

Avaliação física e radiográfica de biomateriais usados para regeneração óssea

Sâmara Cruz Tfaile CORBI^a, Rubens SPIN-NETO^b, Elcio MARCANTONIO Jr.^c,
Rosemary Adriana Chiérici MARCANTONIO^c

^aDepartamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

^bDoutorando e Mestre em Periodontia, Faculdade de Odontologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

^cDepartamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

Corbi SCT, Spin-Neto R, Marcantonio Jr. E, Marcantonio RAC. Physical and radiographic evaluation of biomaterials used for bone regeneration. Rev Odontol UNESP. 2010; 39(2): 101-107.

Resumo

A busca por novos materiais para regeneração óssea incentiva o estudo dos biomateriais; sabe-se que suas características físicas, como forma, aspecto superficial e área, bem como as radiográficas, principalmente a densidade, podem influenciar nos resultados obtidos quando de sua utilização clínica. O objetivo deste estudo foi avaliar o tamanho, a forma, o aspecto superficial e a densidade radiográfica de grânulos de alguns dos principais biomateriais utilizados para regeneração óssea. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, permitindo a detecção das diferenças entre os biomateriais testados. Os resultados radiográficos mostraram que todos os biomateriais avaliados apresentaram densidades radiográficas estatisticamente iguais, porém maiores do que a densidade radiográfica do tecido ósseo da calvária de ratos, região normalmente usada para seu teste. Nas análises físicas, o β TCP e a HAP apresentaram maior rugosidade superficial, enquanto que para os parâmetros diâmetro e área dos grânulos, os resultados foram heterogêneos, com o osso bovino liofilizado apresentando as maiores medidas. Baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que os biomateriais testados apresentaram densidade radiográfica maior do que a região óssea onde são normalmente implantados e diferenças significativas na forma, no tamanho e na rugosidade dos grânulos, características estas que podem estar diretamente relacionadas com o seu desempenho clínico.

Palavras-chave: Biomateriais; enxertos ósseos; características físicas; avaliação radiográfica.

Abstract

The search for new alternatives used in bone regeneration pushes the biomaterials' development, and characteristics such as form, superficial roughness and size, allied to the radiographic bone density of those biomaterials can influence their clinical use. The objective of this study was to evaluate the shape, the size, the superficial aspects and the radiographic density of some of the most used bone-regenerating biomaterials grains. Radiographic results showed that all evaluated biomaterials had statistically equal radiographic densities, but all of them were higher than the radiographic bone density of rats calvaria, which is the region normally used for its test. On the physical analysis, β -TCP and HAP showed the higher superficial roughness, while the grains' diameter and area showed heterogeneous results, with the lyophilized bovine bone showing the higher measures. Based on the results, it is concluded that the tested biomaterials presented higher radiographic density than the region where they are normally applied, and that significant differences in the shape, size and surface roughness could be seen, characteristics which can interfere in their clinical performance.

Keywords: Biomaterials; bone grafts; physical characteristics; radiographic evaluation.

INTRODUÇÃO

Diversas técnicas têm sido usadas na tentativa de corrigir defeitos ósseos na região craniofacial¹ e, dentre estas, o enxerto ósseo autólogo transformou-se no método mais previsível e melhor documentado, sendo, portanto, considerado o método padrão para correção desse tipo de defeito.² O grande problema, porém, é que tal técnica, além de associada com morbidade, dor e perda de função temporária, também fica limitada à quantidade de material doador disponível, bem como à necessidade da criação de uma área cirúrgica adicional.³

Para minimizar esses problemas, há o desenvolvimento de novos biomateriais, sejam estes homólogos, xenógenos ou aloplásticos, capazes de substituir o tecido ósseo sem a necessidade da criação de um sítio doador.⁴ Porém, tais materiais também apresentam limitações quando comparados ao osso autólogo, como maior susceptibilidade à infecção e possibilidade de não integração; outra limitação é a ausência de estudos longitudinais de longo prazo que comprovem sua completa interação com o hospedeiro.¹

Novas tecnologias e biomateriais, para auxiliarem nos complexos processos de reparo ósseo, dependem do conhecimento das vias moleculares que cercam a formação óssea, e, em particular, da relação existente entre as células progenitoras e o ambiente específico na qual irão diferenciar-se em suas células de destino, bem como a interação com biomateriais que sejam usados no preenchimento de tais defeitos.⁵

Além disso, várias condições podem influenciar os resultados obtidos quando da utilização destes materiais, como tipo e tamanho do defeito, região a ser tratada, área exposta ou não ao meio bucal e, conforme o enfoque principal deste estudo, as características do material, principalmente de seus grânulos, aplicados de maneira rotineira para os cirurgiões-dentistas que trabalham com regeneração tecidual.⁶⁻⁸

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de microscopia óptica e eletrônica, o tamanho, a forma e o aspecto superficial dos grânulos de alguns dos principais biomateriais granulados utilizados como enxerto para regeneração óssea e periodontal (Biovidro genérico, PerioGlass, Osso bovino liofilizado, β -Fosfato Tri-Cálcio e Hidroxiapatita), bem como a sua densidade radiográfica, em comparação com o modelo de defeito ósseo aonde são normalmente aplicados em pesquisas.

MATERIAL E MÉTODO

Neste estudo, foram utilizadas amostras de cinco biomateriais granulados – Biovidro genérico (Procell, São Carlos, Brasil), PerioGlass (Novabone products, EUA), Osso bovino liofilizado (Procell, São Carlos, Brasil), β -Fosfato Tri-Cálcio (Procell, São Carlos, Brasil) e Hidroxiapatita (Procell, São Carlos, Brasil) – obtidas de lotes variados e randomizados de maneira a cegar o avaliador em relação ao biomaterial avaliado.

1. *Análise da Densidade Radiográfica*

Para a avaliação radiográfica, 25 microtubos plásticos (Eppendorf do Brasil, São Paulo, Brasil) com 2,5 mm de diâmetro, simulando a espessura óssea da calvária de ratos, região normalmente usada para testes de biomateriais, foram preenchidos com os biomateriais testados e radiografados em um sistema digital, com cinco amostras para cada um dos biomateriais. As imagens obtidas foram relativizadas com um padrão metálico inserido em cada uma das imagens no momento da tomada radiográfica, fornecendo a densidade radiográfica relativa dos biomateriais, em uma área de 1000 pixels quadrados no interior dos microtubos.

Radiografias da calvária de cinco ratos (controle positivo) e de cinco microtubos vazios (controle negativo) foram avaliadas da mesma forma, permitindo as comparações estatísticas. As calvárias de ratos utilizadas para as tomadas radiográficas foram gentilmente cedidas por empréstimo pelo Laboratório Didático da Disciplina de Anatomia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

2. *Análise com Microscopia Comum*

Utilizando-se de um estereó microscópio marca Leica MZ-6 de luz incidente, conectado a um microcomputador com um programa de análise de imagem (Sistema Leica Q-win), uma pequena quantidade de cada biomaterial foi posicionado em uma lâmina de vidro e fotografado para avaliação. Para cada material, foram analisados 15 grânulos obtidos de lotes diferentes, dos quais foram obtidos a área e o maior diâmetro de cada um. Esse procedimento foi realizado por dois examinadores, calibrados e treinados.

3. *Análise com Microscopia Eletrônica*

Os biomateriais foram colados com esmalte incolor e grafite em pó em plataformas metálicas próprias para microscopia eletrônica de varredura e colocados em dissecadores a vácuo para perderem totalmente a umidade para possibilitar a metalização em ouro com 99,99% de pureza. A metalização foi realizada em um aparelho Bal-Tec, SCD-050, com tempo de 100 segundos, o que resultou em uma película de ouro de 25 nm. Um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-T330A) foi utilizado para obtenção das fotomicrografias com o objetivo de verificar a superfície dos materiais utilizados.

As fotomicrografias foram obtidas de dez grânulos de cada biomaterial. Estas foram analisadas por dois examinadores previamente treinados, que avaliaram duas vezes cada uma das amostras, utilizando o Índice de Rugosidade: Grau 0 (sem irregularidade); Grau 1 (mínima irregularidade); Grau 2 (média irregularidade); Grau 3 (máxima irregularidade).⁹ Esse índice de rugosidade foi desenvolvido inicialmente para a avaliação da rugosidade de superfícies radiculares pós-raspagem e, desde então, foi utilizado para a avaliação de superfícies em geral, sempre por microscopia eletrônica de varredura, devido à sua facilidade de aplicação e de padronização da técnica de aplicação.

AValiação DOS RESULTADOS

Os avaliadores receberam treinamento prévio para a realização de cada uma das avaliações referentes ao estudo, sendo que para todos os parâmetros utilizados o índice de concordância Kappa apresentou valores superiores a 0,9, tanto na comparação intra-avaliador como interavaliadores.

Para a realização da análise estatística, foi utilizado o teste de D'Agostino & Pearson (parâmetros físicos) e o teste de Kolmogorov-Smirnov (parâmetros radiográficos), para avaliação da normalidade dos dados. Na sequência, foi utilizado o teste de ANOVA, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey, para comparação entre os grupos (quando dados paramétricos foram avaliados) e o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn, para comparação entre os grupos (quando dados não paramétricos foram avaliados). Para comparação dos escores de rugosidade, também foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn. Para que fosse feita a correlação entre as medidas dos dois avaliadores, para os dados paramétricos, foi utilizado o teste de correlação de Pearson; e, para os dados não paramétricos, o teste de correlação de Spearman.

RESULTADO

1. Densidade Radiográfica

Os resultados obtidos da avaliação feita nas radiografias (Figura 1) estão representados graficamente (Figura 2). Os dados foram considerados paramétricos e sua avaliação foi feita pelo teste de ANOVA, seguido pelo teste de Tukey.

Os resultados, avaliados estatisticamente, mostraram que todos os biomateriais avaliados apresentaram densidades radiográficas estatisticamente maiores ($p < 0,001$) do que a região de controle positivo e menores ($p < 0,001$) do que o controle negativo. O biomaterial Osso bovino liofilizado foi estatisticamente igual ao PerioGlass, enquanto que a Hidroxiapatita foi igual ao Biovidro genérico.

2. Microscopia Comum

Após a avaliação das imagens (Figura 3a-e), os parâmetros avaliados através da microscopia convencional retornaram resultados paramétricos para as variáveis "diâmetro" e "área", com correlação elevada entre os observadores (Índice de Pearson maior do que 0,95 em todos os casos) para cada uma das medidas. As Figuras 4 e 5 representam graficamente o que foi observado.

Os resultados, avaliados pelo teste de ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, mostraram-se heterogêneos, com prevalência estatística de maiores valores para o Osso bovino liofilizado.

3. Microscopia Eletrônica de Varredura

A avaliação por microscopia eletrônica foi realizada e, após a avaliação das imagens (Figura 3f-j), os escores obtidos foram comparados através do teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn (Figura 6).

Os resultados demonstraram maior rugosidade superficial nos biomateriais β -TCP e HAP; para os grupos Biovidro e PerioGlass, embora diferentes entre si, os resultados foram estatisticamente iguais ao Osso bovino liofilizado.

DISCUSSÃO

Neste estudo, foram avaliados o tamanho, a forma e o aspecto superficial dos grânulos de alguns dos principais biomateriais

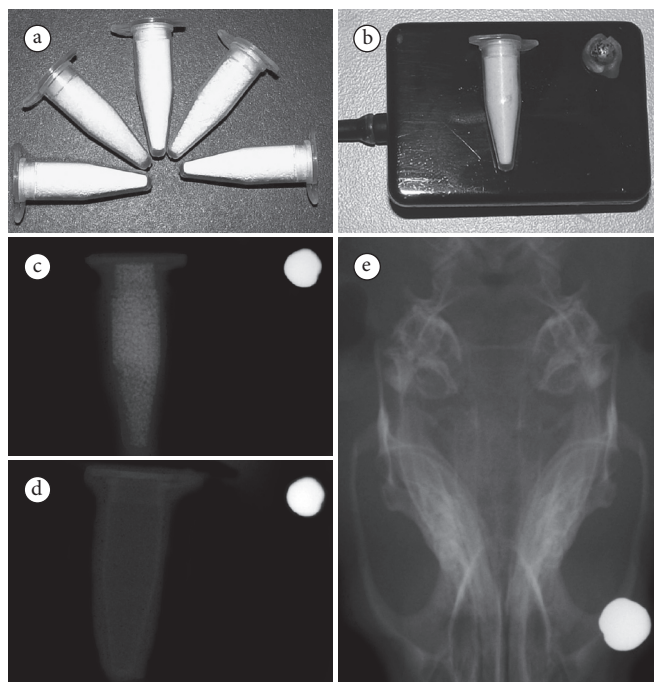


Figura 1. Avaliação radiográfica. a) Microtubos preenchidos com os biomateriais avaliados, prontos para serem radiografados. b) Microtubo posicionado sobre o sensor radiográfico digital, com destaque para o padrão metálico no canto superior direito do sensor. c) Radiografia de um dos microtubos preenchidos. d) Radiografia de um microtubo vazio – controle negativo. e) Radiografia de uma calvária de rato, com região central que foi utilizada como controle positivo.

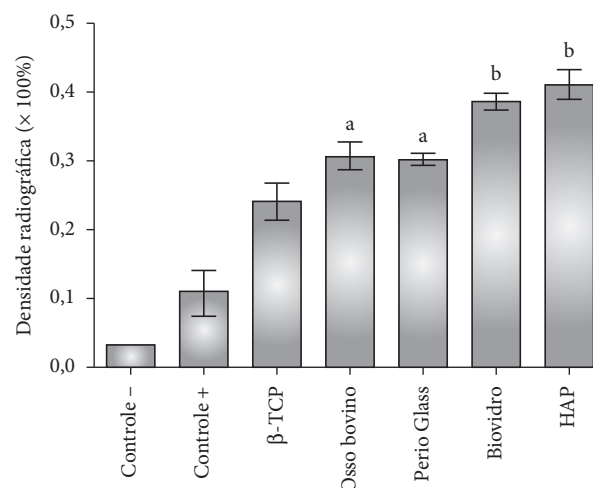


Figura 2. Resultados da avaliação da densidade radiográfica, expressos em médias \pm desvio-padrão. Letras iguais indicam igualdade estatística.

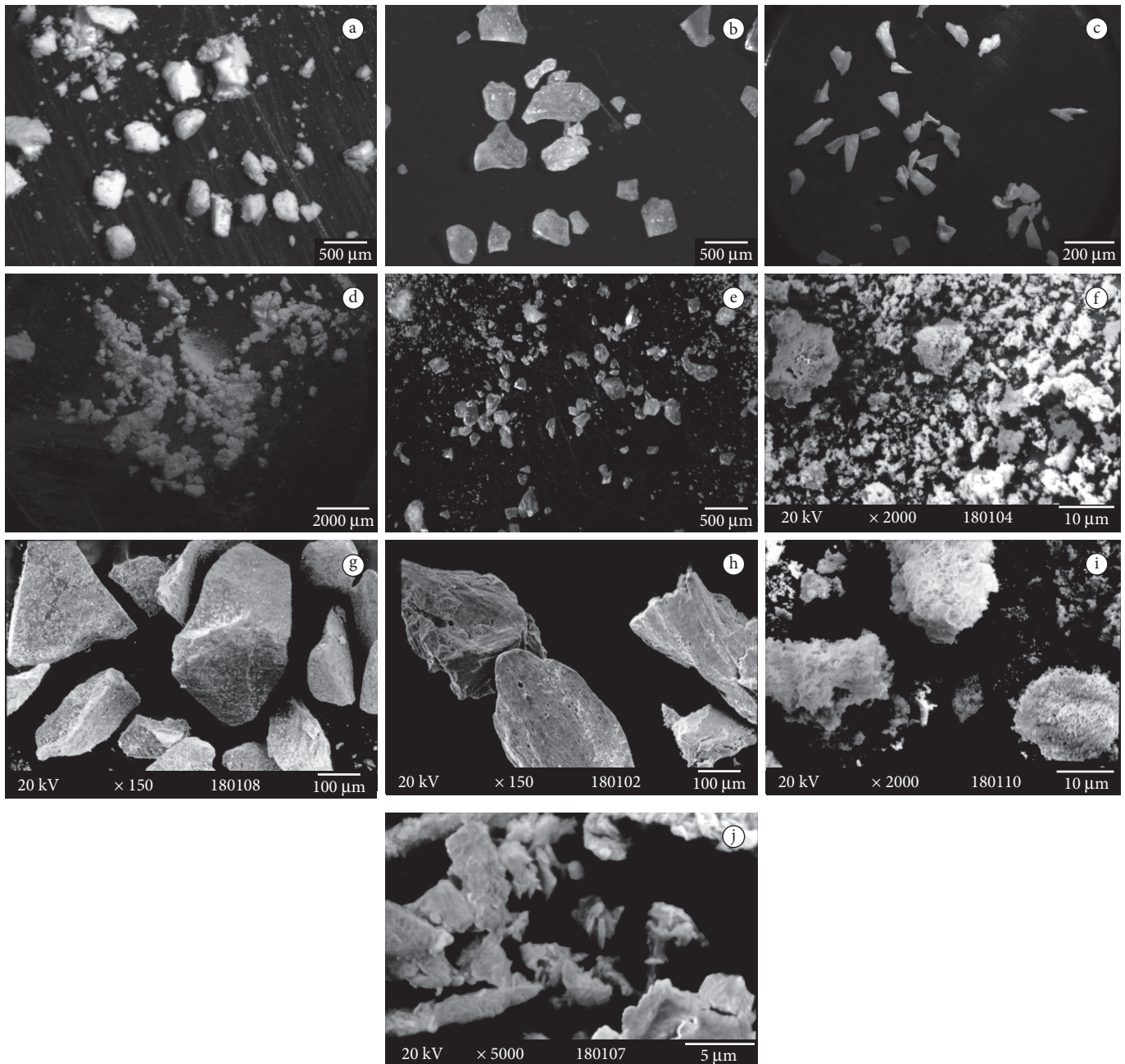


Figura 3. Biomateriais, sob avaliação do estéreo microscópio (a-e) e do microscópio eletrônico (f-j). a) e f) Hidroxiapatita. b) e g) PerioGlass. c) e h) Osso bovino liofilizado. d) e i) β -Fosfato Tri-Cálcio. e) e j) Biovidro genérico.

utilizados como enxerto para regeneração óssea e periodontal (Osso bovino liofilizado, β -Fosfato Tri-Cálcio (β -TCP), Biovidro 45S5 (genérico), PerioGlass e Hidroxiapatita), assim como a sua densidade radiográfica.

Os resultados obtidos a partir da densidade radiográfica das partículas estudadas demonstraram que todos os biomateriais avaliados apresentaram densidades radiográficas maiores que o controle negativo utilizado, deixando claro, dessa forma, que os resultados finais foram exclusivamente dos biomateriais, não havendo interferência dos microtubos. Além disso, a densidade radiográfica dos biomateriais avaliados foi, em todos os casos, estatisticamente maior que o controle positivo. Artigos recentes indicam a baixa correlação dos exames de densidade radiográfica com os histológicos/histométricos, embora associações erradas

entre esses resultados possam ainda ser vistas. A literatura normalmente relata altas densidades radiográficas com um pior comportamento biológico dos biomateriais, visto que seria a correta taxa de reabsorção do material em relação à taxa de neoformação óssea que determinaria sua característica biológica nos eventos de regeneração tecidual; ou seja, quanto mais próxima a densidade radiográfica do biomaterial inserido no defeito estiver da densidade radiográfica óssea, maior a probabilidade de que a regeneração óssea já tenha ocorrido naquela área.¹⁰⁻¹¹

Em relação à avaliação microscópica dos grânulos – e considerando tamanho, área e diâmetro grandezas diretamente proporcionais –, sabe-se que quanto maior for o tamanho da partícula do biomaterial, maior será a sua área e o seu diâmetro. Os resultados obtidos em relação à área de cada biomaterial

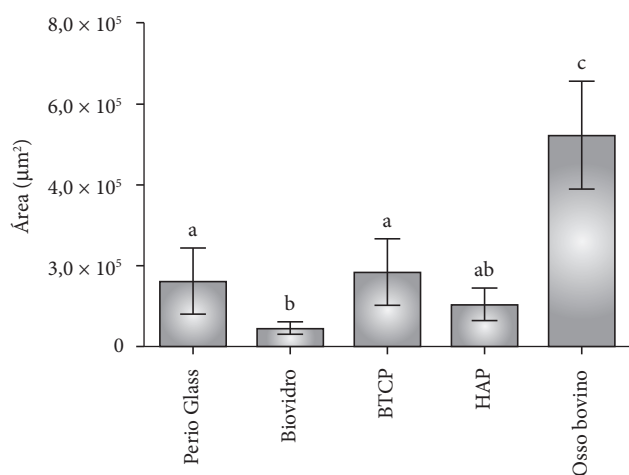


Figura 4. Resultados da avaliação física da área dos grânulos, expressos em médias \pm desvio-padrão. Letras iguais indicam igualdade estatística.

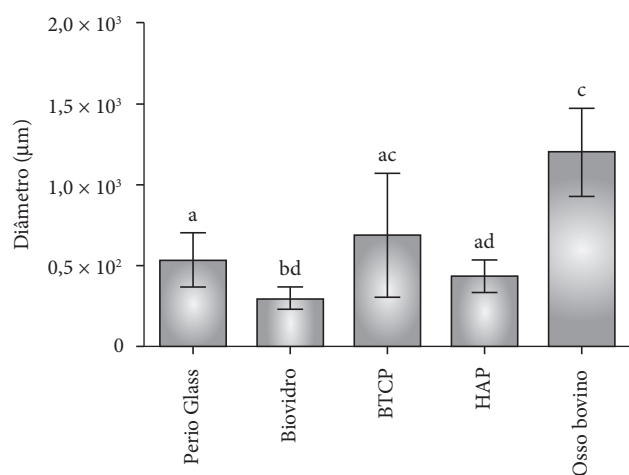


Figura 5. Resultados da avaliação física do diâmetro dos grânulos, expressos em médias \pm desvio-padrão. Letras iguais indicam igualdade estatística.

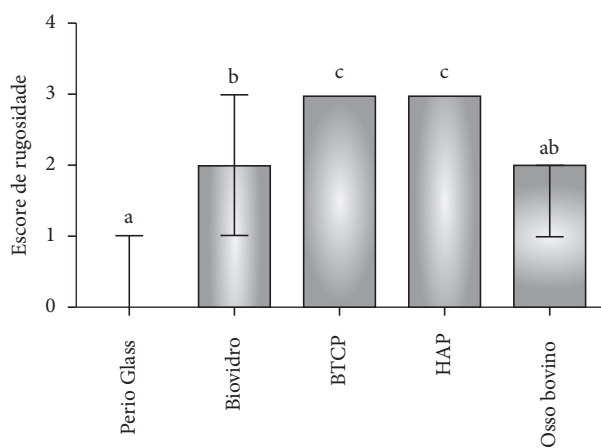


Figura 6. Resultados da avaliação física da rugosidade dos grânulos, expressos em medianas \pm o limite máximo e mínimo dos dados obtidos. Letras iguais indicam igualdade estatística.

demonstraram que os grânulos de PerioGlass ($\pm 180.000 \mu\text{m}^2$ de área e diâmetro de $\pm 500 \mu\text{m}$) são estatisticamente iguais aos grânulos da HAP e β -TCP e que os grânulos de Biovidro ($\pm 50.000 \mu\text{m}^2$ de área e $\pm 300 \mu\text{m}$ de diâmetro) são estatisticamente iguais às partículas da HAP. As partículas de osso bovino liofilizado mostraram-se significativamente maiores ($\pm 1500.000 \mu\text{m}^2$ de área e $\pm 1200 \mu\text{m}$ de diâmetro).

Aspectos como porosidade, rugosidade superficial e tamanho de partícula vêm sendo citados constantemente na literatura. O tamanho dos grânulos dos biomateriais que melhor se ajusta para aplicações odontológicas, de acordo com a literatura, tende a ser os grânulos de aproximadamente $0,5$ a $0,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Além disso, entre outros aspectos, a porosidade de um biomaterial pode estabelecer a velocidade de formação de osso, com uma ótima granulação que corresponderia ao volume total de poros próximos de 60%, sendo a maior parte de macroporos entre 150 e 300 μm e microporos ($< 5 \mu\text{m}$) entre 5 e 10%.¹²

Em um estudo feito em macacos,¹³ os autores consideraram que a porosidade e o tamanho das partículas do biomaterial para enxerto são importantes porque têm efeitos no seu índice de reabsorção e que o enxerto tem a capacidade de promover crescimento ósseo em sua direção. Neste estudo, observou-se que, em fêmures de macacos, partículas de 100 a 300 μm resultaram em melhor formação óssea do que partículas de 1000 a 2000 μm de tamanho. Partindo-se dessa premissa, é possível supor que os grânulos de HAP e de Biovidro genérico mostrados neste estudo seriam os mais favoráveis para preenchimento desses defeitos.

Considerando-se que a reabsorção do material e o crescimento ósseo são eventos que podem ocorrer simultaneamente, estudos mostraram que o menor espaço entre partículas de enxerto é necessário para permitir vascularização própria e formação óssea.¹⁴ Ainda analisando esse aspecto, a literatura relata que o Biovidro, em estágio inicial de implantação, une-se com tecido ósseo e inibe crescimento de fibroblastos, favorecendo a neoformação de tecido ósseo.¹⁵ Outros estudos, que analisaram vários biomateriais em relação a sua velocidade de reabsorção, deram muito enfoque ao Fosfato Tri-Cálcio. Tais estudos afirmam que este material é biodegradável e biocompatível, sendo parcialmente reabsorvido entre 6 e 15 semanas após sua enxertia, dependendo da porosidade da superfície dos grânulos. Em relação à hidroxiapatita, esses mesmos estudos relatam que o seu uso clínico é limitado devido à sua lenta biodegradação, que somente teria início 4 ou 5 anos após a sua implantação.¹⁶⁻¹⁹

Em relação especificamente ao diâmetro das partículas dos biomateriais, tamanhos regulares de partículas (300 a 355 μm) são ótimos para tratamento de defeitos ósseos periodontais.²⁰⁻²¹ Especificamente em relação ao Biovidro, especula-se que partículas no tamanho médio de 300 a 355 μm seriam superiores clinicamente em comparação a uma variação de maior tamanho dessas partículas (90 a 710 μm) para regeneração óssea, porque, nesta variação de maior tamanho, existiriam mais espaços entre as partículas.²²⁻²³ Ainda focada nessa característica física, a literatura relata que, após período de remodelação, clinicamente são encontradas partículas de biovidro (300 a 355 μm) predominando dentro de tecido osteoide e partículas maiores (até 710 μm), em tecido conjuntivo fibroso.²⁴

Estudos relacionando o tamanho dos grânulos com o crescimento ósseo relataram que a formação de osso é mais extensa e possível para partículas de Biovidro variando de tamanho de 300 a 355 μm . Partículas excedendo essa variação não reagem completamente com o tecido ósseo, são circundadas por tecido fibroso e suas superfícies são gradualmente reabsorvidas por células gigantes. Partículas menores de 300 a 355 μm são reabsorvidas completamente, causando uma resposta inflamatória que pode prejudicar a regeneração óssea.²² Além disso, a maioria das partículas de biovidro residuais foi encontrada na área central dos defeitos preenchidos e essas partículas apresentam pequenas erosões na superfície ou rupturas.²⁵

A análise de rugosidade feita neste estudo demonstrou superfície mais rugosa para os biomateriais β -TCP e HAP, e menos rugosa para o PerioGlass e osso bovino liofilizado. Apesar dos estudos com os outros fatores físicos dos biomateriais granulados e de estudos feitos com superfícies de Titânio²⁶⁻³⁰ – que levam a crer que o fator rugosidade possa desempenhar papel significativo no

desempenho clínico de um biomaterial granulado –, a literatura ainda é pobre em correlacionar essa característica aos resultados obtidos com cada um dos materiais aqui avaliados; dessa forma, não há dados que ratifiquem os valores obtidos neste estudo.

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que os biomateriais testados apresentaram densidade radiográfica elevada e variações relevantes quanto à forma, ao tamanho e à rugosidade dos grânulos.

AGRADECIMENTOS

Durante a realização deste trabalho, os autores receberam auxílio financeiro do CNPq, na forma de bolsas de estudo, sendo uma de Iniciação Científica – PIBIC e uma de Doutorado.

REFERÊNCIAS

1. Yamada Y, Ueda M, Naiki T, Nagasaka T. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2004; 15: 589-97.
2. Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Guided bone regeneration in implant dentistry. Chicago: Quintessence; 1994.
3. Summers BN, Eisenstein SM. Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion. *J Bone Joint Surg Br.* 1989; 71: 677-80.
4. Gross JS. Bone grafting materials for dental applications: a practical guide. *Compend Contin Educ Dent.* 1997; 18: 1013-8, 20-2, 24, passim; quiz.
5. Spin-Neto R, de Freitas RM, Pavone C, Cardoso MB, Campana-Filho SP, Marcantonio RA, et al. Histological evaluation of chitosan-based biomaterials used for the correction of critical size defects in rat's calvaria. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 93: 107-14.
6. Evans EJ. Toxicity of hydroxyapatite in vitro: the effect of particle size. *Biomaterials.* 1991; 12: 574-6.
7. Frank RM, Klewansky P, Hemmerle J, Tenenbaum H. Ultrastructural demonstration of the importance of crystal size of bioceramic powders implanted into human periodontal lesions. *J Clin Periodontol.* 1991; 18: 669-80.
8. Wang JS, Goodman S, Aspenberg P. Bone formation in the presence of phagocytosable hydroxyapatite particles. *Clin Orthop Relat Res.* 1994(304): 272-9.
9. Sampaio JEC. Efeito de polimento na superfície radicular após instrumentação manual. Análise de microscopia eletrônica de varredura. *Revista Periodontia.* 1998; 7: 6.
10. Weiss P, Layrolle P, Clergeau LP, Enckel B, Pilet P, Amouriq Y, et al. The safety and efficacy of an injectable bone substitute in dental sockets demonstrated in a human clinical trial. *Biomaterials.* 2007; 28: 3295-305.
11. Pripatanont P, Nuntanarant T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone affects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 38: 356-62.
12. Fabbri M, Celotti GC, Ravaglioli A. Granulates based on calcium phosphate with controlled morphology and porosity for medical applications: physico-chemical parameters and production technique. *Biomaterials.* 1994; 15: 474-7.
13. Shapoff CA, Bowers GM, Levy B, Mellonig JT, Yukna RA. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. *J Periodontol.* 1980; 51: 625-30.
14. Zander DJ, Yukna RA. Particle size of periodontal bone grafting materials. *J Periodontol.* 1984; 55: 406-9.
15. Ito G, Matsuda T, Inoue N, Kamegai T. A histological comparison of the tissue interface of bioglass and silica glass. *J Biomed Mater Res.* 1987; 21: 485-97.
16. Egli PS, Muller W, Schenk RK. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. A comparative histomorphometric and histologic study of bony ingrowth and implant substitution. *Clin Orthop Relat Res.* 1988(232): 127-38.
17. Frayssinet P, Tourenne F, Primout I, Delga C, Sergent E, Besse C, et al. A study of structure and degradation of nonpolymeric biomaterials implanted in bone using reflected and transmitted light microscopy. *Biotech Histochem.* 1993; 68: 333-41.
18. Frayssinet P, Trouillet JL, Rouquet N, Azimus E, Autefage A. Osseointegration of macroporous calcium phosphate ceramics having a different chemical composition. *Biomaterials.* 1993; 14: 423-9.

19. Gao TJ, Tuominen TK, Lindholm TS, Kommonen B, Lindholm TC. Morphological and biomechanical difference in healing in segmental tibial defects implanted with Biocoral or tricalcium phosphate cylinders. *Biomaterials*. 1997; 18: 219-23.
20. Yukna RA, Krauser JT, Callan DP, Evans GH, Cruz R, Martin M. Multi-center clinical comparison of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix (ABM)/cell binding peptide (P-15) and ABM in human periodontal osseous defects. 6-month results. *J Periodontol*. 2000; 71: 1671-9.
21. Yukna RA, Mellonig JT. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol*. 2000; 71: 752-9.
22. Schepers EJ, 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 size ranges. *J Oral Rehabil*. 1997; 24: 171-81.
23. Wheeler DL, Stokes KE, Hoellrich RG, Chamberland DL, McLoughlin SW. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J Biomed Mater Res*. 1998; 41: 527-33.
24. Felipe ME, Andrade PF, Novaes AB, Jr., Grisi MF, Souza SL, Taba M Jr, et al. Potential of bioactive glass particles of different size ranges to affect bone formation in interproximal periodontal defects in dogs. *J Periodontol*. 2009; 80: 808-15.
25. Villaca JH, Novaes AB, Jr., Souza SL, Taba M Jr, Molina GO, Carvalho TL. Bioactive glass efficacy in the periodontal healing of intrabony defects in monkeys. *Braz Dent J*. 2005; 16: 67-74.
26. Eliaz N, Shmueli S, Shur I, Benayahu D, Aronov D, Rosenman G. The effect of surface treatment on the surface texture and contact angle of electrochemically deposited hydroxyapatite coating and on its interaction with bone-forming cells. *Acta Biomater*. 2009; 5: 3178-91.
27. Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio E Jr. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. *Braz Oral Res*. 2009; 23: 137-43.
28. Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio E Jr. Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67: 1706-15.
29. Meirelles L, Currie F, Jacobsson M, Albrektsson T, Wennerberg A. The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008; 23: 641-7.
30. Yang GL, He FM, Zhao SS, Wang XX, Zhao SF. Effect of H₂O₂/HCl heat treatment of implants on in vivo peri-implant bone formation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008; 23: 1020-8.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio
Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia, UNESP – Univ Estadual Paulista,
14801-903 Araraquara - SP, Brasil
e-mail: adriana@foar.unesp.br

Recebido: 18/02/2010
Aceito: 26/04/2010

