

AVALIAÇÃO DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA EM COELHOS UTILIZANDO CÚPULA DE HIDROXIAPATITA ASSOCIADA A DIFERENTES MATERIAIS

N.T. Maeda ⁽¹⁾, M. Yoshimoto ⁽²⁾, S. Allegrini-Jr ⁽²⁾, M.B Salles ⁽³⁾, A.H.A. Bressiani ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN

Av. Lineu Prestes 2242 - Cidade Universitária - CEP: 05508-000 - São Paulo - SP;

⁽²⁾ Universidade Ibirapuera- UNIB; ⁽³⁾ Universidade Nove de Julho- UNINOVE.

nancymaeda@usp.br

Resumo

A instalação de implantes odontológicos requer a presença de substrato ósseo adequado para garantir estabilidade e equilíbrio biomecânico. A proposta deste trabalho é estudar a osteogênese supracortical, a partir do potencial osteocondutor de estrutura oca de hidroxiapatita sintética, denominada “cúpula”, para adequar o volume ósseo necessário para a instalação de implantes. As cúpulas foram obtidas por prensagem isostática e sinterização ao ar, submetidas ao teste de citotoxicidade e instaladas em tibia de coelhos, preenchidas por coágulo, composto vitamínico ou beta-TCP. Após cicatrização, as amostras foram incluídas em resina para a obtenção das lâminas e observadas em microscópio de fluorescência, para avaliar a quantidade de tecido ósseo neoformado e em microscópio de campo claro, para analisar as células presentes no tecido formado. Como resultado, foi observada a neoformação óssea no interior da cúpula, demonstrando a propriedade de osteocondução do material, sendo que, o preenchimento de beta-TCP apresenta maior formação óssea.

Palavras-chave: hidroxiapatita, enxerto, osteogênese.

INTRODUÇÃO

A partir de estudos realizados por Bränemark em 1969(1), que propôs a utilização de cilindros de titânio inseridos na região do mento em mandíbula, para posterior restabelecimento protético, foi introduzido o conceito da Osteointegração, definida como sendo a ligação direta, estrutural e funcional, entre osso ordenado e vivo e a superfície de um implante sujeito a cargas funcionais(1). Desde então, a Implantodontia apresentou um grande desenvolvimento na área de reabilitação oral e novas pesquisas passaram a se concentrar em materiais que visam acelerar a interação osso/implante.

Um dos problemas na Implantodontia atual é a falta de espessura óssea na região anterior da maxila, por se tratar de uma área mais visível no sorriso das pessoas, a demanda pelo restabelecimento desta estética é fundamental para se considerar o sucesso de um tratamento por meio de implantes dentais. A deficiência

óssea requer procedimentos de enxertia para adequar o volume ósseo para a instalação de implantes(2,3).

As técnicas de reconstrução do rebordo ósseo residual com procedimentos de enxertos ósseos autógenos, isto é, obtidas do próprio paciente, tem apresentado bons resultados, sendo considerado o melhor material em procedimentos de regeneração óssea por proporcionar as melhores propriedades osteocondutivas, osteogênicas e osteoindutivas. Porém trazem consigo o problema do aumento da morbidade, pois para sua obtenção se faz necessário, abordar outras áreas cirúrgicas, além da limitação da disponibilidade de material e viabilidade cirúrgica. (3,4). A utilização de material homogêneo, de origem da mesma espécie, tem vantagem de possuir disponibilidade grande em vários tamanhos e formatos, sem prejudicar outras estruturas do paciente. Por outro lado, levanta questionamentos morais, religiosos e éticos, por se tratar de material oriundo de doadores humanos, além do risco de transmissão de doenças, como a HIV, hepatite C, contaminações bacterianas e outras possíveis infecções virais(4–6). O material xenógeno, de origem de espécies diferentes, apresenta dúvidas quanto à possibilidade de reação autoimune(7). Finalmente, materiais aloplásticos, que devido ao grande desenvolvimento científico e tecnológico são cada vez mais utilizados, apresentam-se como alternativa promissora para recomposição da estrutura óssea perdida por atrofia do processo alveolar do sistema estomatognático originada pela perda do elemento dental(8).

Dentre os biomateriais aloplásticos, os cerâmicos apresentam-se como materiais com características muito interessantes para o metabolismo ósseo(9). As cerâmicas à base de fosfatos de cálcio, como, a hidroxiapatita (HA) e o β -fosfato tricálcico (β -TCP), são materiais que apresentam qualidades desejáveis no processo de neoformação óssea como: a biocompatibilidade (isento de produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja, o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico), a bioatividade (permitem a formação de um novo osso e a troca de íons com o tecido, conduzindo as ligações químicas na interface osso-implante, sem que ocorra encapsulamento fibroso) e a osteocondutividade (permitir o crescimento do osso na sua superfície) (10). Estas propriedades, se bem direcionadas, podem gerar resultados benéficos para os pacientes.

A implantação cirúrgica de próteses produzidas com biomateriais é, por si só, suficiente para gerar um processo inflamatório, já que o trauma da incisão pode necrosar células. As propriedades físicas e químicas dos biomateriais, assim como a topografia e a forma do material na interface com os tecidos influenciam no tipo, na intensidade e na duração da resposta inflamatória(11).

Quanto maior a duração do processo inflamatório, menor a possibilidade de regeneração. A presença de infecção e/ou de corpo estranho diminui as chances de regeneração e inclusive complica a cicatrização. Quando o processo inflamatório torna-se exacerbado, ocorre uma produção excessiva de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio decorrente do brusco aumento do metabolismo celular, o que aumenta o estresse oxidativo dos tecidos circunvizinhos e pode acarretar uma série de eventos biológicos indesejáveis e retardadores no processo cicatricial e/ou reparador, podendo até mesmo comprometê-los(11).

Devido à importância do controle e modulação da inflamação, para ocorrer uma boa reparação óssea, Salles(12) desenvolveu um composto vitamínico cuja função primordial é a mediação da inflamação, através do controle do estresse oxidativo e proteção das membranas das células da região submetida à cirurgia, que foi utilizado e estudado neste trabalho.

O objetivo deste estudo é desenvolver corpos de provas na forma de cúpula oca de hidroxiapatita preenchidos por coágulo e dois biomateriais, β -TCP e composto vitamínico, para avaliação da capacidade de neoformação óssea acima da cortical da tíbia de coelhos, através de histomorfometria com utilização de marcadores celulares e microscopia de fluorescência.

MATERIAIS E MÉTODOS

A caracterização físico-química dos pós de hidroxiapatita (cód. 20-2039, Strem Chemicals) e de β -TCP na forma de pó (cód. 21218, Fluka) foi realizada por difração de raios X (Rigaku DMAX 2200, radiação Cu-K α = 1,5418 Å, 40 kV, 20 mA, adotando faixa de varredura (2θ) de 5° a 50°, com velocidade de 2°/min) e microscopia eletrônica de varredura (Philips XL 30).

A caracterização físico-química da cúpula de hidroxiapatita foi realizada por difração de raios X, determinação da densidade, teste de citotoxicidade e microscopia eletrônica de varredura.

A determinação da densidade das amostras sinterizadas foi realizada pelo método de Arquimedes, utilizando a seguinte fórmula:

$$Densidade\ aparente = \frac{massa\ seca}{massa\ úmida - massa\ imersa} \cdot densidade\ líquido$$

A confecção das cúpulas de hidroxiapatita foi realizada por prensagem isostática, 200 MPa, utilizando-se molde de borracha de silicone, que possui resistência a altas temperaturas (Silicones Paulista ®) e parte em aço inoxidável. Os corpos compactados foram sinterizados ao ar a 1100 °C, por 60 minutos.

As cúpulas possuem as seguintes dimensões finais: diâmetro externo de 8mm, altura externa de 3mm, diâmetro interno de 4mm e altura interna de 2mm. As cúpulas foram acondicionadas individualmente em invólucros próprios para esterilização e esterilizadas a uma dose de 25kGy por meio de radiação gama (Co⁶⁰, Gammacell modelo 220).

O teste de citotoxicidade *in vitro* foi realizado de acordo com a norma ISO 10993-5 Biological evaluation of medical devices- part 5: 2009. Este teste é necessário para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material *in vitro* com potencial para aplicações médicas.

Para este teste foram utilizadas amostras sinterizadas de hidroxiapatita, solução fenol a 0,02%, como controle positivo e amostra de alumina como controle negativo.

Para o ensaio *in vivo* foram utilizadas 18 cúpulas, divididas em três grupos. Grupo A, controle no qual foi estimulada a formação de coágulo na região de implantação da cúpula. Grupo B, as cúpulas receberam o composto vitamínico no seu interior, para avaliar a função de moderador do processo inflamatório e mediar a neoformação óssea. Grupo C, as cúpulas receberam preenchimento de β-TCP em forma de pó, material reabsorvível pelo organismo.

Nove coelhos adultos machos, da raça Nova Zelândia foram designados como modelo animal neste estudo. Os animais foram alocados no biotério do IPEN em gaiolas individuais apropriadas à temperatura constante de (21°C), isentos de estresse, sob iluminação natural, através das janelas do biotério, tratados com dieta à base de ração seca e água fornecida *ad libitum*, de acordo com Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) número 76/11.

Antes do procedimento cirúrgico foram administradas por via intramuscular, as seguintes drogas: Calmiun- Agener União– Cloridrato de xilazina 2%, sedativo analgésico e relaxante muscular em concentração de 5mg/kg; Ketamina Agener- Agener União – Cloridrato de Cetamina a 10%, anestésico dissociativo- em concentração de 20 mg/kg. Como anestésico local foi administrado nas áreas cirúrgicas Cloridrato de lidocaína (0,02g)-fenilefrina (0,0004g), com apresentação em tubetes de 1,8ml.

Após o acesso à área operatória, na região proximal da tíbia, foi realizada uma perfuração, através da superfície cortical óssea penetrando a cavidade medular, com o intuito de promover um afluxo de sangue para a região interna da cúpula. Em seguida, foram realizadas as perfurações para os parafusos ortodônticos, com broca cilíndrica com 1 mm de diâmetro.

As cúpulas foram fixadas por cianoacrilato (Super Bonder®- Loctite- Brasil) reforçado por parafusos ortodônticos (Minimplant Orthofit H10- DSP Biomedical®). (Fig. 1).e a sutura foi realizada com fios de sutura mononylon, com agulha 3/8 CR 3,0cm.



Fig. 1: Visão da cúpula fixada

Após a cirurgia, os animais foram medicados com antibiótico de amplo espectro- Pentabiótico ® Veterinário Reforçado (Fort Dodge Saúde Animal Ltda.), analgésico- Cloridrato de Tramadol (Tramal ® - Pfizer) e antiinflamatório não-esteróide- cetoprofeno (Profenid ® - Sanofi Aventis).

No decorrer das 8 semanas aguardadas para a cicatrização dos implantes, foram administrados, subcutaneamente, marcadores ósseos de união à apatita, com finalidade de determinar o processo de formação óssea.

Os marcadores utilizados foram: alizarina (Labsynth produtos para laboratórios LTDA), calceína (Labsynth produtos para laboratórios LTDA) e

tetraciclina (Cloridrato de oxitetraciclina – Terramicina- Laboratórios Pfizer LTDA) utilizando o procedimento experimental de sequência de marcadores detalhado na tabela 1. (13,14)

Tabela 1: Dosagem e tempo de aplicação dos marcadores celulares

Tempo	Marcador	Dose por kg do animal
14 dias	Alizarina	30 mg/ kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
21 dias	Alizarina	30 mg/ kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
28 dias	Calceína	10 mg/kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
35 dias	Calceína	10 mg/kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
42 dias	Tetraciclina	1,5 ml/kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
49 dias	Tetraciclina	1,5 ml/kg + 20 mg Na ₂ HPO ₄
56 dias	Eutanásia	

O tempo de 8 semanas *in vivo* foi adotado, como comparativo ao tempo de reparação óssea em humanos que é de 24 semanas; uma vez que o metabolismo ósseo no coelho é, em média, três vezes superior ao da espécie humana.(15) Os animais foram sacrificados por meio de uma dose excessiva de ketamina, aproximadamente 1ml/kg por animal. Os tecidos moles foram dissecados e blocos das tíbias, contendo os implantes, foram removidos, com o auxílio de serra manual, e mantidos imersos em solução neutra de formalina a 10% durante 48 horas.

A preparação do bloco, a microtomia, o acabamento e o polimento dos cortes foram realizados de acordo com os princípios de Donath e Breuner(16).

As lâminas foram analisadas em Microscópio Nikon- Eclipse- E1000, com câmera Nikon DXM 1200F, utilizando filtros específicos para os marcadores de fluorocromo utilizados(17). As imagens captadas foram analisadas no programa Image Pro- Plus 5.1, Media Cybernetics, através da medição da área de neoformação óssea e medição da área de cada marcador.

Realizada a análise de microscopia de fluorescência, as lâminas foram coradas pelo método de azul de toluidina e pelo método de Stevenel's blue, para verificação das células presentes no interior da cúpula e na interface cúpula e tecido neoformado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os difratogramas obtidos para os pós de partida hidroxiapatita e beta-TCP, e da amostra de hidroxiapatita sinterizada foram comparados com os padrões JCPDS-IDCC (Joint Committee on Powder Diffraction International Centre for Diffraction Data), 2003, para avaliar a coexistência de fases secundárias, como o fosfato tricálcico, que pode estar presente em hidroxiapatitas comerciais, ou CaO e Ca(OH)₂

empregados para atingir a razão estequiométrica ideal de Ca/P no material, além de confirmar a presença de fases cristalinas características. Não foram observadas fases secundárias nos materiais de partida, nem formação de novas fases no processamento de sinterização, demonstrando a pureza dos materiais de partida e a boa estabilidade térmica da hidroxiapatita nas condições de sinterização. (Fig. 2)

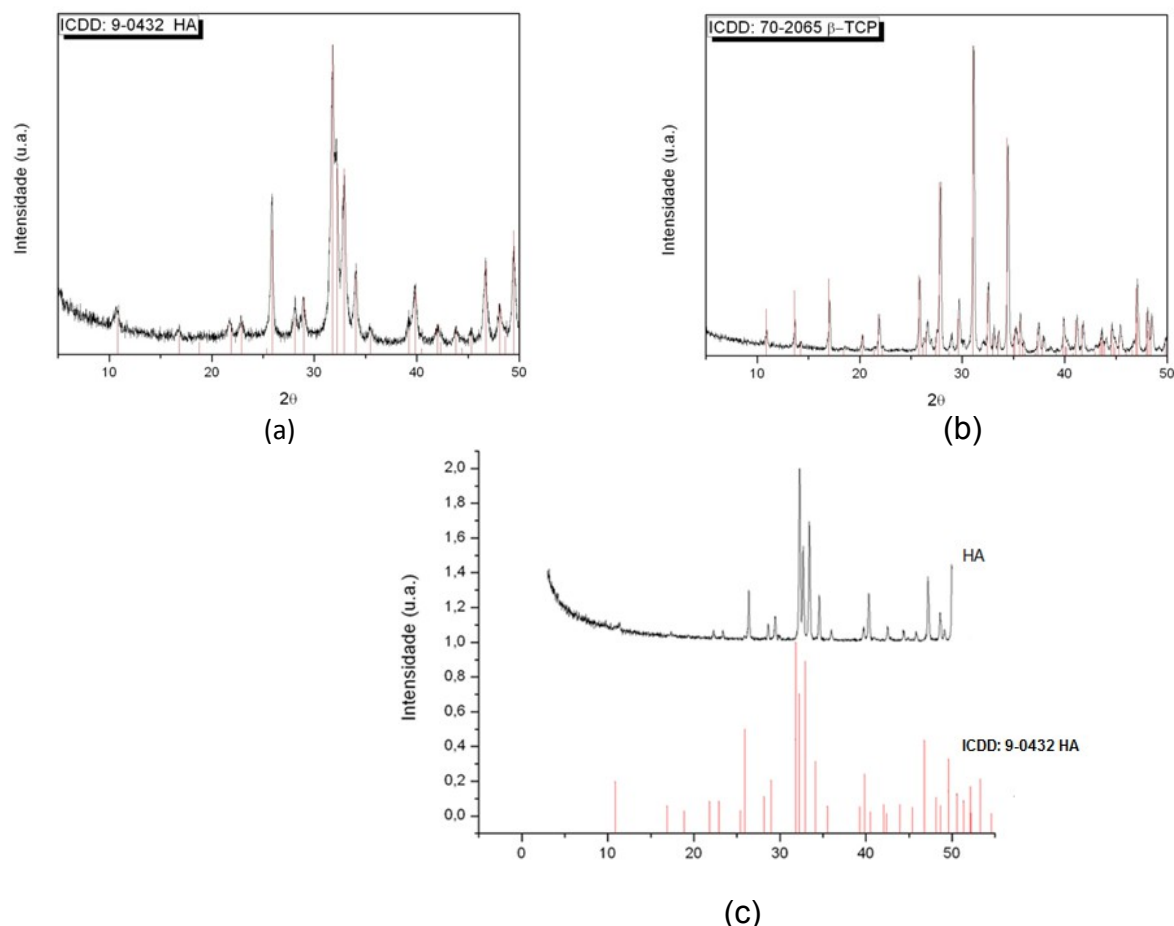
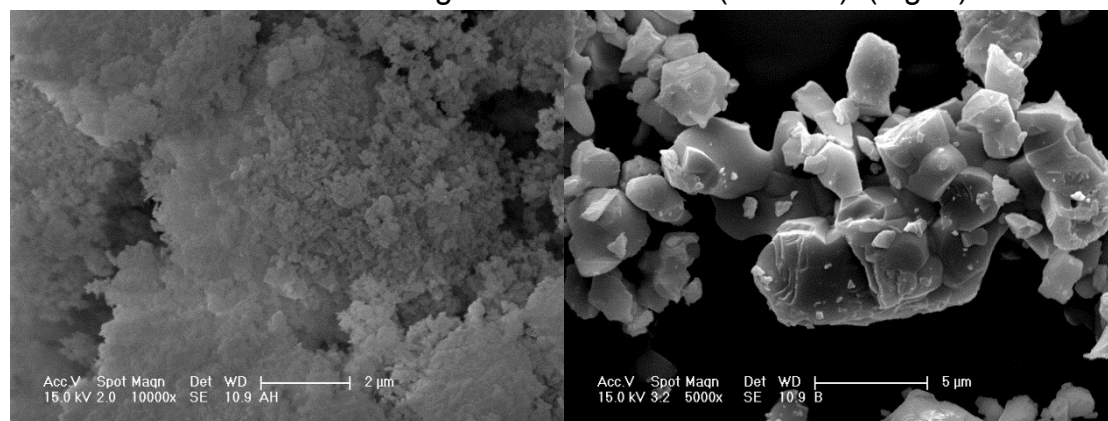


Fig. 2: Difratomogramas dos pós de partida (a) hidroxiapatita, (b) beta-TCP e (c) da amostra sinterizada de hidroxiapatita.

As partículas do pó de partida hidroxiapatita são bem pequenas, apresentando morfologia esférica e presença de aglomerados. As partículas de beta-TCP são maiores e com geometria facetada (acicular). (Fig. 3)



(a) (b)

Fig. 3: Micrografias dos materiais de partida (a) hidroxiapatita e (b) Beta-TCP.

As amostras sinterizadas de hidroxiapatita possuem um valor médio de densidade de $2,99 \text{ g/cm}^3$, 95% da densidade teórica. As micrografias de superfície de fratura da cúpula de hidroxiapatita mostram uma boa densificação do material, com poros distribuídos homogeneamente e com diâmetro da ordem de $1 \mu\text{m}$. (Fig. 4)

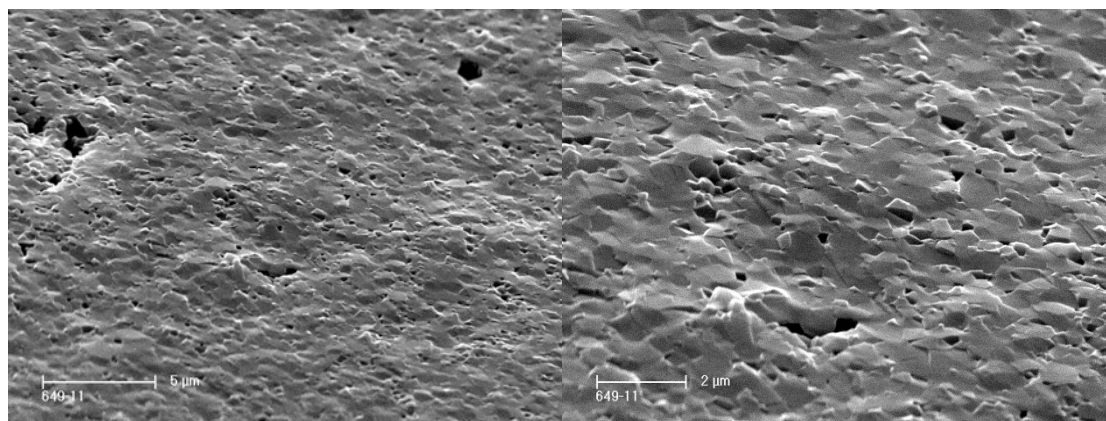


Fig. 4: Micrografia da amostra de fratura de hidroxiapatita sinterizada.

No teste de citotoxicidade, a curva obtida para cada amostra correlaciona o percentual médio de células vivas contra a concentração dos extratos. O IC50, representa a concentração inibitória do crescimento e formação de colônias, determinando o grau de toxicidade da amostra. Como resultado, a amostra de hidroxiapatita sinterizada mostrou-se não citotóxica, com valor de IC50 em aproximadamente 100%, como pode ser observado na representação gráfica dos dados de densidade óptica obtida (Fig. 5), viabilizando sua utilização *in vivo*.

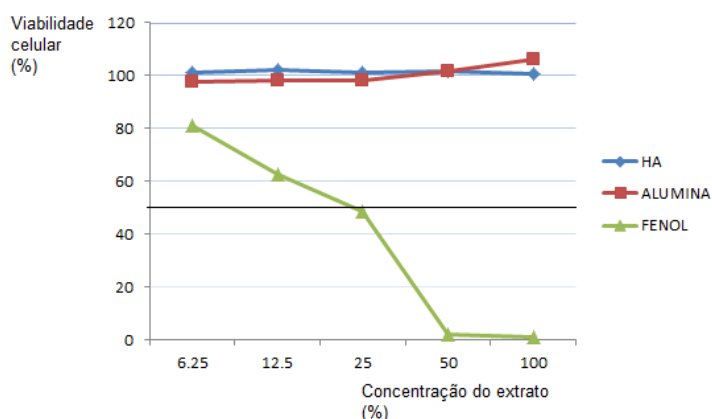


Fig. 5: Gráfico da viabilidade celular da amostra da cúpula de hidroxiapatita e dos controles positivo e negativo.

As cirurgias foram realizadas conforme metodologia descrita, sendo os coelhos mantidos em gaiolas individuais, em temperatura constante de 21°C . Para não ocorrer infecção da ferida e diminuir o desconforto dos animais, foram aplicadas

doses de antibiótico (Pentabiótico ® Veterinário Reforçado- Fort Dodge Saúde Animal Ltda.), analgésico (Cloridrato de Tramadol- Tramal ® - Pfizer) e anti-inflamatório não- esteróide (cetoprofeno- Profenid ® - Sanofi Aventis).

Após o período estabelecido de 56 dias, foi realizada a eutanásia dos animais e obtenção dos blocos das tíbias, conforme metodologia descrita. As cúpulas apresentaram boa estabilidade e fixação ao tecido ósseo. Os tecidos adjacentes à cúpula apresentaram cicatrização com aspecto de normalidade, sem indícios de infecção e/ou inflamação, com formação de tecido ósseo sobre a cúpula (Fig. 6).

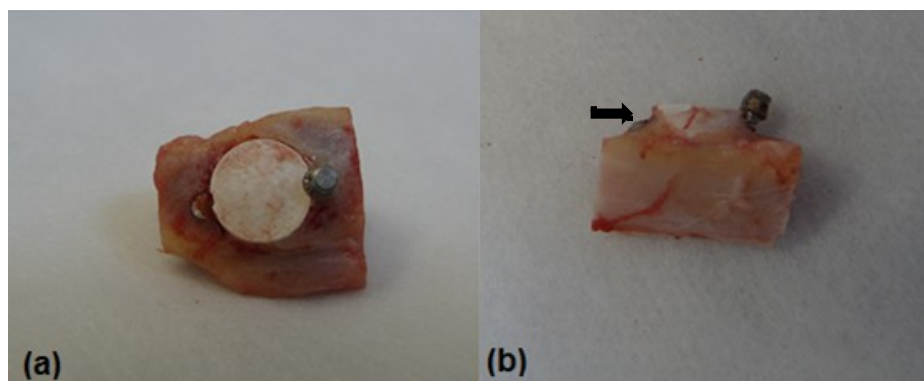


Fig. 6: Bloco da tíbia contendo a cúpula fixada por parafusos ortodônticos. Vista superior (a) e lateral(b).

A quantificação da área de neoformação óssea foi realizada em micrografias digitalizadas através do programa Image Pro Plus 5.1, permitindo selecionar de maneira distinta os três marcadores teciduais utilizados por meio da diferença da intensidade de pixels que dão origem à imagem, onde estes são contados e medidos por área. (Fig. 7)

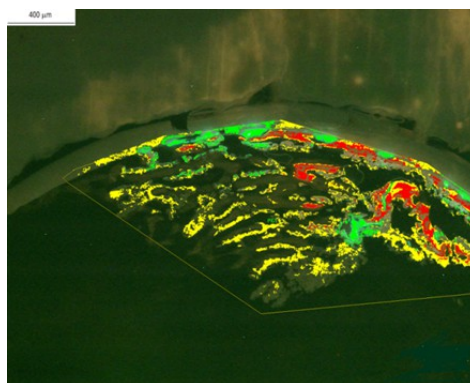


Fig. 7: Imagem da região da abóbada da cúpula, com preenchimento de coágulo, demonstrando a quantificação dos marcadores realizada através do programa Image Pro-Plus: alizarina (vermelho), calceína (verde) e tetraciclina (amarelo).

Os valores das áreas de neoformação óssea foram somados, obtendo-se a porcentagem da área total de tecido neoformado. (Tabela 2) Foi calculada a média para cada amostra, assim como desvio padrão. Os dados foram comparados em

cada parâmetro com o uso da ANOVA com os resultados obtidos ao teste de Tukey, o nível de significância adotado foi de $p \leq 0,05$.

Tabela 2: Valores médios e desvio-padrões, das cúpulas com preenchimento.

Preenchimento	Média (% área)	Desvio-padrão
Coágulo	7,45	$\pm 8,31$
Composto	-	-
Beta-TCP	14,12	$\pm 7,62$

As cúpulas preenchidas por coágulo e beta-TCP apresentaram neoformação óssea em seu interior e em contato com sua superfície interna. Foi observada neoformação óssea organizada, com formações de lamelas ósseas, presença de matriz osteóide, osteoblastos e osteócitos. (Figs 8a e 8b)

Quando o preenchimento foi o composto vitamínico não foi observada formação de tecido ósseo, tendo-se a manutenção do biomaterial no interior da cúpula. (Fig. 8c)

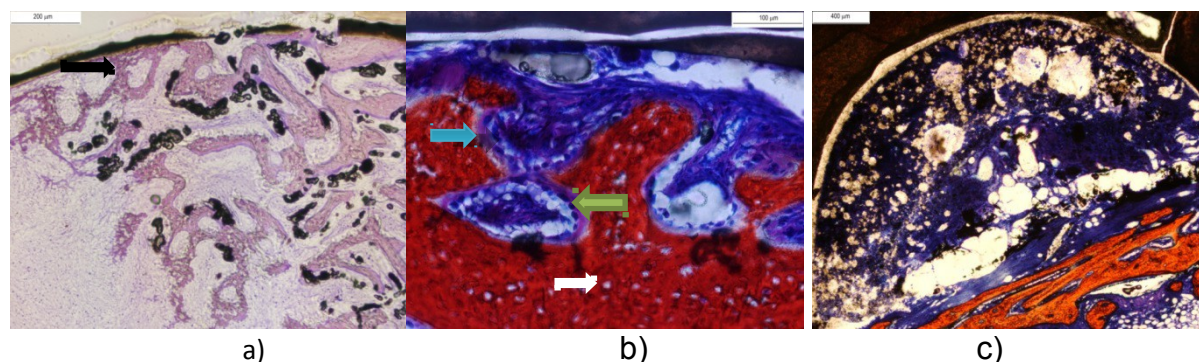


Fig 8: a) Cúpula com preenchimento de coágulo, coloração azul de toluidina: notar padrão de neoformação óssea (seta) em contato com superfície interna. b) Cúpula com preenchimento de beta-TCP, coloração stevenel's blue: presença de estruturas: seta azul- matriz osteóide, seta verde- osteoblasto (célula óssea em atividade), seta branca- osteócito (célula óssea madura). c) Cúpula com preenchimento de composto vitamínico, coloração stevenel's blue: manutenção do composto no interior da cúpula.

CONCLUSÕES

A cúpula de hidroxiapatita apresenta bom desempenho como arcabouço para neoformação óssea acima da cortical da tíbia de coelhos, pois manteve-se íntegra, com boa estabilidade e boa integração ao tecido ósseo, e principalmente pela neoformação óssea com preenchimento de coágulo, demonstrando seu potencial osteocondutor.

Em relação aos materiais de preenchimento, o beta-TCP apresenta maior valor de área de osso neoformado, em comparação com o coágulo. Nas cúpulas com preenchimento de composto vitamínico, não há formação de tecido ósseo pela não reabsorção do material.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BRÄNEMARK P.I. BREINE U., HANSSON B.O., LINDSTRÖM J., OHLSSON A., A.R. (1969). Intra-osseous anchorage of dental protheses. I. Experimental studies. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery*, 3(2) , 81–100.
- 2 Buser, D.; Martin, W. et al. Optimizing esthetics for implant restorations in the anterior maxilla: anatomic and surgical considerations. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 19 Suppl, p. 43–61, 2004.
- 3 Jensen, S.S.; Terheyden, H. Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 24 Suppl, p. 218–36, 2009.
- 4 Zimmermann, G.; Moghaddam, A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. **Injury**, v. 42 Suppl 2, p. S16–21, 2011.
- 5 Mellonig, J.T.; Prewett, A.B. et al. HIV inactivation in a bone allograft. **Journal of periodontology**, v. 63, n. 12, p. 979–83, 1992.
- 6 Becker, W.; Becker, B.E. et al. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. **Journal of periodontology**, v. 65, n. 12, p. 1128–33, 1994.
- 7 Nasr, H.F.; Aichelmann-Reidy, M.E. et al. Bone and bone substitutes. **Periodontology 2000**, v. 19, p. 74–86, 1999.
- 8 Zafiropoulos, G.-G.K.; Hoffmann, O. et al. Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration and autogenous spongiosa alone or combined with hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate bone substitute or bovine-derived xenograft. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 11, p. 2216–25, 2007.
- 9 LEGEROS, R.Z. **Calcium phosphates in oral biology and medicine**. New York: Monographs in oral science, 1991.
- 10 RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S. et al. **Biomaterials Science: an introduction to materials in Medicine**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004.
- 11 ORÉFICE, R. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005.
- 12 SALLES, M.B. **Micro-elementos funcionais alterando a biocompatibilidade do polímero de poliuretana de mamona (poliol) em enxertos ósseos: estudo desenvolvido em cães**. São Paulo: Dissertação (Mestrado em Ciências - Anatomia) - Departamento de Anatomia Funcional Estrutura e Ultraestrutura do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2001.
- 13 Allegrini, S.; Rumpel, E. et al. Hydroxyapatite grafting promotes new bone formation and osseointegration of smooth titanium implants. **Annals of anatomy =**

Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft, v. 188, n. 2, p. 143–51, 2006.

14 Yoshimoto, M.; König, B. et al. Bone healing after the inferior alveolar nerve lateralization: a histologic study in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, v. 62, n. 9 Suppl 2, p. 131–5, 2004.

15 ROBERTS, W., GARETTO, L.P. Fisiologia e metabolismos ósseos. In: **Implantes Dentários Contemporâneos**. São Paulo: Livraria Santos Editora, 2000, p. 225–237.

16 Donath, K.; Breuner, G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. **Journal of oral pathology**, v. 11, n. 4, p. 318–26, 1982.

17 Gaalen, S.M. van; Kruijt, M.C. et al. Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 16, n. 2, p. 209–17, 2010.

EVALUATION OF NEW BONE FORMATION IN RABBITS USING HYDROXYAPATITE DOME ASSOCIATED TO DIFFERENT MATERIALS

ABSTRACT

The installation of dental implants requires the presence of adequate bone substrate to ensure stability and biomechanical balance. The purpose of this work is to study osteogenesis supracortical from the osteoconductive potential of the structure of synthetic hydroxyapatite, called "dome" to bring the bone volume required for installation of implants. The domes were obtained by isostatic pressing and sintering in air, subjected to the cytotoxicity and installed in the tibia of rabbits, filled with clot, vitamin compound or beta-TCP. After healing, the samples were embedded in resin to obtain the slides and observed under fluorescence microscope to evaluate the amount of newly formed bone tissue and light microscopy to verify the cells present in the tissue formed. As a result, the new bone formation was observed inside the dome, demonstrating the osteoconductive properties of the material, and the grafting of beta-TCP showed greater bone formation.

Key words: hydroxyapatite, graft, osteogenesis.