

REAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO DA TÍBIA AO IMPLANTE DE HIDROXIAPATITA, PASTA DE WALKHOFF E ASSOCIAÇÃO HIDROXIAPATITA/PASTA DE WALKHOFF. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS

Leda Maria PESPININI-SALZEDAS*

Luiz Alberto MILANEZI**

Tetuo OKAMOTO**

Ricardo Samih Georges ABI RACHED***

Lilian Pescinini RULI****

- RESUMO: Os autores realizaram estudo histomorfológico avaliando a reparação de cavidade óssea experimental em tibia que recebeu em seu interior implante de hidroxiapatita, pasta de Walkhoff e associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff. Os 30 ratos utilizados no experimento foram sacrificados aos 7, 30 e 60 dias após a implantação e, ante a análise histológica, descritiva, pôde-se concluir que: a) no período inicial de 7 dias, o grupo da hidroxiapatita mostrou neoformação óssea comparável ao grupo controle. A pasta de Walkhoff e a associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff suscitaram neoformação óssea similares entre si, sendo esta mais discreta do que a obtida com o grupo da hidroxiapatita; b) aos 30 dias, a neoformação óssea apresentou-se na seguinte ordem decrescente de intensidade: hidroxiapatita, pasta de Walkhoff, e associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff; c) no período de 60 dias, todos os materiais mostraram reparo ósseo total, estando o implante envolvido por tecido ósseo. A presença de material na cavidade foi detectada

* Pós-Graduada em Periodontia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraquara - SP.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 16015-050 - Araçatuba - SP.

*** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraquara - SP.

**** Estagiária em Periodontia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 16015-050 - Araçatuba - SP.

em todos os grupos, e a hidroxiapatita foi a que apresentou menor quantidade de material neste período.

- PALAVRAS-CHAVE: Hidroxiapatitas; pasta de Walkhoff; reparação óssea.

Introdução

Um dos grandes desafios da odontologia é a obtenção de nova inserção em um periodonto destruído pela doença periodontal. O implante de diversos materiais, entre eles o tecido ósseo de origem intra ou extrabucal⁹ e materiais aloplásticos,¹ tem sido utilizado na tentativa de promover a nova inserção. O uso de materiais aloplásticos na terapia periodontal como implantes tem sido reforçado pela necessidade de substituir o enxerto ósseo autógeno, em razão da sua dificuldade de obtenção e pronta disponibilidade.¹⁹ Assim, as pesquisas têm procurado desenvolver materiais aloplásticos que tenham um bom potencial osteogênico, sejam biocompatíveis, biodegradáveis, relativamente baratos e prontamente disponíveis.^{9,10} Os materiais cerâmicos à base de fosfato de cálcio, especialmente as hidroxiapatitas, têm recebido maior atenção, por causa de sua capacidade de integração ao leito receptor e potencial osteocondutor, considerado como o material mais biocompatível.^{11,12}

Estudos histológicos apontam que este material, quando implantado em defeitos periodontais, é bem tolerado pelos tecidos, contudo apresentam resultados conflitantes quanto à cicatrização periodontal.^{1,8} Estas discrepâncias têm sido relacionadas a vários fatores que incluem o controle da placa bacteriana, a contaminação do implante, a presença de cimento contaminado, a estabilidade do implante, a morfologia do defeito.^{7,24}

Em 1978, Lascale¹³ obteve resultados clínicos e radiográficos satisfatórios com o preenchimento de defeitos ósseos periodontais com associação de enxerto ósseo e pasta de Walkhoff. Nesta associação, o enxerto ósseo teria finalidade "osteogênica" e a pasta iodoformada atividade bactericida e bacteriostática.¹⁴

Constituindo uma tendência atual, a associação de materiais às partículas de hidroxiapatita para melhorar sua eficiência e, sendo o controle da contaminação do implante importante no processo de cicatrização, pensou-se na utilização da pasta iodoformada de Walkhoff para o controle de bactérias e seus produtos dentro dos defeitos ósseos periodontais submetidos ao implante de hidroxiapatita. Os resultados de um

estudo por nós realizado* com implante de hidroxiapatita e pasta de Walkhoff, isolados e associados, em tecido conjuntivo subcutâneo de rato, levaram-nos a considerar estes materiais biocompatíveis. Torna-se importante também o conhecimento das reações dos tecidos duros ante estes materiais para o adequado aproveitamento dos mesmos como implante em defeitos periodontais.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente a reação do tecido ósseo ante o implante de hidroxiapatita e pasta de Walkhoff, isoladamente e associados, realizado em cavidades cirúrgicas confeccionadas em tibia de ratos.

Material e método

Foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*), machos, com peso entre 220 e 240 gramas. Os tempos experimentais utilizados foram 7, 30 e 60 dias. Os animais foram divididos em três grupos de 10 animais, um para cada período experimental. Cada grupo, por sua vez, foi dividido para receber as três variáveis e o grupo controle analisado, obtendo-se cinco peças para cada material em cada período experimental.

Os materiais utilizados no experimento foram os seguintes: hidroxiapatita microgranular (processada no Departamento de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP), pasta de Walkhoff (Adolf Iaupt & Co. Dental-Medizin), e a associação de hidroxiapatita e pasta de Walkhoff (na proporção volumétrica 1:1).

Para os procedimentos experimentais, os animais foram submetidos à anestesia com tiopental (Thionembutal – Abbott). Após a depilação da superfície lateral dos membros posteriores, procedeu-se a antisepsia da pele com álcool iodado e incisão linear com 1 centímetro, envolvendo periósteo da tibia direita e esquerda destes animais. Após rebatimento do retalho, com freza tronco cone invertida nº 36, montada em baixa rotação, irrigada externamente com soro fisiológico, confeccionou-se uma cavidade envolvendo osso cortical e medular, tendo o diâmetro de 1 milímetro. Após hemostasia com gaze, o preparo foi preenchido com os materiais propostos, exceto o grupo controle, que não recebeu qualquer material no seu interior. Em seguida, as bordas da ferida foram aproximadas e suturas profundas realizadas com o auxílio de fio de seda 4-0 (Ethicon – Johnson & Johnson).

* PESCININI, L. M., RACHED, R. S. G., MILANEZI, L. A., OKAMOTO, T. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo ao implante de hidroxiapatita, pasta de Walkhoff e associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff. Estudo histológico em ratos. (No prelo).

Os animais foram sacrificados no final dos períodos experimentais, as peças obtidas fixadas em formol 10% e, em seguida, descalcificadas em solução de citrato de sódio e ácido fórmico, em partes iguais.¹⁶ Após a descalcificação, as peças foram incluídas em parafina para realização de cortes semi-seriados de 6 micrometros de espessura, no sentido do longo eixo da tibia. Os cortes foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina para análise histomorfológica.

Resultado

7 dias

Grupo controle: A cavidade cirúrgica encontra-se preenchida em sua totalidade por tecido conjuntivo neoformado. Com exceção de pequena área junto à superfície externa, em que se observa ausência de tecido ósseo, a cavidade cirúrgica exhibe delgadas trabéculas ósseas com intensa atividade osteoblástica (Figura 1).

Grupo hidroxiapatita: Ao longo de toda a extensão da loja cirúrgica, observa-se a presença do implante difundido entre trabéculas ósseas neoformadas com intensa atividade osteoblástica, e o tecido conjuntivo exhibe elevado número de células multinucleadas (Figura 2). A quantidade de tecido ósseo neoformado pode ser comparável, na maioria dos casos, ao grupo controle.

Grupo pasta de Walkhoff: O implante, na maioria dos espécimes, localiza-se, em sua maior parte próximo à superfície externa da loja cirúrgica e a delgada faixa de tecido conjuntivo adjacente ao material exhibe elevado número de macrófagos. Na porção média e próxima ao assoalho da loja cirúrgica podem ser evidenciadas delgadas trabéculas ósseas neoformadas com intensa atividade osteoblástica (Figura 3).

Grupo hidroxiapatita/pasta de Walkhoff: O implante, na maioria dos espécimes, acha-se localizado mais próximo à superfície externa da loja cirúrgica. Em contato com o material, observa-se delgada faixa de tecido conjuntivo com numerosos macrófagos e algumas células multinucleadas. Nas demais áreas, a cavidade cirúrgica encontra-se ocupada por delgadas trabéculas ósseas neoformadas comparáveis na maioria dos casos ao grupo anterior (Figura 4).

30 dias

Grupo controle: Em todos os espécimes a loja cirúrgica mostra-se preenchida por trabéculas ósseas espessas e bem definidas (Figura 5).

Grupo hidroxiapatita: A loja cirúrgica, praticamente em sua totalidade, encontra-se ocupada por tecido ósseo neoformado bem desenvolvido. Em inúmeros pontos, observa-se pequena quantidade do implante disperso entre o trabeculado ósseo neoformado (Figura 6).

Grupo pasta de Walkhoff: A loja cirúrgica exhibe trabéculas ósseas delgadas, com exceção de moderada área junto à parede lateral e/ou assoalho da cavidade em que se notam trabéculas ósseas espessas. Áreas ocupadas pelo implante exibem neoformação óssea nas suas adjacências. Além disso, observa-se discreto número de linfócitos e macrófagos (Figura 7).

Grupo hidroxiapatita/pasta de Walkhoff: Na maioria dos espécimes, notam-se áreas mais extensas do que o grupo pasta de Walkhoff, ocupadas por tecido conjuntivo junto ao implante exibindo moderado número de macrófagos e células multinucleadas. Em alguns pontos, pode ser notada a neoformação óssea junto ao material (Figura 8).

60 dias

Grupo controle: A loja cirúrgica encontra-se totalmente reparada, observando-se trabéculas ósseas com canais medulares bem definidos (Figura 9).

Grupo hidroxiapatita: Trabéculas ósseas bem desenvolvidas ocupam praticamente toda a loja cirúrgica, notando-se pequena quantidade do implante entre o trabeculado ósseo (Figura 10).

Grupo pasta de Walkhoff: Em todos os espécimes, observam-se pequenos pontos ocupados pelo implante envolvido por tecido ósseo (Figura 11). Nas demais áreas, a cavidade cirúrgica mostra-se totalmente reparada, notando-se trabéculas ósseas com canais medulares definidos.

Grupo hidroxiapatita/pasta de Walkhoff: As características morfológicas são, praticamente, as mesmas observadas no grupo anterior (Figura 12).

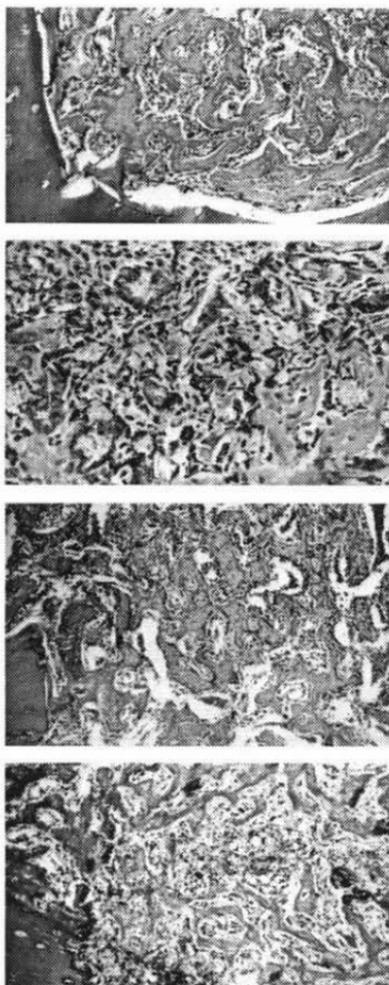


FIGURA 1 – Controle – 7 dias. Cavidade cirúrgica exhibe delgadas trabéculas ósseas. H/E 63x.

FIGURA 2 – Hidroxiapatita – 7 dias. Presença do implante difundido entre trabéculas ósseas neoformadas e tecido conjuntivo com elevado número de células multinucleadas. H/E 160x.

FIGURA 3 – Pasta de Walkhoff – 7 dias. Porção média e próxima ao assoalho da loja cirúrgica exibindo delgadas trabéculas ósseas. H/E 63x.

FIGURA 4 – Pasta de Walkhoff e hidroxiapatita – 7 dias. Cavidade cirúrgica mostrando discreta neoformação óssea. H/E 63x.

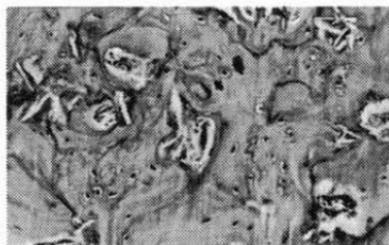
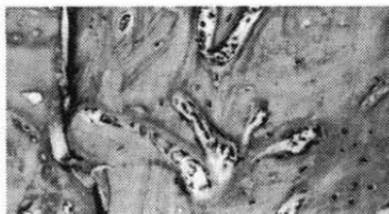


FIGURA 5 – Controle – 30 dias. Cavidade cirúrgica preenchida por trabéculas ósseas espessas e bem definidas. H/E 160x.

FIGURA 6 – Hidroxiapatita – 30 dias. Pequena quantidade do implante difundido entre o trabeculado ósseo neoformado. H/E 160x.

FIGURA 7 – Pasta de Walkhoff – 30 dias. Cavidade ocupada por trabéculas ósseas delgadas e presença de áreas ocupadas pelo implante, exibindo neoformação óssea em suas adjacências. Discreto número de linfócitos e macrófagos. H/E 63x.

FIGURA 8 – Pasta de Walkhoff e hidroxiapatita – 30 dias. Áreas extensas junto ao implante ocupadas por tecido conjuntivo, exibindo moderado número de macrófagos e células multinucleadas. H/E 160x.

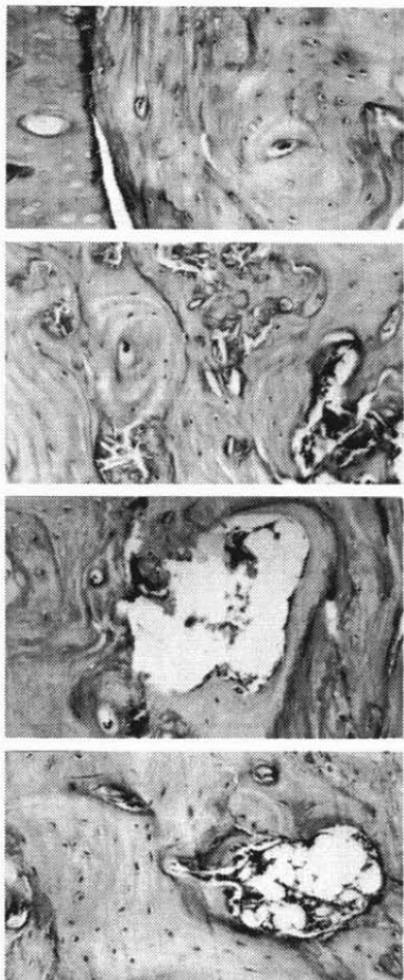


FIGURA 9 – Controle – 60 dias. Loja cirúrgica totalmente reparada exibindo trabéculas ósseas com canais medulares bem definidos. H/E 160x.

FIGURA 10 – Hidroxiapatita – 60 dias. Trabéculas ósseas bem desenvolvidas mostrando pequena quantidade do implante entre o trabeculado ósseo. H/E 160x.

FIGURA 11 – Pasta de Walkhoff – 60 dias. Trabéculas ósseas espessas mostrando pequenos pontos ocupados pelo implante envolvido por tecido ósseo. H/E 160x.

FIGURA 12 – Pasta de Walkhoff e hidroxiapatita – 60 dias. Trabéculas ósseas espessas mostrando pequenas áreas ocupadas pelo implante envolvido por tecido ósseo. H/E 160x.

Discussão

Neste estudo pudemos constatar que as reações teciduais ao implante dos materiais caracterizaram-se por neoformação óssea, com intensa atividade osteoblástica e presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas. Observou-se ainda que os implantes difundidos entre as trabéculas ósseas neoformadas encontravam-se total ou parcialmente envolvidos por tecido ósseo, como observado por outros autores em trabalhos similares.^{4,20*}

Aos 7 dias, o grupo controle apresentou a cavidade cirúrgica preenchida por tecido conjuntivo neoformado, e presença de trabéculas ósseas com intensa atividade osteoblástica, similar aos relatos de Okamoto et al.²⁰ Nos períodos mais longos (30 e 60 dias), a loja cirúrgica mostrou-se totalmente reparada, notando-se trabéculas ósseas espessas com canais medulares bem definidos, concordando com outros estudos.^{4,20}

A biocompatibilidade desta hidroxiapatita por nós utilizada está evidenciada pela quantidade de tecido ósseo neoformado comparável ao grupo controle, aos 7 dias após implantação, estando o implante difundido entre as trabéculas ósseas neoformadas, conforme o relato de outros autores.^{4,20*} A biocompatibilidade tem sido considerada propriedade comum a todas as marcas de hidroxiapatita por diversos autores,^{11,12,24} provavelmente em razão de sua íntima semelhança química e cristalográfica ao osso mineral.^{9,11} No período de 7 dias, a pasta de Walkhoff e a associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff suscitarão neoformação óssea similares entre si, sendo esta mais discreta do que a obtida com o grupo da hidroxiapatita, e a faixa de tecido conjuntivo exibiu elevado número de macrófagos. Esta maior ação irritante parece abrandar à medida que o material vai sendo reabsorvido, o que foi observado nos tempos mais longos de implantação óssea (30 e 60 dias), o que indicaria, a nosso ver, sua biocompatibilidade. Nossos resultados corroboram os achados de Murazabal et al.¹⁸ que ao avaliarem a sobre-obturação, em molares de ratos, com a pasta de Walkhoff, notaram a desintegração do material, provocando reação tecidual com rápida reabsorção. A reabsorção da pasta de Walkhoff no interior do canal radicular,^{5,6,18,25} ocorrendo com certa freqüência a invasão do canal por tecido conjuntivo, viria a confirmar nossas opiniões sobre a biocompatibilidade do material.^{5,6,18}

* KINA, J. R. et al. Avaliação histológica de uma hidroxiapatita microgranular em tibia de rato. Comunicação pessoal, 1995.

O potencial osteocondutor da hidroxiapatita, já ressaltado por outros autores,^{11,12} tem-se mostrado presente quanto a este material, é colocado diretamente sobre o tecido ósseo, havendo nova formação óssea contínua com o mesmo.²¹ Esta incorporação óssea do material foi observada em nosso trabalho, nos períodos de 30 e 60 dias. As partículas estavam integradas ao osso sem encapsulamento fibroso, à semelhança de outros estudos.^{4,20} Distintamente, em defeitos periodontais, a literatura apresenta trabalhos que têm mostrado parcial incorporação de diferentes hidroxiapatitas por tecido ósseo,^{1,22,23} enquanto outros têm apresentado a cerâmica circundada por fibras colágenas, sem evidência de osteogênese próxima ou sobre as partículas.^{8,17} Esta divergência de resultados pode estar relacionada à não-obtenção de condições ideais de assepsia em implantes na cavidade bucal,^{7,23} o que não aconteceria, em nossa opinião, na loja óssea confeccionada em tibia de ratos.

Aos 30 dias após implantação, a neoformação óssea mais intensa ocorreu no grupo hidroxiapatita, seguido pela pasta de Walkhoff, e associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff. Neste último grupo, notaram-se áreas mais extensas ocupadas por tecido conjuntivo junto ao implante, exibindo macrófagos, distinto da neoformação óssea nas adjacências dos implantes de outros dois grupos. A detecção de macrófagos em período mais longo (30 dias) no grupo da associação, pode estar relacionada à existência da pasta na cavidade como demonstrado em outros trabalhos.^{6,18} Essa alteração na reabsorção possivelmente ocorra em função da associação da pasta com a hidroxiapatita.

No período de 60 dias, todos os materiais apresentaram remanescentes dos implantes envolvidos por tecido ósseo. Nas demais áreas, a cavidade cirúrgica mostrou-se totalmente reparada.

Nossos resultados com a pasta de Walkhoff são observados por outros trabalhos que observaram histologicamente o reparo ósseo periapical após obturação dos canais radiculares com pasta iodoformada.^{3,15}

Aos 60 dias, o grupo da hidroxiapatita apresentou a menor quantidade de material remanescente. Nossos resultados demonstram, à semelhança de Kina et al.(1994)*, uma redução gradual na quantidade das partículas com o passar do tempo (30 e 60 dias). Carvalho et al.⁴ utilizando a mesma metodologia e hidroxiapatita com partículas maiores, não observaram reabsorção do material, relacionando este fato à dimensão das partículas e ao tempo de sacrifício. Porém, apesar das evidên-

* Ibidem.

cias* cremos que seja indicada a utilização de metodologias mais específicas para o processo de reabsorção do material implantado, antes de conclusões definitivas.

Os materiais utilizados neste estudo foram avaliados em outro estudo² após implante, em feridas de extração dental infectadas no rato, sendo observada ação benéfica da pasta de Walkhoff no processo de reparo alveolar. Os resultados favoráveis em local contaminado² despertam o interesse para a realização de outros estudos sobre este material, para possível emprego em defeitos ósseos periodontais, que como sabemos, envolve estruturas particularmente complexas.

Conclusão

Considerando-se os resultados obtidos dentro das condições experimentais deste estudo, foi possível concluir que: 1. no período de 7 dias, o grupo da hidroxiapatita mostrou neoformação óssea comparável ao grupo controle. A pasta de Walkhoff e a associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff suscitaram neoformação óssea similares entre si, sendo esta mais discreta do que a obtida com o grupo da hidroxiapatita; 2. aos 30 dias, a neoformação óssea apresentou-se na seguinte ordem decrescente de intensidade: hidroxiapatita, pasta de Walkhoff, e associação hidroxiapatita/pasta de Walkhoff; 3. no período de 60 dias, todos os materiais apresentaram remanescentes dos implantes envolvidos por tecido ósseo. Nas demais áreas, a cavidade cirúrgica mostrou-se totalmente reparada. O grupo da hidroxiapatita apresentou a menor quantidade de material remanescente.

Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo auxílio concedido para a realização deste trabalho.

* Ibidem.

PESCININI-SALZEDAS, L. M. et al. Bone tissue reaction to hydroxyapatite, Walkhoff paste and Walkhoff/hydroxyapatite association implants. Histologic study in rats. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.26, n.2, p.387-400, 1997.

- **ABSTRACT:** *The authors performe a histomorphologic study in order to evaluate the bone repair of an experimental osseous cavity into which hydroxyapatite, Walkhoff paste and Walkhoff/hydroxyapatite association were introduced. Thirty rats used in this experiment were killed 7, 30 and 60 days after surgery and the descriptive histologic analysis showed that: a) in the initial period, the hydroxyapatite group showed bone formation similar to the control. Walkhoff paste and Walkhoff/hydroxyapatite association showed similar bone formation. However, compared to hydroxyapatite, bone formation was less in these last two groups; b) the intensity of neoformation of the tibia bone tissue thirty days after implant presented the following decrescent order: hydroxyapatite, Walkhoff paste and Walkhoff/hydroxyapatite association; c) sixty days after implant all studied materials caused complete bone healing process and the implant was involved in the bone tissue. The presence of the materials in the surgical hole was verified in all groups. However in the hydroxyapatite group the amount of the material was less than in the other groups.*
- **KEYWORDS:** *Hydroxyapatites; Walkhoff paste; bone regeneration.*

Referências bibliográficas

- 1 BARNEY, V. C., LEVIN, M. P., ADAMS, D. F. Bioceramic implants in surgical periodontal defects. A comparison study. *J. Periodontol.*, v.57, p.764-70, 1986.
- 2 BARRIENTOS, R. L. *Processo de reparo em feridas de extração dental infectada tratadas com pasta de Walkhoff e/ou hidroxiapatita.* Estudo histológico em ratos. Araçatuba, 1994. 89p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 3 BOUCHON, F. Apex formation following treatment of necrotized immature permanent incisor. *J. Dent. Child.*, v.33, p.378-80, 1966.
- 4 CARVALHO, P. S. P., GARCIA JÚNIOR, I. R., SANCHES, M. G. Estudo comparativo entre as hidroxiapatitas: Osteosynt e HA-40. *RGO*, v.41, p.330-2, 1993.

- 5 CASTAGNOLA, L., ORLAY, H. G. Treatment of gangrene of the pulp by the Walkhoff method. *Br. Dent. J.*, v.93, p.93-102, 1952.
- 6 ERAUSQUIN, J., MURAZABAL, M. Tissue reaction root canal fillings with absorbable pastes. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.28, p.567-78, 1969.
- 7 FRENTZEN, M., OSBORN, J., NOLDEN, R. The use of porous hydroxylapatite granules in surgical treatment of advanced periodontitis. *Quintessence Int.*, v.20, p.481-97, 1989.
- 8 FROUM, S. J. et al. Human clinical and histologic responses to durapatite implants in intraosseous lesions. *J. Periodontol.*, v.53, p.719-25, 1982.
- 9 GARA, G. G., ADAMS, D. F. Implant therapy in human intrabony pockets: a review of the literature. *J. West. Soc. Periodontal Abstr.*, v.29, p.32-47, 1981.
- 10 GRANJEIRO, J. M. et al. Hidroxiapatita para uso clínico. Caracterização físico-química. *RGO*, v.40, p.130-4, 1992.
- 11 HERSKOVITS, J., MALAGRINO, S. Materiales de fosfato de calcio. *Rev. Asoc. Odontol. Argent.*, v.79, p.36-40, 1991.
- 12 JARCHO, M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications. *Dent. Clin. North Am.*, v.30, p.25-47, 1986.
- 13 LASCALA, N. T. Técnicas de neoformación ósea por injertos mixtos en periodontía. In: ANNUAL WORLD DENTAL CONGRESS OF THE FEDERATION DENTAIRE INTERNACIONALE, 66, 1978, Madrid. p.321.
- 14 LASCALA, N. T., MOUSSALLI, N. H. *Compêndio terapêutico periodontal*. São Paulo: Artes Médicas, 1994. p.414-7.
- 15 LAWS, A. J. Kri-1 as a root filling paste: further evidence of its usefulness. *N. Z. Dent. J.*, v.60, p.180-3, 1964.
- 16 MORSE, A. Formic acid-sodium citrate descalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. *J. Dent. Res.*, v.24, p.143-53, 1945.
- 17 MOSKOW, B. S., LUBARR, A. Histological assessment of human periodontal defect after durapatite ceramic implant. Report of a case. *J. Periodontol.*, v.54, n.8, p.455-62, 1983.
- 18 MURAZABAL, M., ERAUSQUIN, J., DEVOTO, F. C. H. A study of periapical overfilling in root canal treatment in the molar of rat. *Arch. Oral Biol.*, v.11, p.373-83, 1966.
- 19 NARY FILHO, H. *Avaliação da biocompatibilidade de implante de hapsed[®] (hidroxiapatite associadas ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos*. Araçatuba, 1994. 80p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 20 OKAMOTO, T. et al. Implante de osso anorgânico em cavidade óssea. Estudo histológico em ratos. *Rev. Odontol. UNESP*, v.23, p.213-9, 1994.
- 21 PETTIS, G. Y., KABAN, L. B., GLOWACKI, J. Tissue response to composite ceramic hydroxyapatite/demineralized bone implants. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.48, p.1068-74, 1990.
- 22 SEWON, L., KEISTINEN, A. L. The use of bioceramic implants in periodontal treatment. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, v.84, p.215-26, 1988.
- 23 SHEPARD, W. K. et al. Human clinical and histological responses to a calcite implant in intraosseous lesions. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.6, p.46-63, 1986.
- 24 SHETTY, V., HAN, T. J. Alloplastic materials in reconstructive periodontal surgery. *Dent. Clin. North Am.*, v.35, p.521-30, 1991.
- 25 VILLA VIGIL, M. A. et al. Evaluacion del tratamiento endodontico con la tecnica de Walkhoff modificada, en dientes con pulpa necrotica y/o lesiones periapicales. *Rev. Eur. Odontoestomatol.*, v.2, p.383-90, 1990.