

Neoformação do Tecido Ósseo

Bone Tissue Neof ormation

Halim Nagem Filho*
Haline Drumond Nagem**
Maria Tereza F. S. D'Azevedo***
Cristina Tebechrani Fiuza****

RESUMO

Esta pesquisa foi organizada com o enfoque no conceito das relações dos biomateriais com o tecido ósseo, cujo modelo tem esclarecido o desenvolvimento tecnológico de enxertos xenógenos que mimetizam as características mecânicas e bioquímicas contidas no osso, e o surgimento de polímeros usados como arcabouços projetados para estimular o crescimento de tecido ósseo de acordo com protocolos rígidos e membranas indicadas para os casos de Regeneração Tecidual Guiada (RTG) como tratamento de defeitos periodontais horizontais e verticais. A indicação da hidroxiapatita, para ganho de altura óssea e instalação de implantes dentais, tem demonstrado resultados excelentes; tanto sem misturas ou quando os grânulos estão aglutinados com sangue do próprio paciente, formando desta maneira uma matriz mineral com poros adequados para a proliferação endotelial. Pode-se aglutinar, também, com colágeno hidrolisado combinado com o ácido polilárico-poliglicólico (PLGA), que tem proporcionado uma adaptação perfeita em defeitos periodontais para formar uma matriz em procedimentos de enxertia. Os arcabouços (*scaffolds*) são estruturas porosas, também bioabsorvíveis, em procedimentos, de enxerto com estrutura semelhante a uma esponja porosa, projetado para estimular o crescimento de tecido ósseo, especialmente indicado para defeitos periodontais. Existem, ainda, polímeros considerados inteligentes devido ao seu desdobramento, sob uma mudança abrupta, em uma de suas propriedades como a viscosidade, na presença de uma pequena alteração nas condições do entorno.

PALAVRAS-CHAVE: Regeneração tecidual guiada, Materiais biocompatíveis, Tecido ósseo.

* Prof. Titular de Materiais Dentários da FOBUSP; Expert da Certificadora Det Norske Veritas – DNV

** Doutora em Dentística opção Materiais Dentários – FOBUSP

*** Doutora em Dentística – UNITAU

**** Doutora em Dentística opção Materiais Dentários – FOU SP

Endereço para correspondência:

Prof. Halim Nagem Filho

Rua: João Poletti 4-33 – CEP: 17012-360 – Bauru – São Paulo | Tel: (14) 3313-7515 | e-mail: halim.nagem@terra.com.br

email: honorato@amazon.com.br / honorato@ufpa.br

INTRODUÇÃO

Em edêntulo parcial ou total, a ausência de estímulo sobre as estruturas de suporte da maxila ou mandíbula induz a reabsorção óssea gradativa do processo alveolar. Howe ⁽¹⁾ observou redução no trabeculado e perda óssea em largura e altura no processo alveolar após exodontias. Este fenômeno é chamado por alguns autores de atrofia óssea por desuso. A taxa de redução do rebordo mandibular é inicialmente alta, próxima de 12 mm/ano durante a fase imediata pós-extração e nivela-se estimadamente a 0,2 mm/ano após 2 anos ⁽²⁾. A redução média em altura do rebordo anterior é de 0,12 a 0,40 mm/ano ^(3,4). Este processo é crônico, progressivo, irreversível e acumulativo.

Procedimentos para estimular e direcionar os processos de reparo e renovação dos tecidos, como regeneração óssea, envolvem a implantação cirúrgica de biomateriais no local lesionado para estimular e controlar a repopulação celular. Estes biomateriais estão associados a moléculas sinalizadoras que estão envolvidas no controle do crescimento e diferenciação celular e fazem parte de um grupo distinto de fatores indutores que podem incluir células de sustentação e mecanismo de ação com propriedades de osseoindução, osseocondução, osseointegração e regeneração ⁽⁵⁾. Os mecanismos implicados in vivo na gênese do tecido ósseo promovem continuamente um equilíbrio entre formação (osteoblastos) e reabsorção (osteoclastos) óssea. Sugere-se que, para compreender melhor o mecanismo de reparo ósseo que o organismo promove, sejam explanados com maiores detalhes cada mecanismo de ação. O termo osseoindução, segundo Nakamura ⁽⁶⁾, tem sido utilizado para descrever o processo de diferenciação de células osseoprogenitoras em condroblastos e osteoblastos, resultando na regeneração do tecido danificado. A osseoindução por biomateriais tem sido demonstrada ser um fenômeno real por muitos pesquisadores ⁽⁷⁾, porém, o mecanismo exato de seu funcionamento ainda é desconhecido. Também para Giordano et al. ⁽⁸⁾, a diferenciação de um tecido, quando regida sob a influência de outro, denomina-se indução; daí o termo osseoindução. Os biomateriais tendem exercer estas funções, recorrendo aos materiais que mimetizam as características mecânicas e bioquímicas contidas no osso.

Outro conceito que pode então ser introduzido é o de osseocondução. Basicamente pode-se referir a este termo

para designar a função de carregadores dos *fatores de crescimento e diferenciação óssea* (FCDO); assim, podem funcionar como veículo que induz a neoformação óssea no caso de fraturas ⁽⁹⁾. Entende-se que os biomateriais possam exercer estas funções, recorrendo aos materiais que mimetizam as características mecânicas e bioquímicas contidas no osso. Por fim, pode-se também ser dito que o termo osseointegração ou osseopromoção ⁽¹⁰⁾ compreende o mecanismo de osseoindução e a osseocondução ou o mecanismo de formação óssea por exibição de competitividade celular através de introdução de barreira.

Membranas e Matrizes ósseas

Novas estruturas delineadas como substitutas dos enxertos autógenos adquirem um caráter importante quando elas refletem as características similares dos autógenos e possuem, como propriedades, menor reação inflamatória e condições que permitem maior invasão de tecido ósseo dentro e fora de sua estrutura num período de tempo mais curto.

O colágeno, usado na odontologia, provém de várias estruturas, principalmente de animais onde se incluem a pele, o tendão, a derme de porco, a pele e o pericárdio de bezerro. Os procedimentos de isolamento e purificação envolvem a digestão enzimática do colágeno solúvel, ou a extração química de colágeno fibrilar de tecido colagênico, seguida de processamento para a obtenção de géis, esponjas, matrizes e membranas, dependendo da aplicação. O processamento tem a função de rearranjar as fibras colágenas, de forma a diminuir a absorção de água, solubilidade, suscetibilidade à degradação enzimática e imunogenicidade e aumentar a força de tensão e o tempo de biodegradação ⁽¹¹⁾.

As membranas biológicas acompanham a utilização de enxertos ósseos, podendo ser absorvíveis ou não absorvíveis. Servem como um material de seleção celular mantendo as células ósseas confinadas, permitindo adequada cicatrização óssea ^(12, 13). Diversas pesquisas comprovaram a eficácia e a biocompatibilidade das membranas de origem colagênica na osseopromoção e regeneração tecidual guiada ^(14, 15).

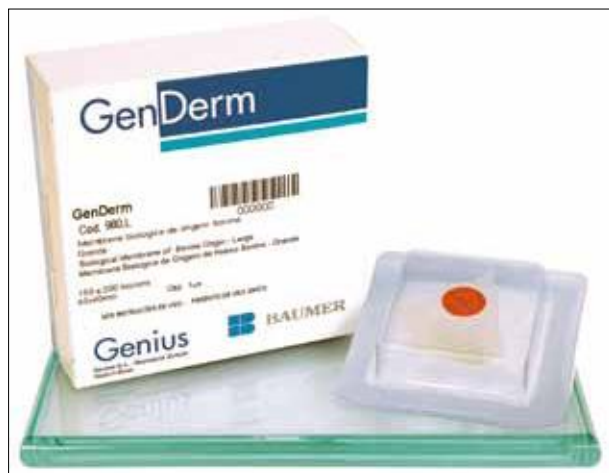


Figura 1 | Membrana bovina (Gen-Ox®, Baumer S.A).

No mercado brasileiro, existe uma membrana biológica liofilizada da cortical óssea bovina (Gen-derm® - Baumer S.A) que se constitui basicamente de fibras colágenas (figura 1), cuja indicação é para os casos de lesões ósseas periodontais ou associadas a implantes. Sua capacidade osseopromotora tem sido considerada como sucesso demonstrando o poder de acelerar ou iniciar o processo de reparo, induzindo a osseogênese.

As matrizes formadas por osso bovino de forma granulada quando inserido atua como material de implante osseointegrador, pois apresenta potencial osseogênico e quimiotático, propriedade esta atribuída à presença de proteínas ósseas morfogenéticas, presentes nestes tecidos. O produto *BoneFill* é osso extraído de fêmur bovino,



Figura 2 | Osso bovino (Bonefill).

totalmente desnaturado, isto é, não apresenta porção orgânica que possa induzir a processos imunogênicos do organismo.

Na figura 2 pode-se observar o aspecto do material em forma de grânulos que podem ser aglutinados com sangue do próprio paciente, ou com soro fisiológico, formando desta maneira uma matriz mineral com poros adequados para a proliferação endotelial.

O processamento do osso bovino pode resultar em dois tipos distintos de material: o inorgânico e o orgânico. O inorgânico é livre de proteínas e células e está caracterizado pelo elevado conteúdo de hidroxiapatita. A desproteinização é obtida através de tratamento térmico a temperaturas superiores a 300°C, mas, quanto mais alta a temperatura, menor a possibilidade de bioabsorção do material. Por outro lado, o tratamento do osso bovino com solventes orgânicos, álcalis e ácidos com concentração e temperatura controlada levam à remoção de células, detritos celulares e várias proteínas não colágenas, bem como a porção mineral, deixando um arcabouço protéico constituído basicamente de colágeno tipo I e pequena quantidade de fatores de crescimento, como a proteína morfogenética óssea.

Sanada et al. ⁽¹⁶⁾ utilizaram como matriz osso esponjoso bovino em bloco desmineralizado e concluíram que o enxerto de matriz em bloco é biocompatível sendo absorvido e substituído por tecido característico da região, sem qualquer indício de ocorrência de osteogênese ectópica.

O osso bovino inorgânico granulado também pode se apresentar aglutinado com colágeno hidrolisado combinado com o ácido polilático-poliglicólico (PLGA), para formar um arcabouço (*scaffold*) com estrutura semelhante a uma esponja porosa ou bloco de enxerto, constituído principalmente de colágeno bovino tipo I, que apresenta grande homologia com o colágeno humano, usado como matriz em procedimentos de enxertia (figura 3).

Desta maneira, as células osteoblásticas têm acesso ao tecido em regeneração e passam a povoar o arcabouço que é absorvido concomitantemente à neoformação óssea. O arcabouço absorvível flexível pode ser usado para recobrimento de rosca expostas, aumento de rebordo em volume e formações de áreas proximais ao redor de implantes e correções estéticas (figura 4).



Figura 3 | PLGA 75:25 (Bionnovation Biomedical).

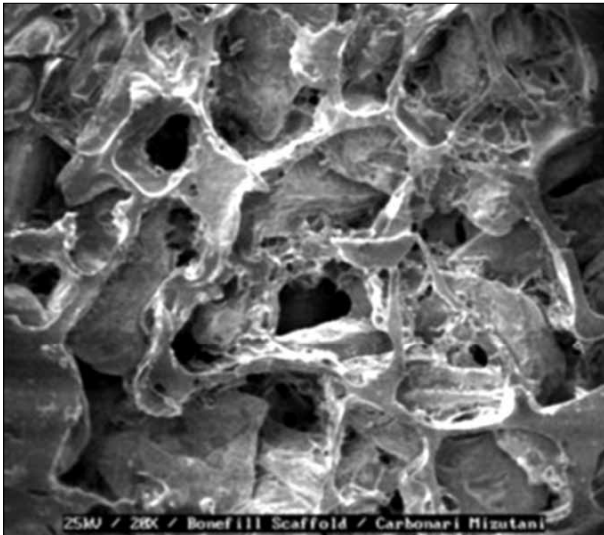


Figura 4 | Estrutura do arcabouço.

Também, o arcabouço pode ser produzido de gelatina liofilizada de origem Porcina formando uma esponja reabsorvível. Como exemplo encontra-se no mercado a esponja *Hemospon* (figura 5), um arcabouço para o preenchimento de alvéolos após extração, com poder hemostático e cicatrizante, para preservar a altura e espessura do rebordo alveolar.

O sucesso em agir como suporte se faz em cumprir os critérios de possuir propriedades de biocompatibilidade com o organismo (figura 4), os componentes nele presentes devem ser quimicamente inertes, não-carcinogênicos, hipoalergênicos, mecanicamente estáveis e não causadores de resposta inflamatória no local de aplicação. Acrescenta-se, ainda, que as características químicas e físicas adequadas combinantes àquelas do tecido que está substituindo do material não devem ser modificadas pelo tecido local⁽¹⁷⁾.



Figura 5 | Esponja hemostática (Technew).

POLÍMEROS

O início do desenvolvimento dos primeiros polímeros sintéticos faz aproximadamente um século; eles foram introduzidos no uso como biomateriais de altas propriedades mecânicas, relativamente inertes e facilmente fabricáveis em diversas aplicações biomédicas. Ao longo dos anos, os polímeros converteram-se no grupo de biomateriais mais importante e representativo. As características de bioabsorção, propriedades mecânicas e biocompatibilidade dos polímeros absorvíveis, notadamente as do poli (ácido láctico) devido ao seu elevado tempo para a degradação, os têm revelado como fortes candidatos para a substituição dos dispositivos metálicos não permanentes em osso pequenos⁽⁶⁾.

Os biomateriais mais comuns são os poli-hidroácidos de alto peso molecular formados pela abertura do anel cíclico durante a polimerização de diésteres (AN et al. 2000). Dentre eles se destacam os poliésteres alifáticos derivados de ácido glicólico, (PLGA), o ácido láctico (PLLA) e os copolímeros PLGA-PLLA, cuja principal característica é sua degradação por hidrólise, gerando produtos absorvíveis pelo organismo. Suas propriedades funcionais resultam da associação de fatores mecânicos, térmicos e viscoelásticos⁽¹⁸⁾.

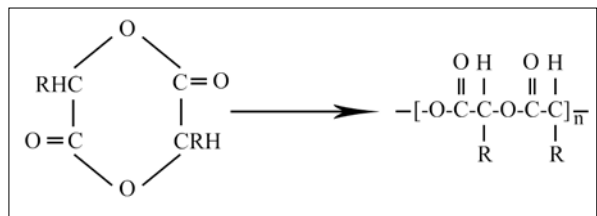


Figura 6 | Polimerização do cíclico diéster para criar poli-hidroácidos.

Para polímeros semicristalinos a degradação hidrofílica ocorre em duas fases. Na primeira fase, a água penetra na superfície do dispositivo, atacando preferencialmente as cadeias químicas da fase amorfa, convertendo longas cadeias poliméricas em cadeias menores, e finalmente em fragmentos solúveis. Devido a isso, ocorre inicialmente uma redução na massa molar da fase amorfa sem a perda das propriedades físicas. Em seguida, inicia-se a perda das propriedades físicas e a água começa a fragmentar o dispositivo. Na segunda fase, ocorre o ataque enzimático dos fragmentos. A metabolização aos fragmentos resulta em uma rápida perda de massa polimérica (fig. 6).

A adição do plastificante modifica a membrana morfológicamente, tornando-a porosa. A porosidade contribui muito para a fixação e crescimento celular, porém torna a membrana bem mais frágil mecanicamente quando comparada com uma membrana sem poros. Com estes resultados podemos dividir as membranas em dois grupos com distintas aplicações: membranas densas, absorvíveis, que não favorecem a invasão celular, porém são biocompatíveis, indicadas para regeneração guiada de tecido e membranas porosas, também bioabsorvíveis, facilmente invadidas por células, indicadas para recuperação e recomposição de tecidos moles.

Os arcabouços (*scaffolds*) são estruturas porosas, também bioabsorvíveis, em procedimentos de enxerto com estrutura semelhante a uma esponja porosa, projetado para estimular o crescimento de tecido ósseo, especialmente indicado para defeitos periodontais (Fig. 5). Desta maneira, as células osteoblásticas têm acesso ao tecido em regeneração e passa a povoar o arcabouço que é absorvido concomitantemente à produção de novo osso.

O arcabouço absorvível flexível pode ser usado para recobrimento de rosca expostas, aumento de rebordo em volume e formações de áreas proximais ao redor de implantes e correções estéticas. Acrescenta-se, ainda, que as características químicas e físicas adequadas combinantes àquelas do tecido que está substituindo do material não devem ser modificadas pelo tecido local⁽¹⁷⁾. Promover na camada óssea, proliferação, diferenciação e a viabilidade a longo prazo. Espera-se que as camadas mantenham-se o seu fenótipo e produza uma matriz extracelular que substitua finalmente o arcabouço. Estas exigências são importantes para a engenharia tecidual bem-sucedida do

tecido ósseo. As características físicas e químicas do arcabouço representam um papel vital nas camadas disseminadas ao crescer, mantendo a sua morfologia e fenótipo⁽¹⁹⁾. Estas características incluem a textura das superfícies do arcabouço, a presença, o tamanho e a distribuição dos poros. As características químicas, tais como o hidrofília, são, também, fatores importantes para determinar a capacidade de aderência das células. A habilidade de controlar o tamanho do poro de PLGA permite usá-lo como um parâmetro importante para aplicar-se na engenharia do tecido.

O co-polímero de ácido polilático e poliglicólico (PGLA) é uma membrana reabsorvível com a inclusão de plastificante (Bionnovation Biomedical). A versão com proteína óssea morfogenética (BMP) tem adição de peptídeos de indução óssea. Sua consistência proporciona uma adaptação perfeita em defeitos periodontais, ainda que complexos, e outras situações em tratamentos com implantes. Indicada para os casos de Regeneração Tecidual Guiada (RTG) como tratamento de defeitos periodontais horizontais e verticais; formação de novo osso em rebordos alveolares; recobrimento de rosca expostas; proteção contra invaginação epitelial (lâmina de tecido que se dobra sobre si mesma) em procedimentos de levantamento de seio (figura 7).



Figura 7 | Membrana reabsorvível (PGLA).

As perdas ósseas causada por enucleações de cistos ou extrações de dentes impactados ou traumas dificultam muito o trabalho do cirurgião-dentista.

Ajduković et al.⁽²⁰⁾ implantaram um composto de fosfato cálcico bifásico poli-DL-lacturo-co-glicólido (BCP/PLGA) nos defeitos alveolares e verificaram que após 24

semanas a reparação foi significativamente superior ao controle. Estes resultados indicaram um alto nível de osseorregeneração e a atividade osteobástica. O sintético arcabouço BCP/PLGA pertence ao grupo dos biomateriais que facilitam a formação de osso novo e a reabilitação de osso alveolar. Por causa de suas características o composto BCP/PLGA é considerado um material de primeira escolha para substituir, no futuro, o tecido ósseo

Outro destes polímeros é o poli (ácido-lático) que pode ser utilizado sob a forma de membranas que funcionam como suporte para fixação e crescimento celular ou como separação entre tecidos moles e tecidos ósseos em recuperação (regeneração guiada de tecido). O poli L-ácido láctico (PLLA) é derivado do ácido láctico que possui um grupo hidroxílico e um grupo carboxílico podendo ser facilmente convertido em poliéster. Algumas das vantagens dos polímeros derivados do ácido láctico é a alta resistência, o comportamento termoplástico, a biocompatibilidade, e a sensibilidade à água, visto que se degradam lentamente comparados com os polímeros solúveis que incham na água (GAJRIA et al 1996). Como exemplo de aplicação pode-se citar o poli (L-lactídeo) (PLLA) semicristalino que tem sido utilizado em tecidos de fixação temporária com boa resistência mecânica (figura 8). Outra vantagem das membranas bioabsorvíveis é que podem ser adaptadas à geometria do osso *in vivo* se aquecendo acima da temperatura de transição do vidro.



Figura 8 | Membrana PLLA (Bionnovation Biomedical).

As membranas denominadas pH-dependente são polímeros pH-sensíveis que apresentam grupos laterais ácidos como o carboxílico ou sulfônico, ou básicos como as

aminas ao longo da cadeia polimérica que se ionizam ou não, dependendo do pH do meio. Por exemplo, matrizes dos ácidos polimetacrílico (PMAA) e poliacrílico (PAA) paralisam ou se expandem dependendo da acidez do meio. Hoffman et al. ⁽²¹⁾ descreveram a utilização de ácido polipropilacrílico para a liberação intracelular *in vivo*.

Outra família de materiais RTG (Reverse Thermal Gelation) de suma importância são os polímeros segmentados de poli (óxido de etileno) e poli (óxido de propileno) (PEO-PPO), comercialmente conhecidos como Pluronic (lineares e bifuncionais) e Tetronic (ramificados e tetrafuncionais). A concentração dos mesmos pode ser ajustada adequadamente para a obtenção de uma transição sol-gel na temperatura desejada e com uma magnitude determinada⁽²²⁾.

Materiais Inteligentes

Com incorporação de novas tecnologias dos sistemas existentes, o processo para estimativa das propriedades de um biomaterial depende do caminho destinado a determinar os fenômenos desejados, com base em informações sobre os ingredientes poliméricos das membranas e as condições de produção, em etapas, que vão determinar sucessivamente o estado da estrutura e estimar as propriedades do biomaterial a partir do estado final da estrutura orgânica. Ajustar as propriedades à aplicações mais específicas, nos últimos anos tem-se projetado biomateriais que apresentam um comportamento dual, sendo sensíveis a mais de um estímulo.

Peppas et al. ⁽²³⁾ desenvolveram polímeros à base de poli(acrilamida-ácido poli(acrilato)) que mostraram sensibilidade tanto com a temperatura como ao pH 7,0.

Materiais inteligentes são aqueles que desdobram sob uma mudança abrupta em uma de suas propriedades como a viscosidade, na presença de uma pequena alteração nas condições do entorno. O estímulo pode ser físico como a temperatura, a força iônica, o estresse mecânico e o campo magnético ou elétrico, sendo também estímulo químico como o pH ou bioquímico como substratos de enzimas ou ligantes específicos ⁽²⁴⁾. Estes materiais podem ser classificados em duas categorias: ⁽¹⁾ sensíveis positivos se possuem uma temperatura superior crítica de solução e se contraem por esfriamento abaixo desta temperatura ⁽²¹⁾ ou ⁽²⁾ sensíveis negativos quando desdobram uma temperatura

mínima crítica da solução e se contraem por aquecimento acima dela. Este fenômeno também conhecido como Geleificação Térmica Inversa (Reverse Thermal Gelation, RTG) constitui uma das estruturas mais promissoras para o desenvolvimento de biomateriais injetáveis.

CONCLUSÕES

Em face das inferências observadas na exposição teórica pode-se concluir que:

1. As estruturas constituídas por osso bovino, sejam em forma de uma membrana biológica liofilizada da cortical óssea, funcionam como suporte para fixação e crescimento celular ou como separação entre tecidos moles
2. Estruturas, em forma de blocos esponjosos, de osso desmineralizado, inorgânico, granulado e aglutinado com colágeno funcionam como matriz em procedimentos de enxertia.
3. Estruturas em forma de blocos esponjosos reabsorvíveis produzidas de gelatina liofilizada de origem Porcina funcionam como arcabouços para o preenchimento de alvéolos após extração, com poder hemostático e cicatrizante, para preservar a altura e espessura do rebordo alveolar.

ABSTRACT

This research was developed focusing the concept of biomaterials related to bone tissue, model that clarified the technological development of xenogenic grafts simulating the biological and mechanical bone characteristics, and polymers outcome, used as frameworks, designed to stimulate the bone tissue growing according with rigid protocols and indicated membranes to Guided Tissue Regeneration (GTR) cases for treatment periodontal defects both vertical and horizontal. The indication of the hydroxyapatite, increase the height of the bone and installation of dental implantations has demonstrated resulted excellent promoted rigid stabilization of the implantations, assuring the optimizing of the treatment and the benefit to the patient.; as much without mixtures or when the granules are agglutinated with blood of the proper patient, forming in this way a mineral matrix with pores adjusted for the endothelial proliferation. It can be agglutinated, also, with hydrolyzed collagen combined with the PLGA that it has provides a perfect adaptation in periodontals defects to form a matrix in grafts procedures. The scaffolds are porous structures, also absorbable, in procedures, of graft with similar to a porous sponge, projected structure to stimulate the bone tissue growth, especially indicated for periodontals. Defects still, polymers considered intelligent had to its unfolding, under an abrupt change, in one of its properties as viscosity, in the presence of a small alteration in the conditions of surrounding.

KEYWORDS: Guided Tissue Regeneration. Biocompatible Materials. Bone Tissue.

Recebido em: fevereiro de 2009

Aprovado: abril de 2009

REFERÊNCIAS

1. Howe, G. L. Preprosthetic surgery in the lower labial sulcus. *Dent Pract Dent Rec*. 1965 Dec;16(4):119-24.
2. Hillerup, S. Mandibular vestibuloplasty: experimental and clinical studies. *Dan Med Bull*. 1991 Apr;38(2):97-113.
3. Tallgren, A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed-longitudinal study covering 25 years. *J Prosthet Dent*. 1972 Feb;27(2):120-32.
4. Atwood, D. A. Bone loss in edentulous alveolar ridges. *J Periodontol*. 1979 Apr;50(4 Spec No): 11-21.
5. Akay, G.; Birch, M. A.; Bokhari, M. A. Microcellular polyHIPE polymer supports osteoblast growth and bone formation in vitro. *Biomaterials*. 2004 Aug;25(18):3991-4000.
6. Nakamura, T. Biomaterial osteoinduction. *J Orthop Sci*. 2007 Mar;12(2):111-2.
7. Habibovic, P.; Sees, T. M.; van den Doel, M. A. van Blitterswijk, C. A.; de Groot, K. Osteoinduction by biomaterials--physicochemical and structural influences. *J Biomed Mater Res A*. 2006 Jun 15;77(4):747-62.
8. Giordano, V.; Giordano, M.; Knackfuss, I. G. Perspectivas na consolidação das fraturas. *AOT: Arq Ortop Traumatol*. 2003 maio;1(1):6-8.
9. Mulatinho, J.; Taga, R. Aplicação de Osseobond e biohapatita em caso de colocação imediata de implante de titânio: estudo clínico e histológico. *Rev. Bras. Implant*. 1996 jul-ago;2(4):11-15.
10. Kienapfel, H.; Sprey, C.; Wilke, A.; Griss, P. Implant fixation by bone ingrowth. *J Arthroplasty*. 1999 Apr;14(3):355-68.
11. Pachence, J. M. Collagen-based devices for soft tissue repair. *J Biomed Mater Res*. 1996 Spring;33(1):35-40.
12. Becker, W.; Schenk, R.; Higuchi, K.; Lekholm, U.; Becker, B. E. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995 Mar-Apr;10(2):143-54.
13. Oliveira, R. B.; Nurkim, N. L.; Falkenberg, G. B.; Bernd, G.; Henz, S. L. Regeneração tecidual guiada: princípios biológicos e cirúrgicos atuais. *Rev Odonto Ciênc*. 1997 jun;12(23):25-42.
14. Owens, K. W.; Yukna, R. A. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent*. 2001 Jun;10(1):49-58.
15. Bunyaratavej, P.; Wang, H. L. Collagen membranes: a review. *J Periodontol*. 2001 Feb;72(2):215-29.
16. Sanada, J. T.; Rodrigues, J. G. R.; Canova, G. C.; Cestari, T. M.; Taga, E. M.; Taga, R.; et al. [Histologic, radiographic and imunoglobuline profile analysis after implantation blocks of demineralized bovine cancellous bone graft in muscle of rats]. *J Appl Oral Sci*. 2003 Jul-Sep;11(3):209-215. Portuguese.
17. Athanasiou, K. A.; Niederauer, G. G.; Agrawal, C. M.; Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. *Biomaterials*. 1996 Jan;17(2):93-102.
18. Vanin, M. C. C. S.; Torriani ÍL, Privelic T, Duek EAR. [In vitro study of degradation of poly(beta-hydroxybutyrate) (PHB) / poly(L-lactic acid) (PLLA) blends in the form of films]. *Polímeros*. 2004 Jul-Sep;14(3):187-93. Portuguese.
19. Ramires, P. A.; Giuffrida, A.; Milella, E. Three-dimensional reconstruction of confocal laser microscopy images to study the behavior of osteoblastic cells grown on biomaterials. *Biomaterials*. 2002 Jan;23(2):397-406.
20. Ajduković, Z.; Ignjatović, N.; Petrović, D.; Uskoković, D. Substitution of osteoporotic alveolar bone by biphasic calcium phosphate/poly-DL-lactide-co-glycolide biomaterials. *J Biomater Appl*. 2007 Jan;21(3):317-28.
21. Hoffman, A. S.; Stayton, P. S.; Press, O.; Murthy, N.; Lackey, C. A.; Cheung, C.; et al. Design of "smart" Polymers that can direct intracellular drug delivery. *Polym Adv Technol*. 2002;13(10-12):992-9.
22. Sosnik, A. Diseño de biomateriales inyectables para aplicaciones biomedicas y farmacéuticas: pasado, presente y futuro de los implantes generados in situ. *Ars Pharm*. 2007;48(1):83-102.
23. Peppas, N. A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm*. 2000 Jul;50(1):27-46.
24. Nivasu, V. M.; Reddy, T. T.; Tammishetti, S. In situ polymerizable polyethyleneglycol containing polyesterpolyol acrylates for tissue sealant applications. *Biomaterials*. 2004 Jul;25(16):3283-91.