



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**SULFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO E AS SUAS APLICAÇÕES EM
REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Trabalho submetido por
Ana Serra do Norte
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

novembro de 2022



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**SULFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO E AS SUAS APLICAÇÕES EM
REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Trabalho submetido por
Ana Serra do Norte
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Alexandre Santos

novembro de 2022

“A mudança não virá se esperarmos por outra pessoa ou outros. Nós somos a mudança que procuramos.”

Barack Obama

Agradecimentos

Estes agradecimentos são dirigidos a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização desta dissertação, e para a finalização do meu percurso académico. Um agradecimento especial:

Ao Instituto Universitário Egas Moniz e aos seus professores por me terem acolhido nestes últimos 5 anos.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Alexandre Santos, pela ajuda, disponibilidade disciplina e ensinamentos durante a realização deste projeto.

Ao Prof. Doutor José João Mendes, pelo empenho e dedicação à academia que me formou, sempre disposto a ajudar o próximo. Um exemplo a seguir.

Ao Prof. Doutor José Silva Marques, por despertar o interesse no tema abordado durante este trabalho.

À minha família, por todo o apoio e carinho e, em especial, aos meus pais e ao meu irmão, por acreditarem em mim, por me terem apoiado e ajudado em todos os desafios e adversidades encontradas durante o meu percurso académico e na vida, foram fundamentais para esta conquista e por isso, não tenho palavras suficientes para expressar a minha gratidão.

Aos meus colegas e amigos, por todos os momentos e experiências que partilhamos nestes últimos anos e, em especial, ao meu parceiro da clínica Giovanni, por me ter acompanhado, motivado e ajudado nestes últimos 2 anos, pelas experiências partilhadas e, acima de tudo, pela sua amizade.

Por fim, ao meu namorado João, que acompanhou todo o meu percurso com amor e dedicação, ajudando nos momentos mais difíceis do percurso académico.

Resumo

Os materiais para enxertos ósseos têm vindo a ser utilizados durante séculos na área médica, sendo que a sua utilidade na área da medicina dentária para regeneração óssea tem vindo a aumentar nos últimos anos.

O principal objetivo ao utilizar um material para enxerto ósseo é criar o ambiente ideal para que haja uma conversão completa de enxerto ósseo em osso nativo, possuindo vascularização e permanecendo a longo prazo, restaurando a função daquela área que outrora possuía um defeito ósseo. No mercado temos disponíveis várias opções para utilizar na área da regeneração óssea: aloenxertos, xenoenxertos e materiais aloplásticos. Atualmente o padrão de ouro continua a ser o autoenxerto.

O sulfato de cálcio é um material de regeneração óssea que já conta com vários anos de utilização e documentação. Este classifica-se como sendo um biomaterial para enxerto ósseo de origem inorgânica. É amplamente conhecido como sendo um material bem tolerado pelo organismo, que é quase totalmente reabsorvido, que não provoca uma resposta inflamatória significativa e que é osteocondutor.

O uso de sulfato de cálcio foi descontinuado devido à dificuldade de solidificação na presença de saliva ou de sangue. Este obstáculo foi ultrapassado a partir de 2010, através da modificação do próprio material, tornando-o bifásico. Através da sua reformulação, este material já consegue endurecer na presença de saliva ou sangue, conseguindo que o seu uso seja alargado para a área da medicina dentária.

O sulfato de cálcio bifásico representa uma escolha económica, previsível, de fácil manuseamento e eficaz para a realização de procedimentos de regeneração óssea. No entanto, algumas taxas de insucesso associadas a este material e a escassa literatura sobre este tema, levam a que vários autores sublinhem a necessidade de mais estudos para avaliação da eficácia a curto e longo-prazo deste material.

Palavras-chave: regeneração óssea, sulfato de cálcio, sulfato de cálcio bifásico, enxerto ósseo

Abstract

Bone graft materials have been used for centuries in the field of medicine, and their utility in the field of dentistry for bone regeneration has been increasing in recent years.

The main objective when using a bone grafting material for regeneration purposes is to create the ideal environment for there to be a complete conversion of bone graft to native bone, having vascularization and remaining in the long term, restoring all functions of that area, that once had a bone defect. Several options are available on the market for use in bone regeneration: autografts, allografts, xenografts, and alloplastic materials. Currently the gold standard is still the autograft.

Calcium sulfate is a bone regeneration material that has been used and documented for many years. It is classified as a biomaterial of inorganic origin for bone grafting. It is widely known as a material that is well tolerated by the organism, that is almost completely reabsorbed, doesn't cause a significant inflammatory response and is osteoconductive.

The use of calcium sulfate has been discontinued over the years, due to the difficulty of solidification in the presence of saliva or blood. This obstacle in its use was overcome as of 2012, through the modification of the material itself, without changing its chemical structure and without adding any additives, making it biphasic. Being biphasic, it can now harden in the presence of saliva or blood, thus enabling its use to be extended to the dental field.

Biphasic calcium sulfate represents an economical, predictable, easy-to-handle and effective choice to perform bone regeneration procedures. However, some failure rates associated with this material and the scarce literature on this subject, lead several authors to stress the need for further studies to evaluate the short- and long-term efficiency of this material.

Keywords: bone regeneration, calcium sulfate, biphasic calcium sulfate, bone grafting

Índice Geral

Resumo	1
Abstract.....	3
Índice de Figuras	7
Lista de Abreviaturas.....	9
1.Introdução	11
2.Desenvolvimento	13
2.1 Tecido Ósseo	13
2.1.1 Células Ósseas	14
2.1.1.1 Células Osteoprogenitoras	14
2.1.1.1 Osteoblastos	14
2.1.1.1 Osteócitos	16
2.1.1.1 Osteoclastos.....	17
2.1.2 Matriz Óssea	18
2.1.2.1 Fibras de colagénio	19
2.1.2.2 Proteínas não Colagénicas.....	20
2.1.2.3 Parte Mineral.....	20
2.2 Osteogênese	21
2.2.1 Ossificação Endocondral	21
2.2.2 Ossificação Intramembranosa.....	23
2.2.3 Remodelação Óssea.....	23
2.3 Regeneração Óssea	25
2.4 Materiais para Regeneração Óssea Guiada	27
2.4.1 Propriedades para Regeneração Óssea Guiada.....	27
2.4.2 Propriedades para Enxertos	28
2.4.3 Enxertos Ósseos.....	29
2.5 Sulfato de Cálcio	37
2.5.1 Limitações	39
2.6 Sulfato de Cálcio Bifásico	40
2.6.1 Aplicações Clínicas	43
3.Conclusão	49
4.Bibliografia.....	51

Índice de Figuras

Figura 1. Ilustração representativa dos diferentes caminhos de diferenciação de células estaminais mesenquimais. Adaptado de (Ponzetti & Rucci, 2021).....	16
Figura 2. Esquema representativo das diferentes técnicas existentes para regeneração óssea. RTG e ROG, referem-se às técnicas de regeneração tecidual guiada e regeneração óssea guiada, respetivamente.....	26
Figura 3. Esquema representativo das diferentes classificações existentes para enxertos, utilizados em regeneração óssea. Adaptado (Battafarano et al., 2021).....	30
Figura 4. Equação de química do processo de calcificação do sulfato de cálcio.	38
Figura 5. Esquema com as diferentes propriedades entre as várias formas de sulfato de cálcio.	41
Figura 6. Imagem histológica do uso de Sulfato de Cálcio Bifásico em combinação com Hidroxiapatite, após 3 meses. É possível observar a presença de enxerto ósseo residual (RS) e a presença de novo tecido ósseo (NB). Adaptado (Yahav et al., 2020). 42	
Figura 7. Imagem histológica do uso de sulfato de cálcio bifásico em combinação com hidroxiapatite, 8 meses após o seu uso para enxerto de defeito ósseo. Na imagem do lado direito podemos observar tecido ósseo (roxo), medula óssea (azul), tecido conjuntivo (verde) e partículas residuais do enxerto (amarelo). Adaptado (Yahav et al., 2020).	43

Lista de Abreviaturas

ALP: Fosfatase alcalina

ATP: Adenosina Trifosfato

BCP: Fosfato de cálcio bifásico

BCS/HA: Sulfato de cálcio bifásico em combinação com hidroxiapatite

BDX: Xenoenxerto de origem bovina

BG: Vidros bioativos

BMPs: Proteínas morfogénicas ósseas

BMUs: Unidade Básica Multicelular

BSPH: Sialoproteína óssea II

CaPs: Cimentos de fosfato de cálcio

COL-I: Colagénio tipo I

COL-III: Colagénio tipo III

COL-V: Colagénio tipo V

CTSK: Catepsina K

DBB: Osso bovino desproteinizado

DLX5: Proteína homeobox DLX-5

ECM: Matriz extracelular

FGF: Fator de crescimento fibroblástico

FGF23: Fator de crescimento fibroblástico 23

GDF: Fator de diferenciação de crescimento

HA: Hidroxiapatite

IGF-I: Fator de crescimento semelhante a insulina tipo I

IL-1: Interleucina 1

IL-6: Interleucina 6

IL-11: Interleucina 11

IL-18: Interleucina 18

M-CSF: Fator estimulante de colônias monócito/macrófago

MSCs: Células estaminais mesenquimais

NCPs: Proteínas não colagénicas

OCN: Osteocalcina

OPN: Osteopontina

OSX: Osterix

PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas

PGA: Ácido Poliglicólico

PHEX: Endopeptidase reguladora de fosfato ligado a X

PLA: Ácido Polilático

RANKL: Recetor ativador do fator nuclear $\kappa\beta$

RCTs: Estudos clínicos randomizados e controlados

ROG: Regeneração óssea guiada

RUNX2: Recetor de transcrição 2 relativo a *RUNT*

RTG: Regeneração tecidular guiada

SC: Sulfato de cálcio

TCP: Trifosfato de cálcio

TGF: Fator transformante de crescimento

TGF- β : Fator transformador de crescimento β

TNF- α : Fator de necrose tumoral

1. Introdução

A uma escala global, cerca de 2.2 milhões de procedimentos para enxertos ósseos são realizados para reabilitar pacientes em áreas como a ortopedia, neurocirurgia e medicina dentária. A reabilitação de tecidos ósseos continua a ser um dos grandes desafios da medicina na atualidade, sendo que a realização de enxertos ósseos se perpetua como sendo o segundo maior tipo de tecido transplantado, sendo apenas precedido pelas transfusões de sangue (van Lieshout et al., 2011).

Quando perdida a função de sustentar peças dentárias, o rebordo alveolar tem, gradualmente, uma tendência para diminuir o seu volume, sendo esta perda irreversível, cumulativa e progressiva. Não só a perda de peças dentárias, bem como, a existência de gengivite, trauma, malformações e destruições associadas a patologias podem conduzir a uma reabsorção nos maxilares, levando a um aumento acrescido na dificuldade em reabilitar cada caso (Mestrando et al., 2009).

Perante um caso em que o tecido ósseo exceda as suas capacidades regenerativas, a regeneração pelo mesmo tornam-se impraticáveis. Torna-se imperativo, a utilização de um enxerto que facilite a migração celular para a zona do defeito ósseo e que permita a sua regeneração. Idealmente, o enxerto ideal deverá ser possuidor de certas características-chaves que irão permitir promover uma melhor adaptação ao processo regenerativo. Estas características englobam a capacidade de ser osteogénico, osteocondutor e osteoindutor (Bom et al., 2019). Para este efeito, neste momento existem algumas opções que estão disponíveis para uso clínico e que potenciam a regeneração óssea, materiais como: osso autólogo, xenoenxertos, fatores de crescimento, aloenxertos e, por fim, materiais aloplásticos (Dimitriou et al., 2011).

Relativamente aos materiais aloplásticos, são materiais biocompatíveis que têm presentes na sua constituição elementos como o cálcio ou o fósforo que são essenciais para a regeneração de tecido ósseo. A sua padronização no fabrico (que lhes atribui um certo grau de qualidade e rigor), o baixo risco de infeção, a sua disponibilidade ilimitada e o fácil manuseamento, são algumas das vantagens que os tornam tão apelativos para uso em ambiente clínico (Anjos et al., 2021). Atualmente, podemos encontrar várias opções no mercado para enxertos aloplásticos, tais como a hidroxiapatite, cerâmicas de fosfato tricálcico, cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico, biovidros, cimentos de fosfato de cálcio, sulfato de cálcio, e por fim, sulfato de cálcio bifásico (Zhao et al., 2021).

O aparecimento de sulfato de cálcio bifásico, veio solucionar uma desvantagem geralmente muito atribuída aos cimentos de sulfato de cálcio, quando usados para regeneração óssea, e que possivelmente fazia com que muitos profissionais de saúde optassem por outro tipo de material: o seu tempo de reabsorção.(Yahav et al., 2020)

A presente monografia procura abordar todas as temáticas relacionadas com sulfato de cálcio bifásico e a sua utilidade na área da regeneração óssea, bem como o conceito de regeneração óssea e os seus mecanismos de ação. Para realização desta monografia, foram utilizadas as bases de dados da Pubmed, GoogleScholar e b-on, para pesquisar publicações entre os anos de 1978 e 2022, em português, inglês e espanhol.

2. Desenvolvimento

2.1. Tecido Ósseo

O tecido ósseo, em conjunto com a cartilagem reticular fibrosa, sangue, tecido adiposo e nervos, formam o osso, que por sua vez, se classifica como sendo o maior sistema de suporte e proteção em vertebrados (Carreira et al., 2014). O tecido ósseo tem inúmeras funções, é-lhe atribuída a função de suporte para o nosso sistema muscular, permitindo movimento e locomoção, proporciona proteção aos órgãos e regula a homeostase e as funções endócrinas do corpo humano (Battafarano et al., 2021).

O osso, tem algumas particularidades no que toca à sua constituição, especificamente, se o observarmos em diferentes escalas. Ao nível macroscópico, podemos identificar dois tipos de estruturas, tecido compacto - osso cortical – que corresponde a aproximadamente 80% da quantidade de osso presente no esqueleto humano, e tecido esponjoso – osso trabecular - que por sua vez, corresponde aproximadamente aos 20% restantes. O osso cortical, apresenta-se como sendo um tecido mais denso que envolve o espaço medular, enquanto o osso esponjoso, tal como o nome indica, caracteriza-se como sendo um tecido bastante poroso e consequentemente, mais flexível, tendo a particularidade de formar uma estrutura interligada de trabéculas, tipo colmeia, com espaço medular circundante (Battafarano et al., 2021; Walmsley et al., 2016).

Ao nível microscópico, a matriz extracelular mineralizada, que identifica o tecido ósseo como sendo um tecido conjuntivo especializado, é constituída por uma fase orgânica (que possui cerca de 90% de colagénio tipo I) e uma fase inorgânica, que contém hidroxiapatite (*HA*) e água, que no osso perfazem aproximadamente cerca de 70% e 5% da sua constituição, respetivamente (Battafarano et al., 2021; Ramesh et al., 2018).

2.1.1. Células Ósseas

O osso é um órgão rígido que está sujeito a constante remodelação, seja por fratura ou desgaste, este é reparado através de uma substituição que vai originar uma nova estrutura óssea. Diferentes tipos de células estão envolvidos neste processo complexo de regeneração, incluindo os osteoblastos, osteócitos, células de revestimento, células osteoprogenitoras e, por fim, osteoclastos (Z. Zhang et al., 2012).

2.1.1.1. Células Osteoprogenitoras

Células osteoprogenitoras, também conhecidas como células osteogénicas ou pré-osteoblastos, são células estaminais localizadas no osso que têm um papel fundamental na reparação e crescimento ósseo. Este tipo de células são precursoras de células mais especializadas, nomeadamente, os osteoblastos e osteócitos, e residem na medula óssea (Nahian & Davis, 2022).

Em ossos maduros, que não apresentem qualquer atividade remodeladora ou de formação óssea, encontram-se como estruturas fusiformes achatadas que se fixam na superfície óssea e são habitualmente referidas como osteoblastos inativos. No entanto, tratando-se de um osso ativo ou em remodelação, estas células encontram-se em maior quantidade e na sua maior forma. Estas células podem estar presentes no endóstio, camada interna do perióstio, e em metástases do tecido ósseo (Nahian & Davis, 2022).

2.1.1.2. Osteoblastos

Os osteoblastos derivam da diferenciação de células estaminais mesenquimais (MSCs) e representam cerca de 4-6% das células presentes em tecido ósseo. Este tipo de célula é largamente conhecido pela formação de osso propriamente dito, sendo também responsável pela deposição de fibras de colagénio e hidroxiapatite (HA) e pela ativação dos osteoclastos ao expressarem os fatores de crescimento *RANKL* e *M-CSF*, recetor

ativador do fator nuclear $\kappa\beta$ e fator estimulante de colónias monócito/macrófago, respetivamente (Perić Kačarević et al., 2020).

As *MSCs* são células multipotentes, uma vez que possuem a capacidade de se diferenciar em outros tipos de células, nomeadamente, osteoblastos, adipócitos ou condrócitos, dependendo de fatores específicos que se encontram presentes no seu microambiente (Ponzetti & Rucci, 2021).

Contrariamente às suas células precursoras (pré-osteoblastos), que possuem uma forma achatada e fusiforme, os osteoblastos possuem uma estrutura cubóide. A principal função atribuída aos osteoblastos é a síntese de matriz óssea (Lopes et al., 2018).

2.1.1.2.1. Diferenciação Osteoblástica

A diferenciação das *MSCs* em relação à linhagem osteogénica é fortemente influenciada por vários fatores moleculares, que pertencem principalmente às proteínas morfogénicas ósseas (*BMPs*). Adicionalmente, também se encontram envolvidos outros fatores como *RANKL* que, como anteriormente referido, está tipicamente associado à ativação dos osteoclastos (Ponzetti & Rucci, 2021).

O processo de diferenciação osteoblástica inicia-se com a diferenciação de uma célula osteocondroprogenitora comum, que se verifica mais após a ativação de fatores de transcrição osteogénicos como o *RUNX2*, *OSX* e *DLX5* (recetor de transcrição 2 relativo a *RUNT*, Osterix e proteína homeobox *DLX-5*, respetivamente). Posteriormente, após a sua ativação, a célula osteocondroprogenitora torna-se então num pré-osteoblasto, seguido da transcrição de genes osteogénicos precoces, tais como a fosfatase alcalina (*ALP*) e a cadeia de colagénio 1 α 1 (*COL1A1*), cuja expressão é então mantida durante todo o período de vida de um osteoblasto maduro, em combinação com outros marcadores como a osteopontina (*OPN*), sialoproteína óssea II (*BSP II*) e osteocalcina (*OCN*) (Ponzetti & Rucci, 2021).

Assim que os osteoblastos completam a sua função de formar tecido ósseo, existem três possíveis destinos para este tipo de células: apoptose, diferenciarem-se em células de revestimento ósseo ou, por fim, diferenciarem-se em osteócitos, tal como está representado na figura 1 (Ponzetti & Rucci, 2021).

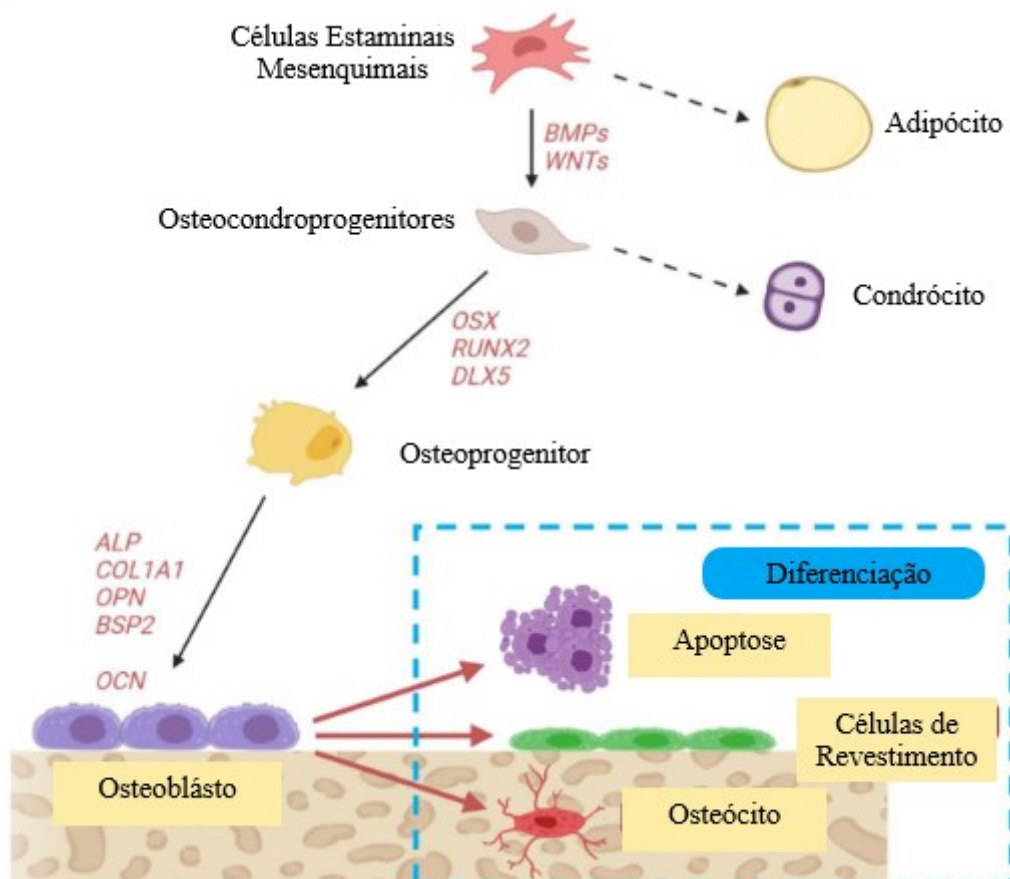


Figura 1. Ilustração representativa dos diferentes caminhos de diferenciação de células estaminais mesenquimais. Adaptado de (Ponzetti & Rucci, 2021).

2.1.1.3. Osteócitos

Os osteócitos resultam da diferenciação e maturação de osteoblastos que, por sua vez, resultaram da diferenciação de MSCs. Este tipo de células constitui cerca de 90% a 95% da quantidade de células ósseas presentes num osso adulto e podem viver durante décadas no seu ambiente mineralizado (até 25 anos). A sua principal função é suportar o esqueleto e o metabolismo ósseo (Lopes et al., 2018).

Em contraste com os osteoblastos, os osteócitos são células pequenas com um formato achatado em estrela. Quando a matriz osteóide é mineralizada, os osteoblastos são incorporados na matriz mineralizada e acabam por se diferenciar em osteócitos. Por conseguinte, o osteócito está localizado nas lacunas minerais, sendo que cada lacuna contém apenas um osteócito, e esta contém, por sua vez, líquido ósseo circundante. Em adição, os osteócitos possuem prolongamentos localizados nos canaliculos que lhes

permitem estabelecer contacto por meio de junções comunicantes, por onde podem passar pequenas moléculas, como *ATP* (adenosina trifosfato), cálcio e *IGF-I* (fator de crescimento semelhante a insulina tipo I), de osteócitos para osteoblastos, osteoclastos e *MSCs*. Estas junções comunicantes ou *gap junctions*, funcionam como canais para comunicação direta de célula para célula (Tresguerres et al., 2020).

Como já foi referido anteriormente, os osteócitos desempenham vários papéis no nosso organismo. Alguns desses papéis incluem:

- Regulação da formação de osso: os osteócitos são capazes de participar na síntese e mineralização da matriz osteóide. Produzem proteínas envolvidas no processo de formação óssea, como *COL-I* (colagénio tipo I) ou *OCN* (osteocalcina), e proteínas envolvidas no processo de mineralização, como a *ALP*.
- Indução da reabsorção óssea: fatores como *RANKL* e *M-CSF* (fator estimulante de colónias monócito/macrófago) são ambos indispensáveis para a formação de osteoclastos (responsáveis pela reabsorção) e os osteócitos encontram-se como sendo a principal fonte de *RANKL*.
- Fonte de cálcio plasmático: a remoção local de matriz permite a libertação de cálcio para a corrente sanguínea e consequentemente, promover a homeostase mineral.
- Remodelação óssea: As *BMUs* (unidade básica multicelular), unidades importantes na remodelação óssea, têm um tempo de vida superior ao dos osteoblastos e dos osteoclastos e, consequentemente, precisam de uma contante reposição destas células, que é controlada pelos osteócitos (Kenkre & Bassett, 2018; Perić Kačarević et al., 2020; Tresguerres et al., 2020).

2.1.1.4. Osteoclastos

Os osteoclastos são células gigantes polarizadas, responsáveis pela reabsorção óssea, que ocorre através da dissolução da fase inorgânica da matriz óssea e da degradação

da proteína de colagénio. São células definidas como sendo células multinucleadas que têm origem da linhagem monócito-macrofágica, diferenciando-se de células mononucleares de origem hematopoiética, sob a influência de vários fatores, tais como o fator estimulante de colónias monócito/macrófago (*M-CSF*) e o recetor ativador do fator nuclear kappa B (*RANKL*) (Battafarano et al., 2021). Estes tipos de células têm a particularidade de serem responsáveis pela reabsorção óssea através da secreção de iões de hidrogénio, cloro, catepsina (*CtsK*) e metaloproteinases de matriz (*MMPs*) na área a ser reabsorvida (Ono & Nakashima, 2018).

Os osteoclastos são as únicas células capazes de realizar a reabsorção óssea e, portanto, desempenham um papel fundamental no ciclo de remodelação óssea. Fatores como o *RANKL* e *M-CSF* têm sido reportados como sendo indispensáveis para a proliferação, diferenciação e sobrevivência dos osteoclastos. A reabsorção óssea acontece na presença de fatores secretados por este tipo de células, fatores como: iões de hidrogénio, responsáveis pela acidificação do compartimento de reabsorção através da dissolução da matriz óssea mineral, e a catepsina K, responsável pela digestão da fração insolúvel da matriz (predominantemente moléculas de colagénio tipo I) (Lopes et al., 2018).

2.1.2. Matriz Óssea

A matriz extracelular (*ECM*) consiste num microambiente dinâmico e intrínseco, com propriedades mecânicas e bioquímicas reguladas com a maior precisão. Mais concretamente no osso a *ECM* está envolvida em mecanismos de regulação de adesão celular, proliferação e respostas aos fatores de crescimento e diferenciação. Em suma, características funcionais do osso maduro (Lin et al., 2020).

A *ECM* é uma estrutura tridimensional, ausente de células, secretada por células que a depositam no espaço extracelular. No que toca à sua composição, esta é composta por proteínas e polissacáridos específicos e dependendo do tipo de tecido em que está inserido, esta vai ter variações na sua especificidade, especialmente durante o seu desenvolvimento (Lin et al., 2020).

A matriz óssea é considerada como sendo o quarto elemento no desenvolvimento de engenharia tecidual óssea. Esta estrutura tridimensional é composta por uma porção

orgânica, que constitui cerca de 40% da *ECM*, e por uma porção inorgânica, que corresponde aos 60% restantes. Adicionalmente, é de alguma relevância referir que a sua constituição exata pode variar consoante o género, idade e estado de saúde do indivíduo (Lin et al., 2020).

Contrariamente à porção inorgânica da *ECM* cujo elemento mais presente é *HA*, a porção orgânica da *ECM* mostra-se bem mais complexa, consistindo predominantemente em moléculas de colagénio tipo I (cerca de 90%), e em proteínas não colagénicas (cerca de 10%), sendo maioritariamente sintetizada pelos osteoblastos antes do processo de mineralização (Lin et al., 2020).

2.1.2.1. Porção Orgânica: Fibras de colagénio

As proteínas de colagénio mais abundantes na *ECM* óssea são o colagénio tipo I, III (*COL-III*) e V (*COL-V*) e correspondem à maior percentagem de elementos presentes na porção orgânica da matriz. As suas principais funções englobam suporte mecânico dos tecidos, atuando como andaime para as células ósseas (Lin et al., 2020).

O colagénio é das principais proteínas fibrosas e insolúveis presentes nos seres humanos, representando cerca de 25% do volume proteico total contido no organismo. No que toca à sua estrutura tridimensional, o colagénio contém uma estrutura fibrilar de tripla hélice e dependendo do seu tipo, esta proteína variar tanto na sua estrutura, como função e distribuição tecidular (Arseni et al., 2018).

O *COL-I* representa cerca de 90% do colagénio presente no tecido ósseo e trata-se de uma molécula constituída por tríplexes de polipéptidos que consequentemente formam as fibrilhas de colagénio. As fibrilhas vão interagir tanto com proteínas colagénicas como com proteínas não colagénicas para formar os feixes e fibras de maior ordem. Relativamente às proteínas *COL-III* e *COL-V*, estão encarregues da regulação do diâmetro das fibras e da fibrilogénese do *COL-I* (Lin et al., 2020).

2.1.2.2. Porção Orgânica: Proteínas não Colagénicas

As proteínas não colagénicas (*NCPs*) constituem uma percentagem menor da porção orgânica da *ECM* e nelas estão incluídas cerca de 180-200 moléculas diferentes, com funções do foro estrutural, sinalizador e mecânico (Licini et al., 2019).

Dentro da *ECM*, as *NCPs* estão divididas em quatro grupos: os proteoglicanos, proteínas ácidas γ -carboxiglutâmico (que inclui as *OCN*), glicoproteínas (nas quais estão incluídas as osteonectinas) e, por fim, as “*small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins*” (*SIBLINGs*) (Lin et al., 2020).

2.1.2.3. Parte Mineral

Em 1771, *Scheele* relatou pela primeira vez a presença de fosfato de cálcio no osso. Posteriormente, o mineral foi descrito como sendo uma forma de hidroxiapatite, tanto por análises de composição química, como por verificação dos padrões de difração de raio X (Murshed, 2018).

O processo de deposição de *HA* na *ECM* denomina-se de biomineralização. A interação entre alguns minerais e a *ECM*, tais como aminoácidos presentes em proteínas não colagénicas, controlam a formação e deposição de *HA*. Durante a mineralização, existe produção de colagénio e este vai ter a função de molde para posteriormente poder haver deposição de hidroxiapatite (Lin et al., 2020).

Observando a composição química da porção mineral da matriz óssea, podemos assumir que os níveis de iões de cálcio e de fosfato são fatores determinantes para a biomineralização, visto que os depósitos de fosfato de cálcio vão ser, eventualmente, convertidos em cristais de hidroxiapatite. Dados em pacientes mostram que a redução dos níveis de iões fosfato, com ou sem quaisquer alterações na percentagem de cálcio, resultam em osteomalacia, caracterizada por um aumento evidente no volume de desmineralização associado ao tecido osteóide (Bolean et al., 2017; Murshed, 2018).

Adicionalmente, e reforçando o que foi acima descrito, apesar de tanto os iões de fosfato como os iões de cálcio pertencerem à parte inorgânica da *ECM*, experiências conduzidas em algumas amostras de ratos sugerem que o ião de fosfato representa o papel

mais importante no que diz respeito à regulação da mineralização. Numa experiência conduzida em 1976 com ratos portadores de uma mutação associada ao gene *PHEX* (endopeptidase reguladora de fosfato ligado a X), a quantidade de cálcio observado manteve-se dentro dos níveis normais e o volume de iões fosfato, como era esperado pela mutação associada a *PHEX*, ficou reduzido para aproximadamente metade. Os resultados desta experiência não só verificaram uma diminuição associada à percentagem de fosfato, bem como, a amostra de ratos apresentava fenotipicamente osteomalacia. A inativação de *PHEX* conduz a um aumento do fator de crescimento fibroblástico 23 (*FGF23*), produzido por osteoblastos e osteócitos e, em contrapartida, este aumento vai desregular a expressão de transportadores de fosfato de sódio nos rins e, consequentemente, impedir a reabsorção de iões de fosfato (Murshed, 2018).

A semelhança física e química da *HA* em relação aos constituintes minerais do tecido ósseo, sendo biocompatível e osteocondutor, faz com que a *HA* seja um mineral amplamente utilizado para preenchimentos ósseos e revestimentos de implantes metálicos (Lin et al., 2020).

2.2. Osteogênese

O processo de formação de osso, osteogênese, pode decorrer por duas vias: ossificação endocondral e ossificação intramembranosa. Independentemente do processo em causa, ambos começam pelo aumento da concentração *MSCs* e pela sua diferenciação (Perić Kačarević et al., 2020).

No que toca à ossificação endocondral, as *MSCs* diferenciam-se em condrócitos que vão depositar tecido cartilaginoso e que, por sua vez, será mineralizado pelos osteoblastos. A ossificação intramembranosa, característica dos ossos da face e crânio, envolve apenas uma diferenciação direta das *MSCs* em tecido ósseo, não possuindo a fase intermédia de diferenciação para condrócitos (Perić Kačarević et al., 2020).

2.2.1. Ossificação Endocondral

O processo de ossificação endocondral envolve a substituição de cartilagem hialina por tecido ósseo. Este processo inicia-se com a diferenciação de *MSCs* em condrócitos, que vão rapidamente proliferar-se e, por sua vez, secretar uma matriz extracelular que vai formar uma cartilagem com uma estrutura semelhante à que será a estrutura do osso maduro, bem como uma membrana circundante (pericôndrio). Os condrócitos que se encontram no centro da cartilagem passam por um processo de hipertrofia e de seguida começam a adicionar colagénio X e fibronectina à matriz extracelular. Estas alterações na *ECM* vão permitir a calcificação da mesma (Breeland et al., 2022; Rolian, 2020).

A calcificação da *ECM* vai impedir a passagem de nutrientes e, consequentemente, devido a este défice de nutrição, os condrócitos passam por um processo de apoptose. A morte destas células cria espaços vazios na *ECM*, que com a passagem de vasos sanguíneos se vão alargar e formar cavidades para a medula óssea. Adicionalmente, a passagem de vasos sanguíneos permite o transporte de células osteogénicas e há a transformação do pericôndrio em periósteo (Breeland et al., 2022).

Após a calcificação da matriz, os osteoblastos vão criar uma zona espessa de osso compacto numa localização do periósteo, na zona correspondente à diáfise, denominada de colar periosteal. É no colar periosteal que decorre a ossificação primária (Breeland et al., 2022).

Na ossificação primária ocorre a substituição de tecido cartilaginoso por tecido ósseo, na zona da diáfise, e adicionalmente continua a haver proliferação de cartilagem nas extremidades do osso. Estas zonas de proliferação providenciam um crescimento longitudinal em ossos longos. Após o nascimento, este processo repete-se na zona da epífise, sendo aqui realizada a ossificação secundária (Breeland et al., 2022).

2.2.2. Ossificação Intramembranosa

Relativamente à ossificação intramembranosa, apesar de também ser influenciada pelo aumento de *MSCs*, tal como a ossificação endocondral, esta caracteriza-se pela conversão direta de *MSCs* em tecido ósseo (Breeland et al., 2022).

Este processo inicia-se com a diferenciação de *MSCs* em células formadoras de osso, os osteoblastos. Após a sua diferenciação, os osteoblastos vão agrupar-se em aglomerados, de maneira a formar um centro de ossificação, onde vão secretar osteóide e seguidamente, iões de cálcio vão ligar-se a esta porção orgânica da matriz não mineralizada. O osteóide secretado pelos osteoblastos vai envolver os vasos sanguíneos, formando o osso trabecular (Breeland et al., 2022).

2.2.3. Remodelação Óssea

Ao longo da vida, o esqueleto é construído e reconstruído através de dois processos: modelação e remodelação óssea. Ambos os processos envolvem reabsorção óssea por parte dos osteoclastos e formação óssea osteoblástica. Na modelação, a reabsorção e formação óssea ocorrem de maneira independente, em locais distintos, procurando ter como objetivo grandes alterações estruturais na estrutura óssea. Em contraste, na remodelação óssea a reabsorção e formação óssea encontram-se acopladas, tanto a nível temporal como espacial, de maneira que o volume e estrutura óssea permaneçam essencialmente inalterados (Kenkre & Bassett, 2018).

O ciclo de remodelação óssea é um processo que permite a substituição de tecido ósseo antigo ou lesado, que é essencial para a preservação óssea e manutenção da homeostase. A remodelação óssea tem como um dos seus principais objetivos a libertação de iões de cálcio e fatores de crescimento, que estão armazenados na matriz óssea mineralizada, para a circulação de maneira a regular a homeostase mineral (Tresguerres et al., 2020).

Durante esta remodelação óssea, a reabsorção osteoclástica está fortemente ligada à formação óssea osteoblástica. Este processo de remodelação não só providencia um sistema de reparação para a estrutura óssea do corpo humano, bem como permite um mecanismo rápido de acesso a depósitos de cálcio e fósforo para a homeostase mineral. O ciclo de remodelação óssea toma lugar numa unidade anatómica e funcional, denominada de unidade multicelular básica (*BMUs*), que é composta por 4 tipos de células principais: células de revestimento ósseo, osteócitos, osteoblastos e osteoclastos (Kenkre & Bassett, 2018; Perić Kačarević et al., 2020).

O processo de remodelação ocorre de uma maneira altamente regulada, estando dividido em cinco fases: ativação, reabsorção, reversão, formação e terminação. Este ciclo decorre durante cerca de 120-200 dias no osso cortical e trabecular. Os osteócitos representam um papel fundamental, pois estão encarregues de regular a diferenciação de osteoblastos e osteoclastos, e consequentemente, a reabsorção e formação óssea (Kenkre & Bassett, 2018).

A ativação inicia-se com o recrutamento de células precursoras de osteoblastos a partir da circulação e com a ativação das mesmas. A superfície óssea é exposta à medida que as células de revestimento se separam do osso e formam compartimentos de proteção na zona a ser reabsorvida. Células mononucleares fundem-se para formar pré-osteoclastos multinucleados que, por sua vez, se vão ligar à matriz óssea e contornar os compartimentos de reabsorção, isolando-os do osso circundante. A reabsorção, que tem a duração de aproximadamente duas semanas, é caracterizada pela reabsorção óssea por parte dos osteoclastos e finaliza-se com a apoptose programada dos mesmos, para garantir que um excesso de reabsorção não ocorra. A reversão tem a duração de quatro a cinco semanas, e é nesta fase que se dá a conversão de reabsorção óssea para um processo de formação óssea e há uma preparação da superfície óssea para os osteoblastos. Na formação, dá-se então a síntese de tecido ósseo propriamente dito, onde podemos identificar duas fases. Numa primeira fase, os osteoblastos sintetizam e secretam uma matriz osteóide, rica em colagénio tipo I. Na segunda fase, há uma regulação da mineralização da matriz osteóide por parte dos osteoblastos, e a deposição dos cristais de *HA* entre as fibras de colagénio. Por fim, na terminação, assim que o processo de mineralização se completa, os osteoblastos passam por um processo de apoptose, ficando incluídos na matriz óssea e acabam por se diferenciar em osteócitos (Kenkre & Bassett, 2018).

2.3. Regeneração Óssea

A manutenção de um sistema ósseo funcional é indispensável para a manutenção estrutural e proteção do organismo. Para tal, é necessário a existência de um sistema que garanta a integridade do sistema ósseo (Lopes et al., 2018).

A regeneração óssea define-se como sendo o processo complexo, biológico e fisiológico, que tem como principal objetivo a formação de novo tecido ósseo. Faz parte dos processos de cicatrização do osso, e está sujeito a alterações durante toda a vida adulta (Brozek et al., 2018).

Em ambiente clínico, a evidência mais comum dos poderes regenerativos do osso é o processo de cicatrização, que vai depender de vários fatores, tais como o fornecimento de sangue na zona do defeito, as forças a que está sujeito e a condição dos tecidos moles circundantes (Battafarano et al., 2021). Existem dois tipos de cicatrização, cicatrização direta (ou primária) e cicatrização indireta (ou secundária) (Nyary & Scammell, 2018).

A cicatrização direta, ou primária, requer uma fixação estável e uma redução anatómica correta das extremidades da fratura. Ocorre através da diferenciação direta de *MSCs* em osteoblastos (ossificação intramembranosa) (Battafarano et al., 2021).

A cicatrização indireta, ou secundária, corresponde ao tipo de cicatrização mais observado na maioria das lesões. Este tipo de cicatrização não requer redução anatómica ou estabilização do defeito e integra tanto a ossificação intramembranosa, bem como a ossificação endocondral (Battafarano et al., 2021; Nyary & Scammell, 2018).

O processo de cicatrização indireta é efetuado no decorrer de várias semanas e habitualmente é descrito em 3 fases sequenciais: fase inflamatória, fase reparativa e por fim, fase de remodelação (Nyary & Scammell, 2018). Após o trauma na zona afetada, inicia-se a fase inflamatória, que vai se caracterizar pelo recrutamento de células sanguíneas, periféricas e intramedulares, e pela formação de hematoma. Após a formação de hematoma, vai haver uma proliferação de *MSCs*, o que, consequentemente, vai levar à formação de um calo mole, constituído por tecido cartilaginoso. Posteriormente, a neoangiogênese e revascularização vão levar à substituição do calo mole primário por um calo ósseo duro. Por fim, uma vez que o calo duro é constituído por tecido ósseo, no seu

processo de remodelação, levado a cabo pelos osteoblastos e osteoclastos, o osso primário é gradualmente substituído por osso secundário e os osteócitos sofrem apoptose, alcançando um estado fisiológico semelhante ao do tecido ósseo antes de sofrer algum trauma (Battafarano et al., 2021; Lopes et al., 2018).

Estes processos osteogénicos, na sua grande maioria, mostram-se bastante eficazes na reparação e substituição de tecido que sofreu algum tipo de trauma (Moussa & Dym, 2020). No entanto, embora o tecido ósseo, normalmente, exiba um certo grau de capacidade autorreparadora, este é limitado quando o defeito ósseo excede um valor crítico (cerca de 2 cm) ou o defeito resulta devido a doença, tais como doenças de origem infecciosa ou tumoral. Para contornar estes casos, são necessários tratamentos adicionais para estimular a regeneração óssea. Na figura 2 estão representadas diferentes técnicas de regeneração óssea (Qing et al., 2020).

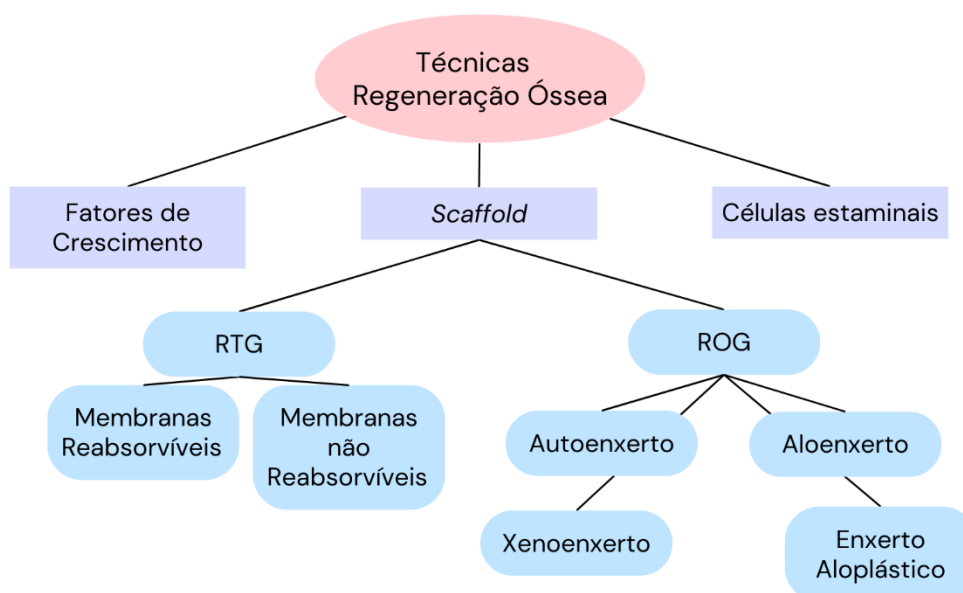


Figura 2. Esquema representativo das diferentes técnicas existentes para regeneração óssea. RTG e ROG, referem-se às técnicas de regeneração tecidual guiada e regeneração óssea guiada, respetivamente.

A regeneração óssea guiada (ROG) é uma técnica utilizada para induzir a regeneração óssea de defeitos ósseos e consiste na prevenção da migração de células indesejáveis, através da adaptação de uma membrana de barreira à área que se pretende reconstruir e da utilização de um material de enxerto. A membrana de barreira vai fornecer estabilidade ao enxerto ósseo, evita o colapso dos tecidos moles no defeito e

ainda, previne a migração de células não osteogénicas para o local (Urban & Monje, 2019).

Regeneração tecidual guiada (RTG) é uma técnica utilizada para tratar defeitos ósseos, através da utilização de uma membrana de barreira. A membrana de barreira tem como principal objetivo a criação de uma barreira entre os tecidos moles e o osso. Adicionalmente, esta também aumenta a estabilidade dos tecidos moles, bem como a estabilidade dos coágulos formados. As membranas a serem utilizadas, tanto podem ser reabsorvíveis, como não reabsorvíveis e a sua seleção vai estar diretamente dependente das necessidades de cada caso a ser reabilitado. Uma das membranas não reabsorvíveis frequentemente mais usadas é o politetrafluoroetileno expandido não reabsorvível (ePTFE), que proporciona resistência e rigidez, bem como propriedades antibacterianas (Liu et al., 2022).

2.4. Materiais para Regeneração Óssea Guiada

2.4.1. Propriedades para Regeneração Óssea Guiada

Os biomateriais devem corresponder a certas características para um maior sucesso no plano de tratamento. Primeiramente, os materiais de enxertos ideais devem ser biocompatíveis, isto é, coexistir com os fluidos biológicos, tecidos e células do hospedeiro sem causar qualquer tipo de resposta nociva local ou sistémica. Quando falamos em materiais de enxerto ou substitutos, três características devem ser sempre ponderadas: osteoindução, osteocondução e osteogênese (Battafarano et al., 2021).

A osteocondução tem-se como sendo a capacidade de um material providenciar um microambiente ideal, criando uma estrutura que permita a penetração e suporte de elementos osteoblásticos e de vasos sanguíneos, para a ocorrência de osteogênese (Battafarano et al., 2021). Habitualmente, enxertos de osso autólogo, enxertos alógenos e materiais sintéticos substitutos de tecido ósseo possuem estas propriedades osteocondutivas (Brozek et al., 2018).

Osteoindução define-se como sendo a capacidade de estimular a diferenciação de *MSCs*, anteriormente indiferenciadas, em pré-osteoblastos (Perić Kačarević et al., 2020). Portanto, um material osteoindutivo, trata-se de um material que possui a capacidade de

induzir a realização de osteogênese, através do recrutamento, proliferação e diferenciação de *MSCs* (Battafarano et al., 2021). A primeira investigação com o intuito de observar o princípio de osteoindução foi realizada por *Urist*, em 1965, através da implantação de matriz óssea desmineralizada em tecido mole, em várias amostras de roedores e levou à descoberta e clonagem de proteínas morfogénicas ósseas (*BMPs*) (Weber, 2019). O potencial osteoindutivo de qualquer material pode ser observado, *in vitro*, através do estudo da diferenciação osteogénica de *MSCs* indiferenciadas em contacto com o material candidato a enxerto ósseo (García-Gareta et al., 2015).

A osteogênese refere-se à capacidade do material de enxerto ósseo conseguir transportar células formadoras de tecido ósseo, osteoblastos e, consequentemente, ter a capacidade de estimular a formação de osso diretamente por parte desses osteoblastos (Anjos et al., 2021).

Em adição às características acima descritas existem três principais elementos necessários para a regeneração de defeitos ósseos: células, fatores de crescimento/sinais morfogénicos, e um material de suporte (*scaffold*) (Battafarano et al., 2021).

Os fatores de crescimento são um grupo de natureza proteica, solúveis em água. Alguns possuem propriedades osteoindutivas, sendo então capazes de recrutar células progenitoras e diferenciá-las em células ósseas. As moléculas que são capazes de estimular a produção e proliferação de novos vasos sanguíneos são bastante importantes para o sucesso de tratamentos regenerativos. Alguns exemplos destas moléculas são: proteínas morfogénicas ósseas (*BMPs*), fator transformador de crescimento (*TGF*) e fator de diferenciação de crescimento (*GDF*) (Brozek et al., 2018).

2.4.2. Propriedades para Enxertos

Os materiais utilizados como enxerto precisam de ter uma série de características que lhes garantam uma boa integração e suporte para regeneração óssea. O material em questão deverá possuir características semelhantes ao do osso nativo e é importante considerar características como a rugosidade da superfície, porosidade, tamanho e formato dos poros, interconetividade, degradação, propriedades mecânicas e, por fim, biocompatibilidade. As características químicas, topografia da superfície e molhabilidade

vão influenciar o comportamento dos tecidos, permitindo a adesão, proliferação e diferenciação de células (Battafarano et al., 2021; Perić Kačarević et al., 2020).

A microarquitetura do material, que inclui a sua porosidade, tamanho dos poros e interconetividade entre si, é essencial para uma transferência eficaz de nutrientes, bem como a vascularização e infiltração dos tecidos. A porosidade e tamanho dos poros têm implicações diretas na funcionalidade de cada material. Redes de poros abertas e interligadas são essenciais para a proliferação e migração celular, bem como a vascularização e formação novos de tecidos. Materiais que contenham níveis de porosidade altos possibilitam uma libertação eficaz de biofatores como proteínas, genes ou células e providenciam um bom substrato para a troca de nutrientes. No entanto, é de grande relevância mencionar que as propriedades físicas de cada material são substancialmente afetadas pelos seus níveis de porosidade, sendo que a manutenção da estabilidade estrutural de um material pode chegar a ficar comprometida. Poros com tamanhos mais pequenos, entre os 75 e 100 μm , já se mostraram bem-sucedidos em regeneração óssea, *in vitro*, no entanto, poros que se aproximem mais às dimensões do osso esponjoso, entre os 200 e 500 μm , mostraram-se mais vantajosos, *in vivo*, mostrando uma maior otimização da penetração nos tecidos e ocorrência de vascularização (Loh & Choong, 2013; Perić Kačarević et al., 2020).

A taxa de biodegradação do material a ser utilizado, também tem um grande impacto nas suas probabilidades de sucesso aquando de um tratamento para regeneração óssea. Um fator importante a considerar é que a taxa de degradação de um material deverá coincidir com a taxa de formação de novo tecido ósseo. A biodegradação do material deverá originar um produto que não seja nocivo para o organismo (H. Zhang et al., 2014).

2.4.3. Enxertos Ósseos

Atualmente, temos disponíveis para utilização em ambiente clínico dois tipos de materiais para regeneração óssea através do uso de enxerto, materiais de origem natural e enxertos ósseos sintéticos (Battafarano et al., 2021).

Os enxertos de origem natural podem ser classificados como autoenxertos, aloenxertos e xenoenxertos. Os materiais de origem sintética são biomateriais desenhados para interagir com o organismo, destinados à substituição de tecido, e podem ser

classificados dependendo da sua composição: metais, cerâmicas, polímeros e compósitos (ver figura 3) (Battafarano et al., 2021).

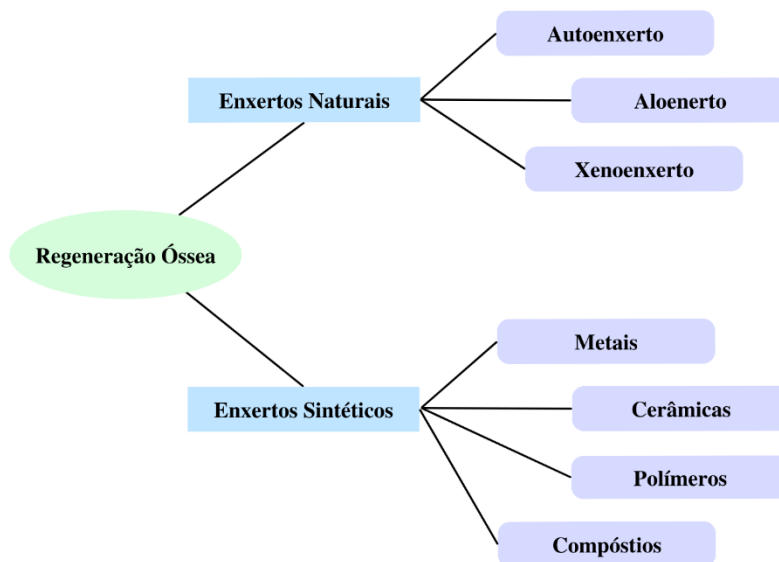


Figura 3. Esquema representativo das diferentes classificações existentes para enxertos, utilizados em regeneração óssea. Adaptado (Battafarano et al., 2021).

2.4.3.1. Autoenxerto

A utilização de osso autólogo é ainda o padrão de ouro para a realização de regeneração óssea devido às suas propriedades osteoindutivas, osteocondutoras e osteogénicas. Na utilização deste tipo de enxerto, osso cortical ou trabecular, ou uma combinação de ambos, é transplantado de uma parte do corpo e utilizado no defeito ósseo, no mesmo indivíduo. Apesar de demonstrar bons resultados, a necessidade de realizar uma segunda intervenção médica aumenta o risco de trauma e possível infecção no paciente. (García-Gareta et al., 2015; Moussa & Dym, 2020; Perić Kačarević et al., 2020).

A sua maior vantagem é que este enxerto, sendo doado pelo paciente em questão, não corre quaisquer riscos de transmissão de doença (uma desvantagem observada em aloenxertos). Adicionalmente, reações imunológicas, como reações a corpos estranhos características de aloenxertos não são um problema a ser tomado em conta, visto que o tecido a ser transplantado será utilizado no próprio dador (Moussa & Dym, 2020).

A utilização de osso autólogo apresenta algumas desvantagens. Existem algumas morbidades associadas ao local de colheita do tecido. Enxertos ósseos provenientes da crista ilíaca têm uma taxa de complicações desde 8,5% até 20% e, adicionalmente, enxertos realizados na zona da anca, frequentemente utilizados para elevação do seio maxilar, podem potencializar uma marcha deficiente no paciente, dificultando a sua locomoção. Exemplos de complicações incluem a formação de hematoma, provocação de lesões nervosas, formação de hérnias e perda de sangue. A utilização de osso autólogo proveniente da sínfise mandibular está muitas vezes associada mudanças sensoriais, temporárias ou permanentes, nos lábios e mento. Por fim, sendo possivelmente aquilo que contrasta mais com as opções sintéticas no mercado, o fornecimento de osso é limitando, estando restringido pela quantidade possível de osso presente no dador para utilização como enxerto (Moussa & Dym, 2020).

2.4.3.2. Aloenxerto

Aloenxertos são enxertos que foram recolhidos e transplantados entre indivíduos da mesma espécie e providenciam uma alternativa aos autoenxertos, especialmente em pacientes que demonstram dificuldade na cicatrização. Este tipo de enxerto é sujeito a uma série de processos de esterilização para estar apto a utilização em ambiente clínico e devido à grande diversidade de processos existentes, os aloenxertos podem variar bastante nas suas propriedades. Relativamente à sua classificação, podem ser frescos, frescos congelados, liofilizados e desmineralizados, dependendo do processo a que foram submetidos. Apesar de maiores níveis de esterilização providenciarem uma eliminação mais eficaz das probabilidades de haver qualquer tipo de transmissão de doença, isto também pode levar a uma diminuição das propriedades osteoindutivas e osteocondutoras do material em questão. Portanto, é então importante avaliar a situação em que cada tipo de aloenxerto pode ser utilizado, sabendo que maiores níveis de esterilização podem diminuir a sua eficácia e, por outro lado, menores níveis de esterilização podem aumentar a probabilidade de ocorrer transmissão de doença. Comparativamente com os enxertos de osso autólogo, os aloenxertos revelaram ser imunogénicos e com taxas de insucesso mais altas (Shibuya & Jupiter, 2015; Wang & Yeung, 2017).

2.4.3.3. Xenoenxerto

Os xenoenxertos derivam de tecidos retirados de espécies não humanas e, consequentemente, é espectável uma atividade antigénio mais acentuada comparativamente aos aloenxertos. Naturalmente, este tipo de enxertos necessita de um nível de esterilização substancialmente superior, o que, como já foi falado anteriormente, pode conduzir a uma diminuição das suas capacidades osteoindutivas e osteocondutivas (Shibuya & Jupiter, 2015).

Relativamente às suas vantagens, devido à grande quantidade de dadores, este tipo de enxerto é tendencialmente mais económico e encontra-se amplamente disponível, comparativamente às outras opções no mercado. Adicionalmente, devido ao seu processo extenso de esterilização, caracterizam-se como sendo um produto que tem um prazo de validade confortavelmente extenso (Shibuya & Jupiter, 2015).

2.4.3.4. Materiais Aloplásticos

Tipicamente, a regeneração de defeitos ósseos é efetuada com o próprio tecido ósseo, retirado a partir do próprio paciente ou de um dador compatível. Estes procedimentos normalmente estão associados a defeitos ósseos com um volume menor já que a sua correção vai depender da quantidade de tecido disponível de ser doado, a morbilidade do dador e possível incompatibilidade (M. N. Collins et al., 2021).

O uso de substitutos ósseos ou materiais de enxerto sintéticos têm como objetivo ultrapassar as desvantagens que se encontram presentes na utilização de autoenxertos e aloenxertos. O osso natural atua como modelo para se desenvolver *guidelines* aquando do desenvolvimento de um novo material para substituição óssea, tentando que este novo material se assemelhe à composição mineral do tecido ósseo ou até à sua estrutura (M. N. Collins et al., 2021).

Atualmente os profissionais de saúde dispõem de uma grande seleção de biomateriais para a reabilitação de defeitos ósseos. Existe uma grande variedade de

biomateriais de natureza inorgânica atualmente no mercado, dividindo-se em vários grupos: metais, biocerâmicas, polímeros naturais e sintéticos (M. N. Collins et al., 2021).

2.4.3.4.1. Biocerâmicas

As biocerâmicas tradicionalmente e historicamente sempre tiveram um papel importante na engenharia de tecidos ósseos e são vastamente conhecidas pelas suas propriedades osteocondutivas e biocompatibilidade. Estes materiais podem subdividir-se em três categorias: cerâmicas (cristalinas), vidros (amorfos) e cerâmicas de vidro (parcialmente cristalinas) (M. N. Collins et al., 2021; Koons et al., 2020).

As cerâmicas caracterizam-se como sendo um material não metálico inorgânico. Sabendo que o tecido ósseo é constituído aproximadamente em 70% por Hidroxiapatite é natural que a utilização de biomateriais cerâmicos, como as cerâmicas de fosfato de cálcio (*CaPs*) e vidros bioativos (*BG*), que foram introduzidos em mercado há mais de 30 anos, se encontre relevante ainda nos dias de hoje. A composição das cerâmicas, similar à composição da fase mineral do tecido ósseo, atribui-lhes uma superfície adequada para a formação de tecido ósseo (Battafarano et al., 2021).

Convencionalmente, as biocerâmicas são consideradas bioativas se conseguirem formar uma ligação direta com o tecido ósseo circundante e inertes se não o conseguirem. Apesar disto, tem-se vindo a provar que os efeitos biológicos desejados (tais como a osteogênese e angiogênese) provocados por este tipo de materiais com a libertação de iões biologicamente ativos, têm vindo a despertar algum interesse na comunidade científica para a conceção de vários materiais biocerâmicos, para regeneração óssea, que incorporem iões bioativos, como por exemplo Ca^{2+} , Mg^{2+} , Si^{4+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} , Li^{2+} e Ag^{+} (Koons et al., 2020).

O fosfato de cálcio é a biocerâmica normalmente mais usada para engenharia tecidual e o mecanismo subjacente ao sucesso deste composto, apesar da sua constante investigação, tem sido atribuído à libertação de iões Ca^{2+} e PO_4^{3-} que, por sua vez, conduzem à formação de uma camada capaz de absorver proteínas osteogénicas na superfície do material (Koons et al., 2020).

As cerâmicas de fosfato de cálcio mais usadas em regeneração óssea são a Hidroxiapatite, Trifosfato de Cálcio (*TCP*) e uma combinação de ambos, Fosfato de Cálcio Bifásico (*BCP*). O trifosfato de cálcio existe em duas principais fases cristalinas, alfa e beta, similares na sua composição, mas diferem no que toca às suas propriedades

crystalinas que lhes conferem diferentes características relacionadas com a sua absorção. Enquanto a *HA* tem um grau alto de cristalização e a sua degradação, *in vivo*, é dificultada, o *TCT* mostra-se mais fácil de ser reabsorvido e torna-se solúvel mais rapidamente (Battafarano et al., 2021)

2.4.3.4.2. Metais

Os primeiros metais usados em regeneração óssea foram metais como o Ferro (Fe), Magnésio (Mg), Zinco (Zn) e as suas ligas. Estas substâncias são particularmente valorizadas devido ao seu excelente desempenho mecânico (Battafarano et al., 2021; Koons et al., 2020)

Biomateriais produzidos à base de magnésio são passíveis de biodegradação por meio de corrosão e são, portanto, mais adequados do que materiais à base de titânio para utilização em engenharia tecidual óssea. Um ensaio clínico em humanos demonstrou que ligas metálicas à base de magnésio passam por um processo de degradação e substituição por tecido ósseo completo no intervalo de tempo de um ano após a sua implementação. Apesar da sua taxa de biodegradação ser bastante alta e consequentemente provocar alguns efeitos adversos que devem ser evitados, o aumento do pH na área em questão, que ocorre durante esta degradação, facilita a precipitação de fosfato de cálcio. Os iões de magnésio e nanos partículas de ferro promovem uma resposta osteogénica mais rápida de fatores de crescimento produzidos pelas *MSCs*. Por fim, iões de Ag^+ são amplamente conhecidos por se caracterizarem como sendo um material com propriedades antibacterianas e têm sido, portanto, implementados em vários materiais de engenharia tecidual para dotar estes materiais de propriedades antibacterianas (Koons et al., 2020).

2.4.3.4.3. Polímeros

Os polímeros são materiais orgânicos compostos por longas cadeias de átomos, interligados por ligações do tipo covalentes. Tanto polímeros de origem natural, bem

como polímeros sintéticos são materiais válidos para utilização em regeneração óssea (Koons et al., 2020).

Os polímeros naturais estão em particular vantagem, comparativamente com os polímeros sintéticos, devido à sua similaridade com a *ECM*, a sua biocompatibilidade e biodegradação (Koons et al., 2020).

O colagénio é um dos biomateriais amplamente mais usado, não só pela sua utilidade biomédica, mas também para fins de investigação. As razões para tal incluem o facto de ser um componente importante da matriz extracelular, um material não tóxico fácil de isolar e que contém um elevado nível de biocompatibilidade, bem como, níveis baixos de imunogenicidade. Para além disso é o principal componente proteico do tecido ósseo natural e contém sequências de aminoácidos (Battafarano et al., 2021).

O alginato é um polímero natural que deriva de algas, conhecido pela sua capacidade de absorver água (absorvendo até 300 vezes o seu peso) e que para além da sua natureza biocompatível e biodegradável, é bastante fácil de manipular e usar. Devido às suas propriedades, o alginato tem sido bastante investigado, o que levou ao desenvolvimento de géis de alginato combinados com outro tipo de materiais, como o colagénio, cerâmicas e biovidros. Em particular, em 2019, *Ghosh* e colaboradores criaram um hidrogel que possui uma estrutura nanofibrosa que imita a matriz óssea extracelular e que possui excelentes propriedades mecânicas, permitindo a adesão, *in vitro*, e a viabilidade de pré-osteoblastos (Battafarano et al., 2021; Ghosh et al., 2019).

Relativamente às suas desvantagens, apesar do alginato ser um material relativamente barato, este mostra-se como sendo um material que estruturalmente e mecanicamente é bastante instável (Battafarano et al., 2021).

A principal motivação para a utilização de polímeros sintéticos está relacionada com o facto de serem bastante robustos e rígidos, propriedades bastante valorizadas quando aplicadas à regeneração óssea (M. N. Collins et al., 2021).

Relativamente às suas desvantagens, este tipo de polímeros pode sofrer um processo de erosão que resulta numa falha prematura dos enxertos e até podem libertar produtos ácidos provenientes da sua degradação que pode resultar numa resposta inflamatória por parte do paciente. No entanto, o seu peso molecular, composição química e cristalinidade podem ser manipulados para providenciar uma taxa de degradação mais controlada. Alguns dos polímeros sintéticos que demonstram melhores resultados no que toca às suas propriedades mecânicas, inflamatórias, biocompatíveis e biodegradáveis incluem-se o ácido poliláctico (*PLA*), o ácido poliglicólico (*PGA*) e ácido láctico-co-ácido

glicólico (*PLGA*). Tipicamente, polímeros biodegradáveis provocam uma resposta inflamatória menos intensa quando estão em combinação com biocerâmicas (Battafarano et al., 2021; M. N. Collins et al., 2021).

2.4.3.4.4. Compósitos

Os compósitos, orgânicos e inorgânicos, são bastante eficientes a reproduzir as propriedades do tecido ósseo. São definidos como sendo um material composto por dois ou mais elementos, pertencentes a várias classes de materiais. Existe uma vastidão de combinações diferentes que dão origem a compósitos com um desempenho satisfatório. Uma boa relação entre materiais inorgânicos e polímeros é fundamental para induzir formação de tecido ósseo, mantendo tanto a porosidade, bem como a resistência mecânica dos compósitos (Battafarano et al., 2021; M. N. Collins et al., 2021).

Os compósitos que contém na sua constituição materiais à base de metais e cerâmicas foram especificamente desenvolvidos para contrariar o potencial corrosivo dos metais, sem comprometer as suas vantagens estruturais e mecânicas. Por outro lado, tanto materiais como a *HA* ou o alumínio permitem uma formação bem-sucedida de novo tecido ósseo, *in vivo*, e quando combinados com outros materiais, como o glutaraldeído, quitosano ou gelatina, através de *crosslinking*, estes vão formar uma estrutura, tipo gel, com poros interligados que suporta a adesão, infiltração e proliferação de células pré-osteoblásticas e *MSCs* (Battafarano et al., 2021).

Sabendo que o colagénio tipo I e a apatite biológica são os principais constituintes do tecido ósseo, a melhor escolha para reproduzir as funções naturais do osso vai ser um compósito que contenha tanto polímeros como cerâmicas, bem como combinações com nano-hidroxiapatite e policaprolactona ou quitosano e fosfato de cálcio (Battafarano et al., 2021).

Muitos estudos conduzidos na área da regeneração óssea levaram à produção de vários compósitos que foram colocados no mercado como métodos inovadores e apesar das combinações feitas para fabricar cada compósito melhorarem as suas propriedades, nenhum destes materiais se mostrou com sendo capazes de se assemelhar às características do tecido ósseo, no que toca à sua capacidade angiogénica, capacidade de reabsorção, substituição completa por novo tecido ósseo e regeneração de órgãos.

Portanto, a maioria da investigação tem se focado na adição de moléculas ativas para recapitular as cascatas sinalizadoras que ocorrem na regeneração fisiológica (Battafarano et al., 2021)

2.5. Sulfato de Cálcio

O uso de Sulfato de Cálcio (SC) nas áreas da Medicina e Medicina Dentária tem sido documentado há várias décadas, sendo um dos materiais para enxerto ósseo mais antigos e que ainda se encontra em uso até aos dias de hoje. O sucesso no seu uso está relacionado com as suas propriedades de biodegradação, biocompatibilidade, osteocondutividade e capacidade regenerativa (Cavelier et al., 2020).

Em 1892, *Dreesman* reportou um potencial regenerativo por parte do sulfato de cálcio como material de enxerto, quando aplicado ortopedicamente para tratar traumas e defeitos ósseos tuberculosos e em 1966, *Bahn* avalia o SC como sendo um material de uso simples, monetariamente acessível e com uma oferta de várias vantagens como material para enxerto ósseo. Vários estudos demonstraram que é um material bem tolerado e reabsorvível por parte tecidos, quando usado como enxerto para regeneração óssea. Durante a sua utilização, o SC restaura os contornos tridimensionais na zona defeituosa e previne a formação de tecido mole, sem ser necessária a utilização de membranas durante o processo de cicatrização. *Peltier* e *Speer* confirmaram as propriedades osteocondutivas do SC, destacando que este permite a formação de novos vasos sanguíneos e de células osteogénicas (Baranes & Kurtzman, 2019).

O sulfato de cálcio existe em três possíveis estados de hidratação: Sulfato de Cálcio di-hidratado, Sulfato Cálcio hemi-hidratado e Sulfato de Cálcio Anidro. A diferença entre estas três formas químicas reside na quantidade de moléculas de água presentes em cada molécula de SC. A sua forma hemi-hidratada transforma-se em di-hidratada pela adição de água e esta transformação é acompanhada pela libertação de calor. A forma hemi-hidratada do SC tem sido usada ao longo dos anos, tanto para fixação externa de fraturas ósseas, como para preenchimento de defeitos ósseos (Chen et al., 2021).

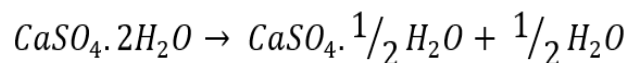


Figura 4. Equação de química do processo de calcificação do sulfato de cálcio.

Relativamente à sua estrutura, o *SC* é uma versão altamente cristalina de gesso, com cristais interligados que lhe conferem uma estrutura rígida. Esta estrutura rígida é atingida após uma reação química entre as moléculas de água e o *SC* hemi-hidratado. O sulfato de cálcio hemi-hidratado é obtido através de um processo de calcificação do gesso ou sulfato de cálcio di-hidratado (ver figura 4). O processo de calcificação pode formar várias formas de *SC* hemi-hidratado, tais como: Tipo I (gesso de impressão), Tipo II (gesso de Paris), Tipo III, Tipo IV (de alta resistência) e Tipo V (de ultra alta resistência). Os tipos I e II são formas de *SC* com um nível baixo de uniformidade cristalina e denominam-se de formas- β . Os tipos III, IV e V, formas- α , são formas de *SC* mais puras e mais fortes e são caracterizadas pela sua utilização na área da medicina dentária (Cavelier et al., 2020).

As diferenças entre as formas de *SC* vão residir na pureza e uniformidade do formato das partículas. Assim que as partículas de *SC* entram em contacto com a água, estas diferenças tornam-se mais evidentes pois vão influenciar as propriedades físicas, mecânicas e dissolutivas do material final. Durante esta reação, as partículas *SC* hemi-hidratado são primeiramente hidratadas de maneira a formar um gel. As ligações de hidrogénio formam-se em grupos de sulfato, formando uma estrutura coesiva de *SC* di-hidratado (Cavelier et al., 2020).

Quando implantado no organismo, o *SC* é completamente reabsorvido ao longo do tempo (período curto) e deixa apenas depósitos de fosfato de cálcio que, por sua vez, vão estimular a formação de tecido ósseo. As partículas residuais de fosfato de cálcio são bastante semelhantes às que constituem o tecido ósseo e, portanto, não sendo imunogénicas, são muito bem toleradas pelo organismo, não tendo sido até agora documentadas quaisquer reações adversas. Os iões de cálcio induzem a libertação de *BMPs* e fatores de crescimento, por parte das plaquetas que, consequentemente, vão estimular a proliferação e diferenciação osteogénica das *MSCs* (Baranes & Kurtzman, 2019; Yahav et al., 2020).

Investigação extensa tem-se acumulado ao longo dos anos sobre os efeitos do *SC* quando utilizado para regeneração óssea, reportando os seus efeitos benéficos, tanto em aplicações ortopédicas como em medicina dentária. Em 1978, *Peltier e Jones*, relataram

que dentro de uma amostra de 26 pacientes que tinham sido tratados com sulfato de cálcio para quistos ósseos, com seguimento de 1 a 20 anos, 24 dos pacientes obtiveram sucesso no seu tratamento, obtendo a formação de novo tecido ósseo, sem complicações ou necessidade de intervenções cirúrgicas adicionais. Em 1980, *Coetzee* conduziu um estudo em 110 pacientes tratados com este material, em defeitos ósseos situados no crânio e em ossos faciais, em que concluiu que o SC é um bom material substituto do enxerto ósseo e que assegurava a formação de tecido ósseo e produzia resultados comparáveis com o do autoenxerto (Coetzee, 1980; Peltier & Jones, 1978; Yahav et al., 2020).

Na área da medicina dentária o SC tem sido utilizado em várias aplicações clínicas, tais como, o tratamento de defeitos periodontais, elevações do seio maxilar, preservação alveolar, tratamento da osteomielite, tratamento de defeitos ósseos e regeneração óssea prévia ou concomitante à colocação de implantes. Depois da colocação do enxerto, este pode ser monitorizado através de radiologia e logo após a sua colocação, o SC apresenta-se radiopaco; após cerca de 2 a 3 semanas, a sua radiopacidade diminui significativamente e, por fim, ao fim de 12 semanas, a sua radiopacidade volta a ser mais evidente. Esta mudança na radiopacidade traduz-se na reabsorção do SC, formação da osteóide não mineralizada e na formação gradual de novo tecido ósseo mineralizado (Yahav et al., 2020).

2.5.1. Limitações

O sulfato de cálcio é utilizado em medicina dentária, como foi dito anteriormente, devido à sua biocompatibilidade, osteocondução, reabsorção completa e mínima resposta inflamatória. No entanto, a taxa de reabsorção do SC é um fator bastante importante a ter em conta durante qualquer reabilitação realizada com este material, já que existem vários tempos de reabsorção documentados na literatura. O período de reabsorção do SC está diretamente relacionado com o volume do enxerto, vascularização na zona do defeito e a sua cristalinidade e independentemente do tempo de reabsorção documentado, este material está constantemente a ser associado com tempos de reabsorção muito curtos (entre 5 e 7 semanas). A reabsorção rápida em alguns casos pode ser vantajosa, no entanto, isto pode levar a uma difícil manutenção da forma e espaço por parte do enxerto.

Para além disso foi também documentado uma diminuição das suas propriedades osteocondutivas em paciente com osteoporose (Sinjab et al., 2020).

A necessidade de um ambiente relativamente seco para que seja possível a sua fixação torna a sua utilização na cavidade oral bastante limitada, já que a presença de humidade pode suavizar o material e torná-lo inutilizável. Assim sendo, é fundamental que a sua utilização se restrinja a áreas que possam ser confinadas ou em locais cirúrgicos onde saliva ou sangue possam ser geridos de maneira a não interferirem com a sua fixação (Sinjab et al., 2020).

Apesar de todos os resultados bem-sucedidos em muitos dos casos documentados, estes não foram atingidos em defeitos ósseos associados a bolsas periodontais, uma vez que devido à presença de inflamação, o material corre o risco de ser potencialmente drenado ou contaminado com saliva. Por fim, existe uma limitação associada com a sua utilização em defeitos ósseos com paredes finas, pois podem ser absorvidas antes da formação de novo tecido ósseo (Sinjab et al., 2020).

2.6. Sulfato de Cálcio Bifásico

As limitações associadas ao uso de sulfato de cálcio, especialmente na área da medicina dentária, levaram à sua reformulação em 2010 e à criação do Sulfato de Cálcio Bifásico. A sua reformulação permitiu uma alteração no seu comportamento como material para enxerto, sem alterar a sua composição química, permitindo uma solidificação mais estável, mesmo estando na presença de saliva ou sangue, ampliando as suas aplicações clínicas (ver figura 5) (Baranes & Kurtzman, 2019).

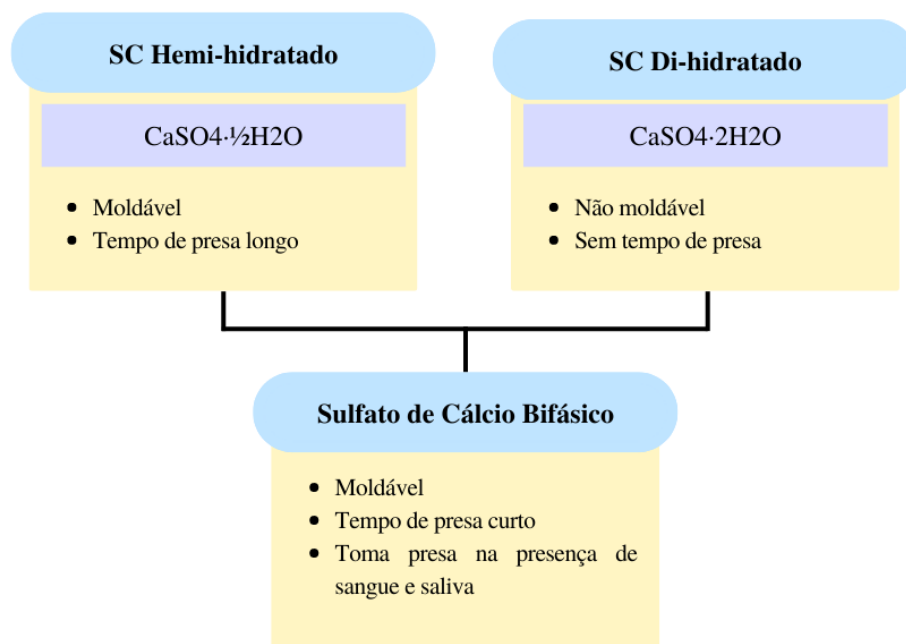


Figura 5. Esquema com as diferentes propriedades entre as várias formas de sulfato de cálcio.

O sulfato de cálcio bifásico atua como um cimento e a sua estrutura rígida, após tomar rapidamente presa, permite a proliferação de células epiteliais e conjuntivas na sua superfície, atuando como barreira. A rigidez e estabilidade deste material permite que este seja utilizado sem a necessidade de utilização de membranas ou outro tipo de barreiras adicionais (Yahav et al., 2020).

Com a utilização do sulfato de cálcio bifásico, os problemas anteriormente encontrados durante o uso de sulfato de cálcio são ultrapassados devido às suas mudanças de comportamento em meio biológico, especialmente na cavidade oral. Contendo duas das três formas de SC, o sulfato de cálcio bifásico consegue contornar alguns dos problemas anteriormente associados ao SC presente no mercado até agora. A porção hemi-hidratada do sulfato de cálcio bifásico controla a consistência e moldabilidade do cimento e a porção di-hidratada regula as suas propriedades quando toma presa. Através da reformulação deste material foi possível reduzir o tempo de presa para 3 minutos, o que anteriormente correspondia a aproximadamente 20 minutos (facilitando o seu

manuseamento) e foi possível uma solidificação estável, mesmo estando na presença de sangue ou saliva (Torrejon-Moya et al., 2022).

Tendo em conta que o SC é um material que é completamente reabsorvido num curto espaço de tempo, comparativamente com outros materiais no mercado, com a reformulação deste material, tornando-se bifásico, é habitualmente sugerido a sua utilização como enxerto em combinação com outros materiais, de reabsorção lenta, que lhe possam conceder uma otimização no seu uso. *Bond Apatite (Augma Biomaterials Ltd.)*

O *Bond Apatite (Augma Biomaterials Ltd.)* é um material para enxerto ósseo que é composto por cerca de 2/3 de sulfato de cálcio bifásico e por 1/3 de grânulos de hidroxiapatite. Este cimento possui 2 períodos de reabsorção associados aos seus dois componentes. Primeiramente, a porção de sulfato de cálcio bifásico é reabsorvida num período curto, entre 4 e 10 semanas, o que permite uma remodelação e angiogênese rápida entre as partículas de HA, que permanecem de maneira a preservar os limites do defeito ósseo e atuam para prolongar o período de reabsorção global do enxerto. Esta sequência de eventos evita o crescimento indesejável de tecido mole dentro do defeito ósseo e permite a formação de novo tecido ósseo ao fim de 3 meses (ver figura 6).

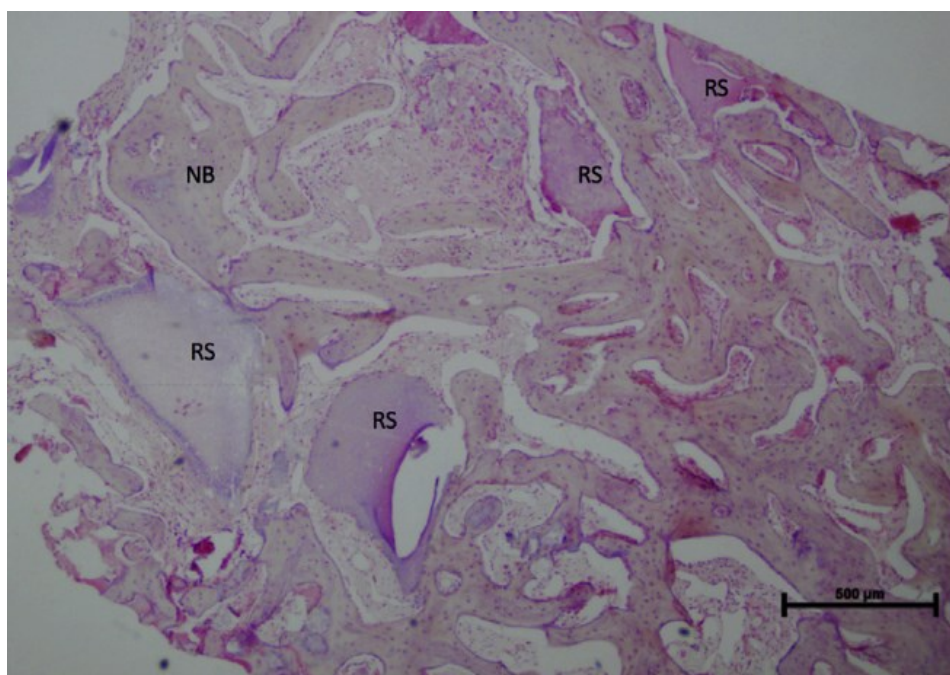


Figura 6. Imagem histológica do uso de Sulfato de Cálcio Bifásico em combinação com Hidroxiapatite, após 3 meses. É possível observar a presença de enxerto ósseo residual (RS) e a presença de novo tecido ósseo (NB). Adaptado (Yahav et al., 2020).

As partículas de *HA* possuem várias formas e tamanhos (entre 90 e 1000 μm). As partículas pequenas e médias (90 μm) reabsorvem-se ao longo dos meses (3 a 5 meses), produzindo uma regeneração óssea de 90% do local, relativamente rápida. Os restantes 10%, correspondentes às partículas de maior volume (1 mm), permanecem por um intervalo de tempo mais longo. As partículas de *HA* não vão integrar o tecido ósseo recém-formado, em vez disso, estas são encapsuladas por tecido conjuntivo e é aqui que a sua degradação ocorre à medida que este tecido conjuntivo passa por um processo de ossificação. Após 8 meses é possível observar que apenas restam partículas residuais de enxerto na zona do defeito ósseo (ver figura 7) (Baranes & Kurtzman, 2019; Yahav et al., 2020).

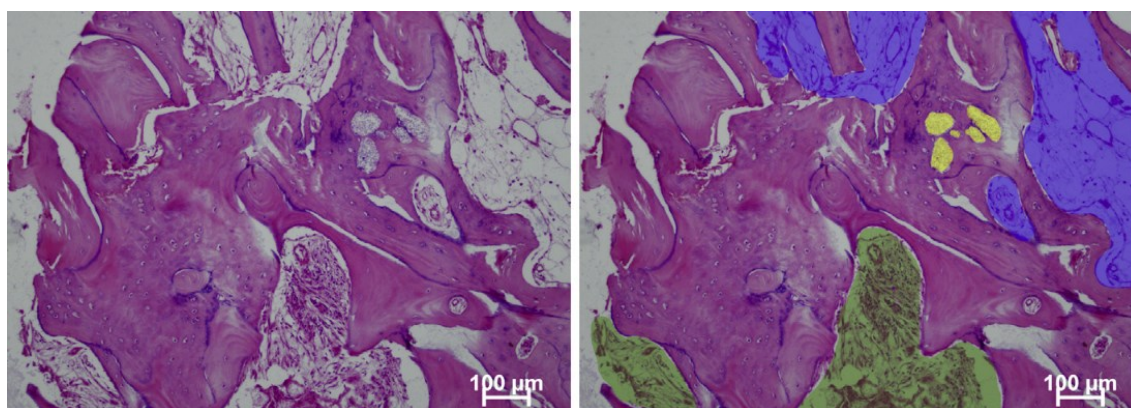


Figura 7. Imagem histológica do uso de sulfato de cálcio bifásico em combinação com hidroxiapatite, 8 meses após o seu uso para enxerto de defeito ósseo. Na imagem do lado direito podemos observar tecido ósseo (roxo), medula óssea (azul), tecido conjuntivo (verde) e partículas residuais do enxerto (amarelo).

Adaptado (Yahav et al., 2020).

2.6.1. Aplicações Clínicas

O sulfato de cálcio bifásico, como já foi referido anteriormente, é um material que, quando usado isoladamente, contém um período de reabsorção relativamente curto. Como mantedor de espaço a curto prazo, o sulfato de cálcio bifásico está indicado em casos em que seja necessário a regeneração de pequenos defeitos ósseos, que estão rodeados com pelo menos três paredes ósseas. A sua utilização em defeitos de maiores dimensões é realizada através da sua combinação com outros materiais para regeneração óssea, como a hidroxiapatite ou osso bovino desproteinizado (*DBB*), de maneira a aumentar a sua

longevidade como material de enxerto ósseo (Ahmet et al., 2016a; Baranes & Kurtzman, 2019).

O uso de sulfato de cálcio bifásico, isolado ou em combinação com outros materiais, está então indicado para qualquer tipo de caso clínico que necessite da utilização de algum material de enxerto para a realização de regeneração óssea. A sua aplicabilidade na área da Medicina Dentária, pode inclui tratamentos como: a preservação alveolar após extração dentária, elevação do seio maxilar, preenchimento de quistos ósseos, regeneração óssea prévia ou concomitante à colocação de implantes, entre outros (Yahav et al., 2020).

Preservação Alveolar

A preservação alveolar com recurso a enxerto ósseo, após a realização de extrações dentárias, está frequentemente indicada em casos em que é necessário preservar as margens da crista óssea e prevenir ou minimizar a reabsorção óssea durante o processo de cicatrização (Yahav et al., 2020).

Em 2020, *Yahav et al.*, documentaram os efeitos da utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* como material de regeneração óssea após a realização de extração dentária. Na sequência de 4 meses, é possível verificar a formação inicial de tecido ósseo onde anteriormente se encontrava o defeito. O tempo de reabsorção do sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* permite a regeneração óssea, sem perdas volumétricas significativas. Aquando da colocação de implantes, os autores ao realizarem documentação fotográfica, verificaram a prevalência de preenchimento ósseo sem perdas de volume (Yahav et al., 2020).

Em 2018, *Machtei et al.*, realizaram um estudo comparativo numa amostra de 33 pacientes, com o objetivo de comparar as mudanças dimensionais e qualidade óssea aquando da utilização de dois materiais para preservação alveolar, nomeadamente a utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* (*BCS/HA*) e um xenoenxerto de origem bovina (*BDX*). Os resultados deste estudo demonstraram que tanto o grupo em que foi utilizado o sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA*, como o grupo em que foi utilizado o xenoenxerto de origem bovina tiveram resultados positivos, que resultaram numa menor perda óssea, vertical e horizontal, no seguimento

da realização de extração, comparativamente ao grupo de controlo. É de destacar que as proporções de enxerto residual na zona do defeito ósseo foram maiores no grupo em que se utilizou o xenoenxerto, comparativamente ao grupo em que se utilizou o sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA*. Os autores concluíram que o sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA*, pode ser um material para utilização como enxerto ósseo para a preservação alveolar, com resultados semelhantes ou, por vezes, melhores em comparação com um xenoenxerto de origem bovina, já que o xenoenxerto não é totalmente reabsorvido e deixa, portanto, vestígios de enxerto no local onde anteriormente estava o defeito ósseo (Machtei et al., 2019).

Em 2016, *Mayer et al.* realizaram um estudo de maneira a avaliar clinicamente e histologicamente as diferenças entre a utilização de sulfato de cálcio bifásico com β -trifosfato de cálcio (β -TCP) e *HA*, aquando da preservação de alveolar, comparando com os resultados de controlo (cicatrização natural). Os autores concluíram que esta técnica de preservação do rebordo alveolar, utilizando uma combinação de dois enxertos sintéticos (β -TCP e *HA* com sulfato de cálcio bifásico) resulta numa maior estabilidade na dimensão horizontal após 4 meses (Mayer et al., 2016).

Por fim, em 2014, *Collins et al.* realizaram um estudo com o intuito de avaliar a utilização de diferentes tipos de materiais para enxerto ósseo, em pacientes adultos com indicação para a realização de preservação alveolar, nomeadamente sulfato de cálcio bifásico isolado e sulfato de cálcio bifásico em combinação com um aloenxerto, de grandes partículas, esterilizado por radiação gama. Nos resultados deste estudo, não se verificou quaisquer complicações associadas à utilização destes materiais (inflamatórias ou imunológicas) e histologicamente, observou-se a formação de novo tecido ósseo com a utilização de ambos os materiais, sendo que o sulfato de cálcio bifásico isolado obteve cerca de 33% e o sulfato de cálcio bifásico em combinação com o aloenxerto obteve cerca de 31%, demonstrando não haver diferenças significativas entre ambos. Os autores concluíram que a utilização de sulfato de cálcio bifásico, isolado ou em combinação com um aloenxerto, resulta na mesma formação de novo tecido ósseo (J. R. Collins et al., 2014).

Preenchimento de quistos ósseos

O tratamento cirúrgico de quistos odontogénicos é responsável por uma percentagem significativa de procedimentos cirúrgicos realizados na área da medicina dentária. Um estudo realizado em 2020 por *Damian et al.* teve como objetivo avaliar a eficácia na utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* após a remoção cirúrgica de quistos radiculares, em comparação com a utilização de osso bovino desproteínizado. Neste estudo, verificou-se que a utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* é segura e eficaz, já que o seu manuseamento simples minimiza o risco de infeção secundária. Os autores concluíram que a utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* proporciona uma reconstrução simples, económica e eficaz no tratamento de defeitos ósseos após a remoção de quistos ósseos e sugerem que, com observações a longo prazo, será possível avaliar a eficácia do uso de sulfato de cálcio bifásico em combinação com *HA* na reconstrução de defeitos ósseos de maiores dimensões (Damian et al., 2020). Outro estudo, realizado por *Kobayashi*, em 2020, mostrou-se em concordância com as conclusões do estudo anterior, revelando novamente que se trata de um material simples e relativamente barato em comparação com outro tipo de biomateriais de enxerto ou substitutos ósseos, com uma eficácia comparável à de outros materiais abordados neste estudo (Kobayashi, 2020).

Elevação do seio Maxilar

O volume ósseo insuficiente é um problema comum na reabilitação de casos onde há espaços edêntulos na zona posterior da maxila. O volume ósseo é limitado pela pneumatização do seio maxilar e pela perda de altura óssea, o que muitas vezes leva à necessidade de elevação do seio maxilar para que seja possível reabilitar estes casos. A utilização de sulfato de cálcio bifásico na realização de procedimentos para elevação do seio maxilar foi documentada, em 2016, num estudo comparativo realizado por *Ahmet et al.* Este estudo teve como principal objetivo a comparação entre dois compósitos, sulfato de cálcio bifásico em combinação com osso bovino desproteínizado (grupo CB) e sulfato

de cálcio bifásico em combinação com um material aloplástico (grupo CA) (Ahmet et al., 2016b).

Neste estudo, ambos os materiais foram integrados no osso, confirmando a sua biocompatibilidade. Apesar do sulfato de cálcio bifásico se mostrar promissor devido à sua rápida e total reabsorção durante a cicatrização, na elaboração da elevação do seio maxilar, estas propriedades mostram impeditivas, já que diminui a sua capacidade de resistir à pressão pneumática a que está sujeito durante a respiração do paciente. Tanto o grupo em que se utilizou um material aloplástico como o grupo em que se utilizou osso bovino desproteínizado mostraram uma perda de altura no enxerto significativa, no entanto, o grupo do osso bovino desproteínizado mostrou menos perda de altura, comparativamente ao grupo do material aloplástico, já que as partículas de osso bovino desproteínizado permanecem intactas e não são reabsorvidas ao fim de 5 meses (Ahmet et al., 2016b).

Neste estudo foram realizados cerca de 27 procedimentos para colocação de implantes. Dentro dos 27 procedimentos realizados, apenas 1 indivíduo dentro desta amostra, no qual foi colocado um enxerto de sulfato de cálcio bifásico em combinação com um material aloplástico, se encontrava com um implante com mobilidade clínica, sendo então posteriormente removido (Ahmet et al., 2016b).

Os autores concluíram que a realização de mais estudos sobre este material é necessária para confirmar as suas propriedades, em combinação com outros biomateriais e com períodos de cicatrização mais longos (Ahmet et al., 2016b).

Regeneração Prévia/Concomitante à colocação de implante

Em 2022, Torrejon-Moya et al., realizaram uma revisão sistemática relacionada com a utilização de sulfato de cálcio bifásico em combinação com hidroxiapatite em casos de regeneração óssea prévia ou concomitante à colocação de implantes. Após a sua pesquisa, os autores concluíram que o sulfato de cálcio como material de enxerto ósseo em cirurgia oral provou ser um método eficaz, prático, económico e previsível, em diferentes casos na área da implantologia. No entanto, atualmente a literatura disponível sobre este material em cirurgia de implantes é escassa, e o que está disponível fornece provas de baixa qualidade. Por fim, os autores constataram que é necessário a realização

de mais estudos de investigação sobre o tema, de maneira a permitir mais comparações e conclusões mais significativas (Torrejon-Moya et al., 2022).

Adicionalmente, os autores utilizaram sulfato de cálcio bifásico em combinação com hidroxiapatite, em vários dos seus casos clínicos. A amostra inclui-a 6 pacientes e englobava vários tipos de tratamento, tais como: regeneração óssea guiada horizontal, preservação alveolar e elevação do seio maxilar, todos com posterior colocação de implantes. Relativamente aos seus resultados, dois dos seis pacientes experienciaram perda de altura do enxerto colocado e a presença de alveolite, como complicação pós-operatória precoce e um dos pacientes da amostra experienciou falta de osteointegração do implante colocado, como complicação pós-operatória tardia, sendo necessário a sua recolocação. Os autores afirmaram que apesar de ser um material útil e de fácil manuseamento, na prática da implantologia, mais estudos clínicos randomizados e controlados (*RCTs*) deveriam ser realizados de maneira a avaliar a sua eficácia a longo prazo, especialmente em regeneração horizontal e/ou vertical (Torrejon-Moya et al., 2022).

3. Conclusão

A reformulação do sulfato de cálcio, tornando-o um material de natureza bifásica, ajudou a contornar muitos dos aspetos que, anteriormente, o tornavam pouco apelativo, nomeadamente a sua incapacidade de tomar presa em ambientes húmidos (na presença de saliva ou sangue) e a sua reabsorção rápida que impossibilitava a formação de novo osso.

Apesar de demonstrar melhorias no seu tempo de reabsorção, o sulfato de cálcio bifásico permanece com uma reabsorção relativamente rápida e esta continua a ser uma característica que limita a sua utilidade em alguns procedimentos na área clínica médica, nomeadamente, procedimentos que incluam a regeneração óssea de defeitos de dimensões maiores através do uso de enxertos ósseos.

De maneira a conseguir abranger o uso de sulfato de cálcio bifásico a mais procedimentos de regeneração óssea, vários autores realizaram estudos comparativos, onde introduziram o uso de sulfato de cálcio bifásico em combinação com outros materiais de regeneração óssea (tais como a hidroxiapatite ou osso bovino desproteinizado) de maneira a alargar o seu tempo de reabsorção. É possível verificar uma concordância entre autores em como o sulfato de cálcio bifásico se trata de um material eficaz, económico, previsível e de fácil manuseamento. No entanto, ainda que baixas e com amostras de pequeno volume, verificam-se algumas taxas de insucesso relativas à colocação de implantes após a realização de enxerto com sulfato de cálcio bifásico e ainda, a perda de altura do enxerto, pouco tempo depois da sua colocação.

O seu uso como material de regeneração óssea em casos em que seja necessário realizar a elevação do seio maxilar é bastante limitado já que, nestes casos, a sua reabsorção, rápida e total, limita a sua capacidade de suportar as pressões pneumáticas durante a respiração, mesmo quando usado em combinação com outro material de regeneração óssea que contenha um período de reabsorção mais longo.

Por fim, há uma concordância entre autores em como a literatura atualmente disponível sobre o sulfato de cálcio bifásico é relativamente escassa e há uma necessidade de estender a investigação sobre este material, para que o nível de evidência científica seja maior e mais robusto, através da realização de estudos clínicos, randomizados e controlados, para verificar os resultados do sulfato de cálcio bifásico,

a curto e longo-prazo, bem como as taxas de sucesso dos implantes colocados sobre o osso regenerado com este tipo de material de substituto ósseo.

4. Bibliografia

- Ahmet, S., Alper Gultekin, B., Karabuda, Z. C., & Olgac, V. (2016a). Two Composite Bone Graft Substitutes for Maxillary Sinus Floor Augmentation. *Implant Dentistry*, 25(3), 313–321. <https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000378>
- Ahmet, S., Alper Gultekin, B., Karabuda, Z. C., & Olgac, V. (2016b). Two Composite Bone Graft Substitutes for Maxillary Sinus Floor Augmentation. *Implant Dentistry*, 25(3), 313–321. <https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000378>
- Anjos, L. M. dos, Rocha, A. de O., Lima, T. O., Santos, R. de M. dos A., Rocha, M. de N. O., Meneses Júnior, N. S., Oliveira, M. A. de, Reis, M. V. S., Melo, A. E. S. de, & Cruz, P. J. A. (2021). Enxertos ósseos em odontologia – uma revisão integrativa da literatura. *Research, Society and Development*, 10(12), e522101220954. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20954>
- Arseni, L., Lombardi, A., & Orioli, D. (2018). From Structure to Phenotype: Impact of Collagen Alterations on Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1407. <https://doi.org/10.3390/ijms19051407>
- Baranes, D., & Kurtzman, G. M. (2019). Biphasic Calcium Sulfate as an Alternative Grafting Material in Various Dental Applications. *Journal of Oral Implantology*, 45(3), 247–255. <https://doi.org/10.1563/aaaid-joi-D-18-00306>
- Battafarano, G., Rossi, M., de Martino, V., Marampon, F., Borro, L., Secinaro, A., & Fattore, A. del. (2021). Molecular Sciences Strategies for Bone Regeneration: From Graft to Tissue Engineering. *J. Mol. Sci*, 22, 1128. <https://doi.org/10.3390/ijms22031128>
- Bolean, M., Simão, A. M. S., Barioni, M. B., Favarin, B. Z., Sebinelli, H. G., Veschi, E. A., Janku, T. A. B., Bottini, M., Hoylaerts, M. F., Itri, R., Millán, J. L., & Ciancaglini, P. (2017). Biophysical aspects of biomineralization. *Biophysical Reviews*, 9(5), 747–760. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0315-1>
- Bow, A., Anderson, D. E., & Dhar, M. (2019). Commercially available bone graft substitutes: the impact of origin and processing on graft functionality. In *Drug Metabolism Reviews* (Vol. 51, Issue 4, pp. 533–544). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1671860>
- Breeland, G., Sinkler, M. A., & Menezes, R. G. (2022). *Embryology, Bone Ossification*.

- Brozek, R., Kurpisz, M., & Koczorowski, R. (2018). Application of stem cells in dentistry for bone regeneration. In *Journal of Physiology and Pharmacology* (Vol. 69, Issue 1). Polish Physiological Society. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.1.03>
- Carreira, A. C., Lojudice, F. H., Halcsik, E., Navarro, R. D., Sogayar, M. C., & Granjeiro, J. M. (2014). Bone morphogenetic proteins: Facts, challenges, and future perspectives. *Journal of Dental Research*, 93(4), 335–345. <https://doi.org/10.1177/0022034513518561>
- Cavelier, S., Tanzer, M., & Barthelat, F. (2020). Maximizing the strength of calcium sulfate for structural bone grafts. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 108(4), 963–971. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36873>
- Chen, Y. C., Tuan, W. H., & Lai, P. L. (2021). Transformation from calcium sulfate to calcium phosphate in biological environment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 32(12). <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06622-7>
- Coetzee, A. S. (1980). Regeneration of Bone in the Presence of Calcium Sulfate. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 106(7), 405–409. <https://doi.org/10.1001/archotol.1980.00790310029007>
- Collins, J. R., Jiménez, E., Martínez, C., Polanco, R. T., Hirata, R., Mousa, R., Coelho, P. G., Bonfante, E. A., & Tovar, N. (2014). Clinical and histological evaluation of socket grafting using different types of bone substitute in adult patients. *Implant Dentistry*, 23(4), 489–495. <https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000106>
- Collins, M. N., Ren, G., Young, K., Pina, S., Reis, R. L., & Oliveira, J. M. (2021). Scaffold Fabrication Technologies and Structure/Function Properties in Bone Tissue Engineering. In *Advanced Functional Materials* (Vol. 31, Issue 21). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/adfm.202010609>
- Damian, D., Edyta, R.-W., Gregori, K., & Lanka, M. (2020). The use of biphasic calcium sulfate (Bond Apatite®) for surgical treatment of osseous defects resulting from radicular cysts – Clinical study of 6 months follow-up. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization*, 12(1), 55. https://doi.org/10.4103/jicdro.jicdro_16_20
- Dimitriou, R., Jones, E., McGonagle, D., & Giannoudis, P. v. (2011). Bone regeneration: Current concepts and future directions. In *BMC Medicine* (Vol. 9). <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>

- García-Gareta, E., Coathup, M. J., & Blunn, G. W. (2015). Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration. In *Bone* (Vol. 81, pp. 112–121). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.07.007>
- Ghosh, M., Halperin-Sternfeld, M., Grinberg, I., & Adler-Abramovich, L. (2019). Injectable Alginate-Peptide Composite Hydrogel as a Scaffold for Bone Tissue Regeneration. *Nanomaterials*, 9(4), 497. <https://doi.org/10.3390/nano9040497>
- Kenkre, J. S., & Bassett, J. H. D. (2018). The bone remodelling cycle. In *Annals of Clinical Biochemistry* (Vol. 55, Issue 3, pp. 308–327). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/0004563218759371>
- Kobayashi, M. (2020). Enhancement of osseointegration of hydroxyapatite implants by low-intensity ultrasound irradiation. *Journal of Osseointegration*, 12(2). <https://doi.org/10.23805/JO.2020.12.02.18>
- Koons, G. L., Diba, M., & Mikos, A. G. (2020). Materials design for bone-tissue engineering. In *Nature Reviews Materials* (Vol. 5, Issue 8, pp. 584–603). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0204-2>
- Licini, C., Vitale-Brovarone, C., & Mattioli-Belmonte, M. (2019). Collagen and non-collagenous proteins molecular crosstalk in the pathophysiology of osteoporosis. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 49, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2019.09.001>
- Lin, X., Patil, S., Gao, Y.-G., & Qian, A. (2020). The Bone Extracellular Matrix in Bone Formation and Regeneration. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00757>
- Liu, Y., Guo, L., Li, X., Liu, S., Du, J., Xu, J., Hu, J., & Liu, Y. (2022). Challenges and Tissue Engineering Strategies of Periodontal-Guided Tissue Regeneration. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 28(8), 405–419. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2022.0106>
- Loh, Q. L., & Choong, C. (2013). Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. In *Tissue Engineering - Part B: Reviews* (Vol. 19, Issue 6, pp. 485–502). <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0437>
- Lopes, D., Martins-Cruz, C., Oliveira, M. B., & Mano, J. F. (2018). Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. In *Biomaterials* (Vol. 185, pp. 240–275). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.09.028>
- Machtei, E. E., Mayer, Y., Horwitz, J., & Zigdon-Giladi, H. (2019). Prospective randomized controlled clinical trial to compare hard tissue changes following socket

- preservation using alloplasts, xenografts vs no grafting: Clinical and histological findings. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 21(1), 14–20. <https://doi.org/10.1111/cid.12707>
- Mayer, Y., Zigdon-Giladi, H., & Machtei, E. E. (2016). Ridge Preservation Using Composite Alloplastic Materials: A Randomized Control Clinical and Histological Study in Humans. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 18(6), 1163–1170. <https://doi.org/10.1111/cid.12415>
- Mestrando, C., Ferreira Nóia, C., Duque de Miranda Chaves Netto, H., Ortega Lopes, R., Rodríguez-Chessa, J., & Mazzonetto, R. (2009). I N V E S T I G A Ç Ã O Uso de Enxerto Ósseo Autógeno nas Reconstruções da Cavidade Bucal. Análise Retrospectiva de 07 Anos. In *Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* (Vol. 50).
- Moussa, N. T., & Dym, H. (2020). Maxillofacial Bone Grafting Materials. In *Dental Clinics of North America* (Vol. 64, Issue 2, pp. 473–490). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.12.011>
- Murshed, M. (2018). Mechanism of Bone Mineralization. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(12), a031229. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031229>
- Nahian, A., & Davis, D. D. (2022). *Histology, Osteoprogenitor Cells*.
- Nyary, T., & Scammell, B. E. (2018). Principles of bone and joint injuries and their healing. In *Surgery (United Kingdom)* (Vol. 36, Issue 1, pp. 7–14). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.10.005>
- Ono, T., & Nakashima, T. (2018). Recent advances in osteoclast biology. *Histochemistry and Cell Biology*, 149(4), 325–341. <https://doi.org/10.1007/s00418-018-1636-2>
- Peltier, L. F., & Jones, R. H. (1978). Treatment of unicameral bone cysts by curettage and packing with plaster-of-Paris pellets. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 60(6), 820–822.
- Perić Kačarević, Ž., Rider, P., Alkildani, S., Retnasingh, S., Pejakić, M., Schnettler, R., Gosau, M., Smeets, R., Jung, O., & Barbeck, M. (2020). An introduction to bone tissue engineering. *The International Journal of Artificial Organs*, 43(2), 69–86. <https://doi.org/10.1177/0391398819876286>
- Ponzetti, M., & Rucci, N. (2021). Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6651. <https://doi.org/10.3390/ijms22136651>

- Qing, Y., Li, R., Li, S., Li, Y., Wang, X., & Qin, Y. (2020). <p>Advanced Black Phosphorus Nanomaterials for Bone Regeneration</p>. *International Journal of Nanomedicine, Volume 15*, 2045–2058. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246336>
- Ramesh, N., Moratti, S. C., & Dias, G. J. (2018). Hydroxyapatite-polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(5), 2046–2057. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33950>
- Rolian, C. (2020). Endochondral ossification and the evolution of limb proportions. *WIREs Developmental Biology*, 9(4). <https://doi.org/10.1002/wdev.373>
- Shibuya, N., & Jupiter, D. C. (2015). Bone Graft Substitute: Allograft and Xenograft. In *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery* (Vol. 32, Issue 1, pp. 21–34). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2014.09.011>
- Sinjab, Y., Sinjab, K., Navarrete-Bedoya, C., & Gutmann, J. (2020). Calcium sulfate applications in dentistry: A literature review. *Endodontology*, 32(4), 167. https://doi.org/10.4103/endo.endo_156_20
- Torrejon-Moya, A., Apalimova, A., González-Navarro, B., Zaera-Le Gal, R., Marí-Roig, A., & López-López, J. (2022). Calcium Sulfate in Implantology (Biphasic Calcium Sul-Fate/Hydroxyapatite, BCS/HA, Bond Apatite®): Review of the Literature and Case Reports. *Coatings*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/coatings12091350>
- Tresguerres, F. G. F., Torres, J., López-Quiles, J., Hernández, G., Vega, J. A., & Tresguerres, I. F. (2020). The osteocyte: A multifunctional cell within the bone. In *Annals of Anatomy* (Vol. 227). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.151422>
- Urban, I. A., & Monje, A. (2019). Guided Bone Regeneration in Alveolar Bone Reconstruction. In *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America* (Vol. 31, Issue 2, pp. 331–338). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2019.01.003>
- van Lieshout, E. M. M., van Kralingen, G. H., El-Massoudi, Y., Weinans, H., & Patka, P. (2011). Microstructure and biomechanical characteristics of bone substitutes for trauma and orthopaedic surgery. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-12-34>
- Walmsley, G. G., Ransom, R. C., Zielins, E. R., Leavitt, T., Flacco, J. S., Hu, M. S., Lee, A. S., Longaker, M. T., & Wan, D. C. (2016). Stem Cells in Bone Regeneration HHS

- Public Access. *Stem Cell Rev*, 12(5), 524–529. <https://doi.org/10.1007/s12015-016-9665-5>
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. In *Bioactive Materials* (Vol. 2, Issue 4, pp. 224–247). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007>
- Weber, F. E. (2019). Reconsidering Osteoconduction in the Era of Additive Manufacturing. In *Tissue Engineering - Part B: Reviews* (Vol. 25, Issue 5, pp. 375–386). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2019.0047>
- Yahav, A., Kurtzman, G. M., Katzap, M., Dudek, D., & Baranes, D. (2020). Bone Regeneration: Properties and Clinical Applications of Biphasic Calcium Sulfate. In *Dental Clinics of North America* (Vol. 64, Issue 2, pp. 453–472). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.12.006>
- Zhang, H., Zhou, L., & Zhang, W. (2014). Control of scaffold degradation in tissue engineering: A review. In *Tissue Engineering - Part B: Reviews* (Vol. 20, Issue 5, pp. 492–502). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2013.0452>
- Zhang, Z., Egaña, J. T., Reckhenrich, A. K., Schenck, T. L., Lohmeyer, J. A., Schantz, J. T., MacHens, H. G., & Schilling, A. F. (2012). Cell-based resorption assays for bone graft substitutes. In *Acta Biomaterialia* (Vol. 8, Issue 1, pp. 13–19). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.020>
- Zhao, R., Yang, R., Cooper, P. R., Khurshid, Z., Shavandi, A., & Ratnayake, J. (2021). Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules26103007>

5. Anexos

Anexo 1)

Request to use your figure on my Master Thesis

Caixa de entrada x

X Print Link



Ana Norte <anasnort@gmail.com>
para marco.ponzetti ▾

ter., 8 de nov. de 2022 16:34 ☆ ↶ ⋮

Dear Mr. Marco Ponzetti

My name is Ana Norte, I am a senior student of Dentistry at Instituto Universitário Egas Moniz, in Portugal.
I'm developing my Master Thesis about Biphasic Calcium sulfate and I would like to ask you if I could your figure 2 "MSCs differentiation" in the article " Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics" on my Thesis. I would of course reference it accordingly, and would much appreciate it. Thank you in advance

Best regards,

Ana Norte



Marco Ponzetti <marco.ponzetti@guest.univaq.it>
para mim ▾

ter., 8 de nov. de 2022 17:43 ☆ ↶ ⋮

 inglês ▾ > português ▾ Traduzir mensagem Desativar para: inglês x

Hi Ana,

You are more than welcome to use it and good luck with your thesis and future career!

All the best,
Marco

From: Ana Norte <anasnort@gmail.com>
Sent: Tuesday, November 8, 2022 5:34:28 PM
To: Marco Ponzetti <marco.ponzetti@graduate.univaq.it>
Subject: Request to use your figure on my Master Thesis

...

Anexo 2)

Request to use your Images on my Master Thesis

Caixa de entrada x



Ana Norte <anasnort@gmail.com>

ter., 8 de nov. de 2022 17:03



para drimplants ▾

Dear Mr. Gregori,

My name is Ana Norte, I am a senior student of Dentistry at Instituto Universitário Egas Moniz, in Portugal.
I'm developing my Master Thesis about Biphasic Calcium sulfate and I would like to ask you if I could use some images from the article "Properties and Clinical Applications of Biphasic Calcium Sulfate" on my Thesis. I would of course reference it accordingly, and would much appreciate it. Thank you in advance

Best regards,

Ana Norte



Gregori Kurtzman <drimplants@aol.com>

ter., 8 de nov. de 2022 19:51



para mim ▾

Detectar idioma ▾ > português ▾ Traduzir mensagem

Desativar para: inglês x

yes you may use those in your thesis using the following citation for each for proper credit

Amos Yahav, Gregori M. Kurtzman, Michael Katzap, Damian Dudek, David Baranes,
Bone Regeneration: Properties and Clinical Applications of Biphasic Calcium Sulfate,
Dental Clinics of North America, Volume 64, Issue 2, 2020, Pages 453-472

...