

AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE IMPLANTES DE HAPSET^R (HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO SULFATO DE CÁLCIO) EM FERIDAS DE EXTRAÇÃO DENTAL. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS*

*EVALUATION OF THE HAPSET^R IMPLANTS (HYDROXYAPATITE/CALCIUM SULPHATE)
BIOCOMPATIBILITY IN DENTAL EXTRACTION WOUNDS. HISTOLOGICAL STUDY IN RATS**

Hugo NARY FILHO

Professor Assistente do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre. Doutorando em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial na Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP.

Tetuo OKAMOTO

Professor Titular do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP. Professor Orientador desta dissertação.

A biocompatibilidade de implantes de Hapset^R (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) foi estudada em feridas de extração dental pela inserção de tubos de polietileno em alvéolos de ratos após extrações, contendo em suas extremidades Hapset e Gutapercha. Os animais foram sacrificados em períodos de 7, 15, 21 e 30 dias após as cirurgias, sendo os espécimes obtidos processados e submetidos a análise histológica. Verificou-se reação mais severa na região contígua ao implante de Hapset, indicando ser este material mais irritante que a Gutapercha. A metodologia empregada permitiu boa análise comparativa entre os materiais empregados, podendo ser empregada em estudos de comportamento biológico de materiais odontológicos.

Unitermos: Sulfato de cálcio; Hidroxiapatita; Processo alveolar, metabolismo.

* Resumo da dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial.

INTRODUÇÃO

Vários materiais sintéticos vêm sendo desenvolvidos visando a substituição do tecido ósseo, principalmente compostos derivados de fosfato de cálcio. Dentre estes, a hidroxiapatita (HA), nas suas formas sintéticas, caracteriza-se por excelente biocompatibilidade, observada tanto em trabalhos clínicos quanto experimentais^{6, 19, 24, 25, 26, 30, 36, 45}.

Devido a essa biocompatibilidade e suas apropriadas formas de apresentação, é aplicada numa grande variedade de casos, tais como em técnicas de aumento de rebordos atroficos^{7, 15, 16, 19, 20}, para preenchimento de cavidades ósseas resultantes de intervenções cirúrgicas e manutenção de rebordos após exodontias^{13, 14}.

Porém, especificamente em cirurgias reconstrutivas para aumento de rebordo em mandíbulas atroficas, apresenta o inconveniente da falta de estabilidade no pós-operatório imediato, ou seja, o deslocamento das partículas através dos tecidos, desconfigurando a anatomia inicialmente obtida. Esta é considerada a maior desvantagem do uso deste material, podendo comprometer o sucesso da cirurgia^{15, 27}.

Na tentativa de sanar tal inconveniente, desenvolveram-se materiais para confinar os grânulos de HA antes da implantação, como tubos e redes de colágeno ou ácido poliglicólico^{22, 44, 46}. Ao mesmo tempo, preconizou-se o uso de veículos, ou seja, substâncias ou meios que, adicionados, propiciam a formação de um composto de manipulação mais fácil, biocompatível, impedindo o deslocamento do material, sem prejudicar o reparo²¹. Destacam-se como veículos, o colágeno, nas suas diversas formas^{5, 29, 32} e o sulfato de cálcio (SC)²¹.

O sulfato de cálcio, composto mineral, vem sendo pesquisado há muito tempo, não somente como veículo de partículas de HA, mas em cirurgias bucais e reparadoras^{2, 3, 4, 8, 9, 37, 43, 48}, com resultados contraditórios.

FRAME¹⁷ (1975), entretanto, enfatizou que estes trabalhos anteriores foram realizados com corpos sólidos de SC dihidratado preparado do calcined (ou beta) hemihidrato e na forma de gesso Paris, com poucas informações sobre sua pureza, preparo e esterilização. Preconizou método de preparo de sulfato de cálcio dihidratado, na forma de partículas porosas, com alto grau de pureza, ao qual obteve bons resultados histológicos

em implantes subcutâneos em ratos. Desta forma, o SC poderia servir como veículo devido a sua rápida absorção^{18, 19}.

Constituindo uma tendência atual para implantes de partículas de HA, é de grande importância o estudo desta associação de materiais, que pode proporcionar valioso recurso terapêutico para o cirurgião-dentista. Neste sentido, o propósito desta pesquisa foi testar o Hapset[®], material composto pela associação do sulfato de cálcio com hidroxiapatita densa, em área de ossificação, especificamente o alvéolo dental, onde conhece-se perfeitamente os fenômenos biológicos que sucedem-se até o completo reparo³¹.

MATERIAL E MÉTODO

Para o trabalho foram utilizados, inicialmente, 20 ratos (*Rattus albinus*, Wistar) machos, pesando aproximadamente 250 g, alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida, exceto nas primeiras 24 horas após a intervenção, e água "ad libitum".

Os animais submeteram-se a anestesia geral com thionembutal^{**}, para extração do incisivo superior direito, empregando instrumental especialmente adaptado para este fim³¹. Imediatamente após a extração, foi implantado, no alvéolo de cada animal, um tubo de polietileno contendo, numa das extremidades, gutapercha e, na outra, Hapset[®].

Os tubos de polietileno foram previamente preparados e padronizados com 1 mm de diâmetro interno e 3 mm de comprimento. Numa das extremidades do tubo foi condensada gutapercha^{***} aquecida (1mm), com auxílio de um limitador que proporcionou a padronização da quantidade de material condensado. Na outra extremidade do tubo foi colocado Hapset[®] (2mm). O Hapset[®], que compreende um componente em forma de pó (HA + SC), um na forma líquido (água destilada), vem acondicionado numa embalagem estéril contendo, também, um pote plástico e uma espátula utilizados para sua mistura. Foi preparado através da mistura da totalidade do pó (2g) e do líquido (5 cc) presentes na embalagem, segundo instruções do fabricante. O material pôde, então, ser condensado na outra extremidade do tubo, sendo aguardada sua presa. Os tubos, já preparados, com gutapercha numa extremidade e HA + SC na outra, foram esterilizados por óxido de etileno para permitir sua

* Orthomatrix Inc. Lifecore

** Tiopental sódico. Abbott Lab. Bras. Ltda.

***Tanari Man Ind.

implantação.

Após a implantação dos tubos no alvéolo, para completar o ato cirúrgico, procede-se, na mucosa gengival, sutura simples com fio de seda 4-0 montado em agulha atraumática*.

Em grupos de 4 animais, os ratos foram sacrificados, por inalação de éter sulfúrico, aos 7, 15, 21 e 30 dias após o ato cirúrgico. Após o sacrifício, a maxila direita foi separada da esquerda, realizando-se uma incisão em plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar. Um outro corte com tesoura reta, tangenciando a face distal dos molares, possibilitou a obtenção da peça com o alvéolo dental direito.

Os espécimes, assim obtidos, foram fixados em solução de formalina a 10%, durante 24 horas e descalcificados em solução de citrato de sódio e ácido fórmico em partes iguais³¹. Porém, antes da descalcificação as peças foram radiografadas, para identificar os alvéolos onde o tubo de polietileno foi expulso. Nestes casos, repetiu-se o procedimento até atingir o número proposto de espécimes para análise.

A seguir, as peças sofreram desidratação e inclusão em parafina, sendo orientadas de tal maneira a permitir cortes do alvéolo em seu sentido longitudinal. Para permitir os cortes, durante este processamento, os tubos foram removidos cuidadosamente. Estes cortes semi-seriados, com 6 micrômetros de espessura foram corados pela hematoxilina e eosina para análise histológica, cujos resultados são descritos a seguir**.

RESULTADOS

Os resultados obtidos serão relatados em função dos tempos pós-operatórios, das ocorrências na extremidade cervical (*gutapercha*) e apical (*Hapset^R*) do tubo de polietileno, bem como o processo de reparação nas demais áreas do alvéolo dental.

Gutapercha (7 dias)

Junto ao material observa-se delgada faixa de tecido conjuntivo mostrando pequena quantidade de células degeneradas. Em alguns pontos, estas camadas de tecido degenerado é mais espessa. Imediatamente próximo a esta área, evidencia-se elevado número de fibroblastos, que orientam-se paralelamente à superfície do material. Alguns capilares neoformados, bem como moderado número de

linfócitos e macrófagos, podem ser evidenciados na região (Figura 1).

Hapset^R (7 dias)

Moderada faixa de tecido degenerado pode ser observado junto ao material. O tecido conjuntivo nas proximidades é pouco organizado, notando-se grande número de fibroblastos e capilares neoformados, além de linfócitos e macrófagos. Em alguns casos nota-se, junto ao material, elevado número de polimorfonucleares neutrófilos ao lado de macrófagos. Logo abaixo, é observado tecido conjuntivo, exibindo moderado número de linfócitos e macrófagos (Figura 2).

Nas demais áreas, o alvéolo dental encontra-se preenchido por tecido conjuntivo neoformado mostrando diferentes características morfológicas. Assim, próximo a parede óssea alveolar observa-se, no terço médio, pequenas trabéculas ósseas neoformadas, geralmente isoladas, que ocupam em torno de 20% da área considerada. Nos terços cervical e apical nota-se tecido conjuntivo sem diferenciação óssea, rico em fibroblastos exibindo discreto número de linfócitos e macrófagos. Em inúmeros pontos observa-se, ainda, coágulo sanguíneo sem organização, principalmente no terço cervical e apical.

A crista óssea alveolar mostra discreta reabsorção.

Gutapercha (15 dias)

Adjacente ao material observa-se, em alguns casos, estreitas faixas ocupadas por células degeneradas e pequenos fragmentos do material. Em outros, nota-se elevado número de macrófagos e/ou fibroblastos, estes últimos em disposição paralela à superfície do implante. É evidente, também, discreto número de linfócitos. Imediatamente abaixo observa-se tecido conjuntivo rico em fibroblastos. Além disso, mais em direção a margem gengival são evidenciadas pequenas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 3).

Hapset^R (15 dias)

O tecido conjuntivo junto ao material mostra, em alguns casos, extensas áreas exibindo elevado número de polimorfonucleares neutrófilos. Em outros, no entanto, podem ser evidenciadas áreas de tecido conjuntivo rico em fibroblastos exibindo moderado número de linfócitos além de pequena quantidade de macrófagos. Em todos os espécimes é evidente a ausência de neoformação óssea junto ao terço apical (Figura 4).

Nas demais áreas, observam-se trabéculas ósseas

* Ethicon Johnson & Johnson Ind. Com. Ltda.

** Esta metodologia, ou seja, utilização de tubos de polietileno em alvéolos de ratos para testes de biocompatibilidade de materiais, foi inicialmente idealizada no Departamento de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, sem publicação.

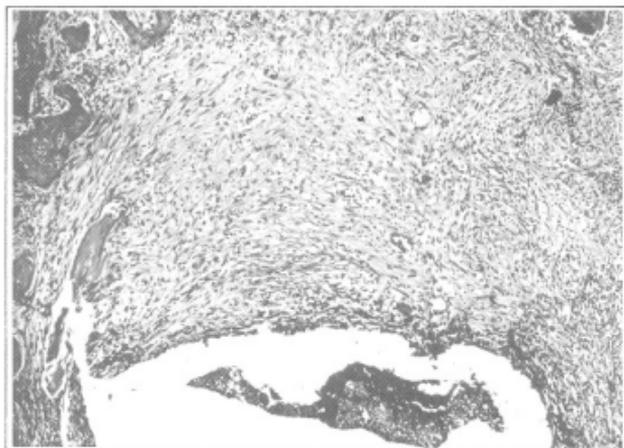


FIGURA 1 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Gutapercha, demonstrando delgada faixa de tecido conjuntivo com pequena quantidade de células degeneradas (7 dias). H. E. 63x

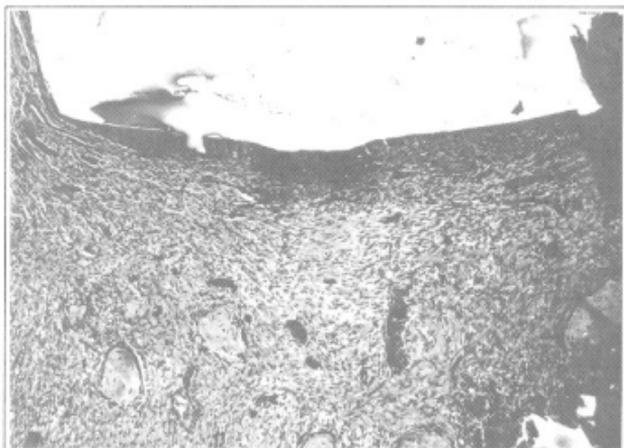


FIGURA 2 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Hapset[®], demonstrando moderada faixa de tecido degenerado junto ao material (7 dias). H. E. 63x

neoformadas delgadas ocupando em torno de 30% do terço médio, próximo à parede óssea alveolar. Junto ao terço cervical a ossificação é discreta, notando-se pequenas trabéculas isoladas.

A crista óssea alveolar evidencia discreta área de reabsorção e/ou neoformação óssea.

Gutapercha (21 dias)

Em contacto com o material, geralmente observa-se delgada faixa de tecido conjuntivo exibindo, além de fibroblastos, moderado número de macrófagos e, em alguns pontos, restos de células degeneradas. Logo a seguir, nota-se tecido conjuntivo bem desenvolvido exibindo discreto número de linfócitos. Evidenciam-se, ainda, pequenas trabéculas ósseas neoformadas, geralmente isoladas e delgadas que, em algumas áreas, encontram-se junto ao material (Figura 5).

Hapset[®] (21 dias)

Adjacente ao material, observa-se espessa faixa de tecido conjuntivo pouco organizado, exibindo elevado número de macrófagos e polimorfonucleares, alguns em degeneração. Junto a estas faixas de infiltrado inflamatório, evidencia-se tecido conjuntivo rico em fibroblastos exibindo discreto número de linfócitos e macrófagos. Mais em direção ao "fundus" alveolar podem ser observadas finas trabéculas ósseas neoformadas evidenciando discreta atividade osteoblástica (Figura 6).

O alvéolo dental, nas demais áreas, encontra-se preenchido por tecido conjuntivo neoformado mostrando diferentes características: junto ao terço médio, observam-se trabéculas ósseas neoformadas que ocupam aproximadamente 55 % da área considerada; junto aos terços cervical e médio, a ossificação é discreta, evidenciando-se pequenas trabéculas ósseas, geralmente isoladas.

A crista óssea alveolar encontra-se remodelada.

Gutapercha (30 dias)

Adjacente ao material, em quase todos os espécimes, observa-se tecido conjuntivo fibroso, com feixes de fibras colágenas dispostos paralelamente à superfície do material. Em alguns casos, notam-se pequenas trabéculas ósseas isoladas ou tecido conjuntivo

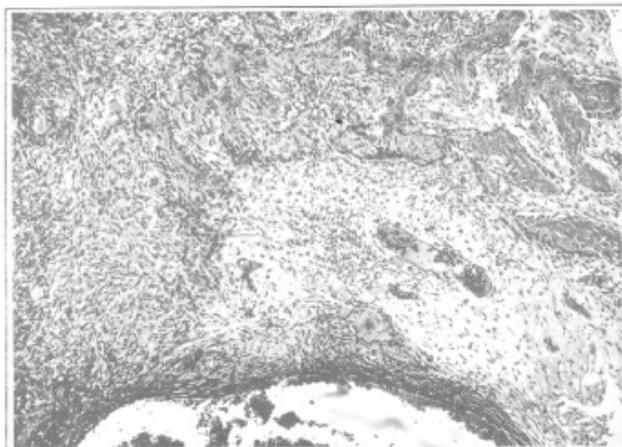


FIGURA 3 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Gutapercha, demonstrando tecido conjuntivo com elevado número de macrófagos e fibroblastos, dispostos paralelamente à superfície do material. Ee pequenas trabéculas ósseas neoformadas em direção à margem gengival (15 dias). H. E. 63x

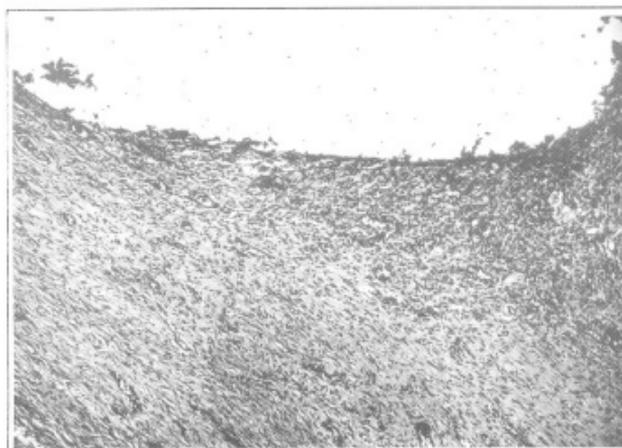


FIGURA 4 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Hapset^R, demonstrando ausência de neoformação óssea junto ao terço apical (15 dias). H. E. 63x

desenvolvidas (Figura 7).

Hapset^R (30 dias)

Junto ao material observa-se, em todos os casos, tecido conjuntivo pouco diferenciado exibindo moderado número de linfócitos e macrófagos. Próximo a estas áreas, nota-se a presença de tecido ósseo neoformado bem diferenciado, principalmente junto ao "fundus" alveolar. (Figura 8).

Nas demais áreas notam-se trabéculas ósseas espessas e bem definidas junto ao terço médio, com excessão de pequenas áreas. Ao nível de terço cervical, a neoformação óssea é menor, ocupando aproximadamente 70% da área considerada.

DISCUSSÃO

Para avaliar a compatibilidade deste material foi proposto, como modelo experimental, o alvéolo dental de ratos, por se tratar de local de ossificação, onde se conhece perfeitamente a sucessão de fenômenos biológicos que compreendem seu processo de reparo. A metodologia proposta associou um recurso amplamente divulgado e aceito como protocolo para testes de compatibilidade biológica em tecido subcutâneo, os tubos de polietileno^{1,12,47}. Estes tubos, servindo como matriz para o implante, proporcionaram a padronização da quantidade de material empregado e permitiriam um controle no próprio animal, através da possibilidade de análise de dois materiais diferentes, um em cada uma de suas extremidades. A observação de desenvolvimento normal do reparo alveolar, notadamente nas paredes alveolares do terço médio, parece indicar sucesso na tentativa de eliminar o fator de trauma mecânico exercido pelo material de implante sobre as paredes alveolares.

Há de se destacar o atraso no processo de reparo alveolar verificado neste trabalho, desde os períodos iniciais,

pouco diferenciado junto ao material. Logo acima dessa região, evidencia-se a presença de trabéculas ósseas bem

quando comparado ao trabalho realizado em, em alvéolos normais³³. Deve-se considerar, nesta análise, não somente

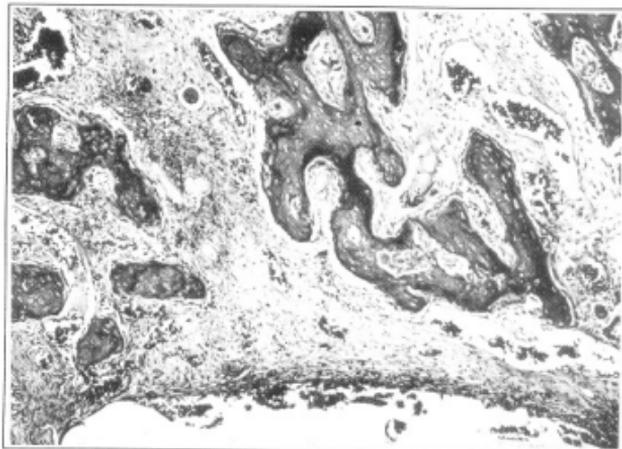


FIGURA 5 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Gutapercha, demonstrando pequenas trabéculas ósseas neoformadas junto ao material (21 dias). H. E. 63x



FIGURA 6 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Hapset[®], demonstrando finas trabéculas ósseas neoformadas, evidenciando fina atividade osteoblástica junto ao "fundus" alveolar (21 dias). H. E. 63x

achado comum quando realizados implantes intra-alveolares devido ao potencial irritante destes materiais ^{30, 31, 34, 38, 39, 40, 41, 42, 48,}

Quanto aos resultados obtidos analisando a compatibilidade biológica dos materiais colocados nas extremidades do tubo, constatou-se um comportamento menos irritante da gutapercha. Conforme outros trabalhos desenvolvidos por HOLLAND et al.²⁵ (1973) e MAHER et al.²⁸ (1992), verificou-se tratar-se de material que induz leve reação inflamatória, de curta duração, sendo posteriormente encapsulado. Estes resultados encorajam a utilização da gutapercha como material de controle, por ser este um material mais inerte, que possibilita uma análise controle no mesmo animal.

Com relação a extremidade do tubo onde praticou-se a inserção de Hapset[®], verificou-se uma resposta inflamatória mais intensa, desde os períodos iniciais, onde se observou maior faixa de tecido conjuntivo com importante infiltrado inflamatório, contíguo ao material. Houve considerado atraso na organização dos tecidos próximo ao Hapset[®], com persistência do infiltrado e atraso na formação do trabeculado ósseo. No último período de controle, o reparo alveolar junto à região cervical encontra-se praticamente completo, com trabéculas ósseas bem formadas nas porções de crista alveolar. Próximo à gutapercha, envolvida por fina cápsula fibrosa não infiltrada, são evidentes pequenas trabéculas neoformadas. Já no terço apical, especialmente junto ao material Hapset, ainda persiste uma faixa de tecido conjuntivo pouco diferenciado com moderado número de linfócitos e macrófagos. O tecido ósseo neoformado restringe-se ao "fundus" alveolar, guardando uma distância considerável da extremidade do tubo, quando comparado

ao terço cervical.

O comportamento biológico do Hapset[®], quando se analisa somente um de seus componentes, a HA, é

o fator irritante do tubo de polietileno, mas também, e principalmente, o efeito irritante dos materiais inseridos em suas extremidades. Atraso na reparação alveolar é

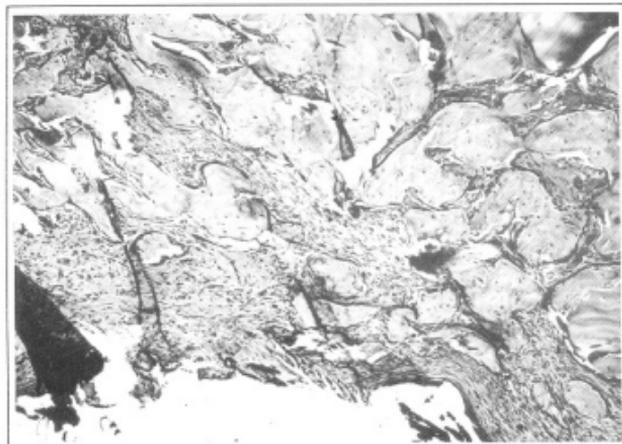


FIGURA 7 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Gutapercha, demonstrando trabéculas ósseas isoladas e tecido conjuntivo pouco diferenciado junto ao material e trabéculas ósseas bem desenvolvidas mais a nível cervical (30 dias). H. E. 63x

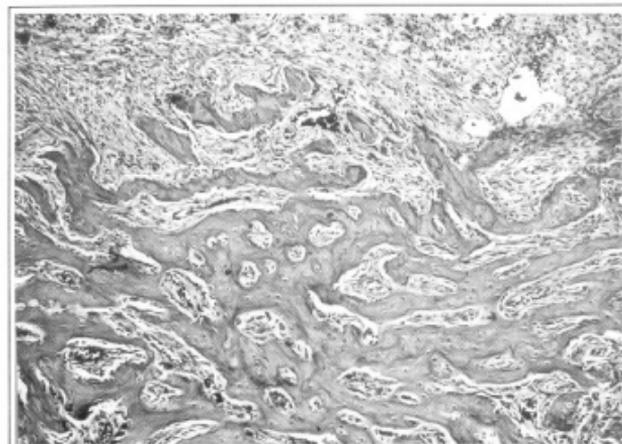


FIGURA 8 - Aspecto histológico na extremidade do tubo contendo Hapset^R, demonstrando tecido ósseo neoformado bem diferenciado junto ao "fundus" alveolar (30 dias). H. E. 63x

biocompatível e inerte aos tecidos^{5, 17, 24, 25, 26, 30}. Pode-se pressupor que tal diferença possa estar relacionada ao veículo utilizado, ou seja, ao sulfato de cálcio.

O SC foi inicialmente preconizado e difundido, na forma de gesso paris^{2, 3, 4, 8, 9, 37, 43}, constituindo-se material rapidamente absorvido pelos tecidos, pouco irritante, sem ter, contudo, características osteoindutoras, sendo por isso abandonado. Posteriormente, na busca de materiais que se comportassem como veículos de Hidroxiapatita, sua utilização foi novamente preconizada, em forma mais pura e porosa^{17, 18, 19}.

Porém, os resultados obtidos por FRAME^{17, 18} (1975 e 1980) e FRAME et al.¹⁹ (1987) com este composto não foram confirmados neste trabalho, uma vez que se observou uma irritação local importante, que não permitiu a organização de tecido conjuntivo próximo ao material, até nas fases mais tardias de observação. Do mesmo modo, também não se observou, no presente estudo, qualquer indicio de absorção do material até o período de 30 dias. Há de se ressaltar, ainda, que Hapset^R foi implantado depois de sua presa, não estando presente os fatores relacionados a reação exotérmica de presa que teriam, também, algum potencial irritante. Esses resultados estão próximos dos obtidos por VICTOR et al.⁴⁸ (1975) que observou intensa resposta inflamatória em alvéolos onde se praticou implante de gesso paris, com extensas reabsorções ósseas alveolares, absorção parcial do material e sua expulsão. Apesar de verificada reação menos intensa, deve-se enfatizar que a quantidade de material implantado foi bem menor e o problema do trauma mecânico do material contra as paredes alveolares, foi, pelo menos em parte, amenizado com a utilização de tubos de polietileno.

Pode-se depreender que este composto, utilizado no presente trabalho, não atingiu os resultados observados nos trabalhos anteriormente discutidos. Há de se realizar novos experimentos onde o material deve ser

surpreendente. Principalmente se observados todos os estudos já realizados com este composto durante décadas que o consagraram como material osteocondutor,

testado em outras regiões e situações, para obtenção de maiores informações. A utilização de implantes na cavidade bucal, como comentam SAAD NETO et al.³⁸ (1987), especificamente em alvéolos dentais, pode determinar resultados histológicos e clínicos diferentes daqueles relatados em outras áreas do organismo.

Esses resultados, expressivos no sentido de indicar uma ação mais irritante do material Hapset^R reforçam a validade da metodologia, uma vez que pôde-se verificar dois tipos diferentes de resposta biológica em cada extremidade do tubo. Principalmente, ao se considerar que os piores resultados, a nível de reparação, foram observados na região apical, onde sabe-se que o processo de reparo é mais dinâmico.

CONCLUSÕES

Após análise dos resultados é possível concluir que:

- Hapset^R mostrou-se irritante aos tecidos, quando implantado em feridas de extração dental, promovendo atraso na reparação alveolar.

- a metodologia empregada atingiu seus objetivos, ou seja, uma análise comparativa da resposta biológica frente a materiais implantados em feridas de extração dental, através de tubos de polietileno.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Clovis Marzola, pela cessão do material utilizado nesta pesquisa.

ABSTRACT

The authors made a study about biocompatibility of Hapset^R implants (hydroxyapatite and Calcium Sulphate) in dental extraction wounds. For this purpose, a methodology with polyethylene tubes implanted in dental sockets of rats after extractions was used. They were surgically implanted with their ends closed with Hapset^R and Gutta-perch. The tubes were left implanted for a period of 7, 15, 21 and 30 days, following the animals were killed and the implants, together with surrounding tissue, were excised, processed and submitted to histological analysis. The results showed more severe reaction in tissues around the Hapset^R end of tube, with more irritative characteristics than the gutta-perch. The methodology used in this research appears to promote a good comparative analysis of these two materials.

UNITERMS: Calcium sulfate; Hydroxyapatite; Alveolar process.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AGUIAR, S. A. et al. Implante de composto para obturações retrógradas em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Estudo histológico. *Rev. Ass. paul. Cirurg. Dent.*, v. 35, n. 6, p. 470-84, nov./dez. 1981.
- 2- ALDERMAN, N. E. Sterile plaster of paris as an implant in the infrabony environment: a preliminary study. *J. Periodont.*, v. 40, p. 11-3, Jan. 1969.
- 3- BAHN, S. L. Plaster: a bone substitute. *Oral Surg.*, v. 21, n. 5, p. 672-81, May 1966.
- 4- BELL, W. H. Resorption characteristics of bone and bone substitutes. *Oral Surg.*, v. 17, n. 5, p. 650-57, May 1964.
- 5- BELL, R.; BEIRNE, O. R. Effect of hydroxylapatite, tricalcium phosphate, and collagen on the healing of defects in the rat mandible. *J. oral Maxillofac. Surg.*, v. 46, n. 7, p. 589-94, July 1988.
- 6- BLIJNDORP, P. A. et al. The hydroxylapatite-bone interface. Studies on a human biopsy. *Int. J. oral Maxillofac. Surg.*, v. 17, n. 6, p. 354-7, Dec. 1988.
- 7- BLOCK, M. S.; KENT, J. N. Long-term radiographic evaluation of hydroxylapatite-augmented mandibular alveolar ridges. *J. oral Maxillofac. Surg.*, v. 42, n. 12, p. 793-6, Dec. 1984.
- 8- CALHOUN, N. R. et al. Plaster: a bone substitute in the mandible of dogs. *J. dent. Res.*, v. 44, n. 5, p. 940-6, Oct. 1965.
- 9- CALHOUN, N. R. et al. Effects of plaster of paris implants in surgical defects of mandibular alveolar processes of dogs. *J. oral Surg.*, v. 25, n. 2, p. 122-8, Mar. 1967.
- 10- CARVALHO, A. C. P.; OKAMOTO, T. Implantes intra-alveolares. Considerações sobre estudos experimentais. *Rev. Ass. paul. Cirurg. Dent.*, v. 32, n. 4, p. 273-9, July 1978.
- 11- CASTRO, A. L. et al. "Synthetic bone" implants following tooth extractions. A histological study in rats. *Bull. Tokyo dent. Coll.*, v. 11, n. 4, p. 193-9, Nov. 1970.
- 12- COUNCIL ON DENTAL MATERIALS AND DEVICES. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *J. Amer. dent. Ass.*, v. 84, n. 2, p.382-7, Fev. 1972.
- 13- CRANIN, A. N. et al. Hydroxyapatite (H/A) particulate versus cones as post-extraction implants in humans. Parts I & II. *J. biomed. Mater. Res.*, v. 22, n. 12, p. 1165-80, Dec. 1988.

- 14- DENNISSEN, H. W., KALK, W. Preventive implantations. **Int. Dent. J.**, v. 41, n. 1, p. 17-24, Fev.1991.
- 15- EL DEEB, M. E. et al. Porous hydroxyapatite granules and blocks as alveolar ridge augmentation materials: a preliminary report. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 46, n. 11, p. 955-70, Nov. 1988.
- 16- EL DEEB, M. et al. Long term follow-up of the use of nonporous hydroxyapatite for augmentation of the alveolar ridge. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 49, n. 3, p. 257-61, Mar. 1991.
- 17- FRAME, J. W. Porous calcium sulphate dihydrate as a biodegradable implant in bone. **J. Dent.**, v. 3, n. 4, p. 177-87, July 1975.
- 18- FRAME, J. W. A composite of porous calcium sulphate dihydrate and cyanoacrylate as a substitute for autogenous bone. **J. oral Surg.**, v. 38, n.4, p. 251-6, Apr. 1980.
- 19- FRAME, J. W. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. **Int. J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 16, n. 6, p. 642-55, Dec. 1987.
- 20- FRAME, J. W.; LAIRD, W. R. E. Management of the mobile fibrous ridge in the atrophic maxilla using porous hydroxyapatite blocks: a preliminary report. **Brit. dent. J.**, v. 162, n. 4, p. 185-9, Mar. 1987.
- 21- FRAME, J. W. et al. Ridge augmentation using solid and porous hydroxylapatite particles with and without autogenous bone or plaster. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 45, n. 9, p. 771-7, Sept. 1987.
- 22- GONGLÖFF, R. K.; MONTGOMERY, C. K. Experimental study of the use of collagen tubes for implantation of particulate hydroxylapatite. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 43, n. 11, p. 845-9, Nov. 1985.
- 23- HOLLAND, R. et al. Resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 2, n. 2, p. 217-25, 1973.
- 24- HOLMES, R. E.; ROSER, S. M. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in alveolar ridge augmentation: a histometric study. **Int. J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 16, n. 6, p. 718-28, Dec. 1987.
- 25- HORSWELL, B. B.; EL DEEB, M. Nonporous hydroxylapatite in the repair of alveolar clefts in a primate model: clinical and histologic findings. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 47, n. 9, p. 946-52, Sept. 1989.
- 26- JARCHO, M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications. **Dent. Clin. N. Amer.**, v. 30, n. 1, p. 25-47, Jan. 1986.
- 27- KENT, J. N. et al. Hydroxylapatite alveolar ridge reconstruction: clinical experiences, complications, and technical modifications. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 44, n. 1, p. 37-49, Jan. 1986.
- 28- MAHER, W. P. et al. Biocompatibility of retrograde filling materials in the ferret canine. **Oral Surg.**, v. 73, n. 6, p. 738-45, June 1992.
- 29- MEHLISCH, D. R. Collagen/hydroxylapatite implant for augmenting deficient alveolar ridges: a 24-month clinical and histologic summary. **Oral Surg.**, v. 68, n. 4, p. 505-16, Oct. 1989.
- 30- MISIEK, D. J. et al. Soft tissue response to hydroxylapatite particles of different shapes. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 42, n. 3, p. 150-60, Mar. 1984.
- 31- MORSE, A. Formic acid-sodium citrate descalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. **J. dent. Res.**, v. 24, n. 3/4, p. 143, June/Aug. 1945.
- 32- NAGASE, M. et al. Radiographic and microscopic evaluation of superperiosteally implanted blocks of hydroxylapatite-gelatin mixture in rabbits. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 47, n. 6, p. 40-5, June 1989.
- 33- OKAMOTO, T.; RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 2, n. 2, p. 153-69, 1973.
- 34- OKAMOTO, T. et al. Implante de boplant em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 3, n. 1, p. 13-21, 1974.
- 35- OLSSON, B. et al. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. **J. Endod.**, v. 7, n. 8, p. 355-67, Aug. 1981.
- 36- PAGE, D. G.; LASKIN, D. M. Tissue response at the bone-implant interface in a hydroxylapatite augmented mandibular ridge. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 45, n. 4, p. 356-8, Apr. 1987.
- 37- RADENTZ, W. H.; COLLINGS, C. K. The implantation of plaster of paris in the alveolar process of the dog. **J. Periodont.**, v. 36, n. 5, p. 357-64, Oct. 1965.
- 38- SAAD-NETO, M. et al. Indicações clínicas e perspectivas futuras de substâncias e materiais empregados no alvéolo dental. **Rev. Ass. paul. cirurg. dent. Reg. Araçatuba**, v. 8, n. 1, p. 5-10, 1987.
- 39- SAAD-NETO, M. et al. Proplast implantation into rat dental sockets. **Rev. Odont. UNESP**, v. 8/9, p. 27-33, 1979/80.
- 40- SANCHES, M. G. et al. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de "osso anorgânico". Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 1, n. 1, p. 83-90, 1972.
- 41- SANCHES, M. G. et al. Silicone implantation into dental sockets. Histological study in rats. **J. Nihon Univ. Sch. Dent.**, v. 24, n. 4, p. 218-26, Dec. 1982.

- 42- SANCHES, M. G. et al. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de "cera óssea". Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 5, n. 1/2, p. 31-9, 1976.
- 43- SHAFFER, C. D.; APP, G. R. The use of plaster of paris in treating infrabony periodontal defects in humans. **J. Periodont.**, v. 42, n. 11, p. 685-90, Nov. 1971.
- 44- SHEN, K.; GONGLOFF, R. K. Collagen tube containers: an effective means of controlling particulate hydroxyapatite implants. **J. prosth. Dent.**, v. 56, n. 1, p. 65-70, July 1986.
- 45- SHERER, A. D. et al. Evaluation of implanted durapatite particles in fresh extraction sockets to maintain the alveolar ridge in beagle dogs. **J. prosth. Dent.**, v. 57, n. 3, p. 331-7, Mar. 1987.
- 46- SILVERBERG, M. et al. Use of polyglycolic acid mesh to confine particulate hydroxylapatite for augmentation of bone in the rat. **J. oral Maxillofac. Surg.**, v. 44, n. 11, p. 877-86, Nov. 1986.
- 47- TORNECK, C. D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part I. **Oral Surg.**, v. 21, n. 3, p. 379-87, Mar. 1966.
- 48- VICTOR, J. O. et al. Implante de gesso de paris em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v. 4, n. 1, p. 71-9, 1975.