

BIOSILICATO®: HISTÓRICO DE UMA VITROCERÂMICA BRASILEIRA DE ELEVADA BIOATIVIDADE

Renato Luiz Siqueira* e Edgar Dutra Zanotto

Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 16/10/10; aceito em 12/2/11; publicado na web em 15/4/11

BIOSILICATE®: HISTORICAL OF A HIGHLY BIOACTIVE BRAZILIAN GLASS-CERAMIC. This paper presents a historical of the Biosilicate®, a bioactive glass-ceramic developed at the Vitreous Materials Laboratory of the Federal University of São Carlos, Brazil. After decades of study accomplished with bioactive glasses and glass-ceramics, Biosilicate® results from a natural evolution and has similar bioactivity index, but far superior mechanical properties than of all bioactive glasses. Biosilicate® is almost fully crystalline and also exhibits much higher bioactivity than all the currently commercially available bioactive glass-ceramics. Due to its special characteristics, Biosilicate® has been successfully tested for several medical and dental applications as we thoroughly discuss in this review paper.

Keywords: bioactive materials; Bioglass 45S5®; Biosilicate®.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais que promovam a reparação de tecidos vivos lesionados visando o rápido restabelecimento de suas funções fisiológicas tem sido objeto de intensa e crescente investigação em nível mundial.¹⁻⁴ Em se tratando da regeneração, ou mesmo reposição de partes do tecido ósseo, as cerâmicas têm sido uma das classes de materiais mais pesquisadas em função de sua ampla possibilidade de uso, que se estende desde o emprego isolado do material, que pode ser processado sob diferentes formas e morfologias, até o revestimento de próteses metálicas e configurações de sistemas híbridos organoinorgânicos a partir de sua associação com polímeros naturais e sintéticos ou mesmo combinados com moléculas e células instrutivas, caso essas não estejam disponíveis para serem mobilizadas.^{1,5-9}

Embora a utilização de cerâmicas destinadas à reconstituição de ossos e dentes venha sendo realizada há séculos, na prática clínica o uso controlado desses materiais somente teve início no final do século XVIII com o emprego de porcelana para a confecção de coroas dentárias em Odontologia. Na Ortopedia, esse início se deu no final do século XIX com o uso do gesso (sulfato de cálcio hidratado, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sendo empregado para preenchimento ósseo.^{9,10} No intuito de se atender aos requisitos exigidos de materiais dedicados a aplicações cada vez mais específicas, no século XX inúmeras biocerâmicas de “alta tecnologia” tornaram-se disponíveis para fins biomédicos.^{1,5-13} Em 1920, Albee e Morrison relataram as primeiras aplicações de cerâmicas pertencentes à família dos fosfatos de cálcio para reparação óssea, imaginando, na ocasião, se tratar de um composto formado unicamente por fosfato tricálcio (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).¹⁴ Possivelmente, a primeira aplicação dentária desses materiais foi relatada por Nery *et al.*¹⁵ 50 anos mais tarde, que fizeram uso de um material poroso obtido pela sinterização do até então descrito TCP, que posteriormente demonstrou ser, na verdade, uma mistura constituída por hidroxiapatita (HA, $(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) e β -TCP.^{16,17} Biocerâmicas apresentando elevada biocompatibilidade e resistência

mecânica, destinadas à elaboração de próteses ortopédicas para substituição de ossos ou parte deles que são submetidas, na sua atividade funcional, a esforços elevados, não foram atingidas antes de 1965, quando a primeira alumina densa (α - Al_2O_3), dedicada à reposição de articulações do quadril foi desenvolvida.^{9,10} Poucos anos depois, no final da década de 60, outro advento proporcionou significativas mudanças, tanto no conceito como na aplicação das biocerâmicas: o surgimento dos vidros bioativos.¹⁸ Dada a importância desses materiais, seu desenvolvimento reflete até hoje algumas tendências observadas nesse segmento, que tem tido como foco a promoção da regeneração tecidual em vez de sua simples substituição.^{1,3-7,9-13,17,18}

É importante deixar claro que o uso das biocerâmicas não se restringe aos procedimentos biomédicos destinados à reparação do tecido ósseo. Elas podem também ser usadas para reparar ou mesmo substituir partes do sistema cardiovascular, especialmente válvulas cardíacas, bem como serem utilizadas, de forma terapêutica, no tratamento de tumores. Uma descrição detalhada dessas e de diversas outras aplicações para as biocerâmicas não faz parte do escopo deste trabalho, no entanto ficam como sugestão de leitura as refs. 1,2,5,9 e 13, que o fazem de maneira suntuosa.

VIDROS E VITROCERÂMICAS BIOATIVAS

Como previamente mencionado, o estudo de cerâmicas bioativas teve início no final da década de 60 com o desenvolvimento de certos vidros silicatos. Resultado dos trabalhos pioneiros de Hench *et al.*,¹⁸ entre 1969 e 1971, surge o Bioglass® 45S5, vidro do sistema quaternário SiO_2 - CaO - Na_2O - P_2O_5 que exhibe notáveis propriedades de interação com os tecidos vivos. Na oportunidade, o termo bioatividade foi utilizado pela primeira vez para descrever a habilidade que esse material apresenta de se ligar fortemente ao tecido ósseo. Quando implantado no organismo, uma camada de HA biologicamente ativa se forma na superfície desse material, o que promove uma interface ligada ao tecido. A fase HA formada possui composição química e estrutura equivalente à fase mineral do tecido ósseo, o que resulta na forte ligação interfacial observada.^{1,5,7,9,11} Hoje, já é de conhecimento que outros materiais também podem ser bioativos, como, por exem-

*e-mail: rastosfix@gmail.com

plo, novas composições de vidros, vitrocerâmicas e as cerâmicas da família dos fosfatos de cálcio.^{9,12,13,17,19,20} Convém ainda citar alguns metais e ligas, desde que sob condições especiais de tratamento superficial.^{11,21}

Por suas características intrínsecas e natureza distinta, é de se esperar que os materiais bioativos apresentem índices de bioatividade variados, ou seja, diferentes tempos para o estabelecimento de ligação com o tecido. O índice de bioatividade (I_B) de um material pode ser relacionado com o tempo, t , em dias, para que mais de 50% de sua superfície esteja ligada às células do tecido, sendo $I_B = 100/t_{0,5bb}$. A HA, por exemplo, apresenta esse índice muito inferior ao de alguns vidros e vitrocerâmicas bioativas. De acordo com Hench, o índice de bioatividade do Bioglass® 45S5 é 12,5, ao passo que o da HA é de 3,1.²² Dessa forma, enquanto o Bioglass® 45S5 levaria cerca de 8 dias para que 50% de sua superfície estivesse ligada às células do tecido, a HA levaria cerca de 32, se utilizados sob as mesmas condições experimentais.

Em geral, um maior índice de bioatividade é alcançado com materiais vítreos, contudo esses materiais apresentam baixos valores de propriedades mecânicas, o que impede a sua ampla utilização como implantes, em situações em que o implante é submetido a condições de grandes sollicitações mecânicas. Por outro lado, as cerâmicas e vitrocerâmicas bioativas apresentam propriedades mecânicas superiores às dos vidros bioativos, porém a introdução de cristalinidade no material, necessária para a obtenção de cerâmicas e vitrocerâmicas pode, em princípio, reduzir drasticamente seu índice de bioatividade. Dessa forma, de modo geral existem vidros bioativos com elevado índice de bioatividade e baixas propriedades mecânicas, e cerâmicas e vitrocerâmicas com elevadas propriedades mecânicas e baixo índice de bioatividade.^{9,20,22}

Em se tratando apenas dos vidros e vitrocerâmicas bioativas, tem sido observado na literatura que somente uma série de composições limitada exhibe alto índice de bioatividade. A relação entre composição e bioatividade para vidros do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$, obtidos pelo processo de fusão/solidificação, é mostrada na Figura 1, na qual é assumida concentração constante de 6% em massa de P_2O_5 .^{5,9} No diagrama, as delimitações em cinza indicam o limite cinético e não o de equilíbrio de fases.

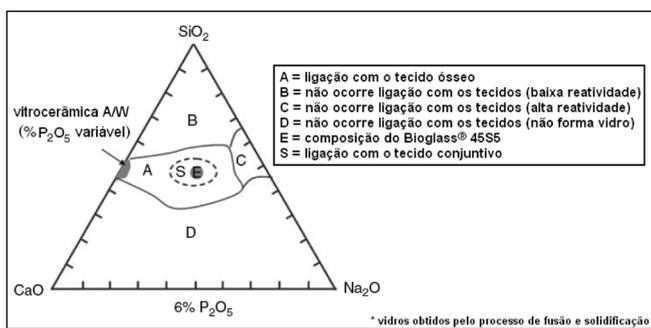


Figura 1. Diagrama ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ mostrando a relação existente entre composição e índice de bioatividade. Adaptada das refs. 5 e 9

Na região central do diagrama mostrado na Figura 1, designada pela letra E, se encontram as composições dos vidros que exibem o índice de bioatividade mais elevado para esse sistema. As composições que contêm de 52 a 60% em massa de SiO_2 apresentam taxas de ligação mais lentas com o tecido ósseo. Acima de 60% de SiO_2 (região B), não há formação de ligação com o tecido, assumindo o material comportamento bioinerte, termo comumente utilizado para materiais que, ao serem implantados no organismo, apresentam uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição

do tecido hospedeiro, havendo apenas formação de uma membrana de tecido fibroso ao redor do material com o propósito de isolá-lo, prevenindo assim possíveis interações adicionais.^{5,9,10,23} No entanto, com o aumento da área de superfície do material, que pode ser conseguido tanto pelo seu processamento em diferentes formas e morfologias como também pela utilização de outra metodologia de síntese, como é o caso do processo sol-gel, esse intervalo de concentração de SiO_2 pode ser estendido conservando-se ainda elevados índices de bioatividade.^{7,9,13,19,18,22} Adicionando-se determinados componentes ao sistema que contenham cátions polivalentes, tais como Al^{3+} , Ti^{4+} ou Ta^{5+} , é observada redução da bioatividade do material à medida que a concentração dessas espécies aumenta.^{9,24} A base científica para a habilidade que uma dada composição de vidro apresenta em se ligar aos tecidos está associada com a taxa das reações na sua superfície. Todavia, são essas mesmas espécies polivalentes, incluindo o Si^{4+} , que estruturam a rede vítrea e, portanto, são as mesmas que regulam como e com que intensidade as reações de superfície irão ocorrer.

Até 1981, imaginava-se que somente o tecido ósseo podia interagir com os materiais bioativos. Wilson *et al.*²⁵ foram os primeiros a demonstrar que o Bioglass® 45S5 também exibia interação com o tecido conjuntivo, desde que a interface estivesse imóvel. Posteriormente, esses autores ainda mostraram que apenas os vidros com taxas rápidas de reação superficial são capazes de interagir com o tecido conjuntivo, restringindo de maneira considerável as composições que exibem essa propriedade, conforme pode ser observado no diagrama da Figura 1 (região S). Essa constatação serviu de base para o uso do Bioglass® 45S5 em procedimentos cirúrgicos destinados à reconstituição da cadeia ossicular, conhecido como ossiculoplastia, e também na sua aplicação para a preservação do rebordo alveolar em pacientes submetidos à exodontia (extração dos dentes) e posterior colocação de implantes.^{5,9,18}

A proposição que se admite por trás dessa importante descoberta para o avanço da medicina regenerativa é que os produtos da dissolução desses materiais podem exercer um controle genético sobre o ciclo celular de osteoblastos, que são as células osteoprogenitoras, e uma rápida expressão de genes que regulam a osteogênese e a produção de fatores de crescimento.^{18,26} Sete famílias de genes são reguladas quando osteoblastos humanos primários são expostos a produtos iônicos da dissolução dos vidros bioativos. Nesse sentido, o silício tem sido considerado o elemento químico de maior importância para a mineralização do tecido, tanto pelo estímulo para a formação de colágeno tipo I como por favorecer a diferenciação celular envolvida no processo.^{7,27}

É importante frisar que, por causa de todas essas propriedades, grande parte do desenvolvimento e aplicação dos biomateriais cerâmicos destinados à reparação óssea tem sido focada no conceito de bioatividade, aliado ao fato de que a essência das tendências atuais tem sido despertar a capacidade do corpo para a regeneração.^{1,2,3,4,28} Nessa área em expansão, destaca-se a utilização das cerâmicas bioativas para a engenharia de tecidos, na qual elas são arquitetadas de forma a se maximizar toda a sua potencialidade, reproduzindo, sempre que possível, a estrutura natural apresentada pelos sistemas vivos.^{1,7,9,29}

Testes de bioatividade *in vitro*

Diante das dificuldades experimentais e problemas éticos inerentes aos procedimentos *in vivo* para se avaliar a bioatividade de um determinado material, na qual são envolvidos procedimentos cirúrgicos e, na maioria dos casos, posterior sacrifício dos animais envolvidos, vários procedimentos *in vitro* têm sido propostos buscando reproduzir, da maneira mais fiel possível, o que se tem observado *in vivo*. A primeira questão a ser colocada é: como saber se um material é ou não bioativo? Os materiais bioativos desenvolvidos até o momento apresentam

a habilidade de formação em sua superfície de uma camada de HA quando em contato com os tecidos vivos, ligando-se quimicamente ao tecido ósseo.^{9,11,30} Por sua vez, essa habilidade que os materiais bioativos apresentam pode ser reproduzida *in vitro*, desde que o material seja exposto a um meio apropriado. Assim, com base nos resultados obtidos, é possível traçar um direcionamento, devendo a formação *in vitro* de HA na superfície do material ser considerada como um indício de que o material possa mesmo vir a ser bioativo, o que reduz, de forma significativa, o número de experimentos que seriam realizados *in vivo*.⁹

Mesmo não sendo o foco deste trabalho, achamos pertinente abordar algumas questões em relação aos testes de bioatividade *in vitro* conduzidos em meio celular, devido à sua grande difusão no meio científico. Estudos pioneiros desse tipo foram realizados por Pantano Jr. *et al.*,³¹ que mostraram o crescimento de uma camada rica em íons cálcio e fosfato na superfície do Bioglass® 45S5 logo após a sua imersão em uma solução aquosa contendo ácido clorídrico (HCl) e tris(hidroximetil)aminometano (NH₂C(CH₂OH)₃) como agente tamponante (tampão tris). No entanto, posteriormente foi verificado para outros sistemas, inclusive alguns com bioatividade comprovada *in vivo*, que não ocorria o crescimento dessa camada rica em íons Ca²⁺ e PO₄³⁻ ao serem imersos no tampão tris.^{9,32} Em 1990, Kokubo *et al.*³³ propuseram uma nova solução aquosa para testes de bioatividade contendo concentrações de íons semelhantes àquelas que são encontradas no plasma sanguíneo humano, utilizando também, como agente tamponante, o tris(hidroximetil)aminometano.^{9,33} Tal solução foi capaz de induzir mudanças estruturais na superfície de materiais bioativos semelhantes às que são apresentadas *in vivo*, ou seja, formava-se a camada de HA. Desse modo, os resultados apresentados por esses autores indicaram a necessidade de uma seleção cuidadosa para o tipo de solução a ser empregada na avaliação da bioatividade *in vitro*, que deve, em sua essência, simular o comportamento das reações superficiais que ocorrem *in vivo*. Essa solução desenvolvida por Kokubo *et al.*³³ é designada pela sigla SBF (*simulated body fluid*) e é celular, livre de proteínas e apresenta um pH de 7,40. Na Tabela 1, consta a composição dessa solução bem como as novas composições que se originaram a partir de sua implementação.^{9,33,34}

A primeira solução SBF proposta não apresentava em sua composição íons sulfato, que também estão presentes no plasma sanguíneo humano. Em 1991, a concentração iônica da solução foi corrigida, como mostra a Tabela 1, e, a partir de então, tem sido muito empregada para se avaliar a bioatividade de inúmeros materiais.^{9,11-13,19-21,33} Deve-se notar, no entanto, que a solução SBF corrigida exibe maior concentração de íons cloreto e menor concentração de íons bicarbonato que o plasma sanguíneo, Tabela 1. Em 2001, Kim *et al.*³⁴ propuseram uma solução SBF revisada, na qual ambas as concentrações de cloreto e íons bicarbonato foram equiparadas às contidas no plasma sanguíneo humano. Contudo, carbonato de cálcio tende a precipitar nessa solução revisada quando é armazenada ou mesmo durante a realização dos ensaios de bioatividade. Em função disso, Takadama *et al.*³⁵ propuseram uma nova e melhorada solução SBF, em que apenas a concentração de íons cloreto foi igualada com a concentração presente

no plasma sanguíneo. Essa nova solução SBF foi comparada com a solução SBF corrigida, tanto em estabilidade como na capacidade de reproduzir a formação de HA na superfície de materiais sintéticos em 10 diferentes institutos de pesquisa.⁹ Verificou-se que não houve diferença entre elas. Pelos resultados então obtidos, a solução SBF corrigida foi proposta e aprovada em junho de 2007 pela Organização Internacional de Normalização (*International Organization for Standardization* – ISO) como a solução indicada para se avaliar *in vitro* a capacidade de formação de HA na superfície de materiais destinados a implantes (norma ISO 23317: 2007).³⁶

Atualmente, a maneira mais usual de se realizar os procedimentos para testes de bioatividade *in vitro* consiste na imersão do material a ser testado em solução SBF por períodos de tempo entre aproximadamente 3 h e 15 dias, com posterior verificação de formação ou não de HA na superfície do material.³³ Materiais com diferentes índices de bioatividade são classificados de acordo com o tempo necessário para o aparecimento da camada de HA. Para explicar as reações que ocorrem na superfície de materiais bioativos, quando imersos em solução SBF, alguns mecanismos têm sido propostos.^{5,7,9,19-21,30,37} Considerando-se um biovidro do sistema SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅, resumidamente esse processo pode ser descrito em 5 estágios (Figura 2):

Estágio 1: rápida troca iônica entre íons Na⁺ e Ca²⁺ pertencentes à superfície do material com íons H⁺ da solução, ocasionando aumento do pH do meio e formação de grupos silanol (Si-OH):



Estágio 2: liberação de sílica solúvel do material para a solução na forma Si(OH)₄, sendo resultado da quebra de ligações siloxano (Si-O-Si) e contínua formação de grupos silanol:



Estágio 3: policondensação dos grupos silanol formando uma camada porosa rica em sílica na superfície do material exaurida de íons Na⁺ e Ca⁺:



Estágio 4: aumento da concentração de íons na solução com o passar do tempo, ocorrendo posterior formação de um filme amorfo, rico em Ca²⁺ e PO₄³⁻ na superfície do material, quando o ponto de saturação da solução é alcançado. A alta área superficial da camada rica em sílica age como uma fonte de sítios para a nucleação heterogênea do filme, que cresce pela incorporação de mais íons Ca²⁺ e PO₄³⁻ presentes na solução;

Estágio 5: formação da HA na superfície do material em consequência da cristalização do filme amorfo, rico em íons Ca²⁺ e PO₄³⁻, pela incorporação dos ânions OH⁻ e CO₃²⁻ presentes na solução.

Tabela 1. Concentração iônica do plasma sanguíneo humano e das soluções SBF⁺ propostas para avaliação da bioatividade *in vitro*^{9,33,34}

Simulated Body Fluid (SBF)	Concentração iônica (mmol L ⁻¹)							
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
ISO 23317 (junho de 2007)								
Plasma sanguíneo humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
*SBF (original)	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	4,2	1,0	–
*SBF (corrigida)	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5
**SBF (revisada)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
**SBF (melhorada)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	4,2	1,0	0,5

*Tampão utilizado: tris(hidroximetil)aminometano (TRIS). **Tampão utilizado: ácido N-2-hidroxietilpiperazino-N'-2-etanosulfônico (HEPES)

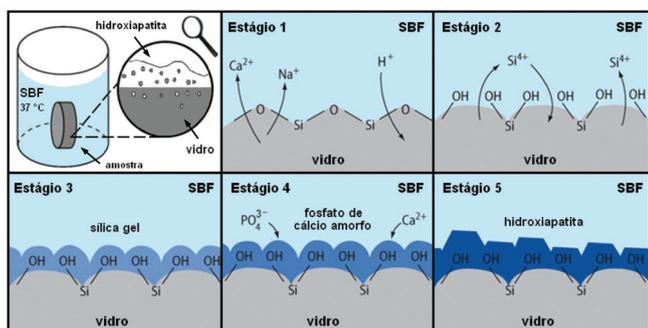


Figura 2. Representação esquemática do mecanismo de formação da HA na superfície de um vidro bioativo do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$. Adaptada das refs. 9 e 37

No caso dos metais bioativos, o mecanismo proposto é semelhante. Em vez de serem formadas ligações do tipo Si-O-Si, são formadas ligações Ti-O-Ti ou Ta-O-Ta, no caso do titânio e tântalo, respectivamente.^{9,11,21}

Pelo exposto a respeito dos procedimentos *in vitro* para se testar a bioatividade de um dado material (não se considerando a influência de proteínas e células no meio), é notável o quanto são interessantes; contudo, uma questão é inevitável: tais procedimentos são realmente capazes de reproduzir o que é observado *in vivo*? De acordo com Bohner *et al.*,³⁸ ainda não existem dados científicos suficientes para apoiar essa hipótese e, mesmo que ela seja válida, a forma como normalmente o teste é realizado deixa espaço a muitas melhorias. Por outro lado, estudos comparativos têm demonstrado que há boa correlação entre os experimentos realizados *in vitro* e *in vivo*.^{9,39} De nosso conhecimento, podemos citar apenas dois casos discrepantes. Um envolvendo o carbonato de cálcio (calcita, CaCO_3) e o outro envolvendo o β -TCP.^{9,40} Por essa razão, acreditamos na validade desses testes, desde que sejam realizados com muito critério e os padrões adotados para a sua realização sejam muito bem estabelecidos. Isso, porque, durante a realização dos testes, vários parâmetros podem interferir no processo de nucleação dos fosfatos de cálcio amorfo e, conseqüentemente, na formação da HA na superfície do material em estudo. Dentre esses parâmetros, estão as condições de superfície e de tratamento do substrato, a concentração iônica e o pH da solução, o tempo e a natureza da exposição (estático ou dinâmico), além da razão entre a área de superfície da amostra e o volume de solução adequado a se utilizar.^{9,19,21,33} Por conseguinte, torna-se perceptível que esses testes *in vitro* são fortemente dependentes das condições experimentais adotadas, devendo, portanto, ser conduzidos apenas com o intuito de se avaliar o potencial de bioatividade do material, e não como um teste conclusivo sobre essa questão.

DESENVOLVIMENTO DO BIOSILICATO®

Mesmo com toda a potencialidade dos vidros bioativos em promover a regeneração do tecido ósseo, o baixo desempenho mecânico, a fratura concoidal (cortante) e a limitada usinabilidade desses materiais têm restringido bastante a sua utilização em diversos setores, inclusive na engenharia de tecidos. Um caminho promissor para minimizar tais problemas tem sido a formulação de materiais híbridos organoinorgânicos a partir de suas combinações com materiais poliméricos, tais como o álcool polivinílico (PVA), o polimetilmetacrilato (PMMA), a quitosana ou mesmo o colágeno, que é uma proteína estrutural naturalmente responsável por conferir resistência à tração e dureza para muitos tecidos, inclusive para o tecido ósseo.^{1,5,9,10,13,30}

Outra possibilidade seria a obtenção de vitrocerâmicas a partir da cristalização controlada desses vidros, que, além de poderem exibir

melhores propriedades mecânicas, também estariam aptas para a elaboração desses compósitos híbridos, podendo até configurar materiais com resistência superior, quando comparados aos compósitos formulados com os vidros bioativos. Entretanto, como mencionado anteriormente, a introdução de cristalinidade no material geralmente reduz seu índice de bioatividade. Em função disso, a utilização das vitrocerâmicas também tem sido restrita, uma vez que, para interagir com o tecido conjuntivo e, conseqüentemente, atender aos requisitos que são exigidos de materiais destinados à elaboração de matrizes para a engenharia de tecidos é necessário índice de bioatividade superior a 8 ($I_B > 8$).^{1,5,9,22,30}

A relevância desse problema estimulou o grupo de pesquisa do Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos, coordenado pelo Prof. Dr. Edgar D. Zanotto – contando inicialmente com a colaboração do Prof. Dr. Larry L. Hench (o inventor dos biovidros) – a buscar vitrocerâmicas que conservassem o elevado índice de bioatividade apresentado pelos vidros bioativos e, ao mesmo tempo, apresentassem propriedades mecânicas superiores. O caminho escolhido foi o de produzir vitrocerâmicas a partir de composições próximas à do Bioglass® 45S5, com microestrutura muito bem controlada, garantindo a melhoria das propriedades mecânicas em relação aos vidros de partida, e na qual o mecanismo de bioatividade fosse idêntico ao dos vidros bioativos. A ideia era possibilitar a formação de HA somente via reações químicas superficiais entre o material e os tecidos vivos, e, portanto, não cristalizar nenhuma fase à base de fosfato de cálcio durante a produção da vitrocerâmica.

Ao serem estabelecidos pelo grupo os objetivos para a nova linha de pesquisa, resultados muito animadores têm sido obtidos, tendo como marco os trabalhos de Peitl *et al.*^{41,42} realizados na década de 90, que na ocasião gerou a patente WO/1997/041079 sobre a obtenção de vitrocerâmicas altamente bioativas com propriedades mecânicas adequadas.⁴³ Em função dos expressivos resultados, outros trabalhos foram realizados nesse segmento,⁴⁴ até que, em 2003, uma vitrocerâmica particulada altamente bioativa foi desenvolvida no decorrer do mestrado de Ravagnani,⁴⁵ sendo então denominada Biossilicato®. Resultado de uma longa evolução na área dos materiais bioativos, o Biossilicato® apresenta propriedades mecânicas distintas dos biovidros. Por exemplo, na forma particulada não exibe arestas cortantes e, na forma monolítica, é mais tenaz e possui melhor usinabilidade. Além disso, sua característica mais notável é que, diferentemente das outras vitrocerâmicas bioativas atualmente disponíveis no mercado, o Biossilicato® possui cristalinidade próxima a 100%, exibe elevado índice de bioatividade e seu módulo de elasticidade é mais próximo ao do osso cortical. Na Tabela 2, são mostrados o índice de bioatividade e algumas propriedades mecânicas de vitrocerâmicas comerciais que são utilizadas em procedimentos clínicos em comparação com o Biossilicato®.^{9,20,22,41,46}

Devido a suas características especiais, o desenvolvimento do Biossilicato® resultou em um depósito de patente no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) em 20 de fevereiro de 2003.⁴⁷ Em fevereiro de 2004, essa patente foi estendida à fase internacional por meio do Tratado de Cooperação em Matéria de Patente (*Patent Cooperation Treaty* – PCT) para os Estados Unidos da América, Japão, China, Coreia, Rússia, Indonésia e Europa.⁴⁸ As patentes já foram concedidas na China e Rússia, e os demais depósitos ainda estão sendo analisados pelos respectivos escritórios daqueles países.

Motivado pelo desenvolvimento do novo material e de seu enorme potencial em aplicações médicas e odontológicas, oferecendo possibilidades de tratamentos eficazes, duradouros e de alcance social, um processo de produção do Biossilicato® em escala piloto foi desenvolvido pelo próprio Ravagnani em seu doutoramento sob orientação dos Profs. E. D. Zanotto e O. Peitl Filho.⁴⁹ Para a realização desse trabalho, o grupo de pesquisa contou com o licenciamento da patente para a

Tabela 2. Índice de bioatividade e algumas propriedades mecânicas de biocerâmicas que são utilizadas em procedimentos clínicos em comparação com o Biosilicato®^{9,20,22,41,46}

Biocerâmicas	Bioglass® 45S5	Bioglass® 52S4.6	Cerabone® A/W	Ceravital®	Bioverit® I	HA ₂	BioloX® Forte	Biosilicato® (monolítico)
Índice de bioatividade (I _B)	12,5	10,5	6	5,6	I _B < 8	3,1	0	I _B > 8
Resistência à flexão (MPa)	40	40	215	100-150	140-180	50-200	466	120-210
Resistência à compressão (MPa)	?	?	1080	500	500	500-100	4400	?
Módulo de elasticidade (GPa)	60	60	120	100-160	70-90	80-110	380	70-80
Estrutura	fase vítrea	fase vítrea	β-CaSiO ₃ (¹)apatita fase vítrea	(¹)apatita fase vítrea	(¹)flogopita (¹)apatita fase vítrea	(²)apatita	α-Al ₂ O ₃	1N2C3S
Usinabilidade	baixa	baixa	baixa	baixa	boa	baixa	baixa	média

?: dado não encontrado na literatura. Cerabone® A/W: vitrocerâmica / β-CaSiO₃; beta-wollastonita / (¹): composição não definida. Ceravital®: vitrocerâmica / (¹): composição não definida. Bioverit® I: vitrocerâmica / (¹): composição não definida. HA₂: hidroxiapatita sintética / (²): (Ca)₁₀(PO₄)₆(OH)₂. Biosilicato®: vitrocerâmica com cristalinidade próxima a 100%. 1N2C3S: silicato de sódio e cálcio (1N = sódio; 2C = cálcio; 3S = silício)

empresa Vitrovita (Instituto de Inovação em Vitrocerâmicos), além dos financiamentos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Proc. N. 03/133891 – Pipe Fase II e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Proc. N. 550685/2003-0 e 554789/2005-1 – RHAIE Inovação. Os resultados obtidos com a realização desse trabalho para viabilizar a produção do Biosilicato® em escala piloto foram muito positivos, sendo o tempo e o custo para a sua fabricação significativamente reduzidos.⁴⁹

Pesquisas atuais têm apresentado resultados muito animadores em relação à otimização do processo de fabricação do Biosilicato®, o que corrobora os trabalhos já realizados e estimula a realização de novos. Dessa forma, fica evidente que enormes esforços têm sido feitos para que a sua produção em escala comercial se torne uma realidade, e que ele esteja disponível no mercado o mais breve possível, de forma segura e acessível para toda a população. Nesse sentido, é importante ressaltar que, no momento, a única etapa faltante para a sua produção comercial é a autorização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

POTENCIAIS APLICAÇÕES DO BIOSILICATO®

Concepção inicial

Originalmente o Biosilicato® particulado foi desenvolvido para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, sendo inicialmente obtidos excelentes resultados com a sua eficácia *in vitro*.^{45,50} A hipersensibilidade dentinária, conhecida também como “dentes sensíveis”, é definida como uma dor aguda e bem localizada, não espontânea, que surge em resposta a algum estímulo tátil, térmico, evaporativo (com jato de ar), osmótico ou químico e que não pode ser atribuída a nenhum tipo de patologia dental.^{51,52} Essa dor, que atinge cerca de 17% da população adulta brasileira⁵³ e entre 8 e 57% da população mundial,⁵¹ é proveniente da exposição dos túbulos dentinários ao meio bucal, o que geralmente ocorre em virtude da retração da gengiva e exposição da região cervical do dente (abaixo da linha da gengiva). Essa região é recoberta apenas por uma fina camada de cimento, que por esforço de abrasão ou erosão é removida, resultando na exposição dos túbulos dentinários. Para auxiliar na compreensão desse problema, na Figura 3 é mostrada, de forma esquemática, a estrutura do dente (ver ilustrações reais na ref. 52).

Por meio de uma análise microscópica, é possível observar que os túbulos dentinários se apresentam mais numerosos e amplos na dentina hipersensível do que na dentina insensível.⁵⁴ Essas observações são consistentes com a hipótese da dor dentinária ser mediada por um mecanismo hidrodinâmico.⁵⁵ De acordo com esse mecanismo

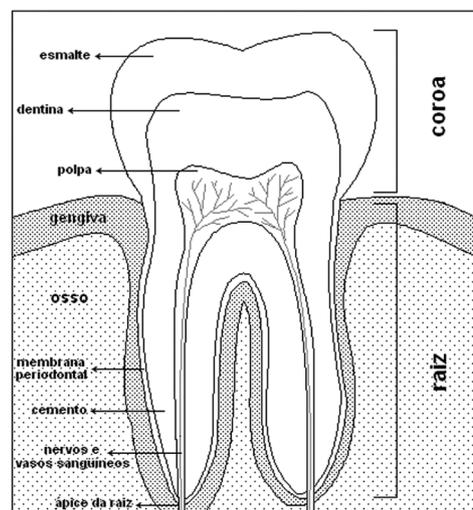


Figura 3. Representação esquemática da estrutura do dente. Adaptada de www.enchantedlearning.com

proposto, um estímulo causador de dor aplicado à dentina aumenta o fluxo do fluido tubular dentinário que, por sua vez, ativa mecanicamente os nervos situados nas extremidades internas dos túbulos ou nas camadas externas da polpa, desencadeando, assim, um estímulo doloroso.⁵⁶ Para que isso ocorra, é necessário que os túbulos dentinários estejam expostos ao meio bucal a fim de receber tais estímulos capazes de desencadear a resposta dolorosa. Dessa forma, imagina-se que a hipersensibilidade dentinária se desenvolva por dois motivos. Em primeiro lugar, devido à exposição da dentina pela perda do esmalte do dente ou então, num segundo caso, pela retração da gengiva. A retração gengival é o mais importante desses dois fatores.⁵⁷ Uma escovação normal dos dentes durante a higiene oral não remove o esmalte, mas, por outro lado, a sua frequência diária apresenta relação direta com a retração da gengiva.⁵⁷ É importante mencionar que o esmalte do dente se desgasta, porém, estando esse fator associado com os hábitos alimentares. Por isso, é fundamental uma boa higiene oral, principalmente naqueles casos em que o consumo de alimentos e bebidas muito ácidos e doces são frequentes.^{57,58}

Diversas terapêuticas têm sido propostas para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, tendo seus modos de ação baseados no bloqueio da ativação neural e da transmissão do estímulo doloroso por meio do uso de agentes dessensibilizantes, e/ou pelo impedimento da movimentação de fluido no interior dos túbulos dentinários por meio de sua oclusão.^{45,51,52,56} Os tratamentos que se baseiam no

princípio da interrupção da ativação neural e da transmissão da dor, atuando sobre os mecanorreceptores dos nervos pulpais, utilizam normalmente sais de potássio, estanho, dentre outros,^{45,51,52,56,59,60} que, quando presentes no ambiente bucal, são liberados em suas formas iônicas e se difundem ao longo dos túbulos da dentina, aumentando suas concentrações nas proximidades dos nervos pulpais. A presença contínua dessas espécies diminui a excitabilidade dos nervos, provocando assim um efeito analgésico. No caso dos tratamentos que levam em consideração a oclusão dos túbulos da dentina, tem se feito o uso de dentifrícios à base de flúor (possivelmente por proporcionarem a precipitação de fluoreto de cálcio insolúvel nos túbulos), de soluções para bochechos contendo adesivos poliméricos e partículas cerâmicas inertes (possuindo diâmetros próximos à abertura dos túbulos), como, por exemplo, sílica e alumina, além de restaurações com resina composta ou mesmo terapias com laser cirúrgico.^{45,56,60,61}

O tratamento mais utilizado e recomendado por cirurgiões-dentistas e pelo estudo da *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity* para o tratamento da hipersensibilidade dentinária tem sido a utilização de cremes dentais dessensibilizantes contendo nitrato de potássio a 5% duas vezes ao dia.⁵¹ Porém, esse tratamento é apenas paliativo, pois a diminuição da sensibilidade sentida pelo paciente decorre da alta concentração de íons potássio nas proximidades dos mecanorreceptores próximos aos nervos pulpais, em virtude da utilização contínua desse produto. A interrupção do uso resulta, portanto, no retorno da hipersensibilidade. Ainda convém mencionar que, segundo Poulsen *et al.*,⁶² a eficácia do nitrato de potássio para reduzir a hipersensibilidade não se encontra suficientemente fundamentada na literatura.

Uma das novas abordagens para o tratamento mais efetivo da hipersensibilidade dentinária tem utilizado as propriedades dos vidros bioativos, que produzem uma resposta biológica específica em suas superfícies quando em contato com os tecidos vivos. Por ser a constituição dental muito similar à constituição óssea, foi proposto o uso de vidros bioativos na forma particulada com a capacidade de se depositarem no interior dos túbulos dentinários, para que, na presença dos fluidos bucais, inicie o processo de formação de HA, resultando em sua oclusão por meio de uma ligação química com o material.^{9,18,52,63} Entretanto, um inconveniente para a utilização dos vidros bioativos na forma particulada incorporado a produtos de higiene oral – principalmente daqueles em que o uso envolve escovação ou fricção – é o poder cortante das partículas vítreas devido às suas superfícies extremamente irregulares, pontiagudas e afiadas. Essa característica das partículas vítreas é resultante das múltiplas fraturas concoidais do material durante o processo de moagem para a produção dos pós com a granulometria desejada e adequada ao tratamento. Dessa forma, as partículas de vidro moído podem provocar microcortes na gengiva, causando a sua irritação e, possivelmente, o aumento de sensação dolorosa nos pacientes.

Considerando-se essas questões, foram iniciados estudos no Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos em colaboração com pesquisadores das Faculdades de Odontologia e de Ciências Farmacêuticas da USP de Ribeirão Preto. O objetivo era o desenvolvimento de um material bioativo com características especialmente projetadas para a utilização no tratamento da hipersensibilidade dentinária, mas que não apresentasse as desvantagens dos vidros bioativos para a incorporação em produtos de higiene oral. Nessas pesquisas, foi desenvolvida uma vitrocerâmica finamente particulada e com elevado grau de cristalinidade (~99,5%), apresentando distribuição de tamanho de partículas e nível de bioatividade adequados para a utilização no tratamento da hipersensibilidade dentinária.^{45,47-50} O termo Biosilicato® vem, desde então, sendo empregado para designar uma faixa de composição em particular de vitrocerâmicas pertencentes a essa classe de materiais.

Por apresentar elevado grau de cristalinidade, o Biosilicato® possibilita a obtenção de partículas mais regulares, menos abrasivas e desprovidas de superfícies cortantes, portanto, menos agressivas ao tecido gengival e às mucosas. Essas características constituem uma grande vantagem para a sua utilização nos procedimentos destinados ao tratamento da hipersensibilidade dentinária, principalmente nos casos em que são envolvidos escovação e atrito na região de atuação.

Biosilicato® e o tratamento da hipersensibilidade dentinária

Em 11 de setembro de 2003, foi aprovado o projeto “Avaliação clínica da eficácia do Biosilicato® no tratamento da hipersensibilidade dentinária” (Proc. N. 2003.1.654.58.7) no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP de Ribeirão Preto para a aplicação do Biosilicato® em seres humanos. Nos testes realizados, o Biosilicato® apresentou excelentes resultados como pode ser verificado nos trabalhos de Tirapelli *et al.*⁶⁴⁻⁶⁶ Nesses trabalhos, os autores avaliaram comparativamente *in vitro* e *in vivo* a sua eficácia frente a agentes dessensibilizantes disponíveis no mercado para o tratamento da hipersensibilidade dentinária. Os pacientes voluntários fizeram uso de um produto comercial denominado Sensi Kill®, do dentifrício dessensibilizante Sensodyne®, de um gel contendo Biosilicato® a 1% e do Biosilicato® misturado com água destilada na razão de 1:10. Por meio de um modelo utilizando discos de dentina (estudo *in vitro*), esses produtos foram avaliados quanto ao seu potencial de oclusão dos túbulos dentinários por microscopia eletrônica de varredura em diferentes tempos de imersão em saliva artificial. Essa avaliação qualitativa mostrou diferentes padrões em termos da capacidade de oclusão dos túbulos pelos agentes dessensibilizantes testados. O Biosilicato® misturado com água destilada apresentou o melhor desempenho, promovendo, segundo Tirapelli, a formação de uma camada praticamente uniforme de possível tecido mineralizado sobre toda a estrutura dentinária (Figura 4).⁶⁴

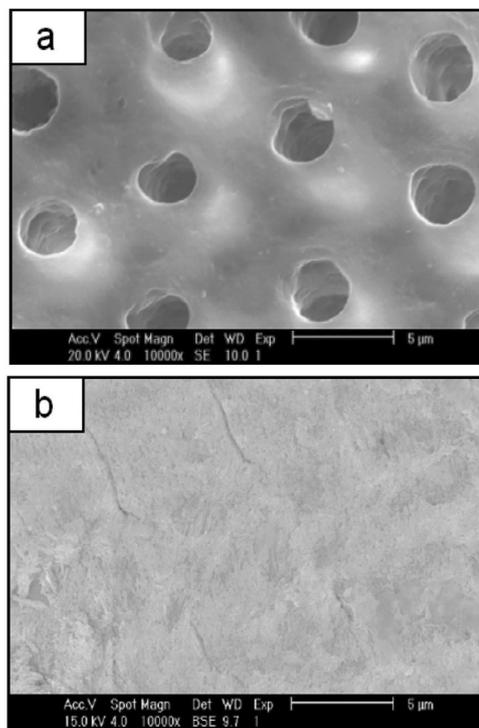


Figura 4. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de discos de dentina – cortes transversais: (a) antes do ensaio (metade controle); (b) após a realização de um ensaio empregando-se o Biosilicato® misturado com água destilada na razão de 1:10. Adaptada da ref. 64

No que diz respeito à ação e eficiência dos diferentes produtos testados *in vivo*, pôde-se constatar que todos eles foram capazes de reduzir significativamente a dor proveniente da exposição dos túbulos dentinários, grande parte com apenas uma aplicação. O Biosilicato® misturado com água destilada foi o produto que proporcionou maior redução da dor no menor tempo, ou seja, apresentou a ação mais rápida e efetiva, como demonstrado na Figura 5.⁶⁴ Para a realização desse estudo, a sensibilidade inicial dos pacientes foi avaliada por meio de estímulo por ar frio (~10 °C) proveniente de uma seringa tríplice de um equipamento odontológico operando a 60 psi, isento de água ou óleo, que foi direcionado perpendicularmente à superfície da dentina exposta, por 3 s, à distância de aproximadamente 1 cm. No decorrer do estudo, os pacientes foram avaliados quanto à sensibilidade 1 vez por semana durante 4 semanas e, depois, 1 vez por mês até completar 1 semestre de estudo.

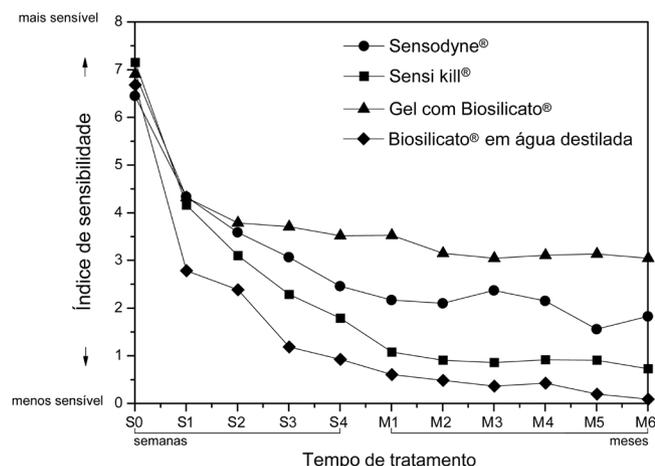


Figura 5. Ilustração gráfica do desempenho dos produtos testados para o tratamento da hipersensibilidade dentinária. Adaptada da ref. 64

Como pode ser observado na Figura 5, na primeira avaliação dos pacientes após a aplicação do Biosilicato® misturado com água destilada, os valores médios de dor decresceram de 7 para aproximadamente 3 pontos. Nos demais tempos avaliados (S2, S3, S4, M1, M2, M3, M4, M5 e M6), todos os produtos testados apresentaram desempenho semelhante, sendo verificada redução significativa da sensibilidade em relação ao parâmetro inicial de dor. Logo, o Biosilicato® teve o efeito mais rápido. Outro fato interessante que pode ser observado no gráfico da Figura 5 é a maior redução absoluta de dor, que também foi verificada com o uso do Biosilicato® em água destilada. Nesse caso, o valor inicial médio de dor sentida pelos pacientes passou de 7 pontos (em S0) para 0,1 pontos (em M6) no término do estudo, o que nos leva a uma redução total de quase 7 pontos. O produto comercial Sensi Kill®, apesar de não ter se mostrado tão eficiente nas primeiras aplicações, após algum tempo proporcionou a segunda maior redução absoluta de dor sentida pelos pacientes, exibindo, no término do estudo, redução total de aproximadamente 6 pontos.

Desse modo, o estudo comparativo realizado por Tirapelli pôde comprovar que o Biosilicato® é bastante eficiente no tratamento da hipersensibilidade dentinária. Ainda, é importante ressaltar que há fortes indicativos de que a utilização de concentrações superiores a 1% do Biosilicato® contido em geis seja capaz de proporcionar resultados muito mais significativos do que os obtidos nesse estudo. Dentre as pesquisas que estão em andamento nesse sentido, convém citar um estudo *in vitro* sobre o desenvolvimento de um dentifrício contendo aproximadamente 7% de micropartículas do Biosilicato®, que, além de poder promover o tratamento da hipersensibilidade dentinária, apresentou um efeito significativo sobre a remineralização do esmalte do dente.⁶⁷

Outro aspecto interessante e que tem sido explorado é a eficiência do Biosilicato® em atenuar ou mesmo evitar a ocorrência de sensibilidade dentinária em pacientes que realizam clareamento dental (caseiro ou em consultório). Embora essa sensibilidade seja transitória – cessando gradualmente após o término do tratamento – ela pode ser extremamente desconfortável para alguns pacientes, principalmente para aqueles que já apresentam quadro de dentes sensíveis. Nesse sentido, Pinheiro *et al.*⁶⁸ propuseram um estudo *in vitro* para avaliar a influência de diferentes materiais bioativos combinados com peróxido de carbamida 16% (agente clareador) sob a estrutura da dentina. Pelos resultados obtidos, os autores demonstraram que a utilização do agente clareador em conjunto com alguns dos materiais bioativos testados, incluindo o Biosilicato®, contribuiu efetivamente para a remineralização da estrutura dentária no decorrer dos experimentos, o que, possivelmente, promoveria a diminuição da sensibilidade originada durante e/ou após o tratamento de clareamento. Por essa questão ainda não ser conclusiva, os autores reforçaram a necessidade de maiores investigações para se avaliar o papel dessas mudanças estruturais observadas na redução da sensibilidade dentinária que é proveniente de tratamentos realizados para o clareamento dental.

Pesquisas recentes envolvendo o Biosilicato®

Devido a suas características especiais, o Biosilicato® é hoje alvo de diferentes frentes de pesquisa, envolvendo desde a sua aplicação para a manutenção da saúde bucal – em que se tem demonstrado a sua eficiência no tratamento de diferentes afecções bucais além da hipersensibilidade dentinária – até aos procedimentos cirúrgicos destinados à reconstrução da cadeia ossicular, conhecido como ossiculoplastia.^{45,46,64-74} Ainda convém mencionar estudos relativos ao seu processamento a partir de diferentes rotas de síntese,^{49,75} bem como à sua conformação para a obtenção de matrizes macroporosas com potencial uso na engenharia de tecidos (*scaffolds*).⁷⁶

Integrada ao Programa de Estímulo à Interação Universidade-Empresa para Apoio à Inovação, a Vitrovita, empresa que detém o licenciamento das patentes do Biosilicato®, foi coexecutora do projeto “Rede multidisciplinar de pesquisa em biosilicatos para aplicação na saúde humana”, financiado pelo CNPq (Fundo Verde Amarelo – FVA/CNPq). Esse projeto foi iniciado em 1/12/2004, prevendo o desenvolvimento de 7 novos produtos inovadores para utilização tanto na odontologia como na medicina. O Programa de Estímulo à Interação Universidade-Empresa para Apoio à Inovação, criado por meio da Lei n.º. 10.168 de 29/12/2000, tem como principal objetivo estimular o desenvolvimento tecnológico brasileiro, mediante programas de pesquisa científica e tecnológica que intensifiquem a cooperação de instituições de ensino superior e centros de pesquisa com o setor produtivo, contribuindo, assim, para o aceleramento do processo de inovação tecnológica no país.

Um dos primeiros trabalhos relativos a esse projeto multidisciplinar foi realizado por Roriz *et al.*^{69,70} para se avaliar a utilização do Biosilicato® em aplicações periodontais. Esses autores tiveram como proposta verificar clínica, histológica e histomorfometricamente a resposta tecidual dos alvéolos após exodontia (extração dos dentes), quando preenchidos ou não com Biosilicato® ou Biogran® (produto comercial para tratamento periodontal constituído de partículas do Bioglass® 45S5, material considerado na periodontia como *gold standard* para esse tipo de aplicação). Para tanto, foram utilizados seis cães, que tiveram os seus pré-molares bilaterais mandibulares extraídos e os respectivos alvéolos preenchidos ou não com esses biomateriais. Após 12 semanas, foi realizada nova cirurgia para medidas finais dos rebordos alveolares e realização de três biópsias ósseas para análise histológica do tecido neoformado nos alvéolos. Em outra etapa, foram colocados bilateralmente três implantes de

titânio (Ti) em perfurações realizadas com trefina. Passadas 8 semanas, os cães foram sacrificados e uma análise histomorfométrica da interface implante-Ti/tecido neoformado foi realizada. Uma análise visual dos procedimentos experimentais adotados por Roriz pode ser realizada na Figura 6.⁶⁹

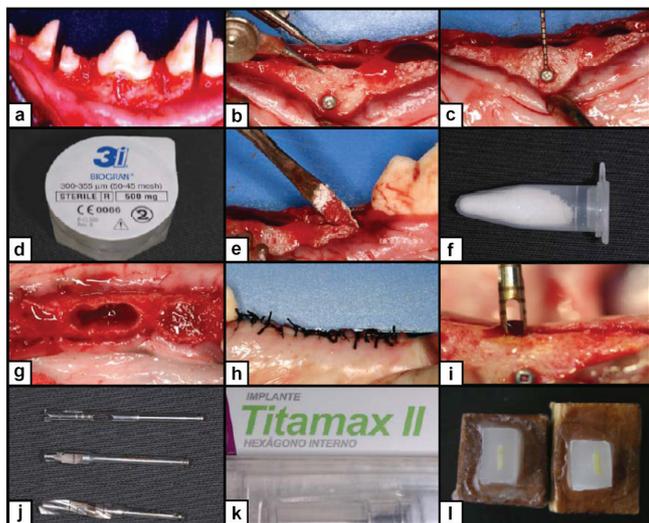


Figura 6. Procedimentos experimentais realizados para se avaliar clínica, histológica e histomorfometricamente a resposta tecidual dos alvéolos após exodontia – preenchidos ou não com Biosilicato® ou Biogran®: (a) odontossesções; (b) medida horizontal; (c) medida vertical; (d) Biogran®; (e) preenchimento dos alvéolos; (f) Biosilicato®; (g) alvéolos preenchidos e não preenchidos; (h) retalho suturado; (i) trefina; (j) brocas para colocação dos implantes; (k) implante de Ti; (l) biópsias em parafina. Adaptada da ref. 69

Pelos resultados obtidos nesse estudo, Roriz *et al.*^{69,70} demonstraram que tanto o Biosilicato® como o Biogran® são clinicamente adequados para o preenchimento dos alvéolos após exodontia, favorecendo a preservação do rebordo alveolar em espessura e principalmente em altura. O Biosilicato® mostrou ser biocompatível com o tecido ósseo e proporcionou respostas teciduais bastante semelhantes às do Biogran® em relação à formação de novo osso, apresentando partículas completamente substituídas por osso. Ainda, segundo esses autores, o Biosilicato® também mostrou ser biocompatível com a superfície dos implantes de titânio.

Seguindo essa mesma linha de pesquisa, Jabur *et al.*⁷¹ avaliaram a formação de tecido ósseo ao redor de implantes de titânio depois de introduzir mecanicamente defeitos ósseos em mandíbulas de cães, sendo esses defeitos posteriormente preenchidos com diferentes tipos de reparadores ósseos, incluindo o Biosilicato®. Pelo modelo experimental adotado, o preenchimento dos defeitos ósseos com Biosilicato®, Bioglass® 45S5 e, mesmo, com osso autógeno não favoreceu a formação óssea, pois não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de osso formado nas áreas preenchidas com esses materiais ou mesmo no controle, caso em que nenhum material foi utilizado como preenchimento. Por outro lado, de acordo com os autores, as análises histológicas realizadas revelaram presença de tecido ósseo maduro em contato com os implantes, porém sem relação direta com os biomateriais utilizados, que na ocasião proporcionaram resposta tecidual muito semelhante.⁷¹ No entanto, deve-se enfatizar que nesse estudo particular, os cães foram sacrificados várias semanas após o preenchimento dos defeitos ósseos, o que possibilitou a sua regeneração, mesmo sem o auxílio dos diversos biomateriais reparadores.

De acordo com o que foi exposto até o momento, é perceptível que o Biosilicato® tem se mostrado promissor, apresentando potencial para ser aplicado em áreas completamente diferentes para a qual

foi originalmente projetado. Outro exemplo interessante é o estudo realizado por Massuda *et al.*,^{73,74} que fez uso do Biosilicato® em sua forma monolítica (neste âmbito denominado de Otossilicato) em procedimentos cirúrgicos destinados à reconstituição da cadeia ossicular. Esse estudo teve como proposta inicial testar a ototoxicidade e vestibulotoxicidade do Otossilicato em orelha média de cobaias. Para a sua aplicação em seres humanos, foi desenvolvido um *design* adequado para a confecção das próteses, sendo elas posteriormente avaliadas quanto à sua eficácia em reparar a cadeia ossicular da orelha média (Figura 7).⁷³

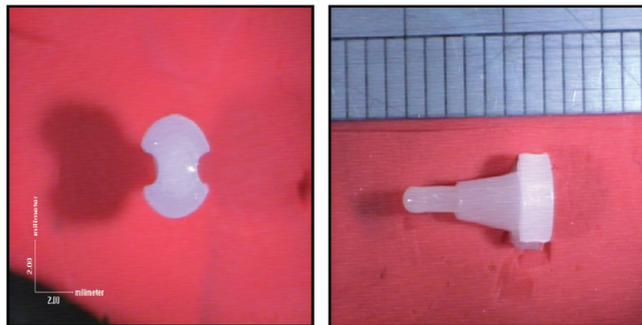


Figura 7. Prótese de Otossilicato desenvolvida e empregada na reconstituição da cadeia ossicular da orelha média de seres humanos. Adaptada da ref. 73

Os resultados obtidos por Massuda *et al.*^{73,74} mostraram não ocorrer ototoxicidade e vestibulotoxicidade nas cobaias testadas após 30 e 90 dias de exposição do Otossilicato na orelha média. Em relação aos testes realizados com seres humanos, foram efetuadas 29 cirurgias, sendo 14 PORP (*Partial Ossicular Replacement Prosthesis*) com Otossilicato, 7 TORP (*Total Ossicular Replacement Prosthesis*) com Otossilicato e 8 PORP com bigorna remodelada. Foi obtida melhora do *gap* aéreo-ósseo (≤ 20 decibéis) nos três grupos testados. Estatisticamente, foi significativa a variável *gap* no pré e no pós-operatório nos três grupos; mas, entre eles, a melhora do *gap* no pós-operatório foi estatisticamente igual.⁷³ Segundo Massuda, a prótese de Otossilicato se mostrou eficiente para a reconstituição ossicular em seres humanos, porém ainda é necessário aumentar o número de implantes realizados e proporcionar aos pacientes maior tempo de pós-operatório para melhores avaliações.

Uma nova frente de pesquisa envolvendo o Biosilicato® surgiu em 2006 a partir dos trabalhos de Moura Neto *et al.*,⁷⁷ que na oportunidade avaliaram *in vitro* o seu efeito sobre vários parâmetros da osteogênese. Os resultados obtidos com esses trabalhos foram muito significativos, sendo demonstrado inequivocamente que o Biosilicato® é capaz de promover aumento significativo e superior a seu precursor vítreo e ao Bioglass® 45S5 do potencial osteogênico de células derivadas de calvária de ratos recém-nascidos. Nesse sentido, foi observada a formação de áreas mais extensas de matriz óssea mineralizada sobre a superfície do Biosilicato® do que na superfície dos demais materiais avaliados.⁷⁷

Em função dos resultados obtidos com os trabalhos de Moura Neto *et al.*,⁷⁷ viu-se a possibilidade para que o Biosilicato® fosse conformado como matrizes macroporosas para aplicação na engenharia de tecidos, já que suas características atendem, de forma satisfatória, boa parte dos requisitos que são exigidos nesse recente segmento. De modo geral, para que a regeneração do tecido ósseo possa ser bem sucedida por meio de uma matriz macroporosa implantada diretamente em um dado defeito ósseo, ela deve reunir características como:^{1,3,7,9}

- ser biocompatível (ou seja, induzir uma resposta imunológica atóxica ou mínima *in vivo*);
- promover a adesão celular, ligação com o tecido ósseo e estimular a osteogênese;

- atuar como um guia para o crescimento ósseo e, portanto, possuir uma estrutura de poros interconectados que permitam a migração e o crescimento celular, o transporte de nutrientes para as células e a promoção de vascularização;
- ser bioabsorvível no organismo e possuir uma taxa de degradação controlável;
- apresentar propriedades mecânicas compatíveis com o local de implantação;
- apresentar um processo de fabricação reprodutível e que permita a obtenção de variadas formulações configuracionais (que sejam adaptáveis à geometria de diferentes tipos de defeitos) e,
- ser esterilizável e atender aos requisitos regulamentares para uso clínico.

Motivado pela nova possibilidade de exploração do Biosilicato®, em 2009, Crovace, em seu trabalho de mestrado, desenvolveu estruturas macroporosas altamente bioativas a partir da sua sinterização na presença de diferentes agentes porogênicos, conforme ilustrado na Figura 8.⁷⁶ De acordo com o autor, foi possível obter matrizes macroporosas com porosidade variando entre 60 e 80% no volume do material, sendo o negro de fumo, dentre os agentes porogênicos testados, o de melhor desempenho. A produção de matrizes macroporosas sintéticas, como a da Figura 8, pode ser muito vantajosa por possibilitar o controle da composição e estrutura do material, incluindo porosidade e morfologia dos poros, fatores considerados essenciais para o seu bom desempenho na engenharia de tecidos.^{1,3,79}

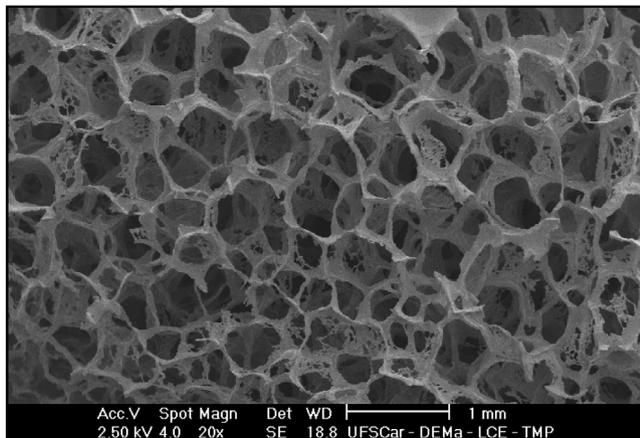


Figura 8. Micrografia eletrônica de varredura da superfície de fratura de uma matriz macroporosa obtida via sinterização do Biosilicato®. Adaptada da ref. 76

Para consolidar os trabalhos de Moura Neto *et al.*⁷⁷ e reforçar o potencial de aplicabilidade das matrizes macroporosas elaboradas com o Biosilicato® na engenharia de tecidos, resultados muito favoráveis foram obtidos com os trabalhos de Granito *et al.*^{78,79} iniciados em 2005. Embora o elevado potencial osteogênico *in vitro* do Biosilicato® já tivesse sido demonstrado, seus efeitos *in vivo* ainda não eram conhecidos. Para auxiliar nesse entendimento, Granito *et al.*^{78,79} propuseram avaliar o desempenho biológico *in vivo* do Biosilicato® sobre defeitos ósseos em tíbias de ratos por meio de análises histomorfométricas e biomecânicas, e analisar a cinética das respostas ósseas frente a diferentes distribuições granulométricas dessa vitrocerâmica bioativa.

Pelos resultados obtidos, os autores constataram que o Biosilicato® possui boas propriedades para a formação de tecido ósseo *in vivo*. Foi demonstrado que ele favoreceu um elevado número de osteoblastos e, conseqüentemente, a formação óssea em um sítio de defeitos, bem como a melhoria das propriedades mecânicas do osso no qual foi inserido o defeito.^{78,79} Em relação à cinética das respostas ósseas, partículas menores do Biosilicato® mostraram reabsorção

parcial, o que foi acompanhado por uma maior atividade osteogênica. Apesar de também se mostrarem eficientes para a formação óssea, as partículas maiores exibiram um comportamento mais estável em relação às respostas ósseas induzidas.⁷⁸

Mesmo sendo necessárias investigações adicionais e mais testes clínicos, diversas situações envolvendo perda óssea podem ser beneficiadas pelas propriedades osteogênicas do Biosilicato®, inclusive com a possibilidade de se selecionar a sua faixa granulométrica para que sejam atingidas condições ótimas de tratamento para um determinado caso específico. Por meio de estudos preliminares, Granito ainda reforçou que a aplicação de matrizes macroporosas do Biosilicato® na engenharia de tecidos é promissora, devendo novas pesquisas *in vitro* e *in vivo* serem realizadas para que o desenvolvimento de estratégias eficientes viabilize o emprego terapêutico dessa vitrocerâmica altamente bioativa.⁷⁸

Para finalizar, comentamos o trabalho de mestrado realizado por Brandão sob orientação da Prof. Dra. S. A. Schellini na Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu, no qual foi analisada *in vivo* a biocompatibilidade de cones de vidro bioativo e do Biosilicato® em cavidades anoftálmicas (com ausência de um dos olhos) de coelhos.⁸⁰ Nesse âmbito, o Biosilicato® monolítico na forma de cones foi denominado de Optossilicato, em função dos testes realizados para essa sua mais nova aplicação. Na ocasião, foram testadas duas amostras distintas do Biosilicato®, cuja preparação envolveu tratamentos térmicos diferenciados para induzir a cristalização. Pelos resultados obtidos nesse estudo, os cones de vidro bioativo e do Biosilicato® colocados nas cavidades anoftálmicas dos coelhos não interferiram na saúde geral dos animais e não foram observados efeitos de toxicidade sistêmica ou local decorrentes de seu uso.⁸⁰ Por meio de exames tomográficos, foi demonstrado que os cones não migraram, ou seja, foi mantida a simetria da órbita operada com a contralateral em todos os animais, não havendo alterações na estrutura óssea ou em partes do tecido conjuntivo circundante. Os cones se mantiveram presentes em todos os animais sem coleções, edema, sinais infecciosos ou outras alterações. Dessa forma, segundo a autora, os cones de vidro bioativo e do Biosilicato® se mostraram úteis para a reparação de cavidades anoftálmicas exibindo respostas teciduais muito similares.⁸⁰ Portanto, assim como o vidro bioativo, o Biosilicato® apresentou a habilidade de se ligar ao tecido conjuntivo, o que o coloca em um patamar diferenciado por ser o primeiro material cristalino a apresentar esse nível de desempenho.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pela descrição acima, fica evidente a ação do Biosilicato® em promover alternativas de tratamentos eficazes e duradouros a várias moléstias e tipos de traumas ósseos. Embora tenham sido descritos apenas alguns resultados relacionados ao seu estudo e somente algumas aplicações, pode-se observar que são inúmeros os aspectos passíveis de investigação. O processamento cerâmico envolvido é desafiador, a interação do material com o meio biológico é extremamente complexa e os mecanismos que levam à regeneração tecidual ainda não estão bem estabelecidos. O Biosilicato® é tão bioativo quanto os melhores biovidros comerciais, mas apresenta claras vantagens, tais como, ausência de arestas cortantes na forma particulada e, na forma monolítica, resistência superior à fratura e razoável usinabilidade. Os exemplos apresentados são suficientes para comprovar a sua potencialidade e o amplo campo de pesquisa originado com o seu desenvolvimento. É relevante notar que se trata de um material genuinamente nacional!

AGRADECIMENTOS

À empresa Vitrovita pelo esclarecimento de várias questões envolvendo o Biosilicato®. À FAPESP, CNPq e CAPES pelo finan-

ciamento contínuo de pesquisas sobre vidros e vitrocerâmicas no LaMaV – UFSCar há três décadas.

REFERÊNCIAS

- Boccaccini, A. R.; Gough, J. E.; *Tissue engineering using ceramics and polymers*, CRC Press: New York, 2007.
- Williams, D. F.; *Biomaterials* **2009**, *30*, 5897.
- Place, E. S.; Evans, N. D.; Stevens, M. M.; *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 457.
- Narayan, R. J.; *Phil. Trans. R. Soc. A* **2010**, *368*, 1831.
- Hench, L. L.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1998**, *81*, 1705.
- Vallet-Regí, M.; *Mat.-wiss. u. Werkstofftech* **2006**, *37*, 478.
- Jones, J. R.; Gentleman, E.; Polak, J.; *Elements* **2007**, *3*, 393.
- Fathi, M. H.; Doostmohammadi, A.; *J. Mater. Process. Tech.* **2009**, *209*, 1385.
- Kokubo, T.; *Bioceramics and their clinical applications*, CRC Press: Boca Raton, 2008.
- Chevalier, J.; Gremillard, L.; *J. Eur. Ceram. Soc.* **2009**, *29*, 1245.
- Kim, H.-M.; *Curr. Opin. Solid. State. Mater. Sci.* **2003**, *7*, 289.
- Hertz, A.; Bruce, I. J.; *Nanomedicine* **2007**, *2*, 899.
- Salinas, A. J.; Vallet-Regí, M.; *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2007**, *633*, 1762.
- Albee, F. H.; Morrison, H. F.; *Ann. Surg.* **1920**, *71*, 32.
- Nery, E. B.; Lynch, K. L.; Hirth, W. M.; Mueller, K. H.; *J. Periodontol.* **1978**, *49*, 523.
- LeGeros, R. Z.; *Adv. Dent. Res.* **1988**, *3*, 164.
- LeGeros, R. Z.; *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4742.
- Hench, L. L.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2006**, *17*, 967.
- Vallet-Regí, M.; Rangel, V. R.; Salinas, A. J.; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *2003*, 1029.
- De Aza, P. N.; De Aza, A. H.; Pena, P.; De Aza, S.; *Bol. Soc. Esp. Ceram.* **2007**, *46*, 45.
- Kokubo, T.; Kim, H. M.; Kawashita, M.; *Biomaterials* **2003**, *24*, 2161; Kokubo, T.; Kim, H. M.; Kawashita, M.; Nakamura, T.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2004**, *15*, 99.
- Hench, L. L.; *Biomaterials* **1998**, *19*, 1419.
- Kawachi, E. Y.; Bertran, C. A.; Reis, R. R.; Alves, O. L.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 518.
- Gross, U.; Strunz, V.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1985**, *19*, 251.
- Wilson, J.; Pigott, G. H.; Schoen, F. J.; Hench, L. L.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1981**, *15*, 805.
- Matsuda, T.; Davies, J. E.; *Biomaterials* **1987**, *8*, 275; Ducheyne, P.; Qiu, Q.; *Biomaterials* **1999**, *20*, 2287; Hench, L. L.; Polak, J. M.; Xynos, I. D.; Buttery, L. D. K.; *Mat. Res. Innovat.* **2000**, *3*, 313; Lossdörfer, S.; Schwartz, Z.; Lohmann, C. H.; Greenspan, D. C.; Ranly, D. M.; Boyan, B. D.; *Biomaterials* **2004**, *25*, 2547; Bosetti, M.; Cannas, M.; *Biomaterials* **2005**, *26*, 3873; Radin, S.; Reilly, G.; Bhargava, G.; Leboy, P. S.; Ducheyne, P.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2005**, *73*, 21.
- Gao, T.; Aro, H. T.; Ylanen, H.; Vuorio, E.; *Biomaterials* **2001**, *22*, 1475; Xynos, I. D.; Edgar, A. J.; Buttery, L. D.; Hench, L. L.; Polak, J. M.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *55*, 151; Valério, P.; Pereira, M. M.; Goes, A. M.; Leite, M. F.; *Biomaterials* **2004**, *25*, 2941; Tsigkou, O.; Jones, J. R.; Polak, J. M.; Stevens, M. M.; *Biomaterials* **2009**, *30*, 3542; Hench, L. L.; *J. Eur. Ceram. Soc.* **2009**, *29*, 1257.
- Liao, S.; Chan, C. K.; Ramakrishna, S.; *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28*, 1189.
- Coelho, M. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2003; Rainer, A.; Giannitelli, S. M.; Abbruzzese, F.; Traversa, E.; Licocchia, S.; Trombetta, M.; *Acta Biomater.* **2008**, *4*, 362; Chen, Q. Z.; Efthymiou, A.; Salih, V.; Boccaccini, A. R.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2008**, *84*, 1049; Jones, J. R.; *J. Eur. Ceram. Soc.* **2009**, *29*, 1275; Sánchez-Salcedo, S.; Balas, F.; Izquierdo-Barba, I.; Vallet-Regí, M.; *Acta Biomater.* **2009**, *5*, 2738; FitzGerald, V.; Martin, R. A.; Jones, J. R.; Qiu, D.; Wetherall, K. M.; Moss, R. M.; Newport, R. J.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2009**, *91*, 76; Vitale-Brovarone, C.; Bairo, F.; Verné, E.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, *20*, 643; Chengtie, W.; Yogambha, R.; Hala, Z.; *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 2237.
- Yamamuro, T.; Hench, L. L.; Wilson, J.; *Handbook of bioactive ceramics*, 1st ed., CRC Press: Boca Raton, 1990; Lee, K.-Y.; Park, M.; Kim, H.-M.; Lim, Y.-J.; Chun, H.-J.; Kim, H.; Moon, S.-H.; *Biomed. Mater.* **2006**, *1*, R31.
- Pantano, C. G.; Clark, A. E.; Hench, L. L.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1974**, *57*, 412.
- Kitsugi, T.; Nakamura, T.; Yamamuro, T.; Kokubo, T.; Shibuya, T.; Takagi, M.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1987**, *21*, 1255.
- Kokubo, T.; Takadama, H.; *Biomaterials* **2006**, *27*, 2907.
- Kim, H.-M.; Miyazaki, T.; Kokubo, T.; Nakamura, T.; *Key Eng. Mater.* **2001**, *192-195*, 47.
- Takadama, H.; Hashimoto, M.; Mizuno, M.; Kokubo, T.; *Phos. Res. Bull.* **2004**, *17*, 119.
- Implants for surgery: *in vitro* evaluation for apatite-forming ability of implant materials, *ISO 23317*, **2007**.
- Coleman, N. J.; Nicholson, J. W.; *Educ. Chem.* **2006**, *43*, 156.
- Bohner, M.; Lemaitre, J.; *Biomaterials* **2009**, *30*, 2175.
- Fujibayashi, S.; Neo, M.; Kim, H.-M.; Kokubo, T.; Nakamura, T.; *Biomaterials* **2003**, *24*, 1349; Lusvardi, G.; Zaffe, D.; Menabue, L.; Bertoldi, C.; Malavasi, G.; Consolo, U.; *Acta Biomater.* **2009**, *5*, 419; Hupa, L.; Karlsson, K. H.; Hupa, M.; Aro, H. T.; *Glass Technol.: Eur. J. Glass Sci. Technol. A* **2010**, *51*, 89.
- Fujita Y.; Yamamuro, T.; Nakamura, T.; Kotani, S.; Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1991**, *25*, 991; Kotani, S.; Fujita, Y.; Kitsugi, T.; Nakamura, T.; Yamamuro, T.; Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1991**, *25*, 1303; Xin, R.; Leng, Y.; Chen, J.; Zhang, Q.; *Biomaterials* **2005**, *26*, 6477.
- Peitl, O.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 1995.
- Peitl, O.; La Torre, G. P.; Hench, L. L.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *30*, 509; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; Hench, L. L.; *J. Non-Cryst. Solids* **2001**, *292*, 115.
- Peitl, O.; Zanotto, E. D.; La Torre, G. P.; Hench, L. L.; *Patent WO/1997/041079*, **1997**.
- Leite, M. L. G.; Soares, P. C.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; *Acta Microsc.* **2000**, *9*, 31; Leite, M. L. G.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2001; Guanabara Jr., P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2003; Guanabara Jr., P.; *Mater. Sci. Eng. C* **2004**, *24*, 689.
- Ravagnani, C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2003.
- Zanotto, E. D.; *Am. Ceram. Soc. Bull.* **2010**, *89*, 19.
- Zanotto, E. D.; Ravagnani, C.; Peitl, O.; Lara, E. H. G.; Panzeri, H.; *Patente PI0300644-1*, **2003**.
- Zanotto, E. D.; Ravagnani, C.; Peitl, O.; Lara, E. H. G.; Panzeri, H.; *Patent WO/2004/074199*, **2004**.
- Ravagnani, C.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2007.
- Mazocco, F.; *Univerciência* **2003**, *1*, 17.
- Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity; *J. Can. Dent. Assoc.* **2003**, *69*, 221.
- Chu, C.-H.; Lo, E. C.-M.; *Hong Kong Dent. J.* **2010**, *7*, 15.
- Sobral, M. A. P.; Carvalho, R. C. R.; Netto, N. G.; *Rev. Odontol. Univ. São Paulo* **1995**, *9*, 177.
- Absi, E. G.; Addy, M.; Adams, D.; *J. Clin. Periodontol.* **1987**, *14*, 280; Yoshiyama, M.; Noiri, Y.; Ozaki, K.; Uchida, A.; Ishikawa, Y.; Ishida, H.; *J. Dent. Res.* **1990**, *69*, 1293.
- Brännström, M. *Em Sensory mechanisms in dentine: proceedings of a symposium*; Anderson, D. J., ed.; London, England, 1962, Pergamon: Oxford, 1963, p. 73; Brännström, M.; *J. Am. Dent. Assoc.* **1963**, *66*, 366.

56. Orchardson, R.; Gillam, D. G.; *J. Am. Dent. Assoc.* **2006**, *137*, 990.
57. Addy, M.; Hunter, M. L.; *Int. Dent. J.* **2003**, *53* (supplement 3), 177.
58. Low, I. M.; Alhuthali, A.; *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28*, 1322.
59. Ayad, F.; Berta, R.; DeVizio, W.; McCool, J.; Petrone, M. E.; Volpe, A. R.; *J. Clin. Dent.* **1994**, *5* (Spec. No.), 97; Bolden, T. E.; *J. Clin. Dent.* **1994**, *5* (Spec. No.), 68; Sowinski, J.; Ayad, F.; Petrone, M.; DeVizio, W.; Volpe, A.; Ellwood, R.; Davies, R.; *J. Clin. Periodontol.* **2001**, *28*, 1032.
60. Miller, S.; Gaffar, A.; Sullivan, R.; Heu, R.; Truong, T.; Stranick, M.; *J. Clin. Dent.* **1994**, *5* (Spec. No.), 71.
61. Nisbet, M. A.; Grist, N. J.; Scott, C. M.; *Patent WO/1993/025183*, **1993**; West, N.; Addy, M.; Hughes, J.; *J. Oral. Rehabil.* **1998**, *25*, 885.
62. Poulsen, S.; Errboe, M.; Hovgaard, O.; Worthington, H. W.; *Cochrane Database Syst. Rev.* **2001**, *2*, CD001476; Poulsen, S.; Errboe, M.; Les-cay Mevil, Y.; Glenny, A. M.; *Cochrane Database Syst. Rev.* **2006**, *3*, CD001476.
63. Litkowski, L. J.; Hack, G. D.; Greenspan, D. C.; *Patent US 5735942*, **1998**; Litkowski, L. J.; Hack, G. D.; Greenspan, D. C.; *Patent US 6338751*, **2002**; Gillam, D. G.; Tang, J. Y.; Mordan, N. J.; Newman, H. N.; *J. Oral Rehabil.* **2002**, *29*, 305.
64. Tirapelli, C.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.
65. Tirapelli, C.; Panzeri, H.; Soares, R. G.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; *Braz. Oral Res.* **2010**, *24*, 381.
66. Tirapelli, C.; Panzeri, H.; Lara, E. H. G.; Soares, R. G.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; *J. Oral Rehabil.* **2011**, *38*, 253.
67. Tirapelli, C.; Duarte, R. S.; Gava, I. L.; Panzeri, H.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; *Resumos da 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Odontologia*, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
68. Pinheiro, H. B.; Lopes, B.; Klautau, E. B.; Cardoso, J.; Silva, B. R.; Cardoso, P. E. C.; *Mater. Res.* **2010**, *13*, 273.
69. Roriz, V. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.
70. Roriz, V. M.; Rosa, A. L.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; Panzeri, H.; Oliveira, P. T.; *Clin. Oral. Impl. Res.* **2010**, *21*, 148.
71. Jabur, R. O.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2008; Jabur, R. O.; Trivellato, A. E.; Peitl, O.; Barros, V. M. R.; *Oral Surg.* **2009**, *2*, 161.
72. Fagundes, T. C.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2009; Pinheiro, M. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil, 2010.
73. Massuda, E. T.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.
74. Massuda, E. T.; Maldonado, L. L.; Lima Júnior, J. T.; Peitl, O.; Hyppolito, M. A.; Oliveira, J. A.; *Braz. J. Otorhinolaryngol.* **2009**, *75*, 665.
75. Siqueira, R. L.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; *Resumos do 18º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, Porto de Galinhas, Brasil, 2008.
76. Crovace, M. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2009.
77. Moura Neto, J.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007; Moura Neto, J.; Teixeira, L. N.; Ravagnani, C.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; Beloti, M. M.; Panzeri, H.; Rosa, A. L.; Oliveira, P. T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2007**, *82*, 545.
78. Granito, R. N.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2009.
79. Granito, R. N.; Ribeiro, D. A.; Renno, A. C. M.; Ravagnani, C.; Bossini, P. S.; Peitl, O.; Zanotto, E. D.; Parizotto, N. A.; Oishi, J.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, *20*, 2521.
80. Brandão, S. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil, 2010.