

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DE DOIS MATERIAIS SINTÉTICOS, À BASE DE FOSFATO DE CÁLCIO (BIOHAPATITA® E OSTEOGEN®) APÓS A IMPLANTAÇÃO EM ALVÉOLOS DE CÃES

Elton Gonçalves ZENÓBIO*

Rosemary Adriana Chierici MARCANTONIO**

Elcio MARCANTONIO JÚNIOR**

Benedito Antonio FERREIRA**

Tetuo OKAMOTO***

- **RESUMO:** Este trabalho teve por objetivo avaliar o comportamento biológico de dois materiais sintéticos (OsteoGen® e Biohapatita®), implantados em alvéolos de cães. Para tanto foram extraídos todos os pré-molares inferiores de 4 cães, sendo os alvéolos preenchidos com um dos implantes acima, a exceção dos pertencentes ao grupo controle, que não receberam nenhum material. O período experimental foi de 65 dias, após o que os cães foram sacrificados. A análise histológica mostrou que a Biohapatita apresentou a maioria de seus cristais envoltos por tecido conjuntivo, com pequena quantidade de formação óssea, enquanto o OsteoGen apresentou formação óssea direta na superfície dos seus cristais. Poucos cristais de Biohapatita permaneceram nos espécimes analisados, enquanto, em relação ao OsteoGen, um grande número de cristais estava presente.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Hidroxiapatitas; materiais biocompatíveis; fosfato de cálcio.

* Departamento de Clínica III – Faculdade de Odontologia – Universidade de Itaúna – 35680-033 – Itaúna – MG.

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

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

Introdução

A pesquisa do material ideal para a substituição óssea é um dos mais desafiadores problemas da Odontologia, sendo utilizados diversos materiais sintéticos e biológicos no tratamento de defeitos ósseos, aumento do rebordo alveolar, lesões osteoporóticas, deformidades maxilofaciais e defeitos ósseos periodontais. Este material deverá induzir a osteogênese e a cementogênese (quando em contato com o dente), sendo biocompatível, não-carcinogênico, atóxico, não-antigênico, de fácil obtenção e baixo custo, não devendo causar maiores inconvenientes ao profissional e ao paciente.^{7,44}

A aplicação de materiais à base de fosfato de cálcio para substituição do tecido ósseo foi proposta por Albee & Morrisom, que reportaram em 1920 o uso de um composto "tríplo fosfato de cálcio" utilizado em defeitos ósseos produzidos em coelhos, promovendo a osteogênese.²⁸ Porém, só em 1974 Levin et al.³⁰ reportaram pela primeira vez o uso de uma cerâmica de fosfato-tricálcio na Odontologia, em uma pesquisa realizada com defeitos periodontais em cães.

Os materiais sintéticos para implantes ósseos são divididos em três principais grupos: metálicos, polímeros e cerâmicos.²¹ Dentre estes, Nagahara et al.³³ citaram os materiais inorgânicos compostos de fosfato de cálcio como os de maior utilização.

Dentre os materiais cerâmicos de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita e o β -fosfato-tricálcio são os mais utilizados como material de implante.^{15,27,28} A hidroxiapatita, por ser o componente que está presente na maior porção da parte mineral dos tecidos ósseos e dentes, representa um material substituto para o tecido ósseo com larga aplicabilidade.²⁶

Segundo Ducheyne,¹⁴ o termo hidroxiapatita refere-se a um composto químico, com fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, que faz parte de uma grande classe de materiais identificados como apatitas, caracterizados pela fórmula genérica $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Z}_2$, podendo ser divididas quanto às suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Estas propriedades sofrem variações de acordo com a forma de obtenção das hidroxiapatitas, que refletem diretamente a composição, forma do cristal, estequiometria e densidade, contribuindo de maneira significativa em seu desempenho clínico.⁵² Em relação às propriedades físicas, apresentam as formas densa, microporosa, macroporosa e porosa. Podem ser também classificadas em relação à capacidade de serem absorvidas ou não, o que está diretamente ligado à sua composição, porosidade e cristalinidade.^{27,52}

Em Odontologia, especialmente nas áreas de Periodontia, Cirurgia e Implantodontia, a seqüência de escolha no uso de materiais para reconstrução óssea recai, em primeiro lugar, na utilização do osso autógeno, que

apesar de bons resultados apresenta várias limitações e inconvenientes. A fim de ampliar as possibilidades da utilização de outros materiais substitutos do tecido ósseo, várias inovações têm sido propostas, principalmente em relação aos materiais fosfato de cálcio. Desta forma, julgamos oportuno avaliar o comportamento biológico de dois destes materiais sintéticos, as hidroxiapatitas: OsteoGen® e Biohapatita®.

Material e método

Um grupo de quatro cães, com peso e idade semelhantes, raça indefinida e ambos os sexos foi selecionado. Em cada sessão da pesquisa os animais foram sedados com Rompum* e anestesiados via endovenosa com Thiopental.** Destes, foram extraídos todos os pré-molares inferiores e os alvéolos resultantes preenchidos com um dos materiais a serem testados (OsteoGen@*** e Biohapatita****), com exceção dos alvéolos sorteados como controle, que não receberam nenhum implante. Foi utilizado um sistema de rodízio, de modo que os materiais passassem pela posição de todos os pré-molares, totalizando assim três grupos: Controle – 13 espécimes; OsteoGen – 20 espécimes; e Biohapatita – 20 espécimes. Para o preenchimento dos alvéolos, as hidroxiapatitas foram misturadas a uma pequena quantidade de sangue do alvéolo do próprio animal,⁴⁶ até que o material adquirisse uma consistência de pasta, facilitando sua manipulação, inserção e acomodação no alvéolo. Uma vez preenchidos os alvéolos, uma sutura oclusiva foi realizada, procurando-se evitar ao máximo que o material fosse expulso do alvéolo ou contaminado. Foram então aplicados aos animais Penicilina G (Benzetacil 600.000 UI),***** analgésico (Magnopyrol)***** e FRUTOSE – Ampola 20 ml.***** Durante 65 dias os animais foram mantidos com dieta macia, sendo sacrificados com dose letal de Thiopental ao final deste período. As peças obtidas foram fixadas em formol a 10%, descalcificadas em solução de MORSE, seguindo tramitação laboratorial de

* Rompum – Sedativo, analgésico e relaxante muscular – 10ml – Bayer.

** Thiopental – Anestésico – ampola 0,5 mg IV – Cristália.

*** OsteoGen – Impladent Hollywood, NY Hidroxiapatita Reabsorvível 300 a 400 µm.

**** Biohapatita – Fac. de Odont. de Bauru – USP. Hidroxiapatita não-cerâmica 10 a 50 µm.

***** Penicilina G (Benzetacil 600.000 UI).

***** Analgésico (Magnopyrol).

***** FRUTOSE – Ampola 20 ml – Cristália.

rotina para inclusão em parafina, sendo cortadas com 6 micra de espessura e coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina. A análise histológica foi qualitativa, procurando observar o comportamento dos materiais em relação ao tecido ósseo alveolar.

Resultado

Controle: O alvéolo dental mostra, em alguns casos, áreas com trabéculas ósseas delgadas deixando amplo espaço ocupado por tecido conjuntivo. Em outras, a loja cirúrgica encontra-se preenchida por tecido ósseo bem desenvolvido, exibindo canais medulares definidos. Junto à parede óssea alveolar, entretanto, em todos os espécimes, as trabéculas ósseas são bem desenvolvidas (Figuras 1 e 2).

OsteoGen: O material inserido no alvéolo dental encontra-se, geralmente, em nível do terço médio, disperso no campo, ora envolto por tecido conjuntivo, ora por tecido ósseo neoformado (Figura 3). Em alguns espécimes, no entanto, observa-se maior quantidade de tecido ósseo que engloba partículas do implante (Figura 4). Em outros, a formação óssea é mais discreta na região do implante, notando-se a presença de tecido conjuntivo que é bem desenvolvido. Em alguns pontos observa-se, ainda, delgada faixa de tecido ósseo contornando as partículas do material.

Biohapatita: Em todos os espécimes o material permanece em pequena quantidade, geralmente envolto por tecido conjuntivo. Em alguns casos, no entanto, nota-se pequena quantidade de tecido ósseo neoformado em contato com o material implantado. Comparada ao grupo controle ou às áreas junto à parede óssea, a ossificação é discreta em todos os espécimes (Figuras 5 e 6).

Discussão

Willians⁵² considerou que no uso de um material para a reconstrução do tecido ósseo é necessário saber qual desempenho *in vivo* será requerido, determinando, neste sentido, tais objetivos básicos. No primeiro, o material pode ser usado como substituto ósseo permanente (ocupa o lugar do tecido ósseo e desempenha suas funções protetoras e de suporte). Nesta situação não é pré-requisito absoluto que o material pos-

sua uma estrutura física ou química semelhante ao osso, sendo seus requisitos propriedades mecânicas e físicas adequadas, estabilidade, fácil utilização clínica e habilidade de se incorporar ao tecido ósseo. No segundo objetivo, o material pode ser usado como um enxerto ósseo, funcionando como uma matriz ou uma rede para o crescimento de um novo tecido ósseo. Este material deve absorver ou dissolver-se e resultar em um novo remodelamento ósseo. Reafirmando tais objetivos, Jarcho^{22,23} e Jarcho et al.²⁴ afirmaram que a resposta biológica a uma hidroxiapatita é relacionada às suas características físico-químicas.

Ao investigar a forma de união das HAs ao tecido ósseo, Denissen & De Groot,⁹ De Groot,¹⁰ Quinn & Kent,³⁹ Jarcho et al.²⁴ e Van Blitterswijk et al.⁴⁸ relataram que a interface entre o tecido ósseo e a hidroxiapatita foi avaliada como uma ligação íntima e muito forte. Os estudos desta união propunham elucidar esta zona de cimentação e uma camada de uma rede orgânica mineralizada presente nesta interface.^{18,24,38} Jarcho et al.²⁵ demonstraram que o estreitamento da zona de ligação osso-implante é tempo dependente e pode ser explicado pelo baixo pH inicial, ao redor de 5,0, que ocorre até uma semana após o ato operatório. Neste pH a solubilidade da hidroxiapatita é 45 vezes maior que em pH fisiológico.

Embora as hidroxiapatitas apresentem uma formação de apatitas sobre sua superfície em tecidos ósseos e não-ósseos,⁸ uma verdadeira formação óssea (mineralização desses tecidos) é dependente do tecido implantado, observando-se neoformação óssea em tecidos ósseos e subperiostais.^{3,22,26,29,34,51} Esta característica foi observada no experimento somente com o material OsteoGen, que apresentou formação óssea direta sobre a superfície de seus cristais. Já a hidroxiapatita Biohapatita, mesmo implantada em tecido ósseo, apresentou histologicamente a maioria dos seus cristais envolvidos em tecido conjuntivo dentro dos alvéolos dentais. Embora a maioria dos trabalhos relate uma união das HAs ao tecido ósseo,^{13,42,49} Beirne & Greenspan² e BouAbboud et al.³ observaram a presença de um encapsulamento fibroso do material em relação ao tecido ósseo, sem nenhuma formação óssea ou reabsorção.

Em relação à avaliação do comportamento osteofílico e osteocondutor das hidroxiapatitas, Frank et al.¹⁷ e Wang et al.⁵⁰ utilizaram HA microgranular (média 5.3 μm) e obtiveram completa formação óssea nos defeitos experimentais e um crescimento ósseo mais rápido na fase inicial dos grupos com esta HA. Neste estudo, porém, em relação aos grupos controles, a formação óssea observada com OsteoGen foi menos significativa e com a Biohapatita menor ainda e de pior qualidade (maior quantidade de tecido conjuntivo), sugerindo que o reparo ósseo completo, caso ocorra, se dará em um período mais longo.

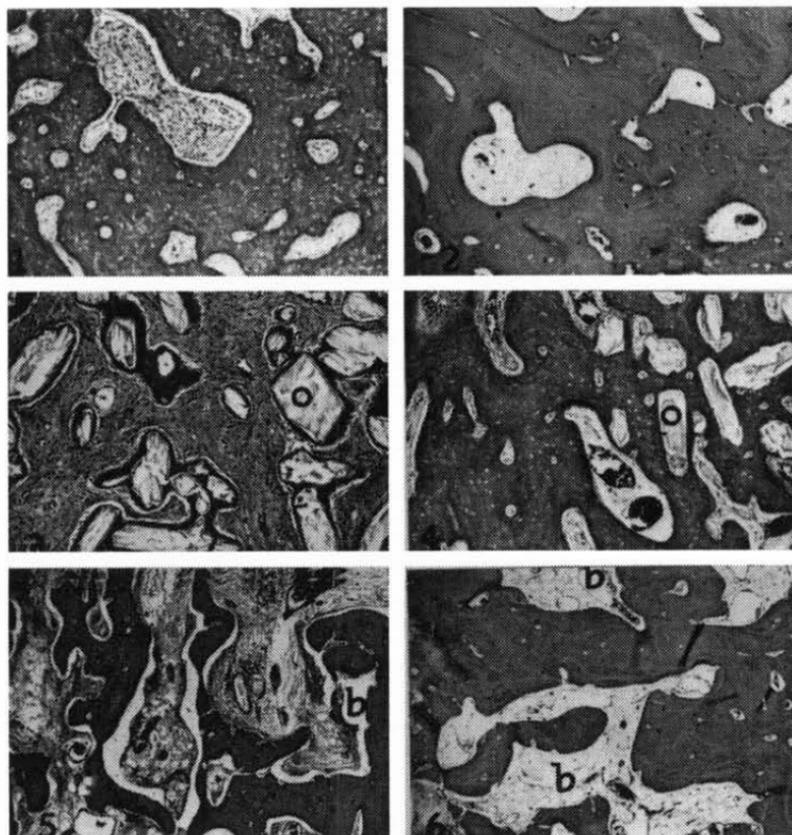


FIGURA 1 – Controle – Terço médio do alvéolo ocupado por tecido ósseo neoformado mostrando áreas com trabéculas ósseas delgadas. HE 25x.

FIGURA 2 – Controle – Terço médio do alvéolo exibindo tecido ósseo bem desenvolvido, com canais medulares definidos. HE 25x.

FIGURA 3 – OsteoGen – Terço médio do alvéolo mostrando o implante (O) envolto por tecido conjuntivo ou tecido ósseo neoformado. HE 25x.

FIGURA 4 – OsteoGen – Terço médio do alvéolo mostrando trabéculas ósseas neoformadas contornando o material implantado. (O) HE 25x.

FIGURA 5 – Biohapatita – Terço médio do alvéolo mostrando áreas ocupadas pelo implante (b) ao lado do tecido conjuntivo neoformado. HE 25x.

FIGURA 6 – Biohapatita – Espécime mostrando pequena quantidade de formação de tecido ósseo, junto ao implante (b). HE 25x.

Na relação entre o tamanho do cristal das hidroxiapatitas e seu comportamento biológico, Wang et al.⁵⁰ relataram que partículas menores que 10 μm de diâmetro são capazes de ser fagocitadas por células multinucleadas histiocitárias, e que o pH dos lisossomos dos macrófagos é suficientemente baixo para dissolver os cristais de HA, embora num processo lento. Este fato também é dependente diretamente de forma, topografia, área e carga de superfície dos cristais, o que foi confirmado por Evans¹⁶ e Teti et al.,⁴⁷ que concluíram, após a utilização de materiais fosfato de cálcio em cultura de células, que respostas biológicas desiguais podem estar relacionadas com diferentes tamanhos de partículas, o que pode afetar a solubilidade de seus constituintes, os níveis de cálcio e fosfato, pH e concentração iônica, influenciando o meio celular. De acordo com estas observações, poderíamos justificar o número de cristais de Biohapatita presentes, menor do que os de OsteoGen, que por suas características físico-químicas teriam sua reabsorção facilitada.

Considerando a forma dos cristais de HA, a maioria dos autores concorda que esse fator não altera a ligação dos implantes em sítios ósseos.^{12,26,29} Entretanto, em sítios não-ósseos (tecidos moles na cavidade oral), as formas esféricas dos cristais de HA são mais efetivas na resolução do processo inflamatório inicial e apresentam maior fibrosamento.³²

No que se refere à propriedade de reabsorção das hidroxiapatitas, em 1981, Jarcho²¹ relatou que os fatores que determinam a forma e o grau de bio-reabsorção das biocerâmicas de cálcio-fosfato permanecem confusos e controversos. Para entendermos esse comportamento, devemos considerar as substâncias sob dois pontos de vista: 1. a composição química do cristal; e 2. sua estrutura como material. Além disso, devemos levar em consideração que existem dois caminhos para a reabsorção biológica: 1. processo mediado pela solução (o implante dissolve em uma solução fisiológica); e 2. processo mediado por células (fagocitose).^{6,7,31,37,41} Entretanto, De Groot¹¹ sugere que o processo de degradação dos materiais microporosos ocorre em dois passos: a dissolução extracelular que ocorre entre as partículas sinterizadas e a dissolução intracelular. Donath¹² considerou que não existe nenhuma hidroxiapatita que não seja bio-reabsorvida, apenas estes materiais diferem no grau de reabsorção.

Considerando a maior formação de tecido conjuntivo junto aos cristais de Biohapatita, devemos questionar se haveria uma correlação entre a possível fagocitose dos cristais desta hidroxiapatita (como observado por Oliveira et al.³⁶ em tecido subcutâneo de rato, relacionando este fato

ao maior processo inflamatório inicial) e a formação de tecido conjuntivo observada ao redor dos cristais, o que justificaria o atraso no processo de reparo do osso alveolar proporcional ao grau de reabsorção do material.

É conhecido que reações químicas ocorridas na superfície das HAs possuem um importante papel no mecanismo de ligação óssea.⁴⁸ A solubilidade pode liberar as mudanças microscópicas e ultraestruturais na superfície do implante de HA e na rede cristalina de crescimento semelhantes à epitaxia. Estes dois acontecimentos possuem um papel-chave na formação da ligação do implante de HA e o tecido ósseo.¹ Desde que a superfície das cerâmicas reaja inicialmente com o fluido extracelular que a envolve, a natureza dos sólidos formados em sua superfície é determinada pela química dos cristais de cerâmica e pelos constituintes químicos do fluido.^{19,35} Referindo-se a este comportamento, Boyan et al.⁴ ressaltam que as respostas celulares aos biomateriais no tecido ósseo envolvem uma cascata de eventos que se iniciam com o condicionamento do material e com os fatores presentes no fluido extracelular que formam um biofilme.

Ducheyne et al.¹⁵ e Radin & Ducheyne,⁴⁰ diante das ocorrências do processo de reabsorção das HAs, apesar de uma evidência conclusiva ainda não estar disponível, formularam a hipótese de que o mecanismo essencial ao fenômeno da bioatividade, isto é, o aumento da formação do tecido ósseo e ligação a este tecido, é mediado pelos produtos da dissolução destas cerâmicas que afetam a atividade celular, a deposição da matriz orgânica, ou precipitação mineral. Biologicamente, a reabsorção óssea requer proteínas específicas da matriz óssea, o que torna possível a inserção dos osteoclastos na área. Já que as partículas de HA não possuem essas proteínas, especula-se que as partículas incorporadas dentro da matriz óssea devem ter escapado da dissolução osteoclástica inicial e permaneceram na área, para mais tarde serem fagocitadas pelos macrófagos.⁵⁰ Esta proposta poderia justificar que o material OsteoGen primeiro se incorpore à estrutura da matriz do osso alveolar para só mais tarde ser reabsorvido durante o processo de remodelação deste tecido.^{43,45}

Portanto, embora no tempo experimental utilizado a hidroxiapatita Biohapatita apresente menor formação óssea, seria esta característica histológica uma consequência da resposta orgânica ao processo de reabsorção deste material, ou seria uma resposta inflamatória ao material? Castro et al.⁵ concluíram que nenhuma vantagem poderia ser atribuída à aplicação de "material ósseo sintético" no reparo do alvéolo dental em razão da resposta inflamatória e do atraso no reparo ósseo alveolar na presença destes materiais.

A aplicação de biomateriais apropriados para a reposição óssea é restrita às propriedades destes materiais.⁴⁷ Limitações mecânicas, físicas e químicas, assim como as propriedades biológicas, comprometem a utilização dos materiais fosfato de cálcio. Além disto, a dificuldade em determinar suas propriedades bem como sua composição tem complicado o desenvolvimento dos materiais para a substituição dos enxertos ósseos.^{20,35}

Em análises utilizando difração de raio-x de materiais fosfato de cálcio existentes comercialmente, verificou-se que a identificação destes era algumas vezes enganosa. Por exemplo: produtos denominados tricálcio-fosfato ou hidroxiapatita eram, na realidade, fosfato de cálcio com estrutura de apatita e baixa cristalinidade ou misturados com outras fases fosfato de cálcio, como por exemplo a monetita. Alguns materiais denominados hidroxiapatitas são na realidade -fosfato-tricálcio. Um exemplo destes é a hidroxiapatita reabsorvível (OsteoGen), que foi identificada na realidade como uma apatita de baixa cristalinidade ou uma apatita misturada a uma monetita.²⁸

Estas identificações incorretas somam-se às inúmeras controvérsias e dúvidas a respeito do comportamento biológico dos materiais à base de fosfato de cálcio, aumentando a confusão dos clínicos. Assim, novos estudos são necessários para diminuir tais problemas e esclarecer melhor o comportamento desses materiais como substitutos ósseos.

Conclusão

De acordo com a metodologia empregada, pudemos concluir:

- a hidroxiapatita Biohapatita apresentou a maioria dos seus cristais envoltos por tecido conjuntivo com pequena quantidade de formação óssea;
- a maioria dos cristais da hidroxiapatita OsteoGen apresentou formação óssea direta em suas superfícies;
- poucos cristais de Biohapatita permaneceram nos espécimes analisados, enquanto um grande número de cristais de OsteoGen estava presentes nos espécimes analisados.

ZENÓBIO, E. G. et al. Evaluation of the biologic behavior of two synthetic materials of calcium-phosphate (Biohapatita® and OsteoGen ®) implanted in dog's sockets. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.27, n.1, p.73-85, 1998.

- **ABSTRACT:** *This study analysed the biological reaction of two synthetic materials, OsteoGen® and Biohapatita® implanted in dog's sockets. For this all the lower bicuspid were removed and the sockets were filled with one of those materials, except the control sockets that didn't receive any material. After 65 days, the dogs were sacrificed. The histological exam showed that Biohapatita presented the most part of its cristals rounded by connective tissue and a few quantity of bone formation, while the OsteoGen has showed direct bone formation on the surface of its cristals. A few cristals of Bihapatita stayed in the analysed specimens. On the other hand, the OsteoGen presented many cristals. Both materials delaiad the bone formation.*
- **KEYWORDS:** *Hydroxiapatites; biocompatible materials; calcium phosphate.*

Referências bibliográficas

- 1 BAGAMBISA, F. B., JOOS, U., SCHILLI, W. Mechanisms and structure of the bonding between bone and hydroxyapatite ceramics. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.27, p.1047-55, 1993.
- 2 BEIRNE, O. R., GREENSPAN, J. S. Histologic evaluation of tissue hydroxylapatite implanted in human mandible. *J. Dent. Res.*, v.64, p.1152, 1985.
- 3 BOU-ABBOUD, N. N. et al. Evaluation of the osteogenic potential of biomaterials implanted in the palatal connective tissue of miniature pigs using undecalcified sections. *Biomaterials*, v.15, p.201-7, 1994.
- 4 BOYAN, B. D. et al. Response of bone and cartilage cells to biomaterials in vivo and in vitro. *J. Oral Implantol.*, v.19, p.116-22, 1993.
- 5 CASTRO, A. L. et. al. Synthetic bone implants following tooth extractions. A histological study in rats. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, v.11, p.193-9, 1970.
- 6 DALCULSI, G., LeGEROS, R. Z., MITRE, D. Crystal dissolution of biological and ceramic apatites. *Calcif. Tissue Int.*, v.45, p.95-103, 1989.
- 7 DALCULSI, G. et al. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.23, p.883-94, 1989.
- 8 _____. Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium-phosphate ceramics. *Calcif. Tissue Int.*, v.46, p.20-7, 1990.

- 9 DENISSEN, H. W., DeGROOT, K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite. *J. Prosthet. Dent.*, v.42, p.551-6, 1979.
- 10 De GROOT, K. Ceramic of calcium phosphates: preparation and properties. In: _____. *Bioceramics of calcium phosphate*. Boca Raton: CRC Press, 1983. p.99.
- 11 _____. Degradable ceramics. In: WILLIAMS, D. F. *Biocompatibility of clinical implant materials*. Boca Raton: CRC Press, 1984. v.1, p.199.
- 12 DONATH, K. Reaction of tissue to calcium phosphate ceramics. In: HEIMKE, G. *Osseo-integrated implants*. Boston: CRC Press, 1990. p.99-126.
- 13 DONOHUE, W. B., MASCRÈS, C. A comparison of the effects of two hydroxyapatites and a methacrylate resin on bone formation in the rat ilium. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.8, p.75-82, 1993.
- 14 DUCHEYNE, P. Bioceramics: material characteristics versus in vivo behavior. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.21, suppl. A2, p.219-36, 1987.
- 15 DUCHEYNE, P., RADIN, S., KING, L. The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I-Dissolution. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.27, p.25-34, 1993.
- 16 EVANS, E. J. Toxicity of hydroxyapatite in vitro: the effect of particle size. *Biomaterials*, v.12, p.574-6, 1991.
- 17 FRANK, R. M. et al. Ultrastructural demonstration of the importance of crystal size of bioceramic powders implanted into human periodontal lesions. *J. Clin. Periodontol.*, v.18, p.669-80, 1991.
- 18 GANELES, J., LISTGARTEN, M. A., EVIAN, C. I. Ultrastructural of durapatite-periodontal tissue interface in human intrabony defects. *J. Periodontol.*, v.5, p.133-40, 1986 .
- 19 HYAKUNA, K. et al. Surface reactions of calcium phosphate ceramics to various solutions. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.24, p.471-88, 1990.
- 20 ITO, K., MURAI, S. Root resorption associated with hydroxylapatite particles: a case report. *Quintessence Int.*, v.26, 377-82, 1995.
- 21 JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin. Orthop.*, n.157, p.259-78, 1981.
- 22 _____. Biomaterial aspects of calcium phosphates. *Dent. Clin. North Am.*, v.30, p.25-47, 1986.
- 23 _____. Retrospective analysis of hydroxylapatite development for oral implant applications. *Dent. Clin. North Am.*, v.36, p.19-26, 1992.
- 24 JARCHO, M. et al. Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *J. Mater. Sci.*, v.11, p.2027-35, 1976.
- 25 _____. Tissue, cellular, and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface. *J. Bioeng.*, v.1, p.79-92, 1977.

- 26 KLINGE, B. et al. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.50, p.241-9, 1992.
- 27 LeGEROS, R. Z. Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review. *Adv. Dent. Res.*, v.2, p.164-80, 1988.
- 28 _____. Materials for bone repair, augmentation and implant coatings. In: INTERNATIONAL SEMINAR OF ORTHOPEDIC RESEARCH, 1990, Nagoya *Proceedings...* Nagoya, 1990.
- 29 LEHTINEN, R., KUUSILEHTO, A., NIKKANEN, U.-M. Bone response to hydroxylapatite particles of different shapes in rabbit tibia. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.48, p.1075-8, 1990.
- 30 LEVIN, M. P. et al. Healing of periodontal defects with ceramic implants. *J. Clin. Periodontol.*, v.1, p.197-205, 1974.
- 31 METSGER, D. S., DePHILIP, R. M., HAYES, T. G. An autoradiographic study of calcium phosphate ceramic bone implants in turkeys. *Clin Orthop.*, n.291, p.283-94, 1993.
- 32 MISIEK, D. J., KENT, J. N., CARR, R. F. Soft tissue responses to hydroxylapatite particles of different shapes. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.42, p.150-60, 1984.
- 33 NAGAHARA, K. et al. Osteogenesis of hydroxylapatite and tricalcium phosphate used as a bone substitute. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.7, p.72-9, 1992.
- 34 NAJJAR, T. A. et al. Enhanced osseointegration of hydroxylapatite implant material. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.71, p.9-15, 1991.
- 35 NEO, M. et al. Apatite formation on three kinds of bioactive material at an early stage in vivo: a comparative study by transmission electron microscopy. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.27, p.999-1006, 1993.
- 36 OLIVEIRA, D. T. et al. Hidroxiapatita microgranular: comportamento biológico em tecido subcutâneo de ratos. *Rev. Odontol. UNESP*, v.22, p.197-202, 1993.
- 37 ORLY, I. et al. Chemical changes in hydroxylapatite biomaterial under in vivo and in vitro biological conditions. *Calcif. Tissue Int.*, v.45, p.20-6, 1989.
- 38 PASSI, P. et al. Ultrastructural findings on the interface between hydroxylapatite and oral tissues. *Quintessence Int.*, v.22, p.193-7, 1991.
- 39 QUINN, J. H., KENT, J. N. Alveolar ridge maintenance with solid nonporous hydroxylapatite root implants. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.58, p.511-21, 1984.
- 40 RADIN, S. R., DUCHEYNE, P. The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. II. Precipitation. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.27, p.35-45, 1993.

- 41 RENOOLJ, W. et al. Bioresorption of ceramic strontium-85-labeled calcium phosphate implants in dog femora. *Clin. Orthop.*, n.197, p.272-85, 1985.
- 42 RICCI, J. L. et al. Evaluation of a low-temperature calcium phosphate particulate implant material: physical-chemical properties and in vivo bone response. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.50, p.969-78, 1992.
- 43 SCHEPERS, E. et al. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J.Oral Rehabil.*, v.18, p.439-52, 1991.
- 44 SERRE, C. M. et al. In vitro induction of a calcifying matrix by biomaterials constituted of collagen and or hydroxylapatite: an ultrastructural comparison of three types of biomaterials. *Biomaterials*, v.14, p.97-106, 1993.
- 45 SPECTOR, M. Anorganic bovine bone and ceramic analogs of bone mineral as implants to facilitate regeneration. *Clin. Plast. Surg.*, v.21, p.437-44, 1994.
- 46 SPIVAK, J. M. et al. A new canine model to evaluate the biological response of intramedullary bone to implant materials and surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.24, p.1124-49, 1990.
- 47 TETI, A. et al. Effects of calcium-phosphate-based materials on proliferation and alkaline phosphatase activity of newborn rat periosteal cells in vitro. *J. Dent. Res.*, v.70, p.997-1001, 1991.
- 48 VAN BLITTERSWIJK, C. A. et al. Macropore tissue ingrowth: a quantitative and qualitative study on ceramic. *Biomaterials*, v.7, p.137-43, 1986.
- 49 WAGNER, J. R. A clinical and histological case study using resorbable hydroxylapatite for the repair of osseous defects prior to endosseous implant surgery. *J. Oral Implantol.*, v.15, p.186-92, 1989.
- 50 WANG, J.-S., GOODMAN, S., ASPENBERG, P. Bone formation in the presence of phagocytosable ha particles. *Clin. Orthop.*, n.304, p.272-9,1994.
- 51 WIESE, K. G., MERTEN, H. A. The role of the periosteum in osteointegration of hydroxylapatite granules. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.22, p.306-8, 1993.
- 52 WILLIAMS, D. F. The biocompatibility clinical uses of calcium phosphate ceramics In: _____. *Biocompatibility of tissue analogs*. Florida: CRC Press, 1985. v.2, cap.3, p.44-65.