento biocompatível (NORTON; WILSON, 2002; STAVROPOULOS et al., 2003).

Dentre os estudos realizados em humanos que mostraram resultados mais confiáveis, já que fizeram avaliações histológicas, estão aqueles relacionados ao preparo do tecido ósseo para a colocação de implantes dentais, que passaram a ser cada vez mais freqüentes, com o aumento da procura por este tipo de tratamento.

Furusawa e Mizunuma (1997) implantaram VB em 25 pacientes com necessidade de levantamento de seio maxilar e utilizaram biópsias, dentre outros métodos, para a avaliação dos resultados, após 7 meses. O material aloplástico promoveu crescimento de tecido ósseo com propriedades mecânicas semelhantes às do osso pré-existente.

Um estudo clínico, radiográfico e histológico foi realizado em 17 pacientes, com o intuito de verificar os resultados da implantação de VB particulado imediatamente após extrações dentárias, para manutenção de rebordo em sítios que receberiam implantes dentais posteriormente (NORTON; WILSON, 2002). Os autores concluíram que o VB conduz lentamente o crescimento ósseo, tendo ocorrido a incorporação de novo osso no sítio após 7 meses. Embora seja impraticável, de um ponto-de-vista de tempo, esperar a incorporação óssea para a colocação dos implantes, eles consideraram que esta pode ser realizada precocemente, dentro da massa formada pelo VB e o tecido do hospedeiro, sem afetar negativamente o sucesso do implante. Com a mesma metodologia e resultados semelhantes em relação à estabilidade do implante e à saúde da mucosa peri-implantar, Stvrtecky et al. (2003) relataram o caso de um paciente, onde, além da biópsia realizada previamente à colocação do implante, acompanhamentos clínico e radiográfico estenderam-se por 3 anos. A resultados similares chegaram Froum et al. (2002), em um estudo histomorfométrico em que compararam, ainda, os alvéolos preenchidos com VB àqueles não preenchidos ou preenchidos com AODSC. Embora as quantidades de osso vital neoformado não tenham sido estatisticamente diferentes entre os grupos após 6 a 8 meses, o percentual relativo aos sítios tratados com o VB foi evidentemente maior.

Já o estudo clínico e histológico de Knapp et al. (2003) não obteve resultados favoráveis com o implante de VB, associado a membranas de PTFE-e reforçadas por titânio, no tratamento de defeitos em rebordos alveolares de 12 pacientes.

Em pesquisas científicas atuais, tem sido explorada a associação do VB particulado ao enxerto de osso autógeno para aplicações crânio-maxilo-faciais (GOSAIN et al., 2004). Tadjedin et al. (2000) realizaram, em 10 pacientes, enxertos bilaterais para elevação de seio maxilar, sendo que um lado recebia apenas enxerto de osso autógeno da crista íliaca (grupo controle) e o outro lado recebia implante contendo proporções iguais de osso autógeno e VB (grupo experimental). Foram realizadas biópsias das áreas enxertadas, em tempos que variaram de 4 a 16 meses, com avaliações qualitativa e histométrica. Nos tempos iniciais, de 4 a 6 meses, o volume tecidual ósseo e a quantidade de osso maduro foram maiores nos sítios que receberam apenas osso autógeno, sendo que essas quantidades igualaram-se entre os grupos no período de cicatrização de 16 meses. Os autores consideraram, portanto, que o VB associado ao enxerto autógeno é uma alternativa de tratamento aceitável quando existe pouca quantidade de enxerto disponível e pode-se esperar pelo menos 6 meses para a colocação do implante. Com o mesmo protocolo, Turunen et al. (2004) realizaram implantes de VB para elevação de seio maxilar, bilateralmente, em um número maior de pacientes (17), e corroboraram as conclusões do grupo anterior.

Considerou-se que o VB seria um material mais atrativo se fossem usadas concentrações mais altas de suas partículas, podendo chegar idealmente à completa eliminação da cirurgia do sítio doador. Assim, um compósito formado por 80% a 90% de partículas de VB e 10% a 20% de osso autógeno foi comparado ao enxerto composto de 100% de partículas autógenas, para elevação do seio maxilar de 3 pacientes (TADJOEDIN et al., 2002). Foi verificado, por histomorfometria das biópsias, que quase a mesma qualidade e quantidade de tecido ósseo foram obtidas após os dois tipos de implante aos 15 meses, concluindo que as partículas de VB são uma boa alternativa ao enxerto autógeno e podem substituí-lo parcial ou até totalmente, com a única ressalva de que levarão mais tempo para formar osso. Cordioli et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes quando realizaram a

colocação de implantes dentais concomitantemente ao levantamento de seio maxilar com partículas de VB. Verificaram, ainda, a estabilidade dos mesmos após a aplicação de cargas funcionais.

A associação de VB ao enxerto de osso autógeno tem sido usada, inclusive, em reconstruções de defeitos de espessura total em calvárias de pacientes onde mínima regeneração espontânea é esperada (GOSAIN ,2003).

Segundo alguns estudiosos, a aplicação clínica mais importante do VB particulado seria em defeitos ósseos periodontais. Muitos estudos clínicos e histológicos, em animais e em pacientes, têm sido realizados para a avaliação do desempenho do material nessas situações (GOSAIN et al., 2004; HENCH, 1998).

Foram realizados estudos histológicos em cães, como o de Schepers e Pinruethai (1993), que avaliaram o uso de partículas de VB e de hidroxiapatita em defeitos ósseos proximais e de furca. Os autores observaram maior neoformação óssea com o VB do que com a hidroxiapatita.

Outros trabalhos avaliaram a atuação do VB na regeneração dos tecidos periodontais e verificaram que o biomaterial retardou a migração apical do epitélio juncional (FETNER et al., 1994; KARATZAS et al., 1999). Uma hipótese levantada foi de que isso ocorreria pela velocidade de formação óssea que o VB induz (HENCH, 1998).

Em defeitos infra-ósseos cirurgicamente criados em um modelo primata, foram verificados reparos superiores de osso e cimento quando o VB foi usado, quando comparado à hidroxiapatita e ao material de fosfato de tricálcio (FETNER et al., 1994). Resultados semelhantes foram observados em outro trabalho histomorfométrico em primatas, onde defeitos periodontais supra-ósseos foram criados artificialmente (KARATZAS et al., 1999).

Em humanos, vários estudos relataram o efeito do uso do VB em defeitos periodontais, apresentando resultados controversos. Quando parâmetros de profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e preenchimento ósseo radiográfico foram utilizados para avaliação dos efeitos do VB particulado em defeitos ósseos periodontais infra-ósseos ou de furca, numerosos estudos relataram resultados satisfatórios, com acompanhamento dos pacientes por, pelo menos, 6 meses (FROUM et al., 1998; LOVELACE et al., 1998; LOW et al., 1997; MENGEL et al., 2003; PARK et al., 2001;

ROSENBERG et al., 2000; ZAMET et al., 1997). Alguns pesquisadores aperfeiçoaram seus métodos de análise de resultados com sistemas de análise densitométrica de imagem por computador (CADIA) (ZAMET et al., 1997) e cirurgias de re-entrada (FROUM et al., 1998; ROSENBERG et al., 2000; SHAPOFF et al., 1997; YUKNA et al., 2001).

Alguns trabalhos avaliaram o efeito do VB em defeitos de furca grau II, demonstrando resultados clínicos equivalentes àqueles alcançados pela RTG, com o uso de membranas de PTFE-e (YUKNA et al., 2001) e resultados melhores do que o debridamento isolado (ANDEREGG et al., 1999). Anderegg et al. (1999) concluíram que o uso de um material aloplástico com propriedades osteocondutivas serve a vários propósitos, inclusive o de agir similarmente a uma barreira regeneradora. Ele retardaria o crescimento epitelial para dentro do defeito, permitiria a invaginação de vasos sanguíneos para a deposição de células com potencial para reparo ósseo, além de agir como mantenedor de espaço. Outro estudo clínico, que envolveu o tratamento de 12 pacientes com Periodontite Agressiva Generalizada e defeitos infra-ósseos de uma, duas ou três paredes, confirmou os achados anteriores (MENGEL et al., 2003). Também foi demonstrado sucesso no tratamento deste tipo de defeito com o uso do VB particulado isolado ou associado à Proteína Derivada da Matriz do Esmalte (Emdogain<sup>®</sup>) após 1 ano de acompanhamento (SCULEAN et al., 2002).

Entretanto, resultados menos encorajadores quanto ao uso do VB em defeitos infra-ósseos periodontais foram encontrados por Ong et al. (1998), em um estudo clínico e radiográfico que envolveu o tratamento de 14 pacientes. Nas cirurgias de re-entrada após 9 a 13 meses, verificou-se que os defeitos que receberam apenas a terapia de debridamento tiveram mais preenchimento ósseo do que aqueles que foram preenchidos com o material particulado. Segundo os autores, este resultado poderia ser devido ao fato de que os defeitos foram debridados, na re-entrada, até que uma superfície dura de osso fosse alcançada, podendo ter removido também algum tecido regenerado. Além disso, 9 meses seria um tempo muito curto para ocorrer a remodelação óssea após implante com VB.

Algumas considerações fazem-se necessárias na avaliação das controvérsias de resultados nos estudos clínicos. O nível de higiene oral dos pacientes é muito importante, já que o tecido

periodontal livre de inflamação no pós-operatório melhora significativamente os resultados (MENGEL et al., 2003). Outro aspecto importante é a magnitude dos defeitos infra-ósseos periodontais que são comparados entre si. É clara a tendência em ocorrer uma melhora mais expressiva nos defeitos profundos e estreitos quando comparados a outros, rasos e largos, assim como há maior potencial para regeneração óssea nos defeitos de duas ou três paredes em relação aos de uma parede (LOVELACE et al., 1998; ZAMET et al., 1997).

Para realmente estabelecer a eficácia do uso do VB ou de qualquer outro material sintético, estudos controlados de longa duração e evidências histológicas de regeneração são pré-requisitos essenciais (FROUM et al., 1998; LOVELACE et al., 1998).

Portanto, embora os resultados clínicos sejam encorajadores e as radiografias evidenciem radiopacidade no interior dos defeitos (o que não pode ser interpretado como neoformação óssea devido à radiopacidade do VB), estudos histológicos em humanos têm revelado que a cerâmica de VB tem limitada previsibilidade na promoção de regeneração periodontal verdadeira (NEVINS et al., 2000; SCULEAN et al., 2002).

Um fator que pode levar a diferenças nos resultados relativos à efetividade do VB refere-se à morfologia e tamanho de suas partículas. Segundo alguns autores, a morfologia dos substitutos ósseos pode contribuir para sua capacidade osteocondutiva, principalmente devido à influência da forma e tamanho das partículas nos fenômenos de substituição e reabsorção, e também à influência do espaço interparticular na infiltração de elementos celulares e vasculares para a formação óssea (NASR et al., 1999; SHAPOFF et al., 1980; ZANER; YUKNA, 1984). Contudo, outros trabalhos mostram pequena ou nenhuma diferença na resposta de cicatrização ao usar partículas de substitutos ósseos com diferentes tamanhos (FETNER et al., 1994; FUCINI et al., 1993; MACNEILL et al., 1999).

Existem controvérsias, nos estudos publicados na literatura, a respeito do tamanho e da variação ideal do tamanho das partículas de VB para a regeneração óssea (MACNEILL et al., 1999). Desta forma, o VB particulado da composição 45S5 é comercialmente encontrado sob os nomes de Biogran<sup>®</sup> e PerioGlas<sup>®</sup>, com partículas variando de 300 a 355 µm e de 90 a 710 µm, respectivamente.

Schepers et al. (1991) discutiram sobre os motivos que poderiam levar aos melhores resultados obtidos com o uso de partículas de pequena variação de tamanho e nem muito pequenas nem muito grandes (300 a 355  $\mu\text{m}$ ). O fenômeno da reabsorção do gel de sílica seria restrito a essa variação de tamanho, pois partículas maiores não seriam corroídas completamente em seus centros. Já as partículas com um diâmetro menor seriam totalmente reabsorvidas, não agindo como um substrato para as células mesenquimais indiferenciadas. A preparação de grânulos que contêm partículas de 300 a 355  $\mu\text{m}$  em conjunto com partículas menores também não seria ideal, pois a resposta inflamatória causada pela degradação das partículas menores impediria a estimulação das células osteoprogenitoras. Em relação à condensação das partículas, as de tamanho uniforme também levam vantagem, pois, mesmo com uma densa compactação, restam espaços entre as mesmas. Se há uma variação grande no tamanho delas, as menores ocupam os espaços entre as maiores, deixando pouco espaço para infiltração e regeneração tecidual (SCHEPERS; DUCHEYNE, 1997; SCHEPERS et al., 1991). Furusawa et al. (1998) atribuíram a propriedade osteocondutiva do VB à uniformidade de suas partículas. Além disso, foi demonstrado que o PerioGlas<sup>®</sup> foi intimamente associado a áreas de reabsorção radicular, quando empregado em defeitos infra-ósseos periodontais criados em macacos (FETNER et al., 1994).

Vários trabalhos clínicos, alguns anteriormente citados, foram realizados para determinar a eficácia das partículas de VB de pequena variação de tamanho no preenchimento de defeitos ósseos (SCHEPERS et al., 1993a, 1993b). Bons resultados com o uso do Biogran<sup>®</sup> foram demonstrados em diversas situações, como preservação de rebordo alveolar imediatamente após exodontias (FROUM et al., 2002), aumento de rebordo alveolar (KIRKLAND et al., 2000), elevação de seio maxilar para posterior colocação de implante (FURUSAWA; MIZUNUMA, 1997; LEONETTI et al., 2000) e preenchimento de defeito ósseo seguido da colocação imediata de implante (NOVAES JÚNIOR et al., 2002).

Por outro lado, outros autores declararam que a ampla variação no tamanho das partículas seria ótima para a regeneração óssea de defeitos críticos em calvária, enquanto que as partículas

limitadas a aproximadamente 310 µm resultariam na formação de tecido cicatricial dentro do defeito (BERGMAN; LITKOWSKI, 1995).

Wheeler et al. (1998) realizaram um estudo comparativo histológico e biomecânico entre as partículas de VB com ampla variação de tamanho (PerioGlas<sup>®</sup>) e as de limitada variação de tamanho (Biogran<sup>®</sup>). Defeitos ósseos foram criados em fêmur de coelhos, onde o PerioGlas<sup>®</sup> levou à maior quantidade de formação óssea do que o Biogran<sup>®</sup>. Embora tivesse sido observado, por Schepers et al. (1993b), que o fenômeno de reabsorção seletiva do VB, com formação de bolsas osteogênicas protegidas, só ocorreria em partículas com pequena variação de tamanho, Wheeler et al. (1998) encontraram justamente o inverso. Devido à maior quantidade de osso presente, os defeitos que receberam PerioGlas<sup>®</sup> apresentaram maior conexão óssea entre as partículas do VB, o que levou a uma dureza compressiva maior do que a apresentada pelo Biogran<sup>®</sup>.

Entretanto, estudos em animais e humanos que usaram tanto o Biogran<sup>®</sup> como o PerioGlas<sup>®</sup>, em defeitos infra-ósseos peri-implantares e em alvéolos que receberiam implantes endósseos posteriormente, não encontraram diferenças histológicas entre as duas formas de VB (HALL et al., 1999; NORTON; WILSON, 2002).

Para avaliar o uso de Biogran<sup>®</sup> em procedimentos de ROG, Camargo et al. (2000) combinaram o uso deste VB à barreira de SC em alvéolos, imediatamente após exodontias, em 16 pacientes. Eles observaram que ambos os materiais foram bem tolerados pelos tecidos orais humanos e que favoreceram a osteogênese durante a cicatrização, considerando-os uma terapia de valor na preservação das dimensões do rebordo alveolar. A análise dos resultados foi baseada somente em observações clínicas, com realização de cirurgia de re-entrada aos 6 meses pós-operatórios. Portanto, tornou-se evidente a necessidade de um estudo histológico para a confirmação dos resultados obtidos.

Nesse contexto, Nagata et al. (2003) realizaram um estudo experimental onde foram criados defeitos cirúrgicos ósseos em tíbias de ratos, os quais foram divididos em: Grupo C (controle; cavidade cirúrgica preenchida somente com coágulo sangüíneo), Grupo SC (cavidade cirúrgica preenchida com coágulo sangüíneo e protegida com barreira de SC), Grupo VB (cavidade cirúrgica

preenchida com Biogran<sup>®</sup>), Grupo VB/SC (cavidade cirúrgica preenchida com Biogran<sup>®</sup> e protegida com barreira de SC). Os animais foram sacrificados aos 10 ou 30 dias pós-operatórios. As análises histológica e histométrica mostraram que os grupos controles apresentaram significativamente mais formação óssea que qualquer um dos grupos experimentais em ambos os tempos de análise. Aos 10 dias pós-operatórios, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos experimentais. Aos 30 dias pós-operatórios, os grupos experimentais que usaram a barreira de sulfato de cálcio apresentaram mais formação óssea que o grupo que usou somente VB. Contudo, deve-se considerar, na avaliação dos resultados, que o tamanho do defeito cirúrgico não foi crítico, pois houve completo reparo ósseo nos defeitos cirúrgicos do grupo controle aos 30 dias pós-operatórios.

Assim, evidencia-se a necessidade da realização de novos estudos para avaliação do efeito desses materiais quando usados em DTC.



ALDERMAN, N. E. Sterile plaster of Paris as an implant in the infrabony environment: a preliminary study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 40, n. 1, p. 11-13, Jan. 1969.

ALHADAINY, H. A.; HIMEL, V. T. An in vitro evaluation of plaster of Paris barriers used under amalgam and glass ionomer to repair furcation perforations. **J. Endod.**, Baltimore, v. 20, n. 9, p. 449-452, Sept. 1994.

AL RUHAIMI, K. A. Effect of adding resorbable calcium sulfate to grafting materials on early bone regeneration in osseous defects in rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 15, n. 6, p. 859-864, Nov./Dec. 2000.

AL RUHAIMI, K. A. Closure of palatal defects without a surgical flap: an experimental study in rabbits. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 59, n. 11, p. 1319-1325, Nov. 2001a.

AL RUHAIMI, K. A. Effect of calcium sulphate on the rate of osteogenesis in distracted bone. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 30, n. 3, p. 228-233, June 2001b.

ANDEREGG, C. R.; ALEXANDER, D. C.; FREIDMAN, M. A bioactive glass particulate in the treatment of molar furcation invasions. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 4, p. 384-387, Apr. 1999.

ANDREANA, S. A combined approach for treatment of developmental groove associated periodontal defect. A case report. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 5, p. 601-607, May 1998.

ANSON, D. Calcium sulfate: a 4-year observation of its use as a resorbable barrier in guided tissue regeneration of periodontal defects. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 17, n. 9, p. 895-899, Sept. 1996.

ANSON, D. Saving periodontally "hopeless teeth" using calcium sulfate and demineralized freeze-dried bone allograft. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 19, n. 3, p. 284-288, Mar. 1998.

ANSON, D. Using calcium sulfate in guided tissue regeneration: a recipe for success. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 21, n. 5, p. 365-370, May 2000.

ANSON, D. Maxillary anterior esthetic extractions with delayed single-stage implant placement. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 23, n. 9, p. 829-838, Sept. 2002.

APAYDIN, E. S.; TORABINEJAD, M. The effect of calcium sulfate on hard-tissue healing after periradicular surgery. **J. Endod.**, Baltimore, v. 30, n. 1, p. 17-20, Jan. 2004.

- BAHN, S. L. Plaster: a bone substitute. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 21, n. 5, p. 672-681, May 1966.
- BARBOZA, E. P. et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in an absorbable collagen sponge with space-providing biomaterials on the augmentation of chronic alveolar ridge defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 75, n. 5, p. 702-708, May 2004.
- BEESON, W. H. Plaster of Paris as an alloplastic implant in the frontal sinus. **Arch. Otolaryngol.**, Chicago, v. 107, n. 11, p. 664-669, Nov. 1981.
- BELL, W. H. Resorption characteristics of bone and plaster of Paris. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 39, n. 4, p. 727, July/Aug. 1960. Abstracts.
- BELL, W. H. Resorption characteristics of bone and bone substitutes. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 17, p. 650-657, May 1964.
- BELL, W. H.; SILLS, A. H. Histologic study of intramuscular implants of bone and bone substitutes. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 43, n. 5, p. 828, Sept./Oct. 1964. Abstracts.
- BENDALL, S. P. et al. Effect of particulate bioactive glass on human synoviocyte cultures. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 41, n. 3, p. 392-397, Sept. 1998.
- BERGMAN, S.; LITKOWSKI. Bone in-fill of non-healing calvarial defects using particulate Bioglass and autogenous bone. In: WILSON, J.; HENCH, L. L.; GREENSPAN, D. (Eds.) **Bioceramics**. Oxford: Elsevier Science, 1995. p. 17-21.
- BIER, S. J. Plaster of Paris. A periodontal surgical dressing. **N. Y. State Dent. J.**, Albany, v. 36, n. 6, p. 347-352, June/July 1970.
- BIER, S. J.; SINENSKY, M. C. The versatility of calcium sulfate: resolving periodontal challenges. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 20, n. 7, p. 655-661, July 1999.
- BISSADA, N. F.; HANGORSKY, U. Alveolar bone induction: alloplasts. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 24, n. 4, p. 739-749, Oct. 1980.
- BLOM, E. J. et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 incorporated in calcium phosphate cement stimulates osteotransductivity in rat calvarial bone defects. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 12, n. 6, p. 609-616, Dec. 2001.
- BLUMENTHAL, N. M. The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 59, n. 12, p. 830-836, Dec. 1988.

BOHNING, B. P.; DAVENPORT, W. D.; JEANSONNE, B. G. The effect of guided tissue regeneration on the healing of osseous defects in rat calvaria. **J. Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 2, p. 81-84, Feb. 1999.

BOSCH, C.; MELSEN, B.; VARGERVIK, K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regeneration materials. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 9, n. 4, p. 310-316, July 1998.

BRAZ, F. et al. Emprego de matriz óssea orgânica bovina e hidroxiapatita no reparo de defeito induzido em crânio de ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 18, n. 1, p.19-24, jan./fev. 2003.

BRUNEL, G. et al. Regeneration of rat calvarial defects using a bioabsorbable membrane technique: influence of collagen cross-linking. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 67, n. 12, p. 1342-1348, Dec. 1996.

BUNTE, M.; STRUNZ, V. Ceramic augmentation of the lower jaw. **J. Maxillofac. Surg.**, Stuttgart, v. 5, n. 4, p. 303-309, Nov. 1977.

BUSCH, O. et al. Guided tissue regeneration and local delivery of insulinlike growth factor I by bioerodible polyorthoester membranes in rat calvarial defects. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 11, n. 4, p. 498-505, July/Aug. 1996.

BUSER, D. et al. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 13, n. 1, p. 29-45, 1993.

CALHOUN, N. R.; GREENE JUNIOR, G. W.; BLACKLEDGE, G. T. Effects of plaster of Paris implants on osteogenesis in the mandible of dogs. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 42, p. 1244, Sept./Oct. 1963.

CALHOUN, N. R.; GREENE JUNIOR, G. W.; BLACKLEDGE, G. T. Plaster: a bone substitute in the mandible of dogs. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 44, n. 5, p. 940-946, Sept./Oct. 1965.

CALHOUN, N. R.; NEIDERS, M. E.; GREENE JUNIOR, G. W. Effects of plaster-of-Paris implants in surgical defects of mandibular alveolar processes of dogs. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 25, n. 2, p. 122-128, Mar. 1967.

CAMARGO, P. M. et al. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 90, n. 5, p. 581-586, Nov. 2000.

CAMARINI, E. T. **Expansão vestibulo-lingual no corpo da mandíbula com e sem utilização de hidroxiapatita natural ou vidro bioativo: avaliação clínica e microscópica em cães.** 136 f. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2001.

CANCIAN, D. C. J.; HOCHULI-VIEIRA, E.; MARCANTONIO, R. A. C. Use of biogran and calcitite in bone defects: histologic study in monkeys (*Cebus apella*). **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 14, n. 6, p. 859-864, Nov./Dec. 1999.

CARLÍSLE, E. M. Silicon: a possible factor in bone calcification. **Science**, Washington, v. 167, n. 916, p. 279-280, Jan. 1970.

CARVALHO, P. S. P. et al. Análise histológica do Bio-Oss® e Biogran® em tíbia de ratos. **BCI**, Curitiba, v. 9, n. 34, p. 117-123, abr./jun. 2002.

CHAN, C. et al. Evaluation of bioglass/dextran composite as a bone graft substitute. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 31, n. 1, p. 73-77, Feb. 2002.

CHESMEL, K. D. et al. Healing response to various forms of human demineralized bone matrix in athymic rat cranial defects. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 56, n. 7, p. 857-863, July 1998.

CHO, B. C. et al. The role of hyaluronic acid, chitosan, and calcium sulfate and their combined effect on early bony consolidation in distraction osteogenesis of a canine model. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 13, n. 6, p. 783-793, Nov. 2002.

CHOGLE, S.; MICKEL, A. K. An in vitro evaluation of the antibacterial properties of barriers used in guided tissue regeneration. **J. Endod.**, Baltimore, v. 29, n. 1, p. 1-3, Jan. 2003.

COETZEE, A. S. Regeneration of bone in the presence of calcium sulfate. **Arch. Otolaryngol.**, Chicago, v. 106, n. 7, p. 405-409, July 1980.

CONNER, H. D. Bone grafting with a calcium sulfate barrier after root amputation. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 17, n. 1, p. 42-46, Jan. 1996.

CORDIOLI, G. et al. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 12, n. 3, p. 270-278, June 2001.

COULSON, R. A. Relationship between fluid flow and O<sub>2</sub> demand in tissues in vivo and in vitro. **Perspect. Biol. Med.**, Baltimore, v. 27, n. 1, p. 121-126, 1983.

COURI, C. J. et al. Medical grade calcium sulfate hemihydrate versus expanded polytetrafluoroethylene in the treatment of mandibular class II furcations. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 11, p. 1352-1359, Nov. 2002.

DAHLIN, C.; ALBERIUS, P.; LINDE, A. Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. **J. Neurosurg.**, Chartottesville, v. 74, n. 3, p. 487-491, Mar. 1991.

- DE LEONARDIS, D.; PECORA, G. E. Augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: one-year clinical report from a prospective longitudinal study. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 14, n. 6, p. 869-878, Nov./Dec. 1999.
- DE LEONARDIS, D.; PECORA, G. E. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 6, p. 940-947, June 2000.
- DELLOYE, C.; CNOCKAERT, N.; CORNU, O. Bone substitutes in 2003: an overview. **Acta Orthopaedica Belgica**, Bruxelles, v. 69, n. 1, p. 1-8, 2003.
- DEPORTER, D. A.; TODESCAN JUNIOR, R. A possible "rescue" procedure for dental implants with a textured surface geometry: a case report. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 10, p. 1420-1423, Oct. 2001.
- DEPORTER, D. A. et al. Reconstituted bovine skin collagen enhances healing of bone wounds in the rat calvaria. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 42, n. 5, p. 321-325, May 1988.
- DIBATTISTA, P.; BISSADA, N. F.; RICCHETTI, P. A. Comparative effectiveness of various regenerative modalities for the treatment of localized juvenile periodontitis. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 66, n. 8, p. 673-678, Aug. 1995.
- DONOS, N. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. **Clin. Oral Impl. Res.**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 101-111, Feb. 2004.
- DUCHEYNE, P. Bioglass coatings and bioglass composites as implant materials. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 19, n. 3, p. 273-291, Mar. 1985.
- EDBERG, E. Some experiences of filling osseous cavities with plaster. **Acta Chir. Scandinav.**, Stockholm, v. 67, p. 313-319, 1931.
- EL DEEB, M. et al. Facial augmentation with Proplast and nonporous hydroxylapatite in rhesus monkeys. **Cleft Palate J.**, Pittsburg, v. 27, n. 3, p. 230-239, July 1990.
- ELKINS, A. D.; JONES, L. P. The effects of plaster of Paris and autogenous cancellous bone on the healing of cortical defects in the femurs of dogs. **Vet. Surg.**, Orlando, v. 17, n. 2, p. 71-76, Mar./Apr. 1988.
- ENNEKING, W. F. et al. Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 57, n. 2, p. 237-252, Mar. 1975.

FERGUSON, R. The use of bioactive glass to enhance implant placement. **Dent. Implantol. Update**, Atlanta, v. 10, n. 3, p. 19-20, Mar. 1999.

FETNER, A. E.; HARTIGAN, M. S.; LOW, S. B. Periodontal repair using Perioglas<sup>®</sup> in nonhuman primates: clinical and histologic observations. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 15, n. 7, p. 932-938, July 1994.

FOWLER, E. B. et al. Evaluation of pluronic polyols as carriers for grafting materials: study in rat calvaria defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 2, p.191-197, Feb. 2002.

FRAME, J. W. Porous calcium sulphate dihydrate as a biodegradable implant in bone. **J. Dent.**, Kidlington, v. 3, n. 4, p. 177-187, July 1975.

FRAME, J. W. A composite of porous calcium sulphate dihydrate and cyanoacrylate as a substitute for autogenous bone. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 38, n. 4, p. 251-256, Apr. 1980a.

FRAME, J. W. A convenient animal model for testing bone substitute materials. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 38, n. 3, p. 176-180, Mar. 1980b.

FRAME, J. W.; ROUT, P. G. ; BROWNE, R. M. Ridge augmentation using solid and porous hydroxylapatite particles with and without autogenous bone or plaster. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 45, n. 9, p. 771-778, Sept. 1987.

FREEMAN, E.; TURNBULL, R. S. The value of osseous coagulum as a graft material. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v. 8, n. 4, p. 229-236, 1973.

FROUM, S. J.; WEINBERG, M A.; TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 6, p. 698-709, June 1998.

FROUM, S. et al. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 1, p. 94-102, Jan. 2002.

FUCINI, S. E. et al. Small versus large particles of demineralized freeze-dried bone allografts in human intrabony periodontal defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 64, n. 9, p. 844-847, Sept. 1993.

FURUSAWA, T.; MIZUNUMA, K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 6, n. 2, p. 93-101, 1997.

FURUSAWA, T. et al. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 13, n. 5, p. 672-676, Sept./Oct. 1998.

GHEYSEN, G. et al. Bioglass composites: a potential material for dental application. **Biomaterials**, Surrey, v. 4, n. 2, p. 81-84, Apr. 1983.

GLOWACKI, J.; ALTOBELLI, D.; MULLIKEN, J. B. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 33, n. 1, p. 71-76, 1981.

GORUSTOVICH, A.; ROSENBUSCH, M.; GUGLIELMOTTI, M. B. Characterization of bone around titanium implants and bioactive glass particles: an experimental study in rats. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 17, n. 5, p. 644-650, Sept./Oct. 2002.

GOSAIN, A. K. Biomaterials in facial reconstruction. **Oper. Tech. Plast. Reconstr. Surg.**, Philadelphia, v. 9, n. 1, p. 23-30, Feb. 2003.

GOSAIN, A. K.; PLASTIC SURGERY EDUCATIONAL FOUNDATION DATA COMMITTEE. Bioactive glass for bone replacement in craniomaxillofacial reconstruction. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, v. 114, n. 2, p. 590-593, Aug. 2004.

GOTTLOW, J. et al. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 11, n. 8, p. 494-503, Sept. 1984.

GRAVES, G. A. et al. Resorbable ceramic implants. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, Symposium 2 (part 1), v. 5, p. 91, 1971.

GREY, J. B. et al. Studies on the efficacy of implants as orthodontic anchorage. **Am. J. Orthod.**, St. Louis, v. 83, n. 4, p. 311-317, Apr. 1983.

GROSS, J. S. Bone grafting materials for dental applications: a practical guide. **Comp. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 18, n. 10, p. 1013-1024, Oct. 1997.

GUARNIERI, R.; BOVI, M. Maxillary sinus augmentation using prehardened calcium sulfate: a case report. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 22, n. 5, p. 503-508, Oct. 2002.

GUARNIERI, R. et al. Medical grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets: clinical and histological observations at 3 months. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 75, n. 6, p. 902-908, June 2004.

HÄKKINEN, L. et al. Attachment and spreading of human gingival fibroblasts on potentially bioactive glasses in vitro. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 22, n. 11, p. 1043-1059, Nov. 1988.

HALL, E. E. et al. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 526-535, May 1999.

HARRIS, R. J. Clinical evaluation of a composite bone graft with a calcium sulfate barrier. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 75, n. 5, p. 685-692, May 2004.

HARRIS, W. H. et al. Spatial and temporal variations in the cortical bone formation in dogs. **J. Bone Joint Surg Am.**, Boston, v. 50, n. 6, p. 1118-1128, 1968.

HENCH, L. L. Biomaterials. **Science**, Washington, v. 208, n. 4446, p. 826-831, May 1980.

HENCH, L. L. Ceramic implants for humans. **Advanced Ceramic Materials**, v. 1, n. 4, p. 306-310.1986.

HENCH, L. L. Bioceramics. **J. Am. Ceram. Soc.**, Westerville, v. 81, n. 7, p. 1705-1728, July 1998.

HENCH, L. L.; PASCHALL, H. A. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 7, n. 3, p. 25-42, 1973.

HENCH, L. L.; PASCHALL, H. A. Histochemical responses at a biomaterial's interface. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 8, n. 3, p. 49-64, 1974.

HENCH, L. L.; WILSON, J. Surface-active biomaterials. **Science**, Washington, v. 226, n. 4675, p. 630-636, Nov. 1984.

HENCH, L. L. et al. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, n. 2, part 1, p. 117-141, 1971.

HEROLD, H. Z. et al. Stimulation of osteoblastic activity with components of cartilage extract. **Israel J. Med. Sci.**, Jerusalem, v. 10, n. 11, p. 1438-1447, Nov. 1974.

HJORTING-HANSEN, E. **Studies on implantation of anorganic bone in cystic jaw lesions**. Copenhagen, Munksgaard, 1970. 198 p.

HJORTING-HANSEN, E.; ANDREASEN, J. O. Incomplete bone healing of experimental cavities in dog mandibles. **Br. J. Oral Surg.**, Edinburgh, v. 9, n. 1, p. 33-40, July 1971.

HOLLINGER, J. O.; KLEINSCHMIDT, J. C. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 1, n. 1, p. 60-68, Jan. 1990.

HOLLINGER, J. O. et al. An evaluation of two configurations of tricalcium phosphate for treating craniotomies. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 23, n. 1, p. 17-29, Jan. 1989.

JACKSON, R. F. Aesthetic dilemma: technique for augmenting a resorbed pontic site. **Dent. Today**, Montclair, v. 19, n. 8, p. 52-55, Aug. 2000.

JOHNSON, M. W. et al. Regeneration of peri-implant infrabony defects using Perioglass: a pilot study in rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 12, n. 6, p. 835-839, Nov./Dec. 1997.

JUNQUEIRA, L. C. V.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 111-128.

KARATZAS, S. et al. Histologic observations of periodontal wound healing after treatment with PerioGlas in nonhuman primates. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 19, n. 5, p. 489-499, Oct. 1999.

KARRING, T. et al. Development of the biological concept of guided tissue regeneration- animal and human studies. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 1, p. 26-35, Feb. 1993.

KIM, S.; RETHNAM, S. Hemostasis in endodontic microsurgery. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 41, n. 3, p. 499-511, July 1997.

KIM, S. G.; KIM, H. K.; LIM, S. C. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss<sup>®</sup>) for bone regeneration in rats. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, Stuttgart, v. 29, n. 5, p. 282-288, Oct. 2001.

KIM, C. K. et al. Effect of calcium sulphate on the healing of periodontal intrabony defects. **Int. Dent. J.**, London, v. 48, n. 3, p. 330-337, June 1998a.

KIM, C. K. et al. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 12, p. 1317-1324, Dec. 1998b.

KIM, C. K. et al. Effect of a calcium sulfate implant with a calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 9, p. 982-988, Sept. 1998c.

KIM, S. G. et al. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 17, n. 1, p. 86-94, Jan./Feb. 2002.

KIM, S. Y. et al. Effects on bone formation in ovariectomized rats after implantation of tooth ash and plaster of Paris mixture. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 62, n. 7, p. 852-857, July 2004.

- KIRKLAND, G. et al. Hard tissue ridge augmentation using a resorbable membrane and a particulate graft without complete flap closure. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 20, n. 4, p. 383-389, Aug. 2000.
- KIRSH, E. R.; GARG, A. K. Postextraction ridge maintenance using the endosseous ridge maintenance implant (ERMI®). **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 15, n. 2, p. 234-244, Feb. 1994.
- KNAPP, C. I. et al. Clinical and histologic evaluation of bone-replacement grafts in the treatment of localized alveolar ridge defects. Part 2: bioactive glass particulate. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 23, n. 2, p. 129-137, Apr. 2003.
- KRAMER, I. R.; KILLEY, H. C.; WRIGHT, H. C. The pattern of healing following implantation of heterogenous anorganic compact bone in sheep. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 9, p. 671-684, Dec. 1964.
- KRUKOWSKI, M. et al. Stimulation of craniofacial and intramedullary bone formation by negatively charged beads. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 48, n. 5, p. 468-475, May 1990.
- LADD, A. L.; PLIAM, N. B. Use of bone-graft substitutes in distal radius fractures. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.**, Rosemont, v. 7, n. 5, p. 279-290, Sept./Oct. 1999.
- LAM, R. V. Effect of root implants on resorption of residual ridges. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 27, n. 3, p. 311-323, Mar. 1972.
- LANG, N. P.; BECKER, W.; KARRING, T. Formação do osso alveolar. In: LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 665-689.
- LEBOURG, L.; BIOU, C. Inclusion de plâtre de Pris dans les cavités chirurgicales des maxillaires. **Sem. Hôp. Paris**, v. 37, n. 20, p. 1195-1197, avril 1961.
- LEKOVIC, V. et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, n. 6, p. 563-570, June 1997.
- LEKOVIC, V. et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 9, p. 1044-1049, Sept. 1998.
- LEONETTI, J. A.; RAMBO, H. M.; THRONDSO, R. R. Osteotome sinus elevation and implant placement with narrow size bioactive glass. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 9, n. 2, p. 177-182, 2000.
- LIM, S.-C.; LEE, M.-J.; YEO, H.-H. Effects of various implant materials on regeneration of calvarial defects in rats. **Pathol. Int.**, Victoria, v. 50, n. 8, p. 594-602, Aug. 2000.

LINDE, A. et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 64, n. 11, p. 1116-1128, Nov. 1993.

LOVELACE, T. B. et al. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 9, p. 1027-1035, Sept. 1998.

LOW, S. B.; KING, C. J.; KRIEGER, J. An evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 17, n. 4, p. 358-367, Aug. 1997.

MABBUTT, L. W. et al. Subtotal neonatal calvarectomy. **J. Neurosurg.**, Charlottesville, v. 51, n. 5, p. 691-696, Nov. 1979.

MACNEILL, S. R. et al. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 26, n. 4, p. 239-245, Apr. 1999.

MAGNUSSON, I.; BATICH, C.; COLLINS, B. R. New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 59, n. 1, p. 1-6, Jan. 1988.

MARDAS, N.; KOSTOPOULOS, L.; KARRING, T. Bone and suture regeneration in calvarial defects by e-PTFE-membranes and demineralized bone matrix and the impact on calvarial growth: an experimental study in the rat. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 13, n. 3, p. 453-464, May 2002.

MARDEN, L. J. et al. Temporal changes during bone regeneration in the calvarium induced by osteogenin. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 53, n. 4, p. 262-268, Oct. 1993.

MATSUDA, T.; DAVIES, J. E. The in vitro response of osteoblasts to bioactive glass. **Biomaterials**, Surrey, v. 8, n. 4, p. 275-284, July 1987.

MATSUDA, T.; YAMAUCHI, K.; ITO, G. The influence of bioglass on the growth of fibroblasts. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hokoben, v. 21, n. 4, p. 499-507, Apr. 1987.

MATZENBACHER, S. A. et al. E. *In vivo* effectiveness of a glycerol-compounded demineralized freeze-dried bone xenograft in the rat calvarium. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 74, n. 11, p. 1641-1646, Nov. 2003.

MAZE, G. I. et al. Bone regeneration capacity of a combination calcium-sulfate-demineralized freeze dried bone allograft. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 65, n. 10, p. 983, Oct. 1994. (Abstracts).

MCKEE, J. C.; BAILEY, B. J. Calcium sulfate as a mandibular implant. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, St. Louis, v. 92, n. 3, p. 277-286, June 1984.

MELCHER, A. H. Role of the periosteum in repair of wounds of the parietal bone of the rat. **Archs. Oral Biol.**, Oxford, v. 14, n. 9, p. 1101-1109, Sept. 1969.

MENGEL, R.; SOFFNER, M.; FLORES-DE-JACOBY, L. Bioabsorbable membrane and bioactive glass in the treatment of intrabony defects in patients with generalized aggressive periodontitis: results of a 12-month clinical and radiological study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 74, n. 6, p. 899-908, June 2003.

MERWIN, G. E. et al. Facial bone augmentation using bioglass in dogs. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Chicago, v. 112, n. 3, p. 280-284, Mar. 1986.

MUKHERJEE, D. P. et al. An animal evaluation of a paste of chitosan glutamate and hydroxyapatite as a synthetic bone graft material. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 67B, n. 1, p. 603-609, Oct. 2003.

MULLIKEN, J. B.; GLOWACKI, J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, v. 65, n. 5, p. 553-559, May 1980.

MURASHIMA, Y. et al. Calcium sulfate as a bone substitute for various osseous defects in conjunction with apicectomy. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 768-774, Sept. 2002.

NAGATA, M. J. H. et al. (2003) Bone healing with bioactive glass and/or calcium sulfate. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 74, n. 10, p. 1559-1560, Oct. 2003.

NAJJAR, T. A.; KAHN, D. Comparative study of healing and remodeling in various bones. **J. Oral Surgery**, Chicago, v. 35, n. 5, p. 375-379, May 1977.

NASR, H. F.; AICHELMANN-REIDY, M. E.; YUKNA, R. A. Bone and bone substitutes. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 19, p. 74-86, Feb. 1999.

NEVINS, M. L. et al. Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 20, n. 5, p. 458-467, 2000.

NIELSEN, A. Filling of sterile and infected bone cavities by means of plaster of Paris. **Acta. Chir. Scandinav.**, Stockholm, v. 91, p. 17-27, 1944.

NORTON, M. R.; WILSON, J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 17, n. 2, p. 249-257, Mar./Apr. 2002.

NOVAES JÚNIOR., A. B. et al. Immediate implant in extraction socket with acellular dental matrix graft and bioactive glass: a case report. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 11, n. 4, p. 343-348, 2002.

NYMAN, S. et al. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 9, n. 3, p. 257-265, May 1982a.

NYMAN, S. et al. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 9, n. 4, p. 290-296, July 1982b.

ONG, M. M. A. et al. Evaluation of a bioactive glass alloplast in treating periodontal intrabony defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 69, n. 12, p. 1346-1354, Dec. 1998.

OONISHI, H. et al. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, n. 334, p. 316-325, Jan. 1997.

OONISHI, H. et al. Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 44, n. 1, p. 31-43, Jan. 1999.

OONISHI, H. et al. Quantitative comparison of bone growth behavior in granules of Bioglass<sup>®</sup>, A-W glass-ceramic, and hydroxyapatite. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 51, n. 1, p. 37-46, July 2000.

ORSINI, M. et al. Comparison of calcium sulfate and autogenous bone graft to bioabsorbable membranes plus autogenous bone graft in the treatment of intrabony periodontal defects: a split-mouth study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 3, p. 296-302, Mar. 2001.

PAFF, G. H. **Anatomy of the head and neck**. Philadelphia, W. B. Saunders, 1973, p. 77.

PARK, J. et al. Effects of pretreatment clinical parameters on bioactive glass implantation in intrabony periodontal defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 6, p. 730-740, June 2001.

PARSONS, J. R. et al. Osteoconductive composite crouts for orthopedic use. **Ann. NY Acad. Sci.**, New York, v. 523, p. 190-207, 1988.

PAYNE, J. M. et al. Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 67, n. 3, p. 236-244, Mar. 1996.

PECORA, G. et al. Barrier membrane techniques in endodontic microsurgery. **Dent. Clin. of North Am.**, Philadelphia, v. 41, n. 3, p. 585-602, July 1997a.

PECORA, G. et al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 84, n. 4, p. 424-429, Oct. 1997b.

PECORA, G. et al. The use of calcium sulphate in the surgical treatment of a 'through and through' periradicular lesion. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 189-197, Apr. 2001.

- PECORA, G. E. et al. Short-term healing following the use of calcium sulfate as a grafting material for sinus augmentation: a clinical report. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 13, n. 6, p. 866-873, Nov./Dec. 1998.
- PELTIER, L. F. The use of plaster of Paris to fill large defects in bone. A preliminary report. **Am. J. Surg.**, Belle Mead, v. 97, n. 3, p. 311-315, Mar. 1959.
- PELTIER, L. F. The use of plaster of Paris to fill defects in bone. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 21, p. 1-31, 1961.
- PELTIER, L. F.; LILLO, R. The substitution of plaster of Paris rods for portions of the diaphysis of the radius dogs. **Surg. Forum**, Chicago, v. 6, n. 1955, p. 556-558, 1956.
- PELTIER, L. F.; ORN, D. The effect of the addition of plaster of Paris to autogenous and homogenous bone graft in dogs. **Surg. Forum**, Chicago, v. 8, p. 571-574, 1957.
- PELTIER, L. F. et al. The use of plaster of Paris to fill defects in bone. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 146, n. 1, p. 61-69, July 1957.
- PELTOLA, M. et al. Obliteration of the frontal sinus cavity with bioactive glass. **Head Neck**, v. 20, n. 4, p. 315-319, July 1998.
- PEPELASSI, E. M. et al. Doxycycline-tricalcium phosphate composite graft facilitates osseous healing in advanced periodontal furcation defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 62, n. 2, p. 106-115, Feb. 1991.
- PERSSON, K. M. et al. Craniofacial growth following experimental craniosynostosis and craniectomy in rabbits. **J. Neurosurg.**, Chartottesville, v. 50, p. 187-197, 1979.
- PIATTELLI, A. et al. Bone regeneration using Bioglass: an experimental study in rabbit tibia. **J. Oral Implantol.**, Lawrence, v. 26, n. 4, p. 257-261, 2000.
- PIETRZAK, W. S.; RONK, R. Calcium sulfate bone void filler: a review and a look ahead. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 11, n. 4, p. 327-333, July 2000.
- PIOTROWSKI, G. et al. Mechanical studies of the bone bioglass interfacial bond. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 9, n. 4, p. 47-61, July 1975.
- PRICE, N. et al. Human osteoblast-like cells (MG63) proliferate on a bioactive glass surface. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 37, n. 3, p. 394-400, Dec. 1997.

PRITCHARD, J. J. Repair of fractures of the parietal bone in rats. **J. Anat.**, Oxford, v. 80, n. 2, p. 55-60, 1946.

PROLO, D. J. et al. Superior osteogenesis in transplanted allogeneic canine skull following chemical sterilization. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, n. 168, p. 230-242, Aug. 1982.

RADENTZ, W. H.; COLLINGS, C. K. The implantation of plaster of Paris in the alveolar process of the dog. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 357-364, Sept./Oct. 1965.

REID, C. A.; MCCARTHY, J. G.; KOLBER, A. B. A study of regeneration in parietal bones defects in rabbits. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, v. 67, n. 5, p. 591-596, May 1981.

RIBEIRO, L. L. G. **Avaliação histológica do comportamento da matriz dérmica acelular e do vidro bioativo no processo de reparo de cavidade cirúrgica em tibia de rato.** 137 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2003.

ROETHER, J. A. et al. Novel bioresorbable and bioactive composites based on bioactive glass and polylactide foams for bone tissue engineering. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, Boston, v. 13, n. 12, p. 1207-1214, Dec. 2002.

ROSEN, P. S.; REYNOLDS, M. A. Polymer-assisted regenerative therapy: case reports of 22 consecutively treated periodontal defects with a novel combined surgical approach. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 554-561, May 1999.

ROSENBERG, E. S.; FOX, G. K.; COHEN, C. Bioactive glass granules for regeneration of human periodontal defects. **J. Esthet. Dent.**, Hamilton, v. 12, n. 5, p. 248-257, 2000.

SANTOS, F.A. **Implantes de biomateriais em alvéolos dentais: análise histológica em cães.** 149 f. Tese (Doutorado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

SANTOS NETO, F. L.; VOLPON, J. B. Experimental nonunion in dogs. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 187, p. 260-271, Jul./ Aug. 1984.

SATO, K.; URIST, M. R. Induced regeneration of calvaria by bone morphogenetic protein (BMP) in dogs. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, n. 197, p. 301-311, July/Aug. 1985.

SCHEPERS, E. J.; DUCHEYNE, P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and sizes ranges. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 171-181, Mar. 1997.

- SCHEPERS, E. J. G.; DUCHEYNE, P. The application of bioactive glass particles of narrow size range as a filler material for bone lesions: a 24 month animal experiment. **Bioceramics**, v. 6, p. 401-404, 1993.
- SCHEPERS, E. J. G.; PINRUETHAI, P. A comparative study of bioactive glass and porous hydroxylapatite particles in periodontal bone lesions. **Bioceramics**, v. 6, p. 113-116, Nov. 1993.
- SCHEPERS, E.; BARBIER, L.; DUCHEYNE, P. Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 13, n. 5, p. 655-665, Sept./Oct. 1998.
- SCHEPERS, E.; DE CLERCQ, M.; DUCHEYNE, P. Histological and histomorphometrical analysis of bioactive glass and fibre reinforced bioactive glass dental root implants. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 473-487, Sept. 1988a.
- SCHEPERS, E.; DE CLERCQ, M.; DUCHEYNE, P. Interfacial behavior of bulk bioactive glass and fiber-reinforced bioactive glass dental root implants. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, Lombard, v. 523, p. 178-189, 1988b.
- SCHEPERS, E.; DUCHEYNE, P.; DE CLERCQ, M. Interfacial analysis of fiber-reinforced bioactive glass dental root implants. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 23, n. 7, p. 735-752, July 1989.
- SCHEPERS, E. J. G.; DUCHEYNE, P.; BARBIER, L. Clinical application of bioactive glass granules of narrow size range on dental osseous lesions. **Bioceramics**, v. 6, p.361-364, 1993a.
- SCHEPERS, E. J. G. et al. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 439- 452, Sept. 1991.
- SCHEPERS, E. J. G. et al. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. **Implant Dent.**, London, v. 2, n. 3, p. 151-156, 1993b.
- SCHLIEPHAKE, H. et al. Use of a mineralized collagen membrane to enhance repair of calvarial defects in rats. **Clin.Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 112-118, Feb. 2004.
- SCHMITT, J. M. et al. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, n. 11, p. 1043-1053, Nov. 1997.
- SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, n. 205, p. 299-308, Apr.1986.
- SCHMITZ, J. P. et al. Characterization of rat calvarial nonunion defects. **Acta Anat.**, Basel, v. 138, n. 3, p. 185-192, 1990.

- SCHMOEKEL, H. et al. Bone healing in the rat and dog with nonglycosylated BMP-2 demonstrating low solubility in fibrin matrices. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 22, n. 2, p. 376-381, Mar. 2004.
- SCULEAN, A. et al. Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 4, p. 401-408, Apr. 2002.
- SEITZ, T. L. et al. Effect of fibronectin on the adhesion of an established cell line to a surface reactive biomaterial. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 16, n. 3, p. 195-207, May 1982.
- SENN, N. On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. **Am. J. Med. Sci.**, Hagerstown, v. 98, p. 219-243, 1889.
- SETYA, A. B.; BISSADA, N. F. Clinical evaluation of the use of calcium sulfate in regenerative periodontal surgery for the treatment of class III furcation involvement. **Periodontal Clin. Investigations**, Washington, v. 21, n. 2, p. 5-14, 1999.
- SETYA, A.; BISSADA, N. The regenerative potential of a composite graft and resorbable barrier in the treatment of class III furcations. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 74, spec. issue, p. 592, 1995. Abstract.
- SHAFFER, C. D.; APP, G. R. The use of plaster of Paris in treating infrabony periodontal defects in humans. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 42, n. 11, p. 685-690, Nov. 1971.
- SHAPOFF, C. A.; ALEXANDER, D. C.; CLARK, A. E. Clinical use of a bioactive glass particulate in the treatment of human osseous defects. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 18, n. 4, p. 352-358, Apr. 1997.
- SHAPOFF, C. A. et al. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 51, n. 11, p. 625-630, Nov. 1980.
- SHIMIZU, Y. et al. Bone remodeling with resorbable glass and hydroxyapatite. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 6, n. 4, p. 269-274, 1997.
- SIKAVITSAS, V. I. et al. Influence of the in vitro culture period on the *in vivo* performance of cell/titanium bone tissue-engineered constructs using a rat cranial critical size defect model. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 67A, n. 3, p. 944-951, Dec. 2003.
- SIROLA, K. Regeneration of defects in the calvaria. An experimental study. **Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.**, Helsinki, v. 38, suppl. 2, p. 1-87, 1960.

- SOLHEIM, E. et al. Regeneration of calvarial defects by a composite of bioerodible polyorthoester and demineralized bone in rats. **J. Neurosurg.**, Chartottesville, v. 76, n. 2, p. 275-279, Feb. 1992.
- SOTTOSANTI, J. Calcium sulfate: an aid to periodontal, implant and restorative therapy. **J. Calif. Dent. Assoc.**, San Francisco, v. 20, n. 4, p. 45-62, Apr. 1992a.
- SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate: a biodegradable and biocompatible barrier for guided tissue regeneration. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v. 13, n. 3, p. 226-234, Mar. 1992b.
- SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate-aided bone regeneration: a case report. **Periodontal Clin. Investig.**, Washington, v. 17, n. 2, p. 10-15, 1995.
- SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate: a valuable addition to the implant/bone regeneration complex. **Dent. Implantol. Update**, Atlanta, v. 8, n. 4, p. 25-29, Apr. 1997.
- SOTTOSANTI, J. S.; ANSON, D. Using calcium sulfate as a graft enhancer and membrane barrier. **Dent. Implantol. Update**, Atlanta, v. 14, n. 1, p. 1-8, Jan. 2003.
- STANLEY, H. R. et al. The implantation of natural tooth form bioglasses in baboons. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 42, n. 3, p. 339-356, Sept. 1976.
- STANLEY, H. R. et al. Residual alveolar ridge maintenance with a new endosseous implant material. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 58, n. 5, p. 607-613, Nov. 1987.
- STANLEY, H. R. et al. Using 45S5 Bioglass cones as endosseous ridge maintenance implants to prevent alveolar ridge resorption: a 5-year evaluation. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 12, n. 1, p. 95-105, Jan./Feb.1997.
- STAVROPOULOS, A. et al. Deproteinized bovine bone (Bio-Oss<sup>®</sup>) and bioactive glass (Biogran<sup>®</sup>) arrest bone formation when used as an adjunct to guided tissue regeneration (GTR). An experimental study in the rat. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 30, n. 7, p. 636-643, July 2003.
- STVRTECKY, R. et al. A histologic study of bone response to bioactive glass particles used before implant placement: a clinical report. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 90, n. 5, p. 424-428, Nov. 2003.
- SWEENEY, T. M. et al. Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels. **J. Neurosurg.**, Chartottesville, v. 83, n. 4, p. 710-715, Oct. 1995.
- SY, I. P. Alveolar ridge preservation using a bioactive glass particulate graft in extraction site defects. **General Dentistry**, Chicago, v. 50, n. 1, p. 66-68, Jan./ Feb. 2002.

TADJOEDIN, E. S. et al. Histological observations on biopsies harvested following sinus floor elevation using a bioactive glass material of narrow size range. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 11, n. 4, p. 334-344, Aug. 2000.

TADJOEDIN, E. S. et al. High concentrations of bioactive glass material (BioGran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation. Histomorphometrical observations on three split mouth clinical cases. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 13, n. 4, p. 428-436, Aug. 2002.

TAKAGI, K.; URIST, M. R. The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 196, n. 1, p. 100-109, July 1982.

TEN CATE, A. R. **Histologia bucal:desenvolvimento, estrutura e função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 101-122.

THRONDSO, R. R. The use of bioactive glass particles of narrow size range in the third molar site: interview by Arun K. Garg. **Dent. Implantol. Update**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 5-7, Jan. 2000.

THRONDSO, R. R.; SEXTON, S. B. Grafting mandibular third molar extraction sites: a comparison of bioactive glass to a nongrafted site. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 94, n. 4, p. 413-419, Oct. 2002.

TOPAZIAN, R. G. et al. Use of alloplastics for ridge augmentation. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 29, n. 11, p. 792-798, Nov. 1971.

TURNBULL, R. S.; FREEMAN, E. Use of wounds in the parietal bone of the rat for evaluating bone marrow for grafting into periodontal defects. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v. 9, n. 1, p. 39-43, 1974.

TURUNEN, T. et al. Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 8, n. 2, p. 96-102, Apr. 1997.

TURUNEN, T. et al. Bioactive glass granules as a bone adjunctive material in maxillary sinus floor augmentation. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 15, n. 2, p. 135-141, Apr. 2004.

VAN RENS, T. J. The history of treatment using plaster of Paris. **Acta Orthop.Belg.**, Bruxelles, v. 53, n. 1, p. 34-39, 1987.

VERCELLOTTI, T. Piezoelectric surgery in implantology: a case report - a new piezoelectric ridge expansion technique. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 20., n. 4, p. 358-365, Aug. 2000.

- VERNA, C. et al. Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats. A micro- CT scan analysis. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 29, n. 9, p. 865-870, Sept. 2002.
- VICTOR, J. O. et al. Implante de gesso de Paris em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v. 4, n. 1, p. 71-79, 1975.
- WANG, S. A. et al. Alveolar ridge augmentation with bioactive glass ceramics: a histological study. **J. Oral Rehabil.**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 229-239, 1989.
- WANG, J.; GLIMCHER, M. J. Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone defects: I. Differences in the cellular response to demineralized bone matrix implanted in calvarial defects and in subcutaneous sites. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 65, n. 2, p. 156-165, Aug. 1999a.
- WANG, J.; GLIMCHER, M. J. Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone defects: II. Origins of bone-forming cells. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 65, n. 6, p. 486-493, Dec. 1999b.
- WANG, J. et al. Expression of bone microsomal casein kinase II, bone sialoprotein, and osteopontin during the repair of calvarial defects. **Bone**, New York, v. 22, n. 6, p. 621-628, June 1998.
- WARREN, L. D.; CLARK, A. E.; HENCH, L. L. An investigation of bioglass powders: quality assurance test procedure and test criteria. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 23, n. A2, p. 201-209, Aug. 1989.
- WEINSTEIN, A. M.; KLAWITTER, J. J.; COOK, S. D. Implant-bone interface characteristics of bioglass dental implants. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 14, n. 1, p. 23-29, Jan. 1980.
- WHEELER, D. L. et al. Evaluation of particulate Bioglass® in a rabbit radius ostectomy model. **J. Biomed. Mat. Res.**, v. 35, n. 2, p. 249-254, May 1997.
- WHEELER, D. L. et al. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 41, n. 4, p. 527-533, Sept. 1998.
- WHEELER, D. L. et al. Assessment of resorbable bioactive material for grafting of critical-size cancellous defects. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 18, n. 1, p. 140-148, Jan. 2000.
- WHITE JUNIOR., C.; BRYANT, N. Combined therapy of mineral trioxide aggregate and guided tissue regeneration in the treatment of external root resorption and an associated osseous defect. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 12, p. 1517-1521, Dec. 2002.
- WIKESJÖ, U. M.; SELVIG, K. A. Periodontal wound healing and regeneration. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 19, p. 21-39, Feb. 1999.

WILSON, J. et al. Toxicology and biocompatibility of bioglasses. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 15, n. 6, p. 805-817, Nov. 1981.

WILSON, J. et al. Tissue response to Bioglass<sup>®</sup> endosseous ridge maintenance implants. **J. Oral Implantol.**, Lawrence, v. 19, n. 4, p. 295-302, 1993.

WONG, K. Exarticulation and reimplantation utilizing guided tissue regeneration: a case report. **Quintessence Int.**, v. 33, n. 2, p. 101-109, Feb. 2002.

XYNOS, I. D. et al. Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego, v. 276, n. 2, p. 461-465, Sept. 2000a.

XYNOS, I. D. et al. Bioglass<sup>®</sup> 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation in vitro: implications and applications for bone tissue engineering. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 67, n. 4, p. 321-329, Oct. 2000b.

XYNOS, I. D. et al. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass<sup>®</sup> 45S5 dissolution. **J. Biomed. Mater. Res.**, Hoboken, v. 55, n. 2, p. 151-157, May 2001.

YAMAZAKI, Y. et al. Response of the mouse femoral muscle to an implant of a composite of bone morphogenetic protein and plaster of Paris. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, n. 234, p. 240-249, Sept. 1988.

YILMAZ, S.; EFEOGLU, E.; KILIC, A. R. Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 25, n. 10, p. 832-839, Oct. 1998.

YILMAZ, S. et al. Reconstruction of an alveolar cleft for orthodontic tooth movement. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 117, n. 2, p. 156-163, Feb. 2000.

YOSHIKAWA, G. et al. Guided bone regeneration (GBR) using membranes and calcium sulphate after apicectomy: a comparative histomorphometrical study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 255-263, Mar. 2002.

YUKNA, R. A. et al. Clinical comparison of bioactive glass bone replacement graft material and expanded polytetrafluoroethylene barrier membrane in treating human mandibular molar class II furcations. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 125-133, Feb. 2001.

ZAMET, J. S. et al. Particulate bioglass<sup>®</sup> as a grafting material in the treatment of periodontal intrabony defects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 6, p. 410-418, June 1997.

ZANCHETTA, P.; LAGARDE, N.; GUEZENNEC, J. Systemic effects on bone healing of a new hyaluronic acid-like bacterial exopolysaccharide. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 73, n.3, p. 232-236, Sept. 2003.

ZANER, D. J.; YUKNA, R. A. Particle size of periodontal bone grafting materials. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 55, n. 7, p. 406-409, July 1984.



## Anexo C - Tabelas de Resultados da Análise Estatística

157

**Tabela 3 - Testes de normalidade**

Teste Estatístico		p valor		
Shapiro-Wilk	W	0,9812	Pr<W	0,6575
Kolmogorov-Smirnov	D	0,0722	Pr>D	>0,1500
Cramer-von Mises	W-Sq	0,0334	Pr>W-Sq	>0,2500
Anderson-Darling	A-Sq	0,2471	Pr>A-Sq	>0,2500

**Tabela 4 - Análise de variância da variável Área de Osso Neoformado (AON), medida em porcentagem, com transformação em arco-seno**

Fonte de variação	G. L.	Somas de quadrado	Quadrado médio	F	p valor
Tempo	1	0,0012	0,0012	11,49	0,0016*
Grupo	2	0,0013	0,0006	6,02	0,0052*
Tempo*Grupo	2	0,0002	0,0001	1,17	0,3211
Resíduo	40	0,0043	0,0001		
Total	45	0,0070			

\*Significativo ao nível de 5%

**Tabela 5 - Teste de Tukey para comparação das médias dos dois períodos de tempo analisados (medidas em arco-seno)**

**Tabela 7 – Médias e desvios-padrão para a variável Área de Osso Neoformado (AON) (medidas em arcoseno)**

Conclusão	Médias	n	Tempo
A	0,0496	23	12 semanas
B	0,0394	23	4 semanas

Diferença mínima significativa = 0,0062


**Tabela 6 - Teste de Tukey para a comparação das médias dos grupos (medidas em arcoseno)**

Diferença		Médias	Intervalo de confiança 95%	
Comparação entre os grupos				
C	VB/SC	0,0008	-0,0084	0,0100
C	VB	0,0115	0,0026	0,0204*
VB/SC	C	-0,0008	-0,0100	0,0084
VB/SC	VB	0,0107	0,0015	0,0199*
VB	C	-0,0115	-0,0204	-0,0026*
VB	VB/SC	-0,0107	-0,0199	-0,0015*

\*Significativo ao nível de 5%

Razão entre o menor DP (0,0058) e o maior DP (0,0135) = 2,1124

Nível			Médias	
Tempo	Grupo	n	Médias	Desvios-padrão
4 semanas	C	8	0,0466	0,0058
4 semanas	VB	8	0,0298	0,0064
4 semanas	VB/SC	7	0,0420	0,0135
12 semanas	C	8	0,0508	0,0113
12 semanas	VB	8	0,0448	0,0107
12 semanas	VB/SC	7	0,0539	0,0128



*Anexo D – Autorização da Comissão de Ética na  
Experimentação Animal (CEEA)*

---

160

**unesp**  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
CAMPUS DE ARAÇATUBA – FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
CURSOS DE ODONTOLOGIA E DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
(CEEA)**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto “Avaliação do processo de cicatrização óssea em cavidades cirúrgicas críticas preenchidas com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histomorfológico em calvárias de rato” sob responsabilidade da Profa. Dra. **MARIA JOSÉ HITOMI NAGATA, FLÁVIA APARECIDA CHAVES FURNALETO e TATIANA MIRANDA DELIBERADOR** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião de 14/04/2003, de acordo com o protocolo nº 25/03.

Araçatuba, 16 de abril de 2003.

*Adelina Maria M.S.*

Profa. Ass. Dra. Adelina Maria da Silva

Presidente



# Anexo E – Normas para Publicação segundo o Periódico – “Clinical Oral Implants Research”

161

## *Clinical Oral Implants Research*

Official publication of the European Association for Osseointegration

**Edited by:**

Niklaus P. Lang

**Print ISSN:** 0905-7161

**Online ISSN:** 1600-0501

**Frequency:** Bi-monthly

**Current Volume:** 15

**ISI Journal Citation Reports® Ranking:** 2003: 4/49 (Dentistry, Oral Surg & Med);

8/42 (Engineering Biomedical)

**Impact Factor:** 1.922



---

### Author Guidelines

Download Instructions to Authors as [PDF file](#) (size 43 kb).

Manuscripts should be sent in quadruplet to the editorial address below:

Clinical Oral Implants Research

Department of Comprehensive Dental Care

University of Berne School of Dental Medicine

Freiburgstrasse 7

CH-3010 Berne

Switzerland

or to one of the Associate Editors:

Dr. Hans-Peter Weber, DDS, DMD

Harvard School of Dental Medicine

Department of Periodontology

188 Longwood Avenue

Boston

MA 02115

USA

Prof. Dr. DR.H.C. Daniel van Steenberghe, MD, LDS

Department of Periodontology

Catholic University of Leuven

Capucynenvoer 7

B-3000 Leuven

Belgium

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work has not been published before, is not being considered for publication elsewhere and has been read and approved by all authors. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Blackwell Munksgaard if and when the manuscript is accepted for publication. When the manuscript has been accepted, the corresponding author will receive a Copyright Assignment Form from the editorial office to be returned signed on behalf of all co-authors.

You can also download the [Copyright Assignment Form](#) here.

The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic databases and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

The instructions to authors will be strictly adhered to by the Editor. Manuscripts otherwise prepared will be returned to the authors for revision prior to review.

**Acceptable material** - Original investigations, reviews, and case reports. The last will be published only if they provide new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician. Proceedings of international meetings may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

**Manuscripts** - Provide your manuscript on one newly formatted 3.5-inch floppy disk; 4 printed, double-spaced copies including figures and tables must accompany the disk. The paper manuscript and the file on the disk must be the same. Label the disk clearly with the journal name, author and title, file content, computer system (DOS, Windows or Macintosh), word processor (Word, WordPerfect etc.) and version used. Do not convert your manuscript to ASCII format. Include only the files corresponding to the manuscript. Full details of manuscript submission of disk will be sent following notification of acceptance of the manuscript. The author is responsible for all statements made in the work, including changes made by the copy editor, which must be reviewed in proof. Manuscripts must be written in English. All material, including legends and references, must be typed **double-spaced** on only one side of plain white paper, size ISO A4 (210 x 297 mm), U.S. letter size (8.5 x 11 inches), with margins of at least 25 mm, or 1 inch. Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. One printed page is the equivalent of 3.8 typed double-spaced pages using a 12-pitch font (12 characters per inch). Additional pages will be

charged to the author(s) at the rate of DKK 800 per page. The article should be clearly divided as follows:

**Title page** - The first page should contain the title of the article, name(s) of the author(s), full first name(s), and institutional affiliation(s), a running title not to exceed 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

**Abstract** - A separate abstract page should contain the name(s) of the author(s) followed by initials, title of the article, followed by the abbreviated journal title (*Clin Oral Impl Res*); and an abstract *not to exceed 250 words*. This should be structured into: objectives - material and methods - results - conclusions, and no other information.

**Introduction** - Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

**Material and methods** - Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

**Results** - Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

**Discussion** - Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

**Acknowledgements** - Acknowledge persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support may be acknowledged.

**Short communications** -Short communications, limited to two printed pages including illustrations and references, will be considered for rapid publication. Such papers must be based on work that is of special importance or has the potential for great impact. Short communications need not follow the usual division into Material and methods, etc., but should have an abstract.

**References** - in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in *Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors* (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus:

Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

c) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining on typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript), and page numbers.

**Examples** - Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* 4: 177- 186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978). Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. *Protein turnover and lysosome function*, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

**Illustrations** - All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Submit at least one original set of illustrations, identifying each with a label on the back which indicates the number, author's name, and the top. Alternatively, arrange micrographs into plates fitting the space appropriately. Copies of the original illustration may be submitted with the second and third copies of the manuscript. Line drawings should be professionally drawn; halftones should exhibit high contrast. Figure legends must be typed *double-spaced* on a separate page at the end of the manuscript. Colour illustrations in small numbers may be accepted free of charge to the authors at the discretion of the Editor. Otherwise the author must pay for the illustrations at a rate to be quoted by the publisher. Authors must submit the original colour transparencies and 2 sets of colour prints with the manuscript.

**Tables** - Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

**Scientific names** - Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., *Ps. for Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

**Abbreviations and symbols** - The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only standard abbreviations. All units will be metric. Use *no roman* numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of *Webster's third new international dictionary* will be adhered to.

**Author material archive policy** - Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible if you have not yet done so.

**Proofs** - Page proofs only will be sent. Only minor corrections are allowed without extra cost.

**Offprints** - The senior authors are given 50 offprints of their article. Additional offprints can be ordered from the publisher by using the offprint order form accompanying the proofs when page proofs are returned.