

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Antonio Fernando Alves de Moraes

**REAÇÕES ÓSSEAS FRENTE AO ENXERTO DE OSSO
BOVINO ASSOCIADO A SULFATO DE CÁLCIO**

São Paulo

2003

Antonio Fernando Alves de Moraes

**REAÇÕES ÓSSEAS FRENTE AO ENXERTO DE OSSO
BOVINO ASSOCIADO A SULFATO DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada à Universidade de Santo Amaro, para obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Implantodontia, sob a orientação do Prof. Dr. Ilan Weinfeld.

São Paulo

2003

**Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca Dr. Milton Soldani Afonso – Campus I**

M818e Moraes, Antonio Fernando Alves de
Reações ósseas frente ao enxerto de osso bovino
associado a sulfato de cálcio./ Antonio Fernando
Alves de Moraes: Orientação do
Prof. Dr. Ilan Weinfeld. - - São Paulo: 2003.
69p.

Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em
Implantodontia. Faculdade de Odontologia da Universidade
de Santo Amaro.

1. Implantes Osseointegrados 2. Enxerto Ósseo
3. Sulfato de Cálcio I. Título.

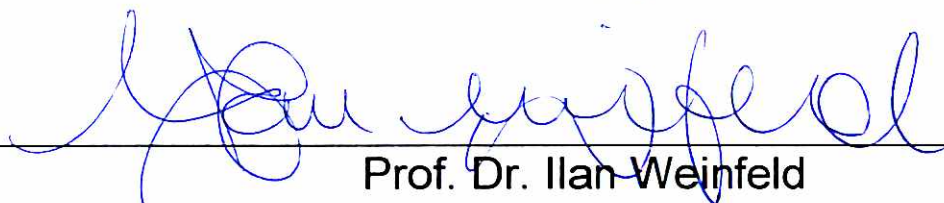
Antonio Fernando Alves de Moraes

REAÇÕES ÓSSEAS FRENTE AO ENXERTO DE OSSO BOVINO ASSOCIADO A SULFATO DE CÁLCIO

Dissertação apresentada à Universidade de Santo Amaro, para obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Implantodontia.

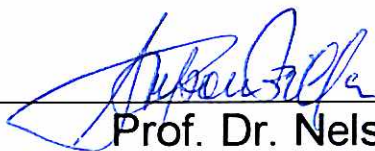
Aprovada em 26 / 05 / 2003

Banca Examinadora



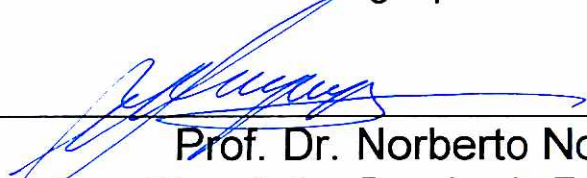
Prof. Dr. Ilan Weinfeld

Doutor em Diagnóstico Bucal pela Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo



Prof. Dr. Nelson Villa

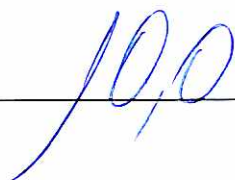
Prof. Titular em Histologia pela Universidade de Santo Amaro



Prof. Dr. Norberto Nobuo Sugaya

Doutor em Diagnóstico Bucal pela Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo

Média Final de Aprovação: _____



DEDICATÓRIA

A Deus, obrigado por ter me conduzido à esta Universidade de Santo Amaro, onde pude encontrar a oportunidade de fazer este curso de mestrado e por ter me dado saúde, energia e muita vontade de um dia torna-me um verdadeiro Mestre.

A minha competente e maravilhosa esposa,

Rosemary Aquen de Moraes (Rose), obrigado por tudo e que Deus continue sempre te iluminando, protegendo e coroando por sua imensa competência profissional.

Aos meus filhos:

Antonio Fernando Alves Moraes Júnior (Didi), que Deus consiga te mostrar o caminho de sua vida;

Ana Flávia Aquen de Moraes (Naná), que Deus te conserve sempre essa pessoa espiritualmente maravilhosa e que você se torne uma grande profissional.

Ao meu amigão Artur Felipe Aquen de Moraes (Tutu), que Deus te preserve sempre assim, uma pessoa alegre, prestativa, carinhosa e com muita luz em sua vida.

O meu muito obrigado pela compreensão, paciência e ajuda que vocês me deram. Sou o maior fã de vocês e amarei a todos por toda a minha vida.

Os animais do biotério, cuja vida foi tirada em prol do crescimento de novos rumos das ciências biológicas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ilan Weinfeld

Meu Orientador, muito obrigado, pela sua paciência, sinceridade, honestidade, dignidade e especialmente, pela sua competência e conhecimento indiscutível, do modo que você me orientou na elaboração deste trabalho, mostrando-se sempre interessado em que tudo ficasse o mais correto possível.

Obrigado, Ilan, pelo exemplo de profissional, professor e de pessoa humana que você sempre foi, que o Grande Arquiteto do Universo dê os melhores caminhos para que você continue alcançando os seus objetivos e obtendo grandes conquistas em sua vida. Obrigado meu amigo.

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk e à todos os integrantes da sua equipe de Implantodontia da Pós-Graduação pela vossa dedicação, carinho, orientação e competência.

Ao Prof. Dr. Nelson Villa, obrigado por confiar em mim, incentivando, aconselhando e servindo de exemplo a ser seguido.

Ao Prof. Dr. G.C. Genofre Netto, por sua atenção e incentivo.

Ao Prof. Dr. Alfredo Gromatzky por sua simplicidade, competência, carinho e pelo seu profissionalismo.

A Prof. Dra. Leoni Villano Bonamin pela contribuição na leitura das lâminas.

Ao Prof. Dr. Ângelo Sementilli pela sua humildade, simplicidade e gentileza por fotografar as lâminas.

Ao Prof. e amigo Edson Luiz Pelúcio Camara por sua amizade, conhecimento e pela ajuda na informatização.

A bibliotecária Luciana Cristina Costa pela atenção, ajuda na obtenção dos artigos, por se preocupar em que tudo corra bem e por último, parabenizá-la por ser uma brilhante funcionária desta Instituição de Ensino.

As secretárias Sabina Lopes Moraes, Elaine Magalhães e Juliana Selma Oliveira, por toda ajuda quando solicitadas, sempre demonstrando muita atenção, interesse, gentileza e carinho para comigo.

A jovem Gislene Ferreira Pinheiro por sua enorme ajuda na informatização deste trabalho, pela paciência que teve comigo e pela sua honestidade.

Aos funcionários da UNITOX (Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas), em especial, Andre Carvalho Leite e mais Vilma Felix dos Santos, Vera Lúcia Silva Santos, Claudemir Duran Filho, Josafá dos Santos Reis, Carlos Alberto dos Santos, agradeço muito por tudo que vocês me ajudaram, incentivaram e pelo carinho que sempre me trataram.

A todos os funcionários do Setor de Multimeios que durante todo o curso, sempre estiverem presentes, demonstrando muita vontade em ajudar.

Aos meus colegas do curso, obrigado, pelo companheirismo e pela alegria de ter ganho mais 17 novos amigos.

“Viver sem servir,
para mim não é viver”.

Irmã Dulce

RESUMO

Trabalho anterior de Weinfeld; Magalhães; Villa (1994) apresentou um material de enxerto (Biobone) a base de osso bovino, que demonstrou histologicamente, acelerar o processo de reparação óssea. Com a adição de sulfato de cálcio ao produto e a inexistência de estudo das reações ósseas por ele desencadeadas, propusemo-nos a tal. Assim, o material foi enxertado em cavidades realizadas em tíbia de ratos, tendo como controle cavidades que não receberam nenhum material. Os animais foram sacrificados após o período de 7, 14, 21, 30, 45, 60 e 90 dias e o material processado e corado pela técnica de H.E.. Foi possível verificar que o material desencadeou leve processo inflamatório que regrediu mais precocemente, se comparado ao controle o mesmo ocorrendo com as reações responsáveis pela neoformação óssea. Pudemos concluir que o uso da substância promove um pronto restabelecimento da área afetada em períodos anteriores, se comparada a não utilização de qualquer tipo de material, o que indica o uso com segurança e efetividade.

Palavras-chave: Implantes Osseointegrados, Enxerto Ósseo, Sulfato de Cálcio.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Forma de apresentação do material de enxerto constituído de osso bovino associado a sulfato de cálcio	42
Figura 02 – Aspecto granular da enxertia à base de sulfato de cálcio	43
Figura 03 – Tíbia exposta pronta para confecção da canaleta	44
Figura 04 – Confecção da canaleta na tíbia do animal	44
Figura 05 – Inserção do material de enxerto na tíbia esquerda do animal	45
Figura 06 – Grupo experimental com sete dias de evolução. Tecido ósseo neoformado (H.E., 400x)	47
Figura 07 – Reações ósseas observadas aos sete dias nos grupos experimental e controle	48
Figura 08 – Grupo experimental com 14 dias de evolução. A zona lesada está preenchida por tecido ósseo trabecular com tecido hematopoiético (H.E., 100x)	48
Figura 09 – Reações ósseas observadas aos 14 dias nos grupos experimental e controle	49
Figura 10 – Grupo experimental com 21 dias de evolução. Verifica-se o limite do tecido ósseo neoformado e o tecido hematopoiético entremeando-se na região (H.E., 100x)	49
Figura 11 – Reações ósseas observadas aos 21 dias nos grupos experimental e controle	50
Figura 12 – Grupo experimental com 30 dias de evolução. Tecido ósseo com padrão trabecular e compacto (H.E., 400x)	50

Figura 13 – Reações ósseas observadas aos 30 dias nos grupos experimental e controle	51
Figura 14 – Grupo controle com 45 dias de evolução. Formação de tecido ósseo compacto (H.E., 400x)	51
Figura 15 – Grupo experimental com 45 dias de evolução. Tecido ósseo compacto (H.E., 400x)	52
Figura 16 – Reações ósseas observadas aos 45 dias nos grupos experimental e controle	52
Figura 17 – Grupo experimental com 60 dias de evolução. Tecido ósseo compacto (H.E., 400x)	53
Figura 18 – Reações ósseas observadas aos 60 dias nos grupos experimental e controle	53
Figura 19 – Grupo experimental com 90 dias de evolução. Tecido ósseo compacto (H.E., 400x)	54
Figura 20 – Reações ósseas observadas aos 90 dias nos grupos experimental e controle	54
Figura 21 – Análise geral das reações ósseas observadas nos diferentes períodos (grupo experimental)	55
Figura 22 – Análise geral das reações ósseas observadas nos diferentes períodos (grupo controle)	55

LISTA DE TABELAS

Tabela I – Reações ósseas observadas após o enxerto de osso bovino associado a sulfato de cálcio em lesão confeccionada na tíbia de ratos (Grupo Experimental)	56
Tabela II – Reações ósseas observadas após confecção de lesão na tíbia de ratos (Grupo Controle)	56
Tabela III – Reações ósseas observadas após o enxerto de osso bovino associado a sulfato de cálcio em lesão confeccionada na tíbia de ratos (Grupos Experimental e Controle)	57

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - por cento.

°C – grau Celsius.

°F – grau Fahrenheit.

BMP – proteína morfogenética óssea.

CaSO₄ – sulfato de cálcio.

CaSO₄. 2H₂O – sulfato de cálcio diidratado.

DFDB – osso desmineralizado congelado seco (liofilizado).

DFDBA – osso alógeno desmineralizado e desidratado.

e-PTFE – diferentes membrana expandida de politetrafluoretileno.

HA – diferentes hidroxiapatita.

H.E. – hematoxilina / eosina.

Kg – quilograma.

L₃ – terceira vértebra lombar.

mm – milímetro.

MRSA – aureus Staphylococcus metllicillin – resistentes.

pH – potencial hidrogeniônico.

PLA-PGA ou PLGA – ácido poliláctico – ácido poliglicólico.

PRP – plasma rico em plaquetas.

PTFE – membrana politetrafluoretileno.

PVP-1 – Povidine Degermante.

RTG – regeneração tecidual guiada.

UNITOX – Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	17
2. PROPOSIÇÃO	19
3. REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1. Osso bovino	21
3.2. Sulfato de Cálcio. Noções Gerais	23
3.2.1. Vantagens e desvantagens na utilização do sulfato de cálcio	25
3.2.2. Indicações e contra-indicações do uso de sulfato de cálcio.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. Material	42
4.2. Métodos	42
4.2.1. Preparo do Material de Enxerto	42
4.2.2. Preparo de Animais	43
4.2.3. Coleta do Material	45
4.2.4. Método Histológico	46
5. RESULTADOS	47
6. DISCUSSÃO	58
7. CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1 INTRODUÇÃO

Em se tratando de influência na formação ou na possibilidade de controlar a qualidade e a quantidade de osso, há de se destacar que os conhecimentos das ciências básicas, em especial da fisiologia óssea, promoveram um crescente desenvolvimento tecnológico dos materiais, ao mesmo tempo em que influenciaram o avanço dos métodos de sua utilização. Logo, chegou-se a substitutos funcionais para ossos, que nas mais diversas situações, propõem-se a controlar a perda óssea.

Deparamo-nos com perdas ósseas no campo da odontologia em inúmeros momentos, tais como: lesões císticas, neoplasias, alvéolos após exodontia, defeitos periodontais, rebordos edêntulos, defeitos em torno de implantes. Buscando a solução de tais problemas, a literatura aponta para a possibilidade de utilização de diversos materiais, sejam do próprio organismo, como o osso autógeno, ou artificiais, como a hidroxiapatita, polímeros e sulfato de cálcio, entre outros.

Os diferentes materiais apresentam as mais diversas aplicações, tendo, em geral, indicações precisas.

O osso autógeno talvez represente a melhor solução, todavia nem sempre aplicável. Logo, muitos clínicos têm procurado utilizar substitutos e dentre estes osso bovino parece ser amplamente utilizado.

Trabalho de Weinfeld; Magalhães; Villa (1994) apresentou um novo material biológico, denominado comercialmente de Biobone, composto de osso inorgânico bovino e colágeno desnaturado, que mostrou-se eficiente no processo de reparação óssea, acelerando-a. Ao mesmo tempo surgiram várias pesquisas apontando as propriedades e vantagens do uso de sulfato de cálcio, como sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e atuação no processo de reparação; a utilização deste material

de enxerto poderia, de alguma forma, melhorar o leito receptor.

A atuação de um material de enxerto a base de osso bovino já era, portanto reconhecida, porém mediante os elementos apresentados na literatura, que destacam algumas propriedades do sulfato de cálcio, adicionou-se o mesmo ao produto já existente (Biobone).

Tal fato motivou-nos a estudar as reações teciduais ósseas frente ao uso do material de enxertia, verificando a influência da adição de sulfato de cálcio.

2 PROPOSIÇÃO

A literatura aponta um grande número de materiais que poderiam atuar no processo de reparação óssea, favorecendo-a. Os trabalhos científicos vêm apontar suas vantagens e desvantagens, decorrendo deste fato a sua indicação.

Baseados em tais fatos, visamos o estudo histológico das reações ósseas frente a enxertos de um novo material, na forma granular, existente no mercado, a base de osso bovino acrescido de sulfato de cálcio, escolhendo para tal, ratos adultos (*rattus norvergicus*, var. *albinus*).

3 REVISÃO DA LITERATURA

Há muita controvérsia sobre o significado da utilização de diferentes materiais de enxerto, mas talvez caiba ao osso autógeno, o papel de material ideal; este, todavia, não está freqüentemente disponível na quantidade ou qualidade necessária para um grande procedimento de aumento ósseo. Deve-se levar também em consideração que muitos pacientes não estão preparados para permitir a coleta de osso da crista do íliaco, devido a morbidade resultante do procedimento. Tal fato abre espaço para a procura de uma alternativa sintética aceitável, que possa responder à necessidade de obtenção de tecido ósseo frente aos mais variados problemas (SCHER; DAY; SPEIGHT, 1999).

Inúmeros são os produtos sintéticos que podem contribuir à formação óssea como preenchedores de espaços vazios até como substâncias osteogênicas; são fornecidos em diferentes formas como pó, partículas, blocos ou gel, variando inclusive quanto ao tamanho e porosidades.

Segundo Garbin; Garbin (1994), os materiais substitutos de osso são classificados em:

1. autógenos ou autoplásticos – quando são obtidos do mesmo indivíduo; são eles os coágulos, os transplantes de osso medular, implante de osso íliaco e osso triturado;

2. alógenos ou aloenxertos – quando obtidos de um indivíduo da mesma espécie, mas de genótipo diferente; são os ossos desmineralizado congelado seco (DFDB – liofilizado) ou congelado seco desmineralizado e desidratado (DFDBA);

3. xenoenxertos – quando obtidos de espécies diferentes; são, por exemplo, ossos removidos de animais e colocados em seres humanos como o osso bovino.

4. aloplásticos – quando os materiais são confeccionados com substâncias inorgânicas ou materiais diferentes dos tecidos orgânicos do corpo, porém biocompatíveis; são exemplos a hidroxiapatita, o fosfato tricálcio e sulfato de cálcio, entre outros.

Em se tratando da junção osso/materiais, estes últimos são classificados em bioativos ou bioinertes. Os primeiros formam uma contínua e forte união na interface entre material e osso. Já a união dos bioinertes com o osso dependerá das propriedades físico-químicas dos materiais, que muitas vezes diferem uma das outras, resultando, por exemplo, na presença de tecido fibroso interposto entre o material e o osso do hospedeiro (GARBIN; GARBIN, 1994).

Trabalho de Bucholz (2002), destaca que o enxerto de osso sintético substitui atualmente 10% do mercado de enxertos ósseos, sendo mais freqüente o uso de hidroxiapatita, fosfato tricálcio e sulfato de cálcio, os quais podem ser utilizados individualmente ou em combinação com outro material.

3.1 OSSO BOVINO

Dentre os diferentes substitutos ósseos, o osso inorgânico bovino ou osso bovino reconstituído é um material de comprovada atuação no processo de reparação.

O osso bovino disponível comercialmente é processado até o produto natural, osso mineral, sem a porção orgânica, considerada potencialmente imunogênica.

Seu desenvolvimento surgiu exatamente da premissa de que um substituto ósseo ideal deveria manter sua estabilidade mecânica e volume durante as fases iniciais da reparação, para então ser completa e progressivamente reabsorvido e

substituído por tecido ósseo (WEINFELD; MAGALHÃES; VILLA, 1994; WEINFELD et al., 1999).

Embora o material apresente semelhança estrutural com as hidroxiapatitas sintéticas, tamanho de partículas e presença de macro ou microporos, sua composição à base de apatita, predominantemente composta por carbonato e grupos hidroxílicos reduzidos, os tornam materiais distintos (SPECTOR, 1994). Acrescenta-se que sua estrutura cristalina e a proporção de cálcio / fosfato se assemelham, consideravelmente, ao osso humano (COHEN et al., 1994; FURLANI, 2001).

Uma vantagem desse produto como substituto ósseo reside no fato de ser natural e fornecer componentes estruturais similares ao osso humano, incrementando a capacidade de osteocondução sobre os derivados minerais sintéticos.

São vários os produtos comerciais existentes à base de osso inorgânico bovino, contudo apresentam custo elevado. Portanto, se considerarmos a difícil situação econômica brasileira e a busca, especificamente, de materiais mais viáveis e que facilitem o acesso à toda população, seria interessante chegar ao desenvolvimento de um material nacional, que viesse eliminar este inconveniente. Portanto, Weinfeld; Magalhães; Villa (1994), apresentaram um material composto de osso inorgânico bovino e substância colágena (Biobone), que enxertado em cavidades realizadas em tíbia de ratos, mostrou promover um pronto restabelecimento da região. Comparativamente ao grupo controle onde confeccionou-se o defeito, porém não se aplicou o enxerto, a neoformação óssea ocorreu em períodos anteriores.

Logo, com o desenvolvimento de um produto nacional, reduzindo custos e

que, acima de tudo, mostrou efetividade no processo de reparação óssea, estaria disponível um material acessível com amplas indicações de modo a beneficiar tal momento.

3.2 SULFATO DE CÁLCIO. NOÇÕES GERAIS

Um dos primeiros documentos comprobatório da utilização do material, data do século X, na Arábia, quando sob forma de pasta, envolvia membros afetados (MOORE; GRAVES; BAIN, 2001).

Sulfato de cálcio, popularmente conhecido como gesso Paris, é fabricado partindo-se da pulverização da gipsita, que por sua vez é um sulfato de cálcio diidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). A gipsita se transforma em hemiidrato por uma calcinação a seco, em continentes abertos. Três quartas partes da água de cristalização são removidas, causando uma diminuição no volume real da matéria sólida remanescente (ANUSAVISE, 1998; EARNSHAW, 1981).

Embora a estrutura se altere, para formar o hemiidratado, não existe reorganização das próprias partículas; estas retêm a forma e o tamanho das partículas de gipsita original, sendo conseqüentemente irregulares e porosas.

O material é apresentado sob a forma de pó fino e branco e ao ser misturado com água em proporções convenientes, forma uma pasta que endurece, originando um bloco rígido.

Sulfato de cálcio de grau médico pode ser colocado num recipiente metálico e esterilizado numa temperatura de 325° F por 90 minutos; após tal período, deixa-se esfriar o material, que em seguida é acondicionado em pequenos frascos de vidro esterilizados (SOTTOSANTI, 1992a).

Deve-se a Dreesman no ano de 1892, o primeiro relato da utilização do gesso Paris para o preenchimento de defeitos ósseos, revisto por Peltier, em 1959, que traçou um quadro bastante positivo quanto ao uso do material; a tolerância do hospedeiro seria adequada, não existiria processo inflamatório, os osteoblastos, osteoclastos e células cartilaginosas funcionariam normalmente frente à sua presença, fatos portanto que encorajariam, totalmente, o seu uso. Dreesman; Peltier (1892; 1959 apud BIER; SINESNSKY, 1999, p. 655).

Frame (1975) preconizou o método de preparo do sulfato de cálcio diidratado, na forma de partículas porosas, com alto grau de pureza, com o qual obteve bons resultados, comprovados histologicamente, em implantes subcutâneos em ratos. Desta forma, o sulfato de cálcio poderia servir como veículo, ou seja, uma substância ou meio, que quando adicionado a outra substância propiciaria a formação de um composto de manipulação mais fácil e biocompatível, devido à rápida absorção (NARY FILHO; OKAMOTO, 1996).

Verifica-se, portanto que o material tem sido utilizado em defeitos ósseos ortopédicos e orais em animais e seres humanos por muitos anos, (SETYA; BISSADA, 1999), sendo empregado há mais de 25 anos na periodontia, onde destaca-se hoje a sua atuação como uma barreira biodegradável em regeneração tecidual guiada (MESIMERIS; SADE; BAER, 1995).

A biocompatibilidade, a biodegradabilidade e a segurança na resposta tecidual de cicatrização são propriedades básicas desejáveis de qualquer material e que são encontradas na utilização do sulfato de cálcio (BIER; SINENSKY, 1999; SOTTOSANTI, 1995); soma-se o fato de ser prontamente disponível, esterilizável e raramente provocar complicações pós-operatórias.

Todavia, segundo Setya; Bissada (1999), o sulfato de cálcio não possui

propriedades osteogênicas; ainda assim tem sido utilizado com sucesso como liga e preenchimento de espaços em enxertos compostos, bem como barreira reabsorvível, ou seja, limitando a invasão de tecidos indesejados na área de enxertia.

3.2.1 VANTAGENS E DESVANTAGENS NA UTILIZAÇÃO DO SULFATO DE CÁLCIO

Segundo Sottosanti (1995) as vantagens do sulfato de cálcio residem nas seguintes propriedades:

1. biocompatibilidade – não provoca aumento da intensidade do processo inflamatório;
2. biodegradabilidade – completamente reabsorvido em três a quatro semanas, portanto exclui a necessidade de cirurgia para sua remoção;
3. relativamente econômico;
4. fácil acesso no mercado;
5. não causa desconforto;
6. porosidade – permite troca de fluídos;
7. fácil esterilização – 148,89° C por 4 horas em calor seco;
8. aderência corono-radicular proporcionando estabilidade ao enxerto composto, frente a uma possível invasão tecidual e bacteriana;
9. densidade suficiente para excluir a invasão de tecido indesejado.

Trabalho de Mesimeris; Sade; Baer (1995) onde realizou-se cultivo de células (osteoblastos de sarcomas de ratos e de calvária) colocadas em contato com sulfato de cálcio, permitiu verificar que, após uma semana, as células experimentais de

cada uma das linhagens celulares não diferiam, em aparência ou intensidade de coloração, quando comparadas com o controle, comprovando assim mais uma vez a biocompatibilidade do sulfato de cálcio.

Anson (1996) acrescenta como vantagens a ausência de infecção, caso o material sofra exposição; a maleabilidade, podendo se adaptar às diferentes regiões; a possibilidade de múltiplos defeitos no mesmo quadrante, serem facilmente tratados; o fato do tecido mole poder crescer sobre o material e a possibilidade de aumentar o índice de mineralização do novo osso.

As desvantagens quanto ao uso, estão relacionadas ao fato de não possuir atividade na osteogênese (SOTTOSANTI, 1992a) e de ocorrer a sua reabsorção pelo organismo, antes da regeneração óssea (ANSON, 1996).

Setya; Bissada (1999), acrescentam que a resposta para enxerto de sulfato de cálcio, em áreas de furca, é menos favorável que aquela obtida com outros tipos de defeitos ósseos.

3.2.2 INDICAÇÕES E CONTRA-INDICAÇÕES DO USO DE SULFATO DE CÁLCIO

A utilização de sulfato de cálcio vem sendo indicada como:

- enxerto; tem sido usado para reter partículas de enxertia nos defeitos, acelerando a formação de novo osso.

Sabe-se que o tecido ósseo tem a capacidade de regeneração por si mesmo; isto ocorre por aposição de uma matriz óssea já existente ou a partir de qualquer material implantado que produza estímulo para a formação óssea por osteoindução (GARBIN; GARBIN, 1994).

Enxertos que podem induzir a formação óssea no local receptor são

osseoindutores, pois podem influenciar células não diferenciadas a formar osso (BECKER; BECKER, 1993). Portanto, a osteoindução implica em diferenciação e alterações celulares cujo comportamento do tecido envolvido está fora do esperado. Todos os enxertos ósseos mineralizados autógenos ou alógenos agem por osteoindução; funcionam como modelos ou matriz para a formação de um novo osso (GARBIN; GARBIN, 1994).

Sottosanti (1993a) relata que num enxerto composto, consistindo 80% de DFBA e 20% de sulfato de cálcio, o pó de sulfato de cálcio melhora as propriedades de manipulação do osso e da migração de suas partículas; também pode melhorar a atividade da proteína morfogenética óssea (BMP) disponível (SOTTOSANTI, 1993b). É possível interpretar por intermédio de radiografias recentes de pós-operatório, que é rápida a velocidade de mineralização do osso, quando se faz uso do enxerto composto.

- facilitador da manipulação de partículas de hidroxiapatita; estudando o efeito de sulfato de cálcio em cachorros, Frame (1987) demonstra que o material facilita a manipulação de partículas de hidroxiapatita durante a colocação para procedimentos de aumento de crista alveolar, reduzindo assim a migração precoce dessas partículas, o que representaria uma anulação da atividade do material.

- preenchedor reabsorvível de espaços; tem sido utilizado com sucesso como liga de preenchimento em enxertos compostos; é um material biocompatível, sendo completamente reabsorvível dentro de quatro a 10 semanas, dependendo da vascularidade do local enxertado (ANDREANA, 1998; SETYA; BISSADA, 1999).

Achados histológicos relatados por Peltier (1959 apud MESIMERIS; SADE; BAER, 1995, p. 16), decorrentes da inserção do gesso Paris em defeitos ósseos em cachorros, revelaram não apenas a ausência de células inflamatórias, mas também

a presença de osteoblastos, proliferando-se, células cartilaginosas e osteoclastos, demonstrando que o sulfato de cálcio é bem tolerado pelo hospedeiro; sua ação principal é ocupar ou preencher um espaço devido ao fato de ser uma mistura maleável. Frequentemente é usado muito diluído, com pH 7,55, o que lhe permite adaptar-se a qualquer espaço, formando uma camada sobre a enxertia que dificulta a proliferação de bactérias (MESIMERIS; SADE; BAER, 1995).

- barreira biodegradável; a ação do sulfato de cálcio se caracteriza como uma barreira biodegradável em regeneração tecidual guiada (RTG); pela sua maleabilidade o sulfato de cálcio age como meio para ganhar nova aderência.

- barreira celular; segundo Conner (1996), a colocação de sulfato de cálcio como uma barreira celular sobre enxertos compostos de DFBA/CaSO₄, parece ser um bom procedimento de RTG para situações de amputação radicular, associadas à destruição periodontal avançada. Melhoras clínicas após o uso de sulfato de cálcio como barreira para estimular a repopulação de células específicas da superfície radicular é parcialmente atribuída à habilidade do material de se infiltrar e se adaptar em anatomias radiculares côncavas ou irregulares.

Payne et al. (1996) relatam que nos dez últimos anos o desenvolvimento contínuo de técnicas de regeneração tecidual guiada revolucionou os conceitos quanto à perda óssea resultante de doença ou trauma. Os autores realizaram um estudo “in vitro”, com o propósito de determinar a habilidade dos fibroblastos gengivais humanos de migrarem ao longo de um gradiente quimiotático por três materiais diferentes de barreira de regeneração tecidual guiada, a saber: politetrafluoroetileno, ácido polilático e sulfato de cálcio estéril. A avaliação por exame de microscopia eletrônica de varredura indicou que o substrato de sulfato de cálcio facilita a aderência celular e a dispersão, enquanto que células em barreiras

de politetrafluoroetileno e ácido polilático exibem uma morfologia não conduzida à migração. Embora considerando a limitação do trabalho, os achados evidenciam, com o uso do sulfato de cálcio, um maior potencial para regeneração tecidual guiada em locais cirúrgicos onde o fechamento primário da ferida não pôde ser obtido.

Pecora et al. (1997a) destacam que a RTG é um procedimento usado para regenerar os aparatos de aderência perdidos pelos mais diferentes motivos. Sua aplicação em microcirurgia endodôntica, por exemplo, visa melhorar a qualidade e a quantidade da regeneração óssea na região periapical e acelerando a neoformação nas cavidades circunscritas decorrentes da intervenção.

Tais barreiras ou membranas são reabsorvidas por mecanismos mediados por enzimas ou células do hospedeiro, não sendo necessária uma segunda intervenção cirúrgica.

Ainda destacam, Pecora et al. (1997b) que o uso de sulfato de cálcio como barreira pode limitar a invasão de outro tecido, de acordo com o princípio da osteopromoção. Conforme definido por Linde et al. (1993) osteopromoção refere-se ao uso de métodos físicos de selar um espaço anatômico para então prevenir outros tecidos, especialmente o epitelial, de interferir na regeneração óssea. Agindo como uma barreira mecânica, os discos de sulfato de cálcio permitem que células ósseas preencham os defeitos ósseos.

Inúmeros são os estudos que aplicaram o conceito de regeneração tecidual guiada utilizando membranas como barreira para defeitos infra-ósseos, o que inclusive conferiu eficácia maior no emprego de materiais bioabsorvíveis (KIM et al., 1998).

O desenvolvimento contínuo das técnicas de regeneração tecidual guiada e implantes dentais revolucionou a periodontia, tendo inclusive permitido aos

profissionais, a obtenção de sucesso na retenção de dentes com lesões ósseas.

As membranas podem ser conceituadas como reabsorvíveis ou não reabsorvíveis. As não reabsorvíveis são confeccionadas com politetrafluoretileno (PTFE); quando apresentam porosidade recebem a denominação de membrana expandida (e-PTFE) ou em caso de superfície lisa e compacta, PTFE; tais membranas têm como função principal proteger e impedir a invasão de tecido epitelial dentro do defeito ósseo. Apresentam a desvantagem da necessidade de uma segunda intervenção cirúrgica para sua remoção, podendo ser acelerada nos casos de exposição e/ou infecção (PECORA et al., 1997a).

As reabsorvíveis, por sua vez, não necessitam de remoção cirúrgica. Segundo sua constituição podemos classificá-las em:

1. Colágenas: são aquelas obtidas do osso bovino purificado; são reabsorvidas pelo organismo em seis a sete semanas e possibilitam a incorporação de fatores de crescimento ósseo como o plasma rico em plaquetas.

2. PLA – PGA: são membranas constituídas de ácido polilático e ácido poliglicólico; são fibrosas e se caracterizam pela resistência na manutenção do espaço para os procedimentos regenerativos. Sua reabsorção acontece de duas a quatro semanas;

3. Polímero líquido sintético: sua composição é similar às estruturas de um polímero de ácido lático e o tempo de reabsorção pode ser controlado quimicamente, o que permite estar presente durante o período crítico da regeneração óssea;

4. Sulfato de cálcio (gesso Paris): é o componente de barreira composta, que pode ser colocado sobre o enxerto ósseo para estabilizar o coágulo; permite a migração de células e impede a penetração de tecido epitelial no defeito ósseo. O

período de reabsorção é de 30 dias e geralmente não apresenta reação inflamatória no local (FERNÁNDEZ BODERAU HIJO; MÉNDEZ; TORASSA, 2001).

Anson (1998), observou que na prática clínica, regeneração previsível se dá quando a infecção bacteriana é mantida a um nível mínimo e relata que a única barreira relacionada à habilidade celular migratória é o sulfato de cálcio.

Parece consenso entre os autores as várias possibilidades de combinação do sulfato de cálcio, ou seja, associá-lo a algo, obtendo resultados superiores quanto à reparação. Assim, fala-se em enxerto composto.

Damien et al. (1990) empregando o sulfato de cálcio combinado à hidroxiapatita em defeitos criados no crânio de coelhos, demonstrou resultados favoráveis quanto à osteocondução. O sulfato de cálcio facilitou a neoformação óssea, uma vez que, circunscrevendo as partículas de hidroxiapatita, permitiu que estas últimas fossem efetivas, desempenhando sua função.

Para evitar a formação de um defeito, Sottosanti (1993a), preencheu alvéolos pós-extração com um enxerto composto, que consistia de 80% de material de enxerto de osso alógeno desmineralizado e desidratado e 20% de sulfato de cálcio, protegido por uma barreira composta apenas por sulfato de cálcio; introduziu assim a técnica de enxerto combinado DFDBA e sulfato de cálcio e demonstrou que a associação poderia melhorar seu efeito indutor. O autor também comprovou que o material diminui a possibilidade de invasão, do local enxertado, por qualquer outro tecido.

Mesimeris; Sade; Baer (1995) apresentam evidências adicionais quanto à segurança e biocompatibilidade do sulfato de cálcio e descrevem a técnica que consideraram útil para o tratamento de lesões infra-ósseas, usando o material como uma barreira reabsorvível associado à hidroxiapatita e ao osso autógeno. A

combinação, portanto seria benéfica.

Anson (1996) aplicou em pacientes que apresentavam defeito de furca classe III e defeitos ósseos hemi-septo, uma técnica utilizando sulfato de cálcio de grau médico, em combinação ao DFDBA como enxerto composto e como barreira para RTG. Nas intervenções cirúrgicas a quantidade de sulfato de cálcio estéril adicionada ao DFDBA é determinada estimando-se 25% do volume de DFDBA. O preparo da área da enxertia requer hidratação com água estéril, soro fisiológico ou solução anestésica antes da colocação do enxerto composto. Prepara-se uma mistura de sulfato de cálcio estéril e hidratante líquido, que deverão ser mexidos por 30 a 60 segundos, para em seguida colocar sobre o enxerto composto formando uma barreira, que deve ter aproximadamente de 1,5 mm a 2,0 mm de espessura e extensão de 2 mm a 3 mm além das margens do defeito. Os resultados, comprovados radiograficamente 11 meses após a cirurgia, demonstraram preenchimento completo do defeito, observando que esta técnica oferece uma nova opção no tratamento de defeito periodontais.

Conner (1996) relata dois casos clínicos onde os fatores anatômicos não favoráveis, após amputação radicular, foram tratados com enxerto de osso alógeno desmineralizado e desidratado e uma barreira de sulfato de cálcio. A colocação de tal barreira sobre enxertos compostos de DFDBA/CaSO₄, em casos de destruição óssea de furca avançada, após remoção radicular, mostrou resultar em sucesso nos procedimentos de regeneração.

Pecora et al. (1997b) confeccionaram defeitos ósseos de 5 mm de extensão na região vestibular e lingual da mandíbula de ratos. Discos de sulfato de cálcio estéreis de grau médico pré-endurecidos foram aplicados para preencher os defeitos (lado teste); no lado controle os defeitos foram deixados sem preenchimento. Após o

período de três semanas todos os locais de teste apresentaram reparação óssea parcial ou total, indicando que barreiras de sulfato de cálcio podem excluir outros tecidos do local, permitindo uma adequada regeneração óssea, enquanto no lado controle, ocorreu invasão do defeito por tecido mole.

Também em casos de cirurgias parendodônticas as técnicas de barreira com membrana tem sido empregadas, visando a regeneração do tecido periapical. Pecora et al. (1997a) observaram que em casos onde o defeito ósseo é fino, tecido mole tende a invadir o local rapidamente, influenciando a regeneração do cemento, ligamento e osso. A utilização do sulfato de cálcio com regeneração tecidual guiada tem mostrado permitir regeneração mesmo na ausência de periósteo, pois juntamente com a sua ação de barreira, propicia a criação de um ambiente ideal para a completa reparação.

Estudos radiológicos comprovam que as aplicações clínicas do sulfato de cálcio em defeitos ósseos pós apicectomia melhoram as condições locais para o processo regenerativo.

Alhadainy et al. (1998) avaliaram clinicamente, radiograficamente e histologicamente a resposta do tecido frente a utilização de sulfato de cálcio e hidroxiapatita e verificaram que nas perfurações de furca os dois materiais apresentaram taxa de sucesso parecida.

Macneill et al. (1999) desenvolveram estudos comparativos entre os seguintes materiais sintéticos: hidroxiapatita, sulfato de cálcio e composto bioativo cerâmico para destacar a eficiência de cada material na formação óssea. O experimento consistia na enxertia destes materiais na tíbia de 10 coelhos machos. Após 28 dias, observaram, histologicamente, que todos os locais de enxerto apresentavam evidências de formação óssea, não tendo as análises estatísticas, histológicas e

radiológicas evidenciado diferenças significativas entre os materiais.

Setya; Bissada (1999) relatam o acompanhamento clínico de sete pacientes, sendo quatro homens e três mulheres com idades de 46 a 67 anos, com periodontite adulta, apresentando pelo menos dois molares com envolvimento de furca classe III. Nos locais experimentais foram feitos debridamento cirúrgico, seguido por enxertia da furca com material composto, constituído por osso alógeno demineralizado e desidratado e hclato de doxiciclina como solução de anestésico estéril. O sulfato de cálcio hemiidratado de grau médico estéril foi misturado com a solução anestésica formando uma pasta que foi colocada em camadas de 2 mm sobre o enxerto, apenas nos locais experimentais na área de furca. Os locais controle foram tratados apenas por debridamento cirúrgico. Aos 12 meses após a cirurgia quando os grupos controle e experimental foram comparados em relação às medições clínicas, incluindo índices de placa, gengival, sangramento, profundidade vertical de sondagem e mobilidade dental, verificou-se que o enxerto com barreira produziu preenchimento vertical e volumétrico do defeito significativamente maior que no grupo controle. Foi possível concluir que a adição de um enxerto composto, recoberto por barreira reabsorvível de sulfato de cálcio, ao debridamento cirúrgico, deve ter efeito clínico favorável no tratamento de lesões de furca III.

Bier; Sinensky (1999) fizeram várias observações, demonstrando as variações técnicas e as modificações no uso de sulfato de cálcio num período de 25 anos. Os casos clínicos relatados enfatizam a versatilidade do material na resolução, até mesmo, dos mais complexos problemas periodontais. O sulfato de cálcio poderia funcionar como um preenchedor de espaço, barreira reabsorvível e também como veículo para terapia antibiótica local; neste último caso serviria para liberar lentamente medicamentos compatíveis com os princípios da regeneração tecidual

guiada.

Pecora et al. (2000) verificaram em pacientes submetidos a cirurgias periapicais com uso de sulfato de cálcio, em camadas, na região, a cura completa em 70% destes, comprovada radiograficamente. O sulfato de cálcio demonstrou ter grande potencialidade de osteoindução e capacidade de atuar como barreira.

A literatura ilustra o fato de que o sulfato de cálcio vem sendo pesquisado há muito tempo, não somente como veículo de partículas, propiciando a formação de um composto de manipulação fácil (NARY FILHO; OKAMOTO, 1996).

Camargo et al. (2000) demonstram a efetividade de ação da combinação de material bioativo e sulfato de cálcio na preservação dos processos alveolares depois de extrações dentárias; tal associação facilitaria a colocação de futuros implantes, influenciando, inclusive, a qualidade da estética final.

Al Ruhaimi (2001b) fazendo uso de sulfato de cálcio em mandíbula de coelhos, constatou acelerado processo de neoformação óssea, evidenciando também a precocidade do efeito de reabsorção do sulfato de cálcio em cirurgia de extração dentária.

No mesmo ano Al Ruhaimi (2001a) avaliou o uso do sulfato de cálcio com e sem enxerto de osso em defeitos palatais em coelhos. As feridas dos animais com enxerto de DFDBA associado ao sulfato de cálcio curaram rapidamente, demonstrando mais uma vez a eficiência da utilização do produto num enxerto composto.

Clockie et al. (2002) embora tivessem constatado, radiograficamente e histologicamente, preenchimento de osso em locais de enxertia de discos de sulfato de cálcio na calvária de coelhos, encontraram tecido fibroso de intermeio em tais

regiões. Chamam-nos a atenção para o fato de que o osso alógeno é seguramente superior.

Kim et al. (2002) avaliaram o efeito do uso de partículas de gesso Paris com ou sem plasma rico em plaquetas (PRP) na neoformação de osso ao redor de implantes de titânio em cães. Três defeitos de osso circulares foram cirurgicamente preparados em cada um dos dez cães. Um implante foi colocado centralmente em cada defeito. Em cada cachorro os defeitos foram tratados da seguinte forma: (1) nenhum tratamento (controle); (2) enxertia com partículas de gesso Paris com PRP; (3) enxertia com partículas de gesso Paris sem PRP. A análise histológica mostrou que todos os defeitos de osso que cercam o implante e que foram tratados com partículas de gesso Paris, com ou sem PRP, apresentavam neoformação óssea de seis a 12 semanas após a cirurgia, enquanto que os defeitos não tratados (controle) apresentaram formação de novo osso apenas na porção inferior do implante. Histomorfometricamente, os resultados revelaram uma porcentagem mais alta de neoformação óssea com partículas de gesso Paris e PRP, comparando ao controle e partículas de gesso Paris sem PRP. Estes resultados sugerem a eficácia de partículas de gesso Paris no tratamento de defeitos ósseos ao redor de implantes, sendo que com associação de PRP o resultado pode ser melhorado.

Wong (2002) destaca uma importante indicação para o material. O autor relata caso clínico em mulher de 32 anos que apresentava um dente extra-numerário no palato e ausência do incisivo lateral. O procedimento escolhido foi a extração e reimplantação. Embora a literatura conhecida destaca as vantagens desta técnica, alguns cuidados se fazem necessários para o sucesso, tais como: limitação do tempo que o dente é exposto ao ambiente extra-oral e preservação dos tecidos peridentais vitais na superfície da raiz. Neste caso o incisivo lateral foi extraído do

palato e reimplantado com aplicação do sulfato de cálcio. O sulfato de cálcio agiu como barreira orientando a direção da neoformação óssea.

Além de indicações precisas na área odontológica, existem situações especiais em que o sulfato de cálcio mostra-se eficiente, até mesmo em outros campos da Ciência.

Nos EUA, em 1941, iniciou-se o enriquecimento do pão com cálcio, em quantidades equivalentes à sua perda durante o beneficiamento, ação que nos chegou somente nesses últimos anos (DAVIS, 1981).

Vannucchi et al. (1990) consideraram a falta de cálcio como problema nutricional presente em potencial no Brasil. A deficiência de cálcio pode acarretar osteoporose em adultos e problemas ósseos em crianças, causando raquitismo, caracterizado pelo crescimento anormal dos ossos e deformidades em suas extremidades.

Portanto, além das implicações médicas e odontológicas, Kajishima; Pumar; Germani (2001) desenvolveram trabalho que provou ser sulfato de cálcio um facilitador da ingestão de cálcio. Logo, para enriquecer o pão, alimento que é parte da alimentação básica de população, colocar-se-ia o produto misturado à massa do pão francês.

Hadjipavlou et al. (2000) realizaram trabalho com 30 ovelhas adultas com o objetivo de comparar o desempenho osteogênico do gesso Paris e osso autógeno implantados com pontes de L3-L5 na fixação da medula óssea por seis meses, sendo utilizadas malhas de titânio para sustentação do implante. Seis meses após a cirurgia concluíram, histomorfometricamente e radiograficamente, que a qualidade de osso formado apresenta grau de dureza e eficácia significativa frente aos testes de resistência.

O material tem indicação em cirurgias de fusão espinhal na região lombar ou lombosacral; tem eficácia como substância osteoindutora na formação óssea, em combinação com material de enxertia (ALEXANDER; MANSON; MITCHEL, 2001).

Kelly et al. (2001) estudaram em 109 pacientes com defeitos de osso, o efeito do tratamento com sulfato de cálcio e observaram que, após seis meses da cirurgia de enxertia, 99% do material já havia sido absorvido e 88% dos defeitos estavam preenchidos com osso trabecular.

Alexander; Manson; Mitchel (2001) submeteram quarenta pacientes, sofrendo de hérnia de disco degenerativa, a tratamento com intervenção cirúrgica para a colocação de material teste composto de descompressão e volume igual de bolinhas de sulfato de cálcio. Seis a 12 meses após o enxerto, 78% a 88% dos pacientes apresentavam neoformação óssea, comprovando que sulfato de cálcio associado a osso de descompressão pode promover uma alternativa viável como material de enxerto.

O material também é empregado em cirurgias reparadoras de microsomia craniofacial como preenchedor de espaço, sendo efetivo para a consolidação precoce dos ossos, diminuindo o período de tratamento (CHO et al., 2002).

Wichelhaus et al. (2001) desenvolveram experimento no tratamento de infecções crônicas, objetivando comprovar a propriedade de reabsorção do sulfato de cálcio e utilizando-o como veículo facilitador da absorção dos antibióticos Vancomicina, Teicoplanina, Gentamicina, Clindamicina. O sulfato de cálcio mostrou-se como um veículo eficiente no transporte do antibiótico para o local da infecção, prolongando o efeito medicamentoso e minimizando os efeitos toxicológicos, sendo um material biodegradável, rapidamente eliminado pelo organismo.

Turner et al. (2001) também comprovaram efetividade de ação do sulfato de

cálcio na atuação local de medicamentos; seu uso resultou na permanência do antibiótico no local, sem qualquer efeito adverso.

Sherry; Boeck; Warnke (2001) realizaram experimento num indivíduo que apresentava fratura de tíbia com infecção de *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA); aplicaram uma mistura de sulfato de cálcio e complexo de antimicrobiano politoxinol (derivado do eucalipto), que possui propriedade bactericida forte contra MRSA, "in vitro". Em três meses os focos infecciosos estavam solucionados, apresentando uma resposta terapêutica comprovada. O sulfato de cálcio, dessa forma, pode servir para levar substâncias medicamentosas para um determinado foco.

Vários trabalhos atuais têm se preocupado em comparar os resultados da utilização do sulfato de cálcio com outros materiais e ilustrar diferentes utilidades.

Al Ruhaimi (2000) promoveu defeitos ósseos de 8 mm no fêmur de coelhos com a finalidade de comparar diferentes materiais: colágeno, cerâmica, polímeros, xenoenxertos, alógenos e hidroxiapatita. Após oito semanas, observou-se que o sulfato de cálcio misturado a materiais de enxerto, facilitou o processo de osteogênese, no entanto, quando o preenchimento era feito apenas com sulfato de cálcio, os resultados não eram satisfatórios, concluindo-se assim não ser o material recomendado como preenchedor de defeitos ou cavidades ósseas.

Goldman et al. (2000) avaliaram através de parâmetros clínicos e radiográficos o comportamento do sulfato de cálcio misturado ao osso bovino liofilizado, no preenchimento de cavidades ósseas patológicas, em maxila e mandíbula obtendo resultados positivos, o que nos mostra uma possibilidade promissora para o tratamento de lojas císticas e grandes defeitos ósseos onde normalmente é indicada a utilização de enxertos ósseos autógenos.

De Leonardis; Pecora (2000) investigando os procedimento de levantamento de seio maxilar, com a utilização de sulfato de cálcio como enxerto, verificaram que a colocação do material em camadas e na consistência leitosa, aguardando o endurecimento de uma camada para colocar a próxima, produzia uma redução no encolhimento do enxerto durante a cura, reduzindo a taxa de reabsorção do material. Os resultados deste estudo indicam que o sulfato de cálcio parece ser um material efetivo para o levantamento de seio, pois as evidências radiográficas indicaram neoformação óssea adequada para integração do implante.

Su-Gwan; Hak-Kyun; Sung-Chul (2001) por intermédio de experimentos conduzidos em 40 ratos onde se procedeu às análises histológica e histomorfométrica, visando comparar as aplicações de enxertia com osso bovino, partícula de dentina, Bio-Oss e gesso Paris, concluíram que o melhor resultado é obtido com a enxertia de Bio-Oss, devido à maior formação de osso; porém, a combinação de partícula de dentina e gesso Paris é uma substituta de osso alternativa.

Pecora et al. (2001) selecionaram 20 pacientes com evidências radiográficas de lesão periradicular maior que 10 mm. Enxertou-se sulfato de cálcio em dez pacientes onde os dentes sofreram apicectomia, enquanto os demais se submeteram a apicectomia, porém não receberam qualquer material. Os resultados demonstraram que a adição de sulfato de cálcio como enxerto de osso durante o tratamento cirúrgico convencional, melhora o resultado clínico.

Orsini et al. (2001) selecionaram 12 pacientes com evidências radiográficas de defeitos periodontais. Adotaram a divisão da boca para procederem aos enxertos de osso autógeno misturado ao sulfato de cálcio no lado teste e osso autógeno mais membrana bioabsorvível (controle) no lado oposto. Após seis meses, os estudos

comparativos apontaram que as duas terapias conduziram à melhoria, não sendo registradas diferenças nos parâmetros medidos estatisticamente.

Yoshikawa et al. (2002) avaliaram os efeitos da atuação do sulfato de cálcio na regeneração óssea em casos de apicectomia. Os defeitos ósseos decorrentes da cirurgia receberam um preenchimento com membranas de PTFE, PLGA, colágeno e sulfato de cálcio, sendo que um grupo ficou sendo de controle. As membranas de PTFE estiveram relacionadas aos melhores resultados, podendo substituir o sulfato de cálcio.

Jamali et al. (2002) analisaram histologicamente e radiograficamente as reações frente ao enxerto de sulfato de cálcio e hidroxiapatita combinada com carbonato de cálcio em tibia de coelhos. Após 42 semanas não havia diferenças quanto ao volume de osso formado, porém a análise feita quanto à reabsorção dos materiais, constatou que o sulfato de cálcio foi completamente reabsorvido em apenas seis semanas, enquanto a hidroxiapatita e o carbonato de cálcio, ao final do experimento ainda se mostravam presentes.

Evidenciamos pela literatura consultada a multiplicidade de ação tanto do osso bovino como do sulfato de cálcio.

A partir do desenvolvimento do material nacional (Biobone) já mencionado (WEINFELD; MAGALHÃES; VILLA, 1994) e com base nas informações existentes na literatura, destacando as vantagens do uso do sulfato de cálcio, alterou-se a fórmula do produto, diminuindo-se 20% da porção mineral e acrescentando sulfato de cálcio na mesma proporção, fato que nos levou à execução deste trabalho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram utilizados 21 ratos jovens (*Rattus norvegicus*), var. *albinus* do sexo feminino e pesando de 150 a 200 gramas obtidos do biotério no UNITOX (Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas) da Universidade de Santo Amaro. Em cada animal o lado direito foi considerado como controle e o esquerdo como experimental. Os experimentos foram sempre realizados em triplicata, sendo os períodos de avaliação 7, 14, 21, 30, 45, 60 e 90 dias.

O material de enxerto selecionado constituía-se de osso inorgânico bovino associado ao sulfato de cálcio, na forma granular, da marca comercial (TRIELIT)¹, sendo adequadamente tratado e esterilizado, assim mantido até o momento de sua enxertia (Figuras 01 e 02).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 PREPARO DO MATERIAL DE ENXERTO



Figura 01 – Forma de apresentação do material de enxerto constituído de osso bovino associado a sulfato de cálcio

¹ TRIELIT, Vianfarm Ltda.



Figura 02 – Aspecto granular da enxertia à base de sulfato de cálcio.

4.2.2 PREPARO DE ANIMAIS

Os ratos foram anestesiados por inalação com éter sulfúrico 50% e contidos em campo de manipulação adequado. O instrumental utilizado para a intervenção foi esterilizado por meio de calor úmido (autoclave).

Após a tricotomia e antissepsia do local com iodo-povidona (PVP-1)², foi realizada uma incisão retilínea, sendo a lâmina usada de nº 11, na face interna da tíbia e dissecação romba do tecido subcutâneo com ajuda de uma espátula nº 7, do descolador de Freer e da pinça de Adson e uma tesoura tipo Iris. Os músculos foram então divulsionados até a exposição do periósteo da tíbia.

Uma vez obtida a exposição cirúrgica da cortical óssea, foi feita uma cavidade, na forma de canaleta, com broca 701, carbide, de uso odontológico, trabalhando em baixa rotação e irrigação constantes com soro fisiológico (0.9%) e com utilização de régua endodôntica, manteve-se as medidas de 10 mm de comprimento por 2 mm de largura e até a porção medular, seguindo o modelo proposto por Guidugli Neto; Magalhães; Weinfeld (1991).

² Povidine Degenuane, Lab. Darrow, RJ.

Neste momento, na canaleta da tíbia esquerda foi introduzido o material de enxerto, com o auxílio de um porta amálgama, e uma cureta cirúrgica de Lucas nº 85, enquanto na canaleta confeccionada na tíbia direita não se inseriu a enxertia, funcionando assim como controle (Figuras 03, 04 e 05).



Figura 03 – Tibia exposta pronta para confecção da canaleta.

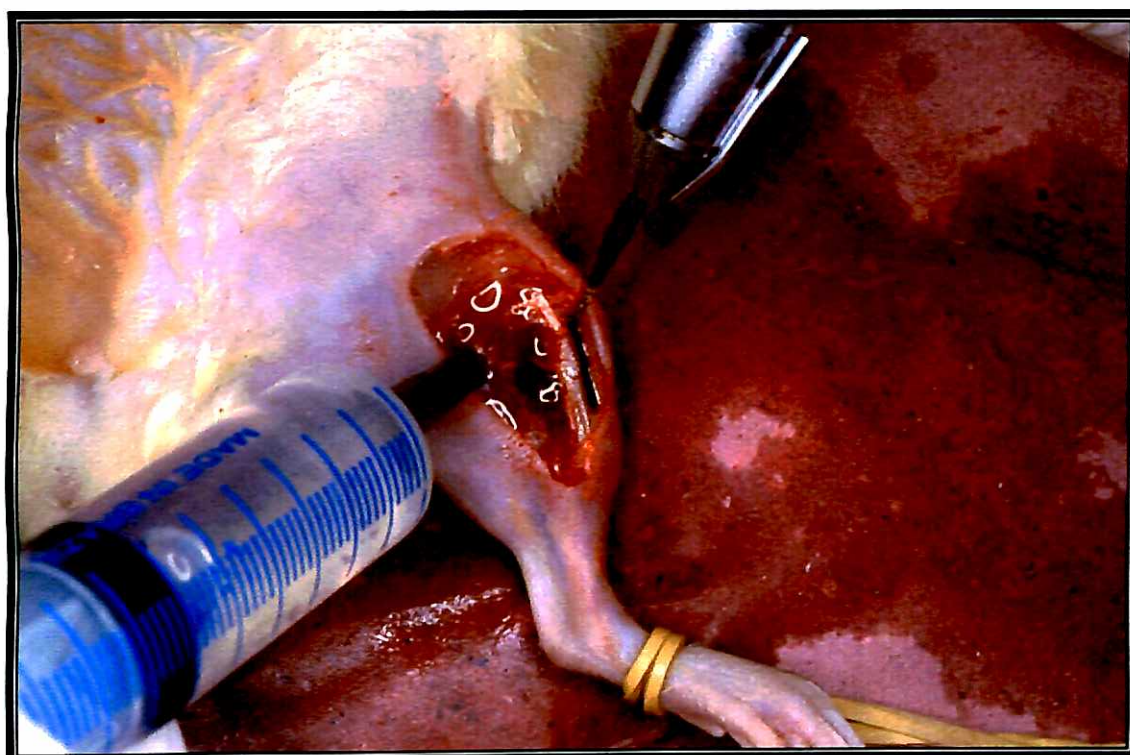


Figura 04 – Confeção da canaleta na tíbia do animal.

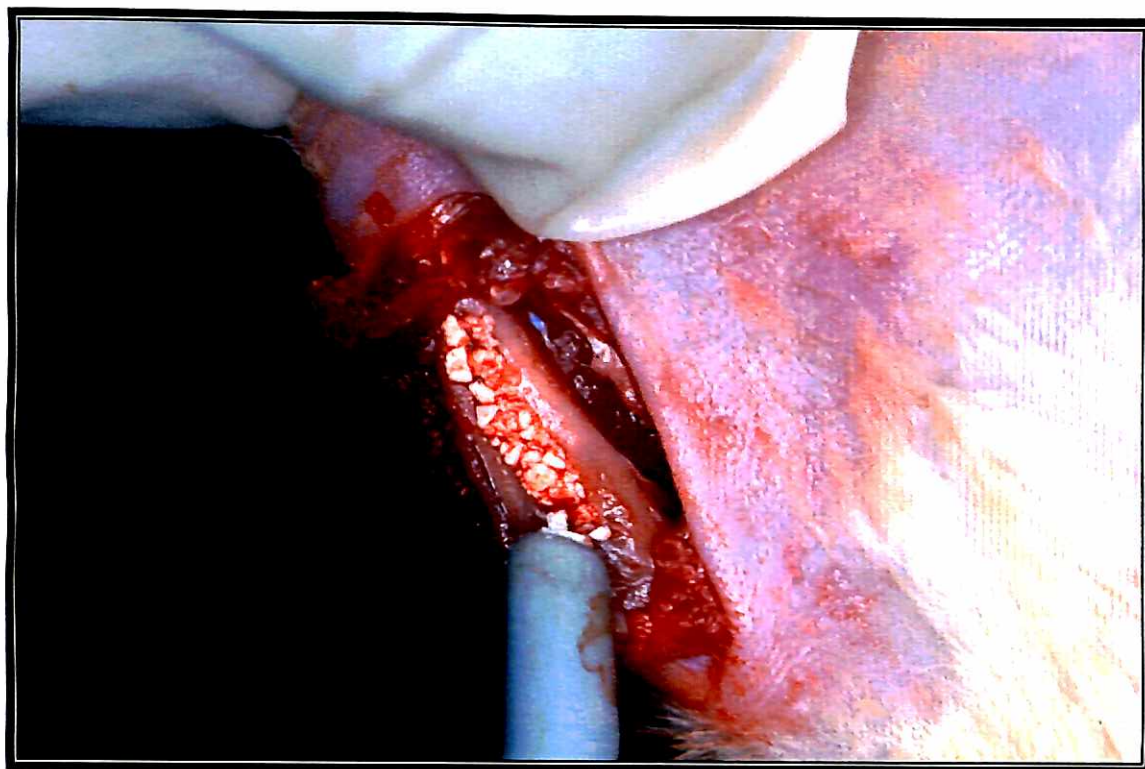


Figura 05 – Inserção do material de enxerto na tíbia esquerda do animal.

Posteriormente, os planos periosteal e muscular foram repostos, sendo o plano cutâneo suturado com fio mononylon 6_0 agulhado, com auxílio de um porta agulha do tipo Mayo-Hegar.

Os ratos foram então mantidos alojados em gaiolas individuais pelos períodos de tempos planejados, com ração comercial³ e água *ad libitum*.

4.2.3 COLETA DO MATERIAL

Os animais foram sacrificados por inalação com éter sulfúrico decorridos os períodos de tempo correspondentes.

Após dissecação dos membros posteriores esquerdo (experimental) e direito (controle), foram ressecadas as tíbias. Estas foram primeiramente submetidas a

³ Labina. Purina Nutrimenta Ltda.

fixação em formol a 10%, imersão por período de cinco dias em recipientes estéreis (coletor universal).

Posteriormente, foram submetidas à descalcificação em solução de ácido fórmico a 17%. Em seguida, o osso foi submetido a lavagem em água corrente por 24 horas, desidratado em série crescente de álcoois, diafanizado em xilol e incluído *in totum* em parafina.

Em sequência o material sofreu cortes transversais, orientando-se a cortical lesada de tal maneira que estivesse voltada para o plano inicial de corte. Utilizou-se a técnica da hematoxilina – eosina para coloração e o material foi então avaliado histologicamente.

4.2.4 MÉTODO HISTOLÓGICO

Por meio de estudo histológico os dados obtidos foram distribuídos em tabelas.

O critério utilizado no estudo histológico foi o da anotação das alterações observadas na zona de manipulação, a saber: tecido necrótico, fibrina, cartilagem, tecido osteóide, tecido ósseo trabeculado, tecido ósseo compacto, tecido hematopoiético, fibrose, proliferação de vasos e inflamação crônica como proposto por Weinfeld; Birman; Panella (1996).

Esses dados foram anotados segundo a intensidade, semi-quantitativamente, conforme:

Ø = ausente (zero)

++ = presente em grau moderado

+ = presente em grau leve

+++ = presente em grau acentuado

Os dados correspondiam sempre à média dos achados dos três animais de cada tempo experimental.

5 RESULTADOS

Clinicamente, desde os períodos iniciais, não observamos qualquer alteração tecidual na área operada. Nos períodos de 30, 45, 60 e 90 dias, não era possível identificar nos animais o local de enxertia, devido ao crescimento da pelagem.

Analizando histologicamente o material de sete dias, verificamos que tanto no grupo experimental como no controle a presença de tecido necrótico e de fibrose era leve. Quanto à inflamação crônica era de grau superior no grupo controle frente ao experimental. Neoformação óssea já era visível e caracterizada por intensa proliferação de tecido hematopoiético, garantindo a nutrição do local (Figuras 06 e 07).

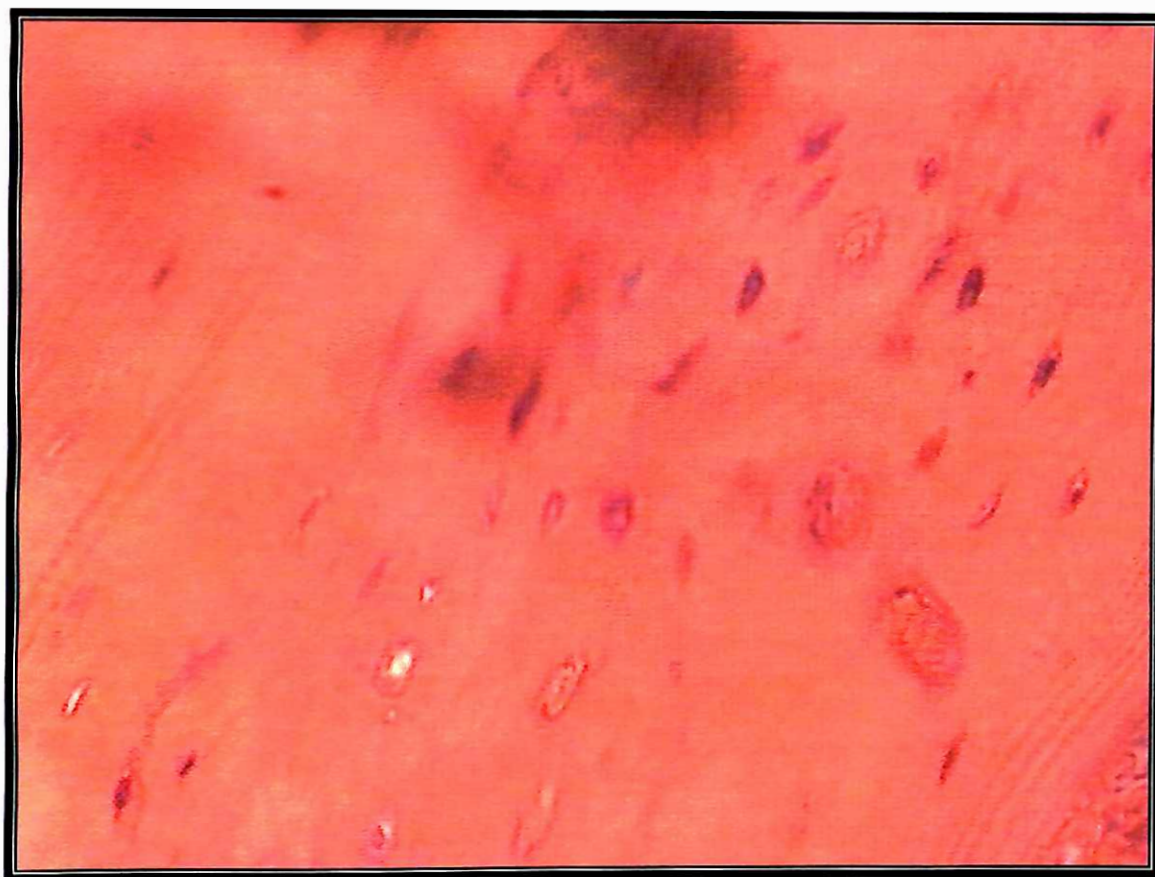


Figura 06 – Grupo experimental com sete dias de evolução. Tecido ósseo neoformado (H.E., 400x) .

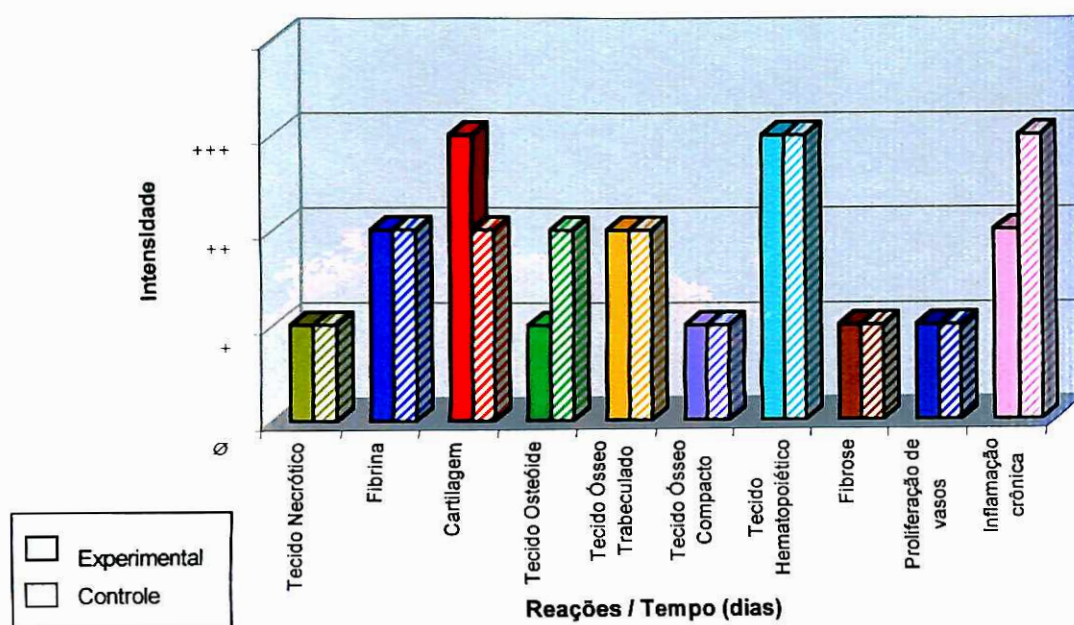


Figura 07 – Reações ósseas observadas aos sete dias nos grupos experimental e controle.

No período de 14 dias o quadro histológico era bastante semelhante entre os grupos, caracterizado pela intensificação da neoformação óssea, comprovada por muitas áreas osteóides. O processo inflamatório crônico que se apresentava em grau moderado para o grupo experimental e acentuado para o controle, passa a se igualar em grau leve (Figuras 08 e 09).



Figura 08 – Grupo experimental com 14 dias de evolução. A zona lesada está preenchida por tecido ósseo trabecular com tecido hematopoiético (H.E., 100x).

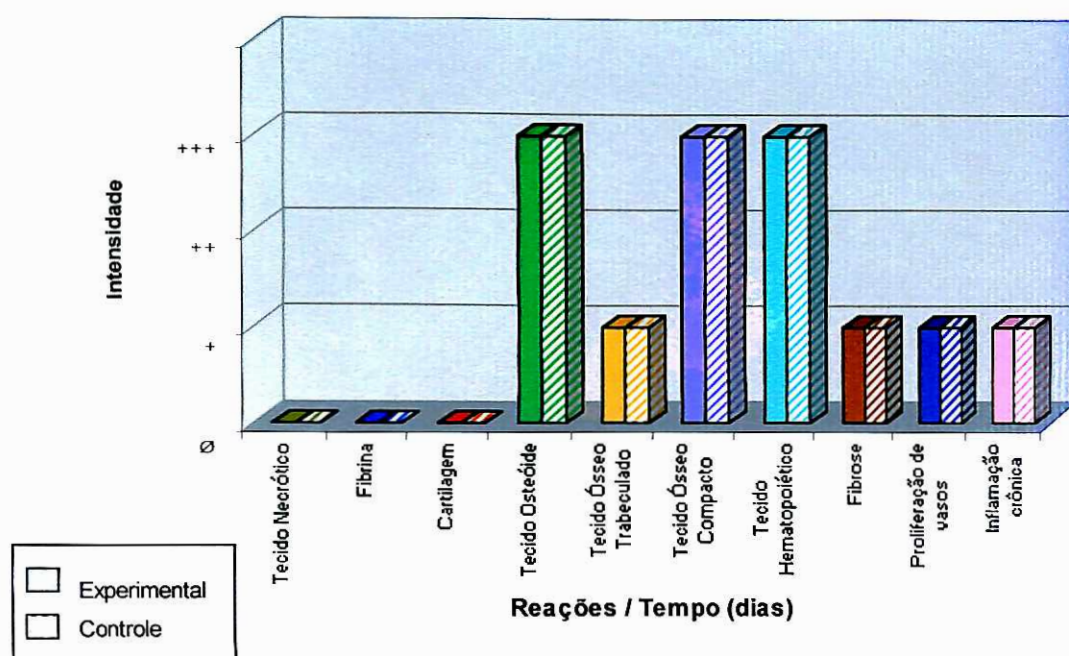


Figura 09 – Reações ósseas observadas aos 14 dias nos grupos experimental e controle.

Quanto ao material de 21 dias, a análise permite verificar que a neoformação óssea no grupo experimental era mais acentuada, fato comprovado pela prevalência de tecido ósseo trabeculado, bem como compacto (Figuras 10 e 11).

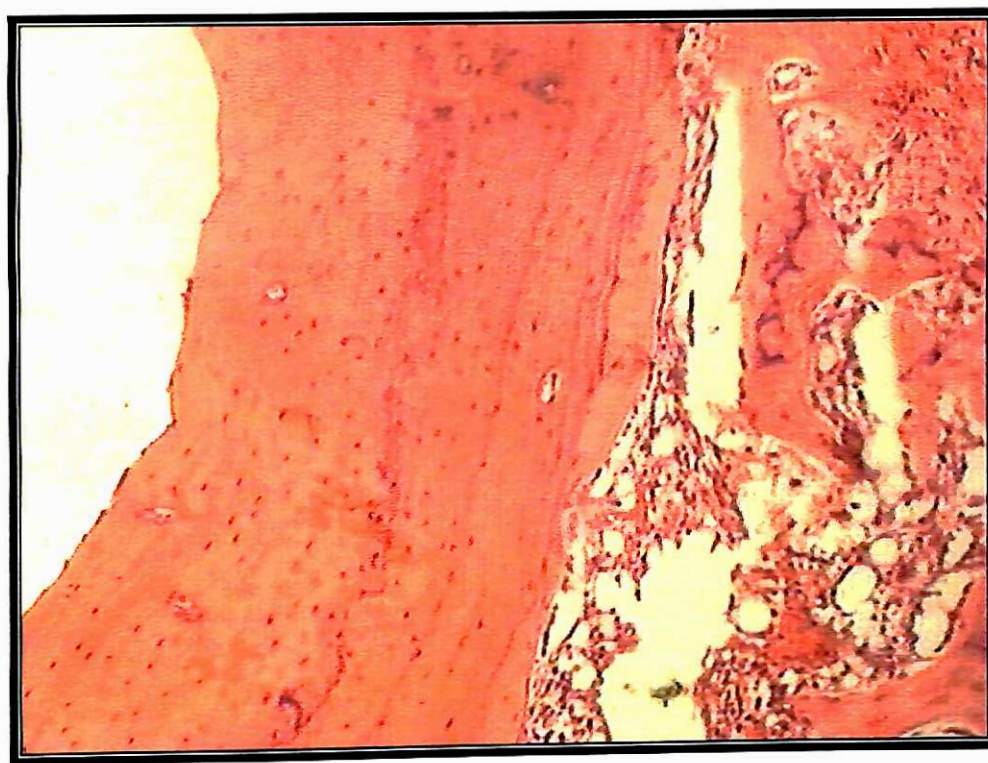


Figura 10 – Grupo experimental com 21 dias de evolução. Verifica-se o limite do tecido ósseo neoformado e o tecido hematopoiético entremeando-se na região (H.E., 100x).

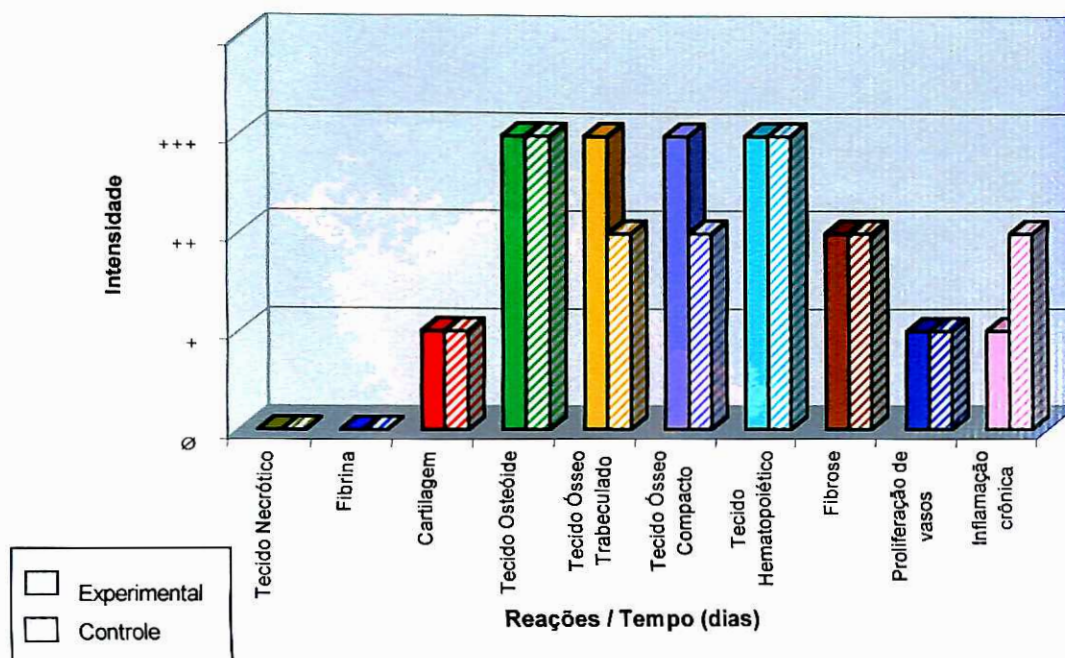


Figura 11 – Reações ósseas observadas aos 21 dias nos grupos experimental e controle.

Destaca-se, após 30 dias, o fato da vascularização mais acentuada no grupo experimental, bem como um processo inflamatório mais tênue, se comparado ao controle. O tecido ósseo trabeculado apresentava-se presente em grau acentuado, sendo possível observar as trabéculas mais fechadas, comprovando que o tecido ósseo, no local enxertado, estava se transformando em tecido ósseo de padrão compacto (Figuras 12 e 13).



Figura 12 – Grupo experimental com 30 dias de evolução. Tecido ósseo com padrão trabecular e compacto (H.E., 400x).

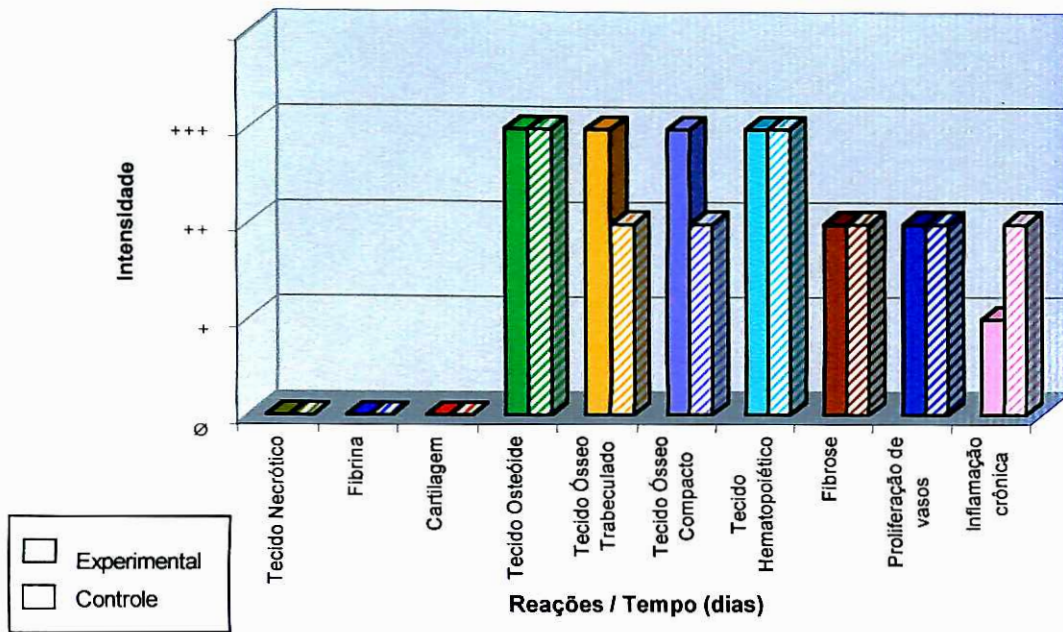


Figura 13 – Reações ósseas observadas aos 30 dias nos grupos experimental e controle.

Na avaliação microscópica do material de 45 dias, verificamos que o tecido ósseo trabeculado, mais acentuadamente no grupo experimental, dava lugar ao osso compacto, mais maduro. O processo inflamatório crônico do grupo controle ainda era mais destacado (Figuras 14, 15 e 16).

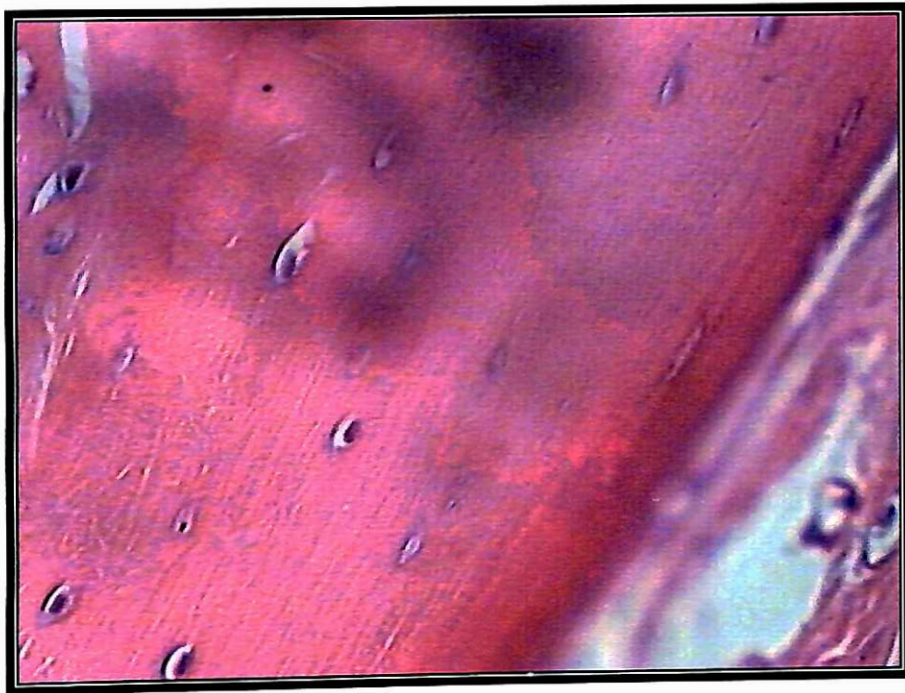


Figura 14 – Grupo controle com 45 dias de evolução. Formação de tecido ósseo compacto (H.E., 400x).

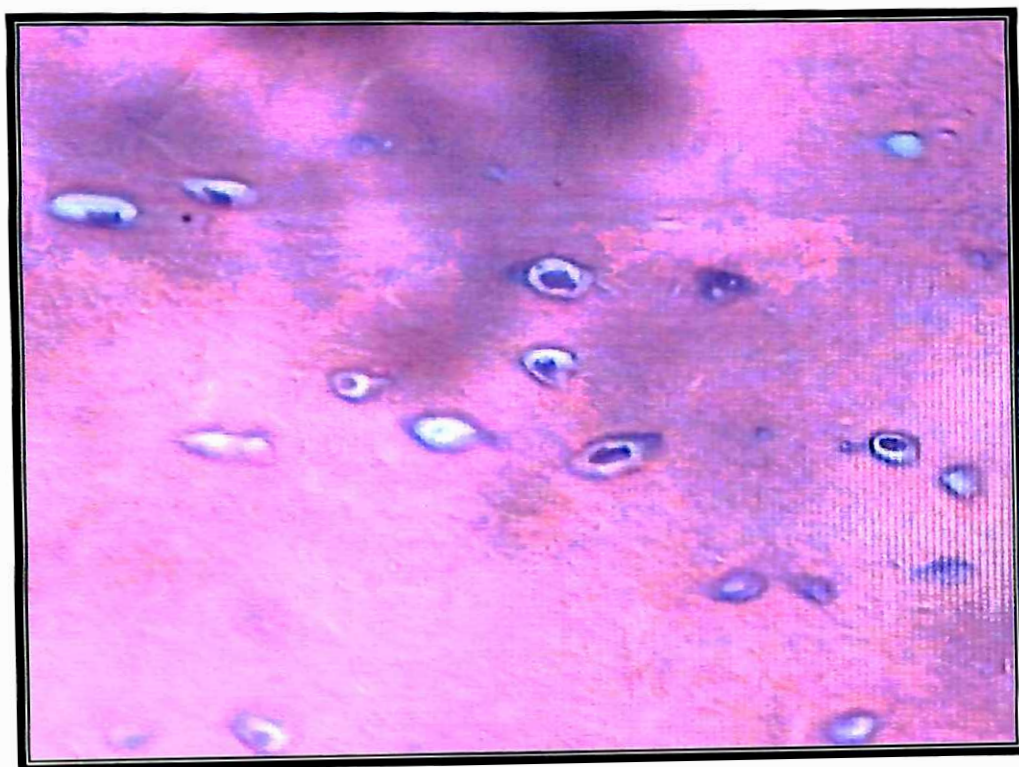


Figura 15 – Grupo experimental com 45 dias de evolução.
Tecido ósseo compacto (H.E., 400x).

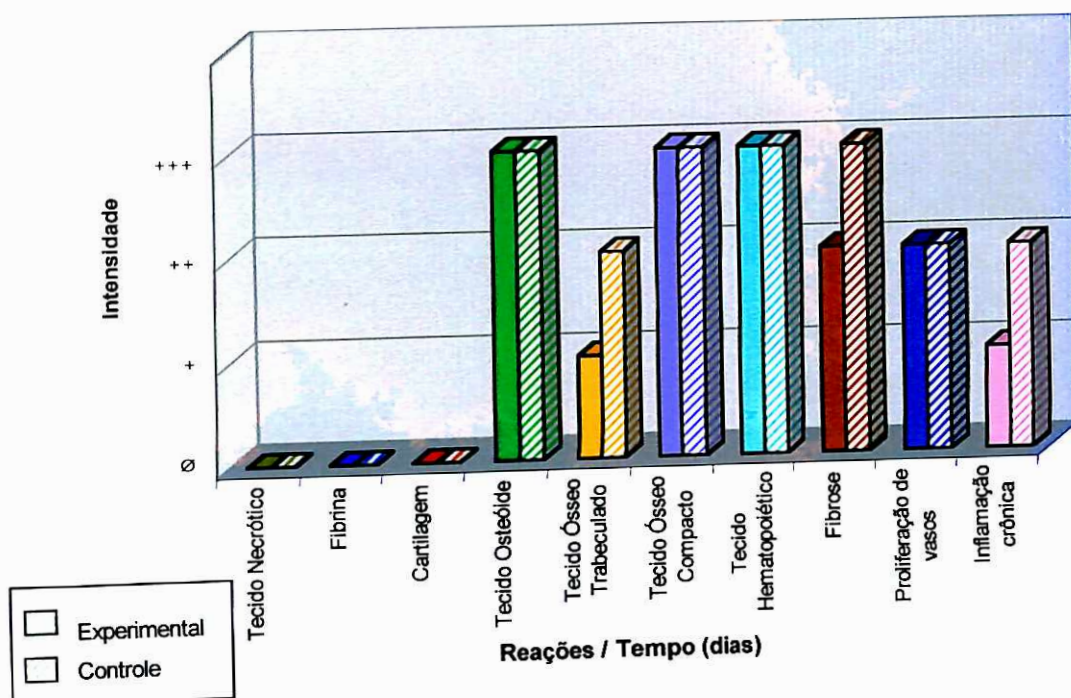


Figura 16 – Reações ósseas observadas aos 45 dias nos grupos experimental e controle.

A partir dos 60 dias, os resultados obtidos mostraram-se os mesmos em ambos os grupos, podendo-se verificar que o tecido ósseo trabeculado estava dando lugar ao tecido ósseo compacto (Figuras 17 e 18).

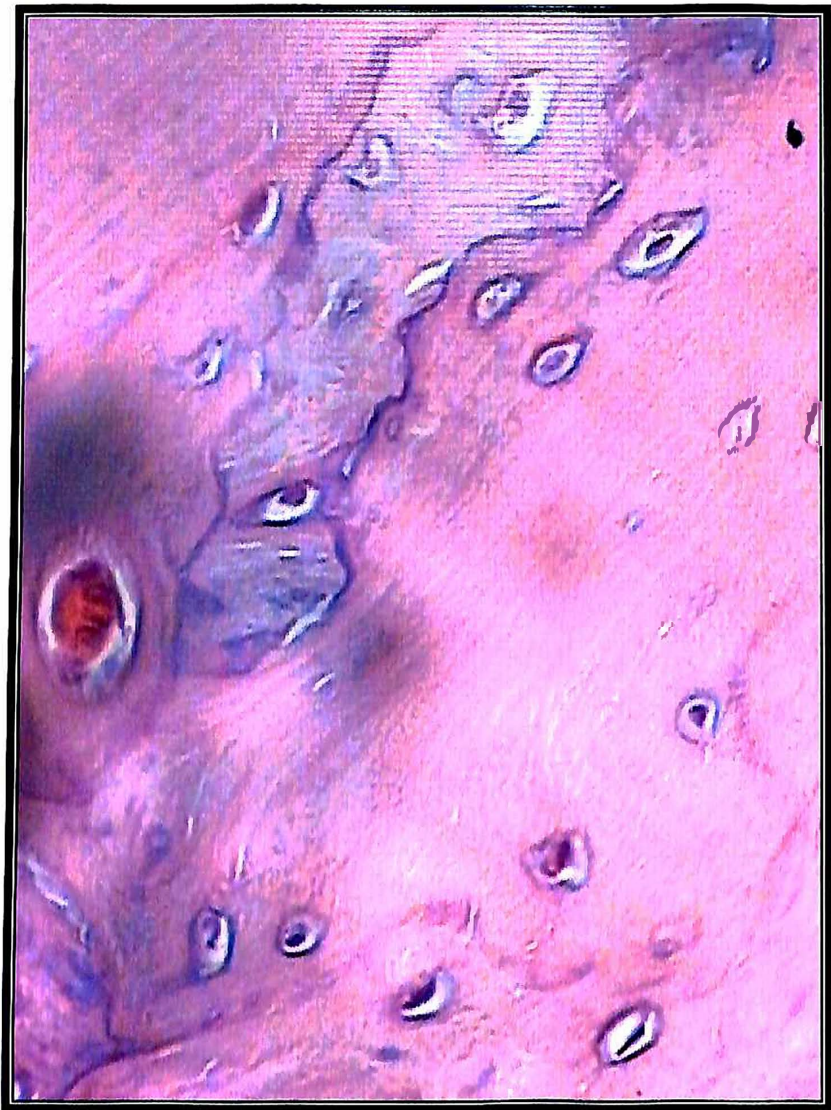


Figura 17 – Grupo experimental com 60 dias de evolução.
Tecido ósseo compacto (H.E., 400x).

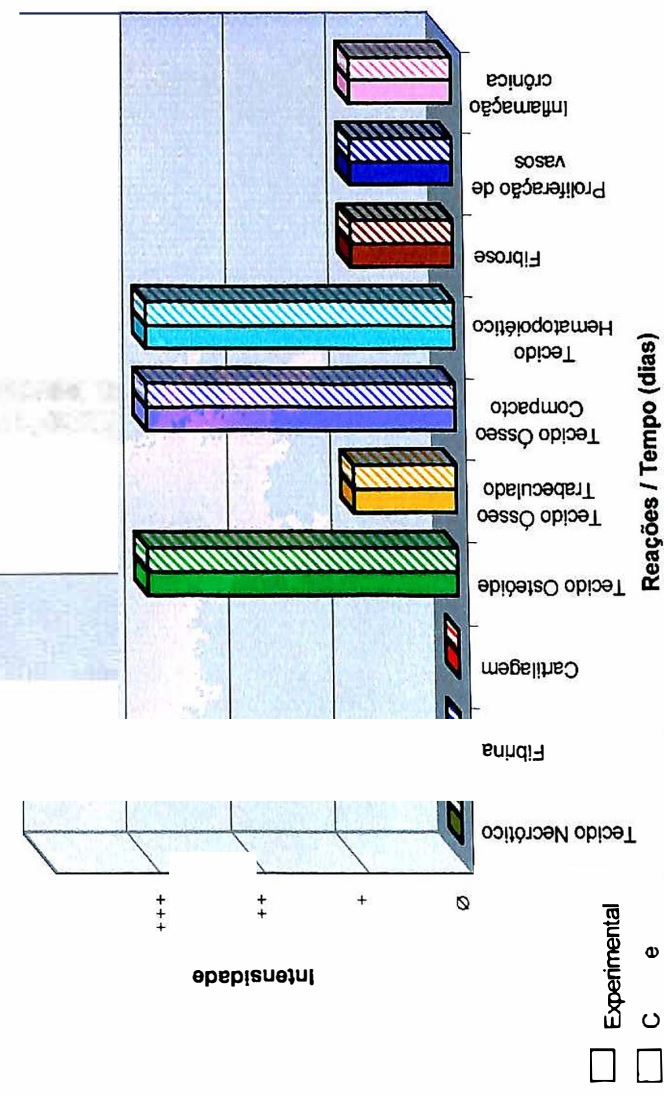


Figura 18 – Reações ósseas observadas aos 60 dias nos grupos experimental e controle

Aos 90 dias, verificamos que o tecido ósseo trabeculado deu lugar ao tecido ósseo compacto em ambos os grupos. Não encontramos elementos celulares relacionados à inflamação frente ao enxerto do material, enquanto no grupo controle ainda estavam presentes, embora em grau leve (Figuras 19 e 20).

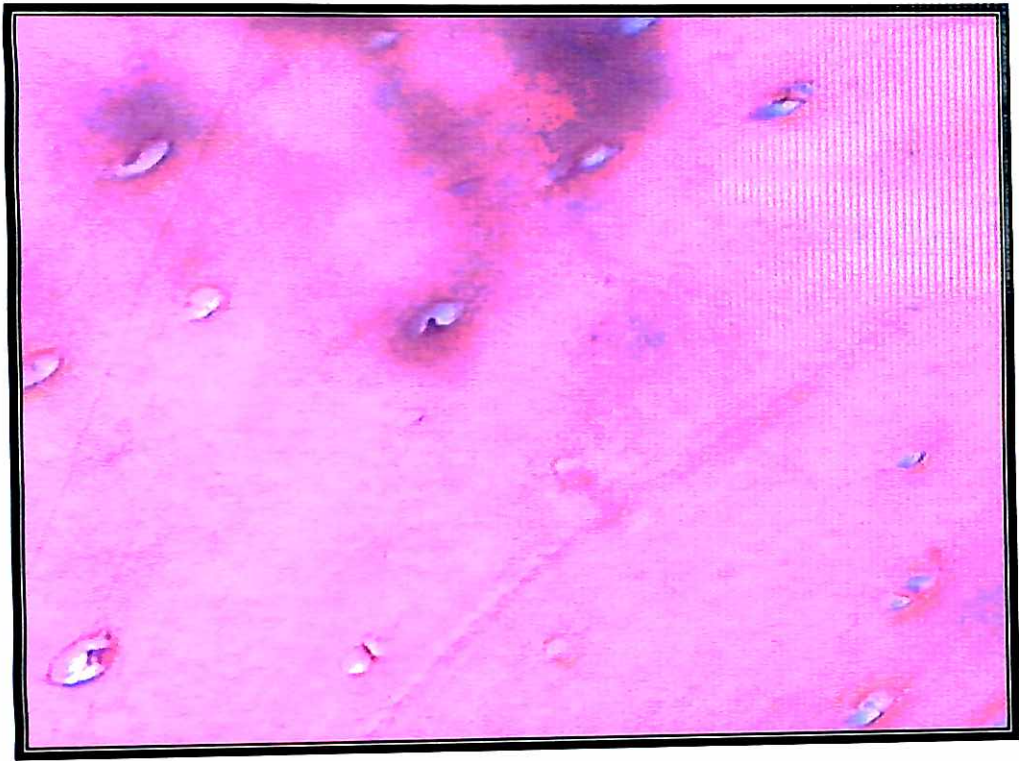


Figura 19 – Grupo experimental com 90 dias de evolução.
Tecido ósseo compacto (H.E., 400x).

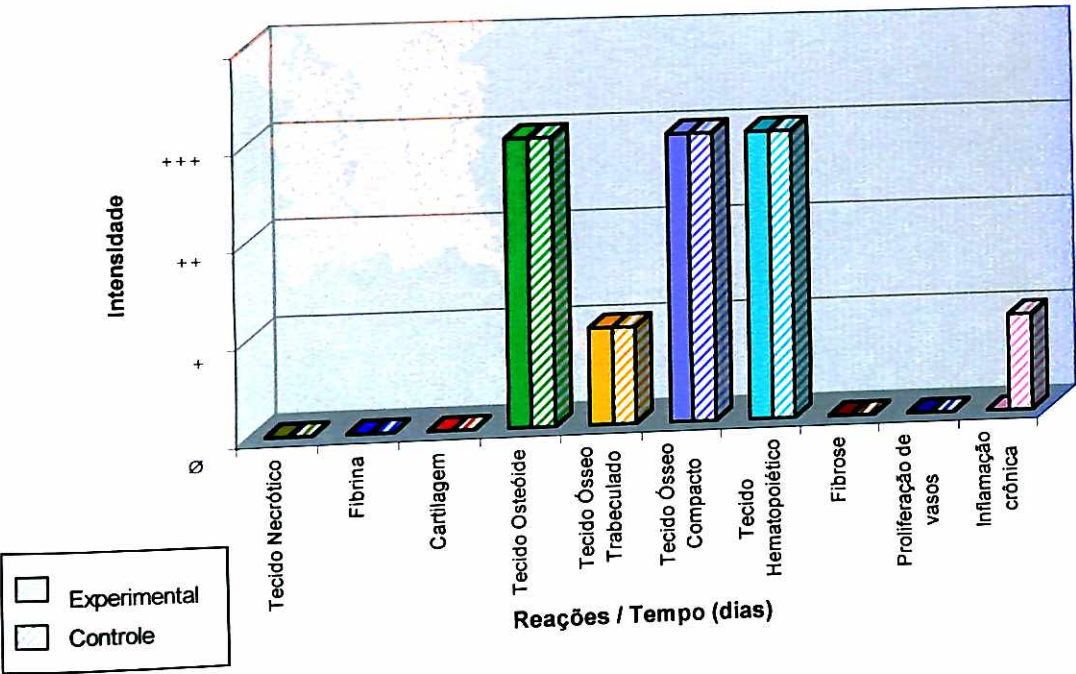


Figura 20 – Reações ósseas observadas aos 90 dias nos grupos experimental e controle.

A figura 21 apresenta, de forma geral o resultado da análise histológica do grupo experimental, sendo que a figura 22 retrata o grupo controle.

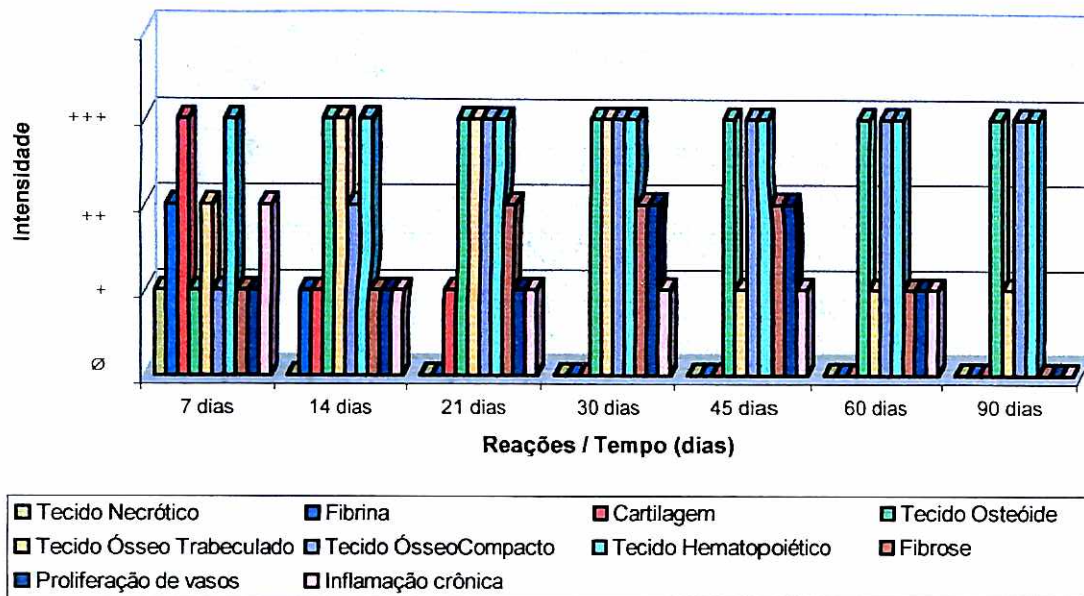


Figura 21– Análise geral das reações ósseas observadas nos diferentes períodos (grupo experimental).

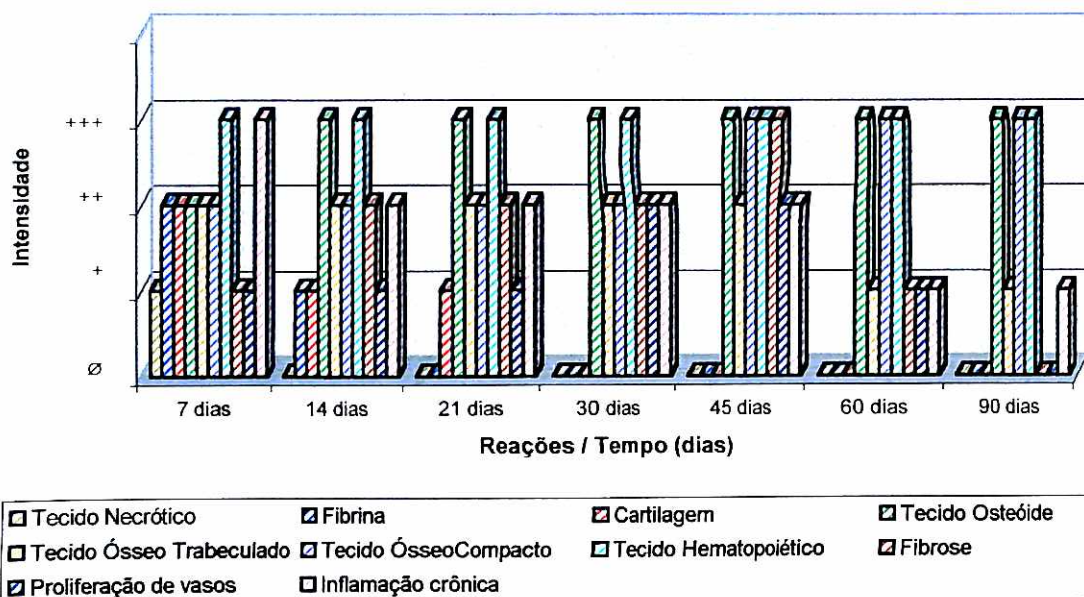


Figura 22 – Análise geral das reações ósseas observadas nos diferentes períodos (grupo controle).

As tabelas I, II e III apresentam as reações ósseas observadas em ambos os grupos de forma descritiva, quanto à intensidade.

Alterações	Tempo (dias)						
	7	14	21	30	45	60	90
Tecido Necrótico	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Fibrina	++	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Cartilagem	+++	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
Tecido Osteóide	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tecido Ósseo Trabeculado	++	+++	+++	+++	+	+	+
Tecido Ósseo Compacto	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
Tecido Hematopoiético	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Fibrose	+	+	++	++	++	+	Ø
Proliferação de vasos	+	+	+	++	++	+	Ø
Lesão crônica	++	+	+	+	+	+	Ø

Tabela I – Reações ósseas observadas após o enxerto de osso bovino associado a sulfato de cálcio em lesão confeccionada na tíbia de ratos (grupo experimental).

Intensidade:
Ø = ausente
+ = presente em grau leve
++ = presente em grau moderado
+++ = presente em grau acentuado

Alterações	Tempo (dias)						
	7	14	21	30	45	60	90
Tecido Necrótico	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Fibrina	++	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Cartilagem	++	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
Tecido Osteóide	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tecido Ósseo Trabeculado	++	++	++	++	++	+	+
Tecido Ósseo Compacto	+	++	++	++	+++	+++	+++
Tecido Hematopoiético	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Fibrose	+	++	++	++	+++	+	Ø
Proliferação de Vasos	+	+	+	++	++	+	Ø
Lesão crônica	+++	++	++	++	++	+	+

Tabela II – Reações ósseas observadas após confecção de lesão na tíbia de ratos (grupo controle).

Intensidade:
Ø = ausente
+ = presente em grau leve
++ = presente em grau moderado
+++ = presente em grau acentuado

Alterações		Tempo (dias)						
		7	14	21	30	45	60	90
Tecido Necrótico	Exp.	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	Con.	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Fibrina	Exp.	++	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	Con.	++	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Cartilagem	Exp.	+++	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
	Con.	++	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
Tecido Osteóide	Exp.	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Con.	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tecido Ósseo Trabeculado	Exp.	++	+++	+++	+++	+	+	+
	Con.	++	++	++	++	++	+	+
Tecido ósseo Compacto	Exp.	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	Con.	+	++	++	++	+++	+++	+++
Tecido Hematopoiético	Exp.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Con.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Fibrose	Exp.	+	+	++	++	++	+	Ø
	Con.	+	++	++	++	+++	+	Ø
Proliferação de Vasos	Exp.	+	+	+	++	++	+	Ø
	Con.	+	+	+	++	++	+	Ø
	Exp.	++	+	+	+	+	+	Ø
	Con.	+++	++	++	++	++	+	+

Tabela III – Reações ósseas observadas após o enxerto de osso bovino associado a sulfato de cálcio em lesão confeccionada na tíbia de ratos (grupos experimental e controle).

Intensidade:
 Ø = ausente
 + = presente em grau leve
 ++ = presente em grau moderado
 +++ = presente em grau acentuado

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho foi realizado baseando-se no estudo das reações ósseas frente a ação do osso bovino associado ao sulfato de cálcio. Deve-se tal associação ao fato do sulfato de cálcio apresentar extensa literatura sugerindo ser, o mesmo, biocompatível e reabsorvível em contato com o tecido ósseo.

A biocompatibilidade é essencial em se tratando de um material a ser usado nas aplicações médicas e odontológicas, como já destacavam Weinfeld; Birman; Panella (1996). Assim, pudemos verificar na literatura inúmeros trabalhos, relatando tal propriedade em relação ao sulfato de cálcio. Dreesman; Peltier (1892; 1959 apud Bier; Sinesnsky, 1999, p. 655), comprovaram histologicamente a inexistência de indícios de processo inflamatório, concluindo sobre a tolerância do hospedeiro e a biocompatibilidade do material.

Setya; Bissada (1999) também constataram a ausência de inflamação frente à administração de sulfato de cálcio, todavia valeram-se apenas de um critério clínico de análise, enquanto nós pudemos atestar tal processo histologicamente.

Ainda quanto à biocompatibilidade é importante destacar o estudo de Mesimeris; Sade; Baer (1995), pois trabalhando com cultivo "in vitro" verificaram que osteoblastos mantinham-se funcionais e se desenvolviam na presença do sulfato de cálcio.

Embora tivéssemos encontrado resposta inflamatória em nosso experimento, esta foi sempre leve e solucionada até os períodos finais de avaliação; soma-se a ausência de necrose e a conclusão sobre a biocompatibilidade passa a ser real, coincidindo com os achados citados (BIER; SINENSKY, 1999; NARY FILHO; OKAMOTO, 1996; SETYA; BISSADA, 1999).

As vantagens do uso de osso bovino para enxertos ósseos já foram comprovadas pelo trabalho de Weinfeld; Magalhães; Villa (1994), que destacaram a aceleração do processo de reparação. A adição de sulfato de cálcio, avaliada em nosso trabalho, também mostrou resultados positivos, uma vez que a neoformação óssea ocorreu em períodos anteriores, em comparação ao controle.

Todavia encontramos alguns relatos na literatura a respeito das desvantagens que recaem sobre o uso do sulfato de cálcio, cabendo algumas considerações. Primeiro, o fato do material não ser osteogênico, como relatado por Sottosanti (1992a), não invalida a sua utilização. Segundo, quanto ao fato do material não funcionar em defeitos ósseos na região de furca, isto talvez se deva ao fato do comprometimento sangüíneo desta região, no que estamos de acordo com Setya; Bissada (1999). Ainda assim o trabalho de Conner (1996) indica o material mesmo em lesões de furca, embora tenha se baseado apenas em dois casos clínicos.

Deve ficar claro, contudo, que as vantagens ainda sobressaem frente a qualquer um dos possíveis e questionáveis pontos negativos (SOTTOSANTI, 1992a).

A adição de sulfato de cálcio a outros materiais de enxerto evita a perda de partículas do enxerto, melhora a manipulação do material enxertado e expande a sua disponibilidade, o que é especialmente importante em defeitos de grande extensão.

A literatura é rica nas ilustrações das diversas aplicações do sulfato de cálcio. Verificamos o seu uso em defeitos ortopédicos (HADJIPAVLOU et al., 2000; SETYA; BISSADA, 1999), cirurgia de fusão espinhal de coluna vertebral (ALEXANDER; MANSON; MITCHELL, 2001), cirurgias reparadoras de microsomia craniofacial -

preenchendo espaço (CHO et al., 2002), e hérnia de disco degenerativa (ALEXANDER; MANSON; MITCHELL, 2001).

No campo odontológico destaca-se como preenchimento de alvéolos pós-extração (CAMARGO et al., 2000), barreira biodegradável em RTG (MESIMERIS; SADE; BAER, 1995), cirurgia parendodôntica (CONNER, 1996; PECORA et al., 1997a; PECORA et al., 2001; YOSHIKAWA et al., 2002), procedimentos de levantamento de seio (SCHER; DAY; SPEIGHT, 1999) e em terapia de transplantes dentários (WONG, 2002).

Soma-se sua indicação como veículo para terapia antibiótica local (BIER; SINENSKY, 1999; SHERRY; BOECK; WARNKE, 2001; WICHELHAUS et al., 2001) e elemento facilitador da ingestão de cálcio (DAVIS, 1981; KAJISHIMA; PUMAR; GERMANI, 2001) e tem-se assim um grande rol de aplicações.

Comprova-se, de tal forma, que o sulfato de cálcio é um dos mais versáteis materiais usado na medicina, especialmente na especialidade de ortopedia e na odontologia. Tem a capacidade de agir ativamente ou passivamente em procedimentos cirúrgicos regenerativos.

Quanto ao sucesso da utilização exclusiva do sulfato de cálcio, permanece uma questão em aberto.

Al Ruhaimi (2000) aponta-o como sendo um material ruim de preenchimento; Linde (1993) concluiu ser este material um bom preenchedor de espaço, até mesmo em área de furca, quando associado a uma barreira, idéia esta que é compartilhada por Al Ruhaimi (2000), ou seja, o sulfato de cálcio é um facilitador à formação óssea, quando combinado a outros enxertos ósseos, podendo assim promover a osteogênese e acelerar o processo.

De Leonardis; Pecora (2002) observaram em humanos uma melhora na

qualidade e quantidade de osso formado, comprovando uma intensificação na densidade do novo osso. Ficou evidente também em nosso trabalho, melhora na quantidade sem qualquer alteração negativa na qualidade, demonstrando inclusive uma formação óssea mais acelerada, quando comparada com o grupo controle.

O período de reabsorção de sulfato de cálcio relatado, é variável de autor a autor. Pecora et al. (1997b) constataram, histologicamente, a reabsorção do sulfato de cálcio num período de três semanas em todos os locais de teste, aplicados em defeitos ósseos da mandíbula de ratos machos; Andreana (1998) comprovou tal ocorrência em quatro a cinco semanas em regeneração periodontal em humanos, enquanto Macneill et al. (1999) observaram a reabsorção após 28 dias, em seus experimentos em tíbias de coelho. Em nosso trabalho, porém, constatamos histologicamente, ser a reabsorção um processo imediato, funcionando o material como uma matriz para a neoformação óssea. A vascularização no local enxertado, talvez seja a responsável pela diferença nos períodos apontados pelos diversos autores.

Verificamos que a neoformação óssea frente ao enxerto do material ocorre precocemente, resultado que vai de encontro aos recentes trabalhos de Cho et al. (2002); Orsini et al. (2001), sendo que este último pôde fazer tal afirmação resultante de avaliação em humanos.

Diferentemente do que observaram Clockie et al. (2002), não encontramos, histologicamente, intermeio de tecido fibroso nas áreas que passaram pelo processo de neoformação.

Conforme destacado por Camargo et al. (2000), o sulfato de cálcio adicionado a um material bioativo, facilita a colocação dos implantes, minimizando os problemas quanto à instalação da futura prótese parcial fixa. Queremos assim destacar que o

material também é efetivo na solução dos diversos problemas com os quais nos deparamos na especialidade de implantodontia, não descartando todos os demais usos, principalmente no preenchimento de defeitos ou lesões ósseas, decorrentes, por exemplo, da remoção de patologias ósseas do complexo maxilo-mandibular.

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados do presente trabalho, pudemos atestar a biocompatibilidade do osso bovino associado ao sulfato de cálcio e elaborar as seguintes conclusões:

- O processo inflamatório é mais leve frente ao uso do material e mais prontamente resolvido, quando comparado ao grupo controle.
- As reações que desencadeiam a neoformação óssea ocorrem em período anterior, comprovando a efetividade de uso do material.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

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

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

AL RUHAIMI, K. A. Effect of calcium sulphate on the rate of osteogenesis in distracted bone. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 30, n. 3, p. 228-33, Jun. 2001.

ALHADAINY, H. A. et al. Use of a hydroxylapatite-based material and calcium sulfate as artificial floors to repair furcal perforations. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 86, n. 6, p. 723-729, Dec. 1998.

ALEXANDER, D. I.; MANSON, N. A.; MITCHELL, M. J. Efficacy of calcium sulfate plus decompression bone in lumbar and lumbosacral spinal fusion: preliminary results in 40 patients. **Can. J. Surg.**, Ottawa, v. 44, n. 4, p. 262-266, Aug. 2001.

ANDREANA, S. A. Combined approach for treatment of developmental groove associated periodontal defect. A case report. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 69, n. 5, p. 601-71, May. 1998.

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

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

ANUSAVISE, K. J. **Phillips Materiais Dentários**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap. 9, p. 111-112.

¹ De acordo com a NBR 14724 e NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), 2002. Abreviaturas dos Periódicos segundo "Index to Dental Literature" e SECS (Seriados em Ciências da Saúde).

BECKER, W.; BECKER, B. E. Periodontal regeneration updated. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 124, n. 7, p. 37-43, Jul. 1993.

BIER, S. J.; SINENSKY, M. C. The versatility of calcium sulfate: resolving periodontal challenges. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Lawrenceville, v. 20, n. 7, p. 655-662, Jul. 1999.

BUCHOLZ, R. W. Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 395, p. 44-52, Feb. 2002.

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

CHO, B. C. et al. Clinical application of injectable calcium sulfate on early bony consolidation in distraction osteogenesis for the treatment of craniofacial microsomia. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 13, n. 3, p. 465-477, May. 2002.

CLOKIE, C. M. et al. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. **J. Craniofac. Surg.**, Boston, v. 13, n. 1, p. 111-123, Jan. 2002.

COHEN, R. E. et al. Phenotypic characterization of molecular cells following anorganic bovine bone implantation in rats. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 65, p. 1008-1015, 1994.

CONNER, H. D. Bone grafting with a calcium sulfate barrier after root amputation. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Lawrenceville, v. 17, n. 1, p. 42-48, Jan. 1996.

DAMIEN, C. J. et al. Investigation of a hydroxyapatite and calcium sulfate composite supplemented with an osteoinductive factor. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v. 24, n. 6, p. 639-54, Jun. 1990.

DAVIS, D. R. Wheat and nutrition. **Nutrition Today**, New York, v. 16, n. 1, p. 16-21, Jul-Aug., 1981.

DE LEONARDIS, D.; PECORA, G. E. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 71, n. 6, p. 940-947, Jun. 2000.

EARNSHAW, R. Gessos. In: O'Brien, W. J.; RYGE, G. **Materiais Dentários**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. cap. 5, p. 53.

FERNÁNDEZ BODEREAU HIJO, E.; MÉNDEZ, S.; TORASSA, D. Principios fundamentales en regeneración ósea; su aplicación para implantes endoóseos: parte II. **Rev. Asoc. Odontol. Argent.**, Buenos Aires, v. 89, n. 2, p. 155-62, marzo-abr. 2001.

FRAME, J. W. Porous calcium sulphate dihydrate as a biodegradable implant in bone. **J. Dent.**, Washington, v. 3, n. 4, p. 177-87, Jul. 1975.

FRAME, J. W. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 16, n. 6, p. 642-55, Dec. 1987.

FURLANI, J. C. A. G. **Análise histológica e ultra-estrutural da neoformação óssea em enxertos bovinos inorgânicos implantados em tíbias de coelho (*Oryctolagus cuniculus*)**. 2001. 64-f. Dissertação (Mestrado em Anatomia) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

GARBIN, C. M.; GARBIN, N. M. **Enxertos ósseos e regeneração tecidual guiada: noções básicas**. São Paulo: Pancast, 1994. 97 p.

GOLDMAN, R. S. et al. Tratamento cirúrgico das lesões do periápice com implantes de sulfato de cálcio. **BCI**, Curitiba, v. 7, n. 25, p. 55-8, abr.-jun. 2000.

GUIDUGLI NETO, J.; MAGALHÃES, J.; WEINFELD, I. Modelo para estudo morfológico da reparação óssea. **Rev. Odonto**, São Bernardo do Campo, v. 1, n. 1, p. 1-2, abr-mai, 1991.

HADJIPAVLOU, A. G. et al. Plaster of Paris as an osteoconductive material for interbody vertebral fusion in mature sheep. **Spine**, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 10-15, Jan. 2000.

JAMALI, A. et al. Hydroxyapatite/Calcium Carbonate (HA/CC) vs. Plaster of Paris: A histomorphometric and radiographic study in a Rabbit tibial defect model. **Calcif. Tissue Int.**, Berlin, v. 71, n. 2, p. 172-178, Aug. 2002.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Elaboração de pão francês com farinha enriquecida de sulfato de cálcio. **Bol. Centro Pesqui. Process. Aliment.**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 157-168, jul.-dez. 2001.

- KELLY, C. M. et al. The use of a surgical grade calcium sulfate as a bone graft substitute: results of a multicenter trial. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 382, p. 42-50, Jan. 2001.
- KIM, C. K. et al. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 69, n. 12, p. 1317-24, Dec. 1998.
- KIM, S. G. et al. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 17, n. 1, p. 86-94, Jan-Feb. 2002.
- LINDE, A. et al. Osteopromotion: a soft tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 64, p. 1116-28, 1993. Suplemento.
- MACNEILL, S. R. et al. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 26, n. 4, p. 239-45, Apr. 1999.
- MESIMERIS, V.; SADE E.; BAER, P. N. Calcium sulfate as a biodegradable barrier membrane: a preliminary report on the "Surgiplast" Technique. **Periodontal Clin. Investig.**, Port Washington, v. 17, n. 1, p. 13-6, Spring 1995.
- MOORE, W. R.; GRAVES, S. E.; BAIN, G. I. Synthetic bone graft substitutes. **ANZ J. Surg.**, Melbourne, v. 71, n. 6, p. 354-361, Jun. 2001.
- NARY FILHO, H.; OKAMOTO, T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de Hapset (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental: Estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, Bauru, v. 4, n. 1/2, p. 55-64, jan.-jun. 1996.
- ORSINI, M. et al. Comparison of calcium sulfate and autogenous bone graft to bioabsorbable membranes plus autogenous bone graft in the treatment of intrabony periodontal defects: a split-mouth study. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 12, n. 3, p. 296-302, Mar. 2001.
- PAYNE, J. M. et al. Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 67, n. 3, p. 236-44, Mar. 1996.

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

PECORA, G. et. al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 84, n. 4, p. 424-9, Oct. 1997.

PECORA, G. et. al. O uso de sulfato de cálcio em endodontia. **Rev bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 2, p. 98-100, mar.-abr. 2000.

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

SCHER, E. L.; DAY, R. B. ; SPEIGHT, P. M. New bone formation after a sinus lift procedure using demineralized freeze-dried bone and tricalcium phosphate. **Implant. Dent.**, Baltimore, v. 8, n. 1, p. 49-53, 1999.

SETYA, A. B.; BISSADA, N. F. Clinical evaluation of the use of calcium sulfate in regenerative periodontal surgery for the treatment of Class III furcation involvement **Periodontal Clin. Investig.**, Port Washington, v. 21, n. 2, p. 5-14, 1999.

SHERRY, E.; BOECK H.; WARNKE, P. H. Percutaneous treatment of chronic MRSA osteomyelitis with a novel plant-derived antiseptic. **BMC Surg.**, London, v. 1, n. 1, p. 1, Mai. 2001.

SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate: an aid to periodontal, implant and restorative therapy. **J. Calif. Dent. Assoc.**, Sacramento, v. 20, n. 4, p. 45-52, Apr. 1992.

SOTTOSANTI, J. S. Aesthetic extractions with calcium sulfate and the principles of guided tissue regeneration. **Pract. Periodontics Aesthet. Dent.**, New York, v. 5, n. 5, p. 61-9, Jun-Jul. 1993.

SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate is a safe, resorbable barrier adjunct to implant surgical procedures. **Dent. Implantol Update.**, Atlanta, v. 4, n. 9, p. 69-73, Sep. 1993.

SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate-aided bone regeneration: a case report. **Periodontal Clin. Investig.**, Port Washington, v. 17, n. 2, p. 10-5, Fall 1995.

SPECTOR, M. Anorganic bovine bone and ceramic analogd of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. **Clin. Plast. Surg.**, Philadelphia, v. 21, n. 3, p. 437-44, July 1994.

SU-GWAN, K.; HAK-KYUN, K.; SUNG-CHUL, L. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, Stuttgart, v. 29, n. 5, p. 282-288, Oct. 2001.

TURNER, T. M. et al. Radiographic and histologic assessment of calcium sulfate in experimental animal models and clinical use as a resorbable bone-graft substitute, a bone-graft expander, and a method for local antibiotic delivery. One institution's experience. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 83-A, n. 2 pt. 1, p. 8-18, 2001. Suplemento.

VANNUCCHI, H. et al. Cadernos de Nutrição. **Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 2, p. 101-102, 1990.

WEINFELD, I.; MAGALHÃES, L. V.; VILLA, N. Histological study of a new biologic material (biobone) in view of bone healing. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 73, n. 4, p. 779, Apr. 1994.

WEINFELD, I.; BIRMAN, E.G.; PANELLA, J. Reações teciduais ósseas ao implante de titânio. Estudo histológico e radiográfico em ratos (*Rattus norvegicus*). **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 107-114, abr.-jun. 1996.

WEINFELD, I. et al. Estudo histológico de um novo material (Biobone) indicado para reparação óssea. **Rev. Paul. Odontol.**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 8-10, jul.-ago. 1999.

WICHELHAUS, T. A. et al. Elution characteristics of vancomycin, teicoplanin, gentamicin and clindamycin from calcium sulphate beads. **J. Antimicrob. Chemother.**, London, v. 48, n. 1, p. 117-119, Jul. 2001.

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

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