MARCELLO ROBERTO MANZI

Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar

São Paulo

2016

MARCELLO ROBERTO MANZI

Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas para obter o título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Maxilofaciais

Orientadora: Prof.a Dr.a Maria Cristina Zindel Deboni

São Paulo

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Manzi, Marcello Roberto.

Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar / Marcello Roberto Manzi ; orientador Maria Cristina Zindel Deboni. -- São Paulo, 2016.

83 p. : fig., tab., quadro; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Maxilo-Faciais -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Aloenxertos. 2. Implantes dentários. 3. Processo alveolar. 4. Seio maxilar.
I. Deboni, Maria Cristina Zindel. II. Título.

Manzi MR. Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, para obter o título de Doutor em Ciências.

Aprovada em: 15__/_09__/_2016

Banca Examinadora

Prof(a).Dr(a).MARIA CRISTINA ZINDEL DEBONI

Instituição: FOU SP_____ Julgamento: APROVADO

Prof(a).Dr(a).MARIA DA GRAÇA NA CLÉRIO-HOMEM

Instituição: FOU SP_____ Julgamento: APROVADO

Prof(o). Dr(o).WILSON ROBERTO SENDYK

Instituição: UNISA _____ Julgamento: APROVADO

Prof(o). Dr(o).MARCELO MINHARRO CECCHETTI

Instituição: HCFMUSP_____ Julgamento: APROVADO

Prof(o). Dr(a).CESAR ANGELO LASCALA

Instituição: FOU SP_____ Julgamento: APROVADO

Aos meus pais,

Ney Roberto Manzi e Cacilda dos Santos Manzi

Pela dedicação, exemplo de vida, incentivo e sacrifício incondicional de suas vidas,
visando a minha formação, à realização dos meus sonhos e a minha felicidade.

Pela presença constante e apoio carinhoso, pelo amor e compreensão em todos os
momentos da minha vida.

Em cuja força, amor e espírito de doação, eu me inspiro para vencer os desafios.

A minha esposa,

Angelica Castro Pimentel

Obrigado por ser mais que uma amiga, mais que minha mulher...

Você é e sempre será o maior amor da minha vida.

Às minhas filhas,

Marcella Pimentel Manzi e Lorena Pimentel Manzi

Por aflorarem sentimentos que até então eu desconhecia.

Frutos de um amor verdadeiro; bênçãos de Deus

Filhas, sem vocês a vida não tem mais sentido.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realizar este trabalho científico.

À Professora Professora Doutora Maria da Graça Naclério Homem, pela oportunidade de ingressar no programa e poder fazer parte desse grupo maravilhoso e cujos conhecimentos e orientações proporcionaram-me alcançar e vencer mais esta etapa.

À Professora Doutora Maria Cristina Zindel Deboni, pela paciência e ensinamentos, uma profissional cujo talento e sabedoria são imensuráveis, uma orientadora na essência da palavra.

Aos amigos que fiz neste curso, em especial Dr. Rubens Camino Junior, um grande amigo e irmão que ganhei. Obrigado pela sua amizade e simplicidade.

A todos os Professores Doutores da Disciplina de Cirurgia Odontológica e Bucomaxilofaciais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – gratidão pelas horas, pelas aulas, pelos ensinamentos.

À professora Luciana Correa, pela ajuda valiosa e imprescindível na análise histológica, obrigado pela sua disponibilidade e por dividir, tão generosamente, seus conhecimentos.

Ao Paulo Henrique Junqueira Amorim, estagiário do Centro de Tecnologia da Informação - Renato Archer (CTI), pela preciosa ajuda nas análises microtomograficas.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia Odontológica e Bucomaxilofaciais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, e aos colegas, Mestrandos e Doutorandos.

Especialmente, aos Pacientes, que confiaram e dedicaram-se com empenho para os resultados desta pesquisa.

RESUMO

Manzi MR. Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Corrigida.

O aloenxerto ósseo desmineralizado irradiado (ALD) e o aloenxerto ósseo congelado mineralizado (ACM) são alternativas ao osso autógeno para o aumento do rebordo ósseo alveolar. Individualmente, já foram testados quanto a eficiência, de certa forma, comparável aos autógenos e suas vantagens sobre eles. Entretanto, não há estudos padronizados comparando o desempenho clínico entre esses dois tipos de aloenxertos, quando utilizados em região de maxila atrófica para instalação e implantes. O objetivo deste estudo foi realizar um ensaio clínico randomizado controlado que envolve a elevação bilateral do seio maxilar empregando o osso alógeno liofilizado desmineralizado irradiado (ALD) ou o osso alógeno congelado mineralizado (ACM) e verificar comparativamente os desfechos clínicos para estabilidade de implantes, quantidade e qualidade de neoformação óssea. Dez pacientes foram submetidos a cirurgia de elevação do seio maxilar bilateral na qual foi utilizado um dos tipos de aloenxerto, de forma randômica em um dos lados. Seis a nove meses após o aumento do rebordo ósseo, no momento da instalação de implantes osseointegrados, foram obtidas amostras ósseas por meio de trefina de 2x10mm para análises microtomográficas e histológicas. A estabilidade dos implantes foi aferida por frequência de ressonância em dois momentos, imediato e após 6 meses da instalação dos implantes. Os resultados mostraram aumento do rebordo, radiograficamente detectável em todos os pacientes e grupos. Os implantes osseointegrados, inseridos em enxertos ACM, apresentaram melhor estabilidade primária, embora o acréscimo de estabilidade tenha sido mais significativo no ALD. As análises microtomográficas e histológicas revelaram mais formação óssea de melhor qualidade nos ALD do que nos ACM. Não houve resposta a corpo estranho para nenhum dos tipos de aloenxertos. Notou-se mais quantidade de material remanescente para ACM do que para ALD. Concluímos que os aloenxertos liofilizados desmineralizados irradiados (ALD) apresentaram melhor desempenho quanto aos parâmetros estudados.

Palavras-chave: Aloenxertos. Implantes dentários. Processo alveolar. Seio maxilar.

ABSTRACT

Manzi MR. Histological and microtomografic assessment between lyophilized and fresh-frozen allogenic bone grafts for sinus lifting : Randomized Controlled clinical Trial [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Corrigida.

Demineralized bone irradiated allograft (DFDBA) and fresh- frozen (FF) are alternative grafts to autogenous bone in alveolar ridge augmentation. Individually, these allografts have been tested for their efficiency, in a way comparable to autogenous, and so their advantages over autogenous grafts. However, there are no standardized clinical studies comparing the clinical and histological performance between these two allografts in atrophic maxilla bone augmentation for implants instalment. The aim of this study was to perform a randomized controlled clinical trial involving bilateral sinus floor elevation employing demineralized freeze-dried irradiated allograft (DFDBA) or fresh-frozen (FF) and to compare clinical and histological outcomes for stability of implants, quantity and quality of bone formation. Ten patients underwent bilateral maxillary sinus lifting surgery in which side was randomly used one of those allografts for alveolar ridge augmentation. Six to nine months after grafting, at the time of dental implants instalment, trephine 2x10mm bone core biopsies were obtained to micro computed tomographic and histological analyses. The stability of the implants was measured by resonance frequency in two stages, immediately and 6 months after implants installation. Results showed that there was an increase, radiographically detectable, in all patients and groups. The dental implants inserted in FF grafts showed better primary stability but implant stability, lately, increased significantly in DFDBA. Micro tomographic and histological analyses revealed that bone formation amount and quality was superior in DFDBA than in FF. There was no foreign body response for any of the allografts. There was a greater amount of persisting graft-materialin FF than in DFDBA. We conclude that demineralized freeze-dried irradiated allograft (DFDBA) presented a superior performance than mineralized FF.

Keywords: Allografts. Alveolar ridge. Dental implants. Maxillary sinus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 – Embalagem de enxerto ósseo alógeno congelado (ALD - esquerdo) e do enxerto ósseo alógeno liofilizado desmineralizado (ALD - direito).....	37
Figura 4.2- Sequência clínica dos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar e aumento do rebordo ósseo com ALD.	39
Figura 4.3- Sequência clínica dos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar e aumento do rebordo ósseo com ACM.....	39
Figura 4.4- Representação das aferições lineares realizadas nas imagens tomográficas para a obtenção da altura do rebordo ósseo no pré e pós-operatório.	40
Figura 4.5- Coleta das amostras ósseas, e instalação dos implantes.....	41
Figura 4.6- Aferição da estabilidade primária.....	42
Figura 5.1-Imagens panorâmicas reconstruídas das Tomografias de feixe cônico apresentando as regiões que sofreram elevação do assoalho do seio maxilar e preenchimento pelos enxertos liofilizado ou congelado. Momentos pré e pós-operatórios-.....	48
Figura 5.2-Imagens panorâmicas reconstruídas das Tomografias de feixe cônico apresentando as regiões que sofreram elevação do assoalho do seio maxilar e preenchimento pelos enxertos liofilizado ou congelado. Momentos pré- e pós-operatório.....	49
Figura 5.3- Médias e desvios-padrão das alturas (mm) do rebordo ósseo nos momentos pré e após 6 meses para cada tipo de enxerto.....	50
Figura 5.4- Médias do acréscimo em altura (mm), após 6 meses nas regiões de preenchimento nos dois tipos de enxerto.....	50
Figura 5.5- Média dos escores de estabilidade dos implantes em cada tipo de enxerto em dois momentos (T1) imediato e (T2) após seis meses do enxerto.	51
Figura 5.6- Médias das diferenças (T2-T1) dos coeficientes de estabilidade dos implantes, calculadas entre os momentos imediatamente após a instalação dos implantes e após 6 meses (T2-T1), para cada tipo de enxerto.	52

- Figura 5.7- Imagem representativa da reconstrução tridimensional das imagens microtomográficas das biópsias ósseas na região do enxerto. Em azul, área correspondente ao osso neoformado nos espécimes. Em (A) enxerto autógeno congelado mineralizado (ACM); em (B) enxerto autógeno liofilizado desmineralizado (ALD).....53
- Figura 5.8- Média do volume(mm³) de material remanescente e de formação óssea em cada tipo de enxerto após 6-9 meses pela análise em microtomografia computadorizada (μCT).....54
- Figura 5.9- Média do volume(mm³) de material remanescente e de formação óssea em cada tipo de enxerto após 6-9 meses pela análise em microtomografia computadorizada (μCT).55
- Figura 5.10- Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses) nas regiões do enxerto (Hematoxilina e eosina - aumento original 50X) A – enxerto alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) e em B – enxerto alógeno Congelado Mineralizado (ACM). C- Detalhe do corte histológico do enxerto ALD exibindo deposição de tecido osteóide com osteócitos em lacunas e diferentes graus de maturação óssea além de áreas de material remanescente do enxerto com permeado por tecido conjuntivo denso. Linhas de deposição óssea podem ser observadas. Em D- detalhe do corte histológico do enxerto ACM exibindo fragmentos de material de enxerto envolvido por tecido osteóide imaturo. (Hematoxilina e eosina - aumento original 200X).56
- Figura 5.11- Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses), nas regiões do enxerto alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) (Hematoxilina e eosina) A – aumento original de 100X exibindo formação de tecido ósseo maduro e lacuna com ostócito em seu interior (ponta de seta). Em região focal do corte (asterisco) neoformação óssea om padrão endocondral. B - Aumento original 200X – exibindo áreas focais da neoformação endocondral (asterisco) e linhas incrementais de deposição mineral em tecido ósseo maduro (pontas de seta).....57

- Figura 5.12- Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses) nas regiões do enxerto A – alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) (Hematoxilina e eosina aumento original de 400X exibindo formação de tecido ósseo maduro e lacunas com osteócitos em seu interior e material remanescente do enxerto envolvido pela matriz óssea neoformada (pontas de seta). B - Aumento original 400X – exibindo áreas focais de neoformação óssea, “dissolução” de material de enxerto remanescente e deposição mineral em tecido ósseo maduro (pontas de seta).58
- Figura 5.13- Fotomicrografias de cortes histológicos representativos das amostras da região dos enxertos (Stevenel Blue aumento original de 50X) e imagens de microtomografia computadorizada 2D exibindo áreas de osso nativo do rebordo alveolar hiperdenso, quando comparado aos remanescentes de enxerto ósseo e osso jovem. A aposição de novo osso pode ser vista na junção entre tecido ósseo nativo e enxerto com densidades diferentes em tonalidades de cinza (μ CT). (A) e (B) enxerto liofilizado desmineralizado (ALD) e em (C) e (D) enxerto congelado mineralizado (ACM).59
- Figura 5.14 Média das porcentagens de formação óssea em cada tipo de enxerto após seis meses.....60

LISTA DE TABELAS

Quadro 4.1 - Especificações técnicas do Microtomógrafo.....	44
Tabela 5.1 - Médias ($\pm$ DP) das alturas do rebordo ósseo na região de maxila posterior nos momentos pré-operatório e após 6 a 9 meses para os dois tipos de enxerto.....	47
Tabela 5.2 - Valores descritivos das diferenças dos escores para estabilidade dos implantes entre o período imediato (T1) e após seis meses (T2) da instalação.....	52
Tabela 5.3 - Valores descritivos das médias das porcentagens de neoformação óssea pela análise em microtomografia computadorizada (μ CT) após 6-9 meses do enxerto	53
Tabela 5.4 - Valores descritivos das médias dos volumes de material remanescente e de neoformação óssea, pela análise em microtomografia computadorizada (μ CT), após 6-9 meses do enxerto	54
Tabela 5.5 - Valores descritivos das medianas dos escores para avaliação histomorfológica das características do tecido medular nas biópsias ósseas após 6-9 meses dos enxertos.....	56
Tabela 5.6 - Diferenças entre as médias de porcentagens (%) de neoformação óssea pela histomorfometria entre os dois tipos de enxerto	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AATB	American Association of Tissue Bank
ACF	Osso Alógeno Fresco Congelado
ACM	Osso Alógeno Congelado Mineralizado
ALD	Osso Alógeno Liofilizado Desmineralizado
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCP	Fosfato de Cálcio Bifásico
BIC	Bone Interface Contact
BioOss	Osso de origem bovina
BMP	Proteínas Morfogenéticas Ósseas
BMSC	Células de estroma da Medula Óssea
CAPE	Centro de Atendimentos a Pacientes Especiais
CF	Congelado Fresco
CFO	Conselho Federal de Odontologia
DFDBA	Osso Alógeno liofilizado Desmineralizado
EATB	European Association of Tissue Bank
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FDBA	Enxerto de Osso Mineralizado
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
HE	Eosina
ISQ	Coeficiente de Estabilidade do Implante
NP	Plataforma Estreita
PP	Polipropileno
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
RBH	Altura Residual do Rebordo Ósseo
RFA	Análise de Frequência de Ressonância
ROI	Região de Interesse
RP	Plataforma Normal
TI	Torque de Inserção
VOI	Volume de Interesse
WP	Plataforma Estendida

LISTA DE SÍMBOLOS E MEDIDAS

g	grama
mg	miligrama
mm	milímetro
μm	micrômetro
N	Newton
2D	bidimensional
3D	tridimensional

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	Anatomia do seio maxilar	17
2.2	Técnica de elevação do assoalho de seio maxilar	18
2.3	Tecido ósseo e processo de reparação de enxertos ósseos	19
2.4	Aloenxerto ósseo humano fresco congelado	21
2.5	Aloenxerto ósseo humano liofilizado desmineralizado	27
2.6	Imagem microtomográfica computadorizada (μCT) para análise de neoformação óssea	29
2.7	Mensuração da Estabilidade de implantes osseointegrados pelo método da frequência de ressonância	30
3	PROPOSIÇÃO	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Recrutamento, seleção e alocação dos participantes da pesquisa	35
4.2	Obtenção das imagens tomográficas pré e pós-operatórias	36
4.3	Obtenção dos aloenxertos	36
4.4	Procedimentos cirúrgicos	37
4.5	Mensuração da estabilidade dos implantes por frequência de ressonância (ISQ)	42
4.6	Aquisição das imagens e análise em microtomografia computadorizada (μCT)	43
4.7	Processamento e avaliações histológicas	45
4.8	Estudo estatístico	46
5	RESULTADOS	47
5.1	Altura do rebordo ósseo alveolar obtida após o enxerto	48
5.2	Coeficiente de estabilidade dos implantes	51
5.3	Análise microtomográfica da neoformação óssea	52
5.4	Análise histológica	55
5.4.1	Histomorfologia	55
5.4.2	Histomorfometria da neoformação óssea	59
6	DISCUSSÃO	61

7	CONCLUSÕES	66
	REFERÊNCIAS	67
	ANEXOS	76

1 INTRODUÇÃO

O osso alveolar dos maxilares desenvolve-se e mantém-se pela resposta a erupção dentária, pela preservação dos dentes no arco e pela função mastigatória dos dentes. Uma vez removido o dente, instaura-se processo fisiológico de reabsorção e remodelação do tecido ósseo de suporte. Defeitos ósseos nos maxilares também podem ocorrer devido a infecções, tumores, cistos, malformações congênitas ou, conseqüentemente, a traumatismos.

A maxila edêntula na região posterior, quando apresenta grandes reabsorções do processo ósseo alveolar exhibe muitas vezes aumento do volume do seio maxilar por pneumatização. A instalação de implantes dentários nessa região é frequentemente confrontada por volume ósseo inadequado. Assim, clínicos e pesquisadores têm, por mais de uma década, apresentado diversas técnicas para a reconstrução da maxila atrófica na tentativa de proporcionar quantidade e qualidade de osso¹. A literatura tem mostrado grandes avanços na área dos biomateriais e na engenharia de tecidos, na busca de novas substâncias, produtos e materiais que possam aprimorar essas técnicas de forma a auxiliar o organismo na reconstrução e na regeneração óssea desses defeitos.

Nos procedimentos que envolvam enxertias, o osso autógeno ainda é considerado o padrão de referência para qualquer tipo de aumento ósseo em humanos². Entretanto, mesmo que aperfeiçoados, os métodos que incluem o osso autógeno apresentam dificuldades quanto a: quantidade de osso viável disponível; excesso de traumatismo vinculado à área doadora; aumento do tempo cirúrgico; e dor pós-operatória associada a múltiplas cirurgias. Além disso, as internações hospitalares necessárias para coleta de material, em regiões distantes da cavidade bucal, tornam as técnicas desestimulantes aos profissionais. Cabe ressaltar, ainda, que muitos pacientes que necessitam desse tipo de procedimento apresentam idade avançada, além de comprometimentos na saúde sistêmica que podem comprometer os resultados esperados^{3,4,5}.

Desse modo, substitutos ósseos, biocompatíveis, biodegradáveis, que possuam propriedades osteocondutivas e, preferencialmente, osteoindutivas têm sido o foco crescente de pesquisas clínicas^{6,7,8}. Nesse contexto, as alternativas mais comuns para o enxerto autógeno são o enxerto sintético ou aloplástico (metal,

plástico ou cerâmico), o enxerto xenógeno (outra espécie animal) ou homogêneo ou alógeno (humano). Os primeiros representam custo elevado para a sua utilização em larga escala, e os xenógenos apresentam reabsorção e remodelação mais lenta, comparativamente ao osso autógeno – o que pode muitas vezes prejudicar à osseointegração dos implantes^{9,10}.

Os enxertos homogêneos ou alógenos ósseos podem imitar em muito as características do enxerto autógeno. Como exemplos, temos os aloenxertos ósseos fresco congelado mineralizados (ACM), os liofilizados desmineralizados (ALD)¹¹. Diversos autores já comprovaram a eficácia clínica do aloenxerto ósseo ACM^{9,12} e do aloenxerto ósseo ALD^{13,14} em defeitos ósseos.

Atualmente os aloenxertos ganharam disponibilidade nos grandes centros nacionais e melhorias na qualificação e normatização técnica de sua obtenção. Entretanto, não há na literatura ensaios clínicos padronizados que comparem aloenxerto ósseo desmineralizado irradiado (ALD) com aloenxerto ósseo congelado mineralizado (ACM), para preenchimento da região posterior da maxila na elevação do assoalho de seio maxilar, que possam subsidiar os clínicos na escolha de um, em detrimento de outro, para a reconstrução óssea prévia a instalação de implantes osseointegrados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para um melhor entendimento, essa revisão da literatura será dividida em tópicos.

2.1 Anatomia do seio maxilar

Os seios maxilares são cavidades ósseas cuja função é a ressonância da voz, o olfato, o aquecimento e a umidificação do ar na inspiração, bem como a redução do peso do crânio¹⁵. Anatomicamente o seio maxilar em adultos consiste de uma cavidade de base piramidal, com parede medial formada pela parede lateral da cavidade nasal. A parede anterior dessa pirâmide corresponde à face anterior da maxila; a parede superior (teto do seio maxilar) corresponde ao assoalho da órbita, onde está o trajeto do nervo infra-orbitário; a parede inferior, considerada assoalho do seio maxilar, é composta pelo processo alveolar; e a parede posterior é formada pela porção interna da tuberosidade maxilar, por onde passam os canais alveolares, superiores e posterior. Está situado no corpo da maxila e estende-se dos caninos até os pré-molares para posterior, e seu ápice estende-se ao processo zigomático, é revestido internamente por fina mucosa, chamada membrana de Schneider. Essa mucosa possui epitélio respiratório ciliado mais fino (aproximadamente 1 mm de espessura) e menos vascularizado que aquele da mucosa nasal^{15,16}.

As dimensões médias dos seios maxilares, em adultos, são de 25 a 35 mm de largura por 36 a 45 mm de altura e 38 a 35 mm de comprimento com volume aproximado de 12 a 15cm³. O suprimento sanguíneo da cavidade maxilar é primariamente feito pelas artérias alveolares (superior posterior), a infra-orbitária e a palatina maior, esta última supre a porção inferior do seio¹⁷.

Existe pequena abertura comunicante entre a cavidade nasal e o seio maxilar situada na parede medial aproximadamente 35 mm acima do assoalho do seio, chamada de óstio¹⁸.

Alguns autores investigaram, por meio de tomografias computadorizadas, complicações cirúrgicas, durante a elevação do assoalho do seio maxilar, causadas

pela presença de septos ósseos, e verificaram que – antes de realizar a cirurgia sinusal – é indicado o exame tomográfico, uma vez que as complicações e a taxa de sucesso de elevação do seio maxilar estão claramente relacionadas à presença de septos ósseos. Muitas vezes, estas estruturas anatômicas não podem ser visualizadas em imagens radiográficas panorâmicas convencionais^{19,20}.

2.2 Técnica de elevação do assoalho de seio maxilar

Os conceitos da técnica de elevação do assoalho de seio maxilar foram introduzidos por Dr. Hilt Tatum Jr no encontro sobre implantodontia em Birmigham, no Alabama (EUA) em 1976. O primeiro uso de enxerto no seio maxilar por razões protéticas foi realizado por Boyne, entre 1965 e 1968, porém a primeira publicação dessa técnica cirúrgica foi feita em 1980²¹. Em 1986, foi relatada a técnica desenvolvida anteriormente, em 1975, como modificação da antrostomia de Caldwell Luc²². A parede anterior do seio era seccionada por meio de osteotomia e o fragmento ósseo era utilizado como anteparo para elevar e apoiar a membrana do seio maxilar. Na elevação da membrana formava-se um espaço, preenchido por material de enxerto. Implantes podiam ser instalados simultaneamente, quando existisse altura óssea suficiente para estabilidade primária, ou seja, maior que 4 mm. Caso contrário, os implantes só poderiam ser instalados num segundo estágio, quando houvesse remodelação óssea.

Outros autores²³ descreveram essa técnica, como incisão sobre a crista óssea na região mais palatina e com a base da osteotomia de 1 a 2 mm acima do assoalho do seio maxilar, para permitir a utilização de uma cureta para divulsionar a membrana de Schneider. A osteotomia podia preservar a porção da parede anterior, que depois seria elevada, superior e medialmente, para apoiar a mucosa sinusal divulsionada. Para facilitar a visualização, os autores ainda sugeriam posicionar, por 5 minutos, uma gaze embebida por soro fisiológico no novo espaço formado a ser preenchido por um substituto ósseo.

Para a instalação de implantes imediatos ao procedimento de elevação e preenchimento do assoalho de seio maxilar alguns autores²⁴ consideraram que o rebordo residual deveria ter altura mínima de 4 mm (entre o assoalho do seio maxilar

e a crista do rebordo) e uma espessura vestibulo-lingual de 6 a 7 mm. Não recomendam a utilização da fresa de rebaixamento cônico ou, em Inglês, *countersink*, pois o osso cortical é necessário para a estabilização primária do enxerto e da mucosa sinusal. Após a elevação da mucosa e o enxerto, deve ser compactado nas paredes superior e medial, antes da instalação dos implantes. Em seguida, para a fixação dos implantes, o enxerto deve ser condensado anteriormente para preencher toda a cavidade sinusal. Os autores ainda salientam que o tabagismo é uma contra-indicação para o procedimento de levantamento do assoalho do seio maxilar.

A indicação da utilização de enxerto ósseo particulado é justificada por alguns autores²⁵ porque a revascularização é mais rápida e há facilidade de preenchimento dos espaços do seio maxilar. Após o preenchimento, o retalho deve ser reposicionado e pode ser necessária incisão no periósteo, para que o retalho acomode-se melhor, e os riscos de deiscência sejam minimizados.

Cirurgia de elevação do seio maxilar é técnica comprovada e confiável por causa da baixa taxa observada de complicações pós-operatórias imediatas e tardias e pela alta taxa de sucesso dos implantes colocados na área enxertada. Em levantamento retrospectivo de 8 anos, alguns autores²⁶ encontraram que a complicação transoperatória mais comum é o dano com perfuração da membrana de Schneider (25,7%). Outras complicações pós-operatórias incluíam infecção da ferida, abscesso ou deiscência com drenagem, sinusite maxilar, exposição parcial do enxerto de recobrimento simultâneo, e perda do enxerto.

2.3 O Tecido Ósseo e o Processo de Reparação de enxertos ósseos

O osso é constituído, basicamente, por uma matriz orgânica colagênica (colágeno tipo I) que corresponde a 25% de seu peso; de uma parte mineral (principalmente hidroxapatita) correspondente a 65% e água (10%)²⁷.

Do ponto de vista macroscópico, a estrutura óssea é classificada de acordo com a densidade, como osso cortical (compacto) ou esponjoso (medular). Microscopicamente o osso é composto de quatro tipos de tecidos: esponjoso (ou trabeculado), lamelar, fibroso (ou fasciculado) e cortico-esponjoso. O tecido ósseo e

composto por: Osteoblastos – células responsáveis pela osteogênese, isto é, pela síntese e secreção da matriz orgânica, sua maturação e mineralização; Osteócitos – células maduras derivadas dos osteoblastos, de extrema importância na manutenção da matriz óssea; Osteoclastos – células grandes multinucleadas, envolvidas na reabsorção do tecido ósseo. A interação da atividade de osteoblasto-osteoclasto é responsável pela remodelação óssea^{27,28}.

A mineralização óssea pode ser dividida em duas fases: uma chamada de primária, associada à formação óssea osteoblástica; e outra secundária, que gradualmente aumenta a densidade mineral da matriz óssea. A mineralização primária é iniciada por vesículas de matriz sintetizada por osteoblastos maduros. Os fosfatos de cálcio cristalinos são nucleados dentro dessas vesículas da matriz e, em seguida, formam nódulos esféricos mineralizados, que se desenvolvem pelo fornecimento de Ca^{2+} e $\text{PO}_4^{(3)}$ (matriz vesícula mineralização). Depois disso, os nódulos mineralizados fazem contato por meio de fibras de colágeno circundante, que se estendem ao longo da mineralização²⁹.

O processo de incorporação de um enxerto ósseo inicia-se pela formação do coágulo, dentro e ao redor do material de enxerto, com finalidade de nutrir a região até que haja a formação de novos capilares e vasos sanguíneos. O procedimento cirúrgico gera por si só uma resposta inflamatória, que resulta no desenvolvimento do tecido de granulação na área enxertada. Esse processo de crescimento tecidual induz a revascularização do tecido e traz células osteoprogenitoras para o enxerto.

Uma vez revascularizado, as células viáveis (contidas no material de enxerto) e as células osteoprogenitoras do leito receptor promovem a formação de um novo osso e a reabsorção do osso enxertado. Ao final, o osso é mineralizado e remodelado³⁰.

Nos diferentes tipos de transplante de tecidos utilizados (autólogo, homogêneo e aloplástico) ocorrem interações biológicas entre o material de enxerto e a área receptora que resultam em formação de osso³¹. Os eventos biológicos, que acontecem durante o processo de incorporação, incluem a formação de um coágulo com liberação local de citocinas e fatores de crescimento; inflamação, migração e proliferação de células mesenquimais e desenvolvimento de tecido fibrovascular, dentro e ao redor do enxerto. A invasão de vasos sanguíneos para o interior do enxerto ocorre através dos canais de Havers e Volkmann pré-existentes. A reabsorção osteoclástica da superfície do enxerto ocorre concomitantemente à

formação óssea na superfície dos fragmentos ósseos de enxerto. A estabilidade ou imobilidade do material de enxerto tem grande influência nos processos de vascularização e de diferenciação celular, pois – se o enxerto não estiver estável – haverá formação de tecido de granulação e fibrose na interface, entre o enxerto e o leito receptor, que impede a incorporação do enxerto. Dentro do enxerto, a maioria das células transplantadas não está viável, é induzida a apoptose ou morre, como resultado de isquemia. Dentre as células mais resistentes à isquemia, estão as mesenquimais primitivas, presentes na medula óssea; e as progenitoras de endotélio. Essas células podem sobreviver e ser estimuladas a proliferar por mudanças na tensão de oxigênio e pH, resultantes do transplante³¹.

O padrão e a extensão da incorporação do enxerto também são influenciados pela qualidade dos tecidos circunjacentes, no leito receptor; pela vascularização do leito; pela abundância e competência das células endoteliais e progenitoras. Um leito deficiente em um ou em ambos os tipos de células, provavelmente, resultará em resposta diminuída a estímulos osteocondutores, osteoindutores e angiogênicos. Algumas dessas situações ocorrem em áreas com fibroses extensas, pouca vascularização, defeitos ósseos muito grandes, infecção, imunossupressão e quando houve radioterapia prévia³¹.

2.4 Aloenxerto ósseo Humano Fresco Congelado

Um dos primeiros trabalhos referentes à utilização do enxerto ósseo fresco congelado foi publicado em 1965⁶. O autor considerou o tecido ósseo proveniente de indivíduos da mesma espécie como um excelente substituto ósseo; acreditava também que a matriz morta seria invadida por novos vasos sanguíneos e reabsorvida rapidamente, e que o novo osso seria formado em bolsas ou em câmaras que continham células proliferativas osteoprogenitoras.

A utilização dos materiais homógenos foi revisada em estudo retrospectivo de 120 anos³². O autor ressaltou que, no início da utilização dos enxertos homógenos, não existia legislação que desse suporte à técnica. Entre 1980 e 2000, houve mais procura por esses tipos de enxerto, e a preocupação do Banco de Tecidos que realizassem testes de padronização e de qualificação, a fim de evitar transmissão de

doenças. Concluiu que, mesmo com a segurança da utilização do material homogêneo, havia necessidade de acompanhar, no futuro, os resultados em relação à incorporação e remodelação, bem como se o enxerto reagiria quando submetido às funções do sistema músculo-esquelético.

Observou-se que o enxerto autógeno utiliza a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução para formar um novo osso³³. Os enxertos homogêneos, que podem ser corticais ou esponjosos, possuem propriedades osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras, porém não são osteogênicos. As formas utilizadas são os desidratados (secos), congelado mineralizado (ACM), o congelado desmineralizado (ACD) e os congelados frescos(CF). Os enxertos aloplásticos são tipicamente osteocondutores.

Ao comparar osso alógeno com autógeno, mostrou-se que o osso alógeno apresenta capacidade de revascularização mais lenta, e a união entre receptor e enxerto é obtida de forma consistente, porém não uniforme³⁴. O osso autógeno não apresenta imunogenicidade, ao contrário do alógeno; o primeiro possui capacidade de osteogênese, o segundo não; a osteoindução é elevada no osso autógeno, já no alógeno é mediana; a consolidação no osso autógeno é rápida e no alógeno lenta. Morbidade acentuada da área doadora pode ocorrer no osso autógeno, o que já não acontece no alógeno. A quantidade disponível de osso autógeno muitas vezes pode ser limitada, o que não ocorre para os aloenxertos. Os enxertos alógenos podem apresentar algum risco para a transmissão de doenças. Os autores concluíram que o paciente deverá conhecer esses riscos e participar do processo de decisão, de modo que a utilização de enxerto de banco de ossos não é livre de riscos, e sempre deve ser avaliada a relação risco/benefício.

Com a preocupação das possíveis doenças que podem ser transmitidas pelos aloenxertos, foi publicada revisão que apresenta o potencial de risco e procedimentos para minimizar infecções atribuídas aos enxertos alógenos. Uma das mais importantes é que esse tipo de enxerto deve seguir o protocolo de segurança e qualidade elaborado pela American Association of Tissue Bank (AATB) dos Estados Unidos, que determina normas de seleção de doadores, captação, processamento e utilização dos tecidos para transplantes³⁵.

A incompatibilidade genética entre doador e receptor afeta, temporariamente, a expressão da matriz óssea extracelular, como se fosse uma resposta imunológica, o que pode atrasar a nova formação óssea na interface, entre o enxerto e o leito

receptor ósseo. A reparação na interface é superior para o osso autógeno, no início do processo; essa diferença começa a diminuir na quarta semana e quase desaparece na oitava³⁶.

Em 2000, foi descrita a reconstrução de defeitos ósseos na maxila e mandíbula com a utilização de osso humano ACM medular, proveniente de cabeça de fêmur. Em defeitos circunscritos não foi observada contração na reparação. Por outro lado, em defeitos de uma e duas paredes, a contração do reparo, nos primeiros seis meses, foi de 10% a 15%; em alguns casos, chegou a 20% no primeiro ano. O osso neoformado suportou um torque médio de 45N, ou seja, mostra-se adequado para a colocação de implantes. Segundo os autores, a utilização do enxerto congelado fresco mostrou ser bom material para reconstrução de defeitos ósseos extensos, na maxila e na mandíbula, o que possibilita a formação de um osso organizado entre quatro a seis meses, com baixa contração e alta resistência ao torque³⁷.

Em relação à histocompatibilidade, o enxerto ósseo fresco desencadeia resposta imunológica do receptor, e os antígenos mais comumente relacionados são associados às células do enxerto. Essa resposta imunológica provavelmente é a responsável pelo aumento no tempo de incorporação dos enxertos homogêneo¹².

Para tentar acelerar o processo de incorporação de enxertos alógenos em tíbias de ovelhas, foram desenvolvidos estudos comparativos entre a reparação de enxertos corticais homogêneos, em grupos sem e com perfurações corticais de 1 mm de diâmetro e com distância de 5 mm entre elas. Após seis meses, avaliaram os resultados dos fragmentos enxertados e mostraram que, nos 18 enxertos realizados, somente em 25% não houve união com o osso residual e não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre as densidades ósseas nos dois grupos. A avaliação histomorfométrica mostrou existir, três vezes mais, formação de novo osso onde havia perfurações corticais. Chegou-se à conclusão de que as perfurações realizadas nos enxertos corticais favoreceram mais vascularização, penetração de células, e aumentaram consideravelmente a remodelação do enxerto e sua incorporação aos tecidos vizinhos³⁸.

Com o intuito de demonstrar as vantagens do uso de enxerto ósseo fresco congelado, nas reconstruções de defeitos em coluna vertebral cervical, torácica e lombar, foi reportada a importância do seu uso, quando os enxertos autógenos são insuficientes. Os enxertos homogêneos mostraram ser o material de escolha, por

apresentarem a mesma resistência do osso autógeno e não perderem totalmente as proteínas morfogénéticas ósseas (BMP) durante o processamento, tornando-se osteoindutores e osteocondutores. Apesar de os enxertos homogêneos apresentarem incorporação e fusão das vértebras mais lentamente, os autores concluíram que a combinação da cortical homogênea com osso medular autógeno compensou os problemas relacionados aos enxertos e podem ser utilizados com frequência em fraturas de coluna vertebral³⁹.

Em 2003, quatro casos clínicos, que envolveram defeitos ósseos, na maxila e na mandíbula, foram reconstruídos com osso humano fresco congelado. Os implantes foram instalados, nas regiões enxertadas após cinco ou seis meses de reparação, e submetidos à carga funcional após o período de osteointegração, o que permitiu a ancoragem e a estabilidade dos implantes instalados. Os casos não apresentaram processo infeccioso; durante o reparo, houve baixa reabsorção do enxerto, e ocorreu formação de volume ósseo adequado, com significativa densidade. Após a biópsia e análise histológica foi verificado osso viável e remanescente de enxerto ósseo fresco congelado⁴⁰.

Com a finalidade de reconstruir áreas atroficas, que impossibilitaram a colocação de implantes osseointegrados, mostrou-se bem-sucedida a utilização de enxerto ACM de duas formas de enxertia: uma em bloco, para aumentar a espessura óssea; e outra, na forma particulada, utilizada para levantamento do seio maxilar em diversas cirurgias. Eles relataram diversas vantagens desse material em cirurgias reconstrutivas ósseas, tais como, ausência de um segundo leito cirúrgico; diminuição do tempo de cirurgia; menos perda sanguínea; redução do potencial de infecção e de deformidades cosméticas no leito doador. Os autores consideraram que o pós-operatório, em todos os pacientes, foi menos traumático e não houve significantes diferenças clínicas e radiográficas, em relação à enxertia autógena. Comentaram os riscos praticamente inexistentes de transmissão de doenças, devido ao controle dos pacientes e aos testes realizados sobre o tecido ósseo; e, em outras áreas da medicina, como a Ortopedia, na qual é utilizado há anos com ótimos resultados⁴¹.

O uso de osso humano fresco congelado, misturado ao plasma rico em plaquetas (PRP) na reconstrução de defeitos maxilo-mandibulares, sem a utilização de osso autógeno, foi reportado em 2005⁴². Os autores apresentaram três casos clínicos com avaliação histológica, e ressaltaram a importância do uso desse

enxerto, como forma de diminuir a morbidade provocada pela remoção de osso autógeno de fontes intra e extra-orais, e por propiciar boa formação óssea com a possibilidade de instalação de implantes. Os tratamentos foram avaliados, após um período que variou entre quatro a seis meses. Os resultados mostraram boa incorporação dos enxertos e densidade óssea adequada que possibilitaram a instalação dos implantes, com evidências histológicas de deposição de novo osso com a presença de camada de osteoblastos ao seu redor. Os autores demonstraram nova perspectiva de reconstrução de tecidos e recomendaram mais estudos para confirmação dos resultados, a longo prazo.

O uso de enxerto ósseo congelado fresco particulado, em cirurgias para levantamento do assoalho do seio maxilar em humanos, foi estudado em 2006⁴³. Os sítios experimentais foram avaliados clínica, histológica e histomorfometricamente, no pós-operatório de seis meses. Em todos os sítios experimentais foi possível a instalação de implantes osseointegráveis com comprimento mínimo de 10 mm. A média do ganho ósseo foi de $6,79 \pm 1,53$ mm. O exame histológico, realizado a partir de biópsia removida da região previamente enxertada, mostrou a presença de intensa neoformação óssea, com a presença de osteócitos no interior da matriz mineralizada, bem como de osteoblastos circunjacentes. O exame histomorfométrico demonstrou a ocorrência de neoformação óssea no período de seis meses.

Estudo em 82 procedimentos de reconstrução óssea maxilo-mandibular em 73 pacientes, foi realizado com blocos de osso humano fresco congelado. Os implantes foram colocados após quatro a seis meses de realização dos enxertos, acompanhados por até 36 meses. O índice de sucesso foi de 99% em que 69% dos blocos não apresentaram sinais de reabsorção, e os 31% restantes apresentaram valores de até 2 mm de reabsorção. Os autores avaliaram histologicamente e observaram sinais avançados de remodelação e de incorporação após seis meses, do que se conclui que o enxerto alógeno possui resultados satisfatórios⁴⁴.

O grau de reabsorção do osso alógeno fresco congelado, com uso de tecido córtico-medular em procedimentos de aumento de altura vertical de rebordo foi verificado em 2012⁴⁵. Foram realizados 16 procedimentos de enxertos ósseos: 10 blocos realizados na maxila e seis blocos instalados em reconstruções de mandíbulas. Após sete meses, analisou-se a formação óssea com exames de tomografias computadorizadas, antes e após o procedimento de enxertia; o grau de reabsorção foi avaliado clinicamente por meio de solda periodontal utilizando a

cabeça do parafuso como referência. Durante o pós-operatório e o controle, três blocos apresentaram exposição. Os autores observaram que o osso alógeno apresentou baixa taxa de reabsorção (média de 20%) e demonstrou que a formação óssea vertical possibilitou a instalação de implantes osseointegrados, na posição protética ideal; o enxerto alógeno também demonstrou ser um possível substituto ao enxerto autógeno, para reconstruções de defeitos ósseos – previamente à instalação de implantes.

Em 2011, estudo comparativo verificou a utilização de osso autógeno fresco e osso alógeno fresco (ACM), associados ou não à medula óssea autóloga, em coelhos, no período de 8 a 12 semanas. Os autores não notaram diferença significativa nos grupos avaliados, quanto à quantidade de osso neoformado, tanto clínica quanto histomorfometricamente. Entretanto, histologicamente, perceberam quantidade maior de partículas ósseas residuais no grupo homogêneo, aproximadamente 25% em 2 meses; e 17,30%, após 3 meses. Concluíram que o osso alógeno é um bom osteocondutor, ainda que seu processo de remodelação seja mais lento do que o autógeno⁹.

A utilização do osso fresco congelado, em cirurgias de levantamento de seio maxilar, foi demonstrada em 2007⁴⁶. Após seis meses, o enxerto apresentou-se integrado e denso. A avaliação histológica mostrou sinais de osso maduro, remodelado e vital. Os autores, concluíram que o ACM pode ser alternativa ao osso autógeno.

A utilização do enxerto alógeno congelado, em uma série de casos de procedimentos de cirurgias de levantamento de seio maxilar, foi descrita em 2008. Após cinco meses da enxertia, os implantes foram instalados e, simultaneamente, foram retiradas dez amostras ósseas com trefina para a análise histológica. Demonstraram que o osso congelado fresco, quando utilizado sem nenhuma combinação com outro biomaterial, promoveu neoformação óssea e não interferiu na osseointegração nem no processo de regeneração óssea⁴⁷.

Em outro estudo clínico retrospectivo, em 2009, avaliou-se o resultado de 63 implantes, instalados em 28 enxertos *onlay* na mandíbula com enxerto alógeno. Concluíram que implantes, inseridos em osso fresco congelado, apresentam elevadas taxas de sobrevivência e sucesso⁴⁸.

Vários estudos clínicos mostraram a eficiência de enxertos homogêneos, em forma de blocos e particulados, na região de maxilas e mandíbulas, quando

comparados ao osso autógeno^{49,50,51,52,53,54,55,56}. Os autores relataram que o homogêneo poder ser alternativa ao enxerto autógeno.

Em 2015, foram comparadas as alterações volumétricas após o aumento de seios maxilares com osso autógeno e com osso fresco congelado em pacientes totalmente desdentados. Esse estudo foi randomizado (boca dividida) em pacientes que necessitaram de enxerto de seio bilateral. Os seios foram enxertados e, após 6 meses, foram inseridos os implantes. Todos os pacientes foram submetidos a quatro exames de tomografia computadorizada: antes do aumento e 1 semana, 6 meses e 12 meses após a enxertia. Os resultados mostraram reabsorção de 31,35% autógeno e 35,36% homólogo, após 12 meses. Com base nesse estudo concluíram, que o osso fresco congelado pode servir como alternativa que evita a morbidade associada à colheita autotransplante⁵⁷.

Estudo clínico prospectivo avaliou dados clínicos e histomorfométricos do tecido ósseo neoformado, após o uso de homogêneos, em cirurgia de elevação do seio maxilar. O osso alógeno fresco congelado mostrou ser substituto viável para enxerto ósseo autógeno na cirurgia de elevação do seio maxilar⁵⁶.

2.5 Aloenxerto ósseo Humano Liofilizado Desmineralizado

Comparação entre o ALD e o osso autógeno de crista de íliaco foi feita para verificar a aplicabilidade no aumento ósseo, em região de maxila posterior, após cirurgia de levantamento do assoalho do seio maxilar, para posterior instalação de implantes. Nessa instalação foram retidas amostras com trefina da região do enxerto autógeno, obtidas 8 meses após a cirurgia; e da região do ALD, 16 meses após a cirurgia. Os espécimes ósseos foram examinados sob a luz de microscopia. Os autores concluíram que enxerto autógeno proporcionou osso de quantidade e qualidade adequadas, para a colocação do implante, enquanto ALD não foi completamente remodelado, pois produziu osso insuficiente em qualidade e quantidade⁵⁸.

Em 2004, foram apresentados resultados clínicos e histológicos do uso de sulfato de cálcio, com e sem ALD, no preenchimento para a elevação do seio maxilar. Concluíram que o sulfato de cálcio pode ser utilizado com sucesso,

isoladamente ou associado ao enxerto alógeno, e em algumas áreas do trabeculado pôde ser observado osso acelular, possivelmente remanescente do ALD⁵⁹.

A neoformação óssea foi quantificada, a partir de biópsias de osso aloenxerto desmineralizado (DFDBA) e do enxerto de osso não desmineralizado (FDBA) em cirurgias de levantamento do assoalho do seio maxilar. Durante 6 a 36 meses foram realizadas biópsias nas áreas dos enxertos, e implantes foram instalados simultaneamente. A avaliação histomorfométrica mostrou que não houve diferença significativa entre as porcentagens médias de osso neoformado, entre FDBA (41,89%) e o DFDBA (41,74%)⁶⁰.

Encontra-se alguma discussão na literatura, quanto ao tamanho ótimo das partículas para as preparações de materiais de enxertia que possam influenciar em formação óssea mais expressiva, em aumentos ósseos do rebordo alveolar. Alguns autores acreditam que partículas menores (0,25 a 1 mm) tenham tendência a maior neoformação óssea do que partículas maiores (1 a 2 mm)¹³. Outros sugerem que, em preparações de matrix de osso desmineralizado, as partículas menores que 250 µm não sejam tão osteoindutivas quanto as maiores de 420 a 840 µm⁶¹.

Em um modelo de regeneração óssea guiada, em coelhos, estudou-se o comportamento de ACM, ALD comparativamente a enxerto autógeno e coágulo. Mostrou que não houve diferenças significativas, quanto à porcentagem de neoformação óssea, entre os aloenxertos. Entretanto a formação óssea foi significativamente maior em altura para os aloenxertos na comparação com o enxerto autógeno e o controle de coágulo^{62,63}.

Em análise histológica de 2012, comparou-se a remodelação de alvéolos, preenchidos com osso alógeno desmineralizado ou com o alógeno mineralizado. Observaram que, após 19 semanas, osso neoformado no grupo desmineralizado (81,26%) foi significativamente maior em comparação com mineralizado (50,63%), quanto à área total de neoformação óssea¹³.

Outro estudo comparativo, em ensaio clínico, analisou o uso do PRP (Plasma Rico em Plaqueta) + osso alógeno desmineralizado com enxerto alógeno desmineralizado, em solução salina, para o tratamento de defeitos intra-ósseos. Concluiu-se que o grupo com associação de PRP (45,45%), após 6 meses, apresentou resultados estatísticos mais significativos com o grupo controle (24,63%) quanto à neoformação óssea⁶⁴.

Pesquisas *in vitro* mostraram que a matriz óssea desmineralizada de banco de tecidos contém osteócitos ativos e são capazes de liberar moléculas sinalizadoras presentes na maturação de tecido ósseo⁶⁵.

Estudos *in vitro* e *in vivo* observaram o potencial osteoindutor de enxertos ósseos e compararam: enxertos autógenos, DFDBA, osso de origem bovina (BioOss) e fosfato de cálcio bifásico (BCP). Tal comparação se deu pela capacidade de estimular células do estroma da medula óssea (BMSC): migração, proliferação e diferenciação, e determinar por PCR quantitativo, em tempo real, os genes que codificam marcadores ósseos incluindo Runx2, colágeno I e osteocalcina. Concluíram que o DFDBA e o BCP, com alterações introduzidas na nanotopografia e na composição química, promoveram formação óssea ectópica confirmando seus potenciais osteoindutores¹⁴.

Histologicamente avaliou-se a neoformação óssea em alvéolos frescos, enxertados com osso alógeno desmineralizado, em diferentes intervalos de tempo, 8 a 10 semanas e após 18 a 20 semanas. Concluíram que a formação de novo osso foi significativamente mais elevada, no grupo com observação de longa duração (47,41%), quando comparado ao grupo de curto prazo (32,63%)⁶⁶.

2.6 A Imagem microtomográfica computadorizada (μCT) para a análise de neoformação óssea

As microtomografias permitem análise não destrutiva de espécimes ósseos, semelhantes à tomografia computadorizada, e com alta resolução. Além disso, tem a vantagem de permitir a análise completa da sequência de cortes de uma amostra, o que permite um estudo morfométrico completo do osso neoformado, sem a perda de substâncias ósseas por desmineralização⁶⁷.

Em estudo pioneiro, *in vitro*, utilizou-se um sistema microtomográfico (disponível comercialmente), baseado em feixe cônico de raio-X, para criar objetos 3D com resolução de 50 a 70 μm, para exame direto da estrutura óssea⁶⁸.

Para as aplicações em engenharia tecidual óssea, as imagens de micro-TC (μTC) fornecem ferramenta eficiente, rápida e conservadora para mensurar

quantitativamente a taxa e a distribuição de formação de matriz mineralizada por meio de reconstruções em 3D⁶⁹.

A micro-TC também é considerada ferramenta conveniente para avaliar a microarquitetura óssea em regeneração óssea, conforme mostrou o estudo de 2008 sobre a forte correlação entre histomorfométrica de volume ósseo/ volume total de tecido e aquela mensurada por parâmetros em 2D ou 3D obtidos pela μ TC. Além da determinação de parâmetros quantitativos, presentes também na histomorfometria, a μ TC permite avaliação qualitativa e, ainda, a reconstrução ou modelagem tridimensional das estruturas⁷⁰.

2.7 Mensuração da Estabilidade de implantes osseointegrados pelo método da frequência de ressonância

A estabilidade primária de implantes pode ser considerada um indicador prognóstico para a posterior osseointegração. Ela pode ser mensurada por métodos de torque de inserção ou de resistência a remoção. Os primeiros são aqueles referentes aos valores medidos por meio de torquímetro, após a estabilização final do implante, no ato da instalação e nos seguintes (na remoção)⁷¹. Em ambos os casos, o método é considerado invasivo e haverá necessidade de força para testar a estabilidade, com o risco de remoção ou desestabilização dos implantes. Outro método considerado não invasivo, para avaliar a estabilidade, inclui a mensuração da movimentação ou deflexão de um implante, após pequenos toques de um instrumento chamado de PeriotestTM. Na análise, por frequência de ressonância, utiliza-se um equipamento chamado de OsstellTM que emite valor da oscilação, não visível, exercida por um transdutor sobre a unidade osso/implante⁷².

Para a análise da estabilidade primária e tardia dos implantes, o sistema Osstell® avalia o progresso da osseointegração. É considerado sistema rápido e não-invasivo que fornece informações precisas e objetivas, necessárias para prosseguir o tratamento sem pôr em risco o processo de remodelação óssea^{73,74}. Ele realiza a mensuração da frequência de ressonância pela utilização de um SmartPegTM® fixado ao implante, estimulado por impulso magnético. Os resultados são exibidos no visor do aparelho em ISQ (Coeficiente de Estabilidade do Implante

em tradução livre) que varia numa escala de 1 a 100. Quanto maior o número, maior a estabilidade.

Estudo, *in vitro*, verificou a influência das características mecânicas do implante sobre a estabilidade primária, em diferentes tipos de osso, quanto à densidade – com base na análise de frequência de ressonância (RFA). Foram colocados 60 implantes Nobel Biocare Replace Select Tapered TiUnit® de dois comprimentos diferentes (10 mm e 13mm) e três diâmetros diferentes como 3,4 mm (plataforma estreita – NP, 4,3 mm (plataforma normal – RP) e 5 mm (plataforma estendida – WP) em dois grupos diferentes de blocos ósseos semelhantes ao osso tipo D1(mais denso) e D3(menos denso). Imediatamente, após a colocação do implante, o coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) foi medido utilizando Osstell™. Os valores ISQ dos implantes instalados em osso D1 foram significativamente maiores daqueles instalados em D3. Para o osso D1, o comprimento do implante não mostrou diferença significativa na estabilidade primária. No entanto, em osso D3, a estabilidade primária do implante aumentou, quando foram utilizados implantes mais longos. Implantes de diâmetro reduzido apresentaram valores ISQ significativamente mais baixos, em comparação a implantes de maior diâmetro. Concluiu-se que, em osso de menor densidade, implantes com maior comprimento e diâmetro devem ser utilizados para alcançar mais estabilidade primária⁷⁵.

A estabilidade de implantes instalados foi avaliada, simultaneamente e de forma tardia, em aloenxertos ósseos frescos congelados (ACM) em tíbias de coelhos, por meio da frequência de ressonância (ISQ) e da remoção torque. Os animais receberam quatro aloenxertos nas mesmas dimensões, dois em cada tíbia. As tíbias foram alocadas aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1, as tíbias que receberam implantes após 84 dias de remodelação óssea; e o Grupo 2, as que receberam os implantes simultaneamente aos enxertos. Ambos os grupos foram acompanhados por 126 dias. Em cada um, os implantes proximais foram avaliados por ISQ, nos dias 0 e 126, e os distais com torque de remoção. Em ambos os grupos, foi observado aumento no valor do ISQ, com diferença estatisticamente significativa (Grupo 1: dia 0 = 47,3 e no dia 126 = 56,4; Grupo 2: dia 0 = 45,0 e no dia 126 = 55,1). Ao comparar a frequência de ressonância do dia 0 ao 126, e o ganho de estabilidade entre esses dias, não houve diferença significativa entre os grupos. Pelo método do torque de remoção houve aumento e diferença

estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ($p = 0,042$). Os autores concluíram que houve aumento na estabilidade dos implantes, nos dois grupos, e força de cisalhamento mais elevada em implantes instalados de forma tardia⁷⁶.

A confiabilidade e a validade dos valores do quociente de estabilidade do implante (ISQ) foram testadas, em 2014, para verificar a influência da altura óssea residual na condição de interface osso-implante na região seio maxilar. Quarenta e seis implantes Straumann SLA® 4.8 x 8 mm foram colocados em 39 pacientes, divididos em três grupos considerando a altura residual do rebordo ósseo (RBH) que variou de 2 a 8 mm. Os valores de ISQ foram determinados com Osstell ISQ®, no momento da instalação dos implantes (momento 0) e após 2, 4, 8, 12, 16 e 20 semanas de pós-operatório. Os valores foram, então, comparados entre os grupos, em todos os momentos observados. Os autores esperavam que o escore de ISQ aumentasse, à medida que a altura do rebordo ósseo fosse maior e apresentasse correlação positiva entre ISQ e RBH, pois haveria superfície maior de contato osso/implante. Entretanto não foi o que ocorreu; assim, concluíram que os valores do ISQ não são capazes de avaliar a verdadeira condição da interface osso-implante e é questionável o papel da medição da frequência de ressonância, na determinação do protocolo de carregamento⁷⁷.

Estudo preliminar mostrou que não houve diferença na estabilidade primária e secundária após 30, 60 e 90 dias de implantes, inseridos em osso de baixa densidade, com a técnica de osteótomo ou convencional (por fresagem) entre Torque de Inserção (TI) e as medições da análise de frequência de ressonância (RFA). Concluiu-se que os valores de TI e ISQ obtidos variaram na dependência de fatores anatômicos, como a densidade óssea. Ressalte-se que a avaliação radiográfica é necessária para a utilização conjunta com RFA ou TI, como referência de estabilidade de implantes⁷⁸.

O coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) também foi estudado, em 2016, em três diferentes tempos de procedimentos cirúrgicos para comparar se os valores de estabilidade, entre os implantes colocados em alvéolos frescos, seriam diferentes em sítios ósseos neoformados. A estabilidade do implante foi aferida pela frequência de ressonância (RFA) em 77 pacientes (53 mulheres, 24 homens) em um total de 120 implantes. Os implantes foram divididos em dois grupos: 60 implantes em osso neoformado; e 60, em alvéolos frescos. A estabilidade dos implantes foi medida na colocação do implante imediatamente, 90 e 150 dias após. Mostrou-se

estabilidade crescente e mais significativa nos sítios onde já havia osso neoformado⁷⁹.

Há alguma controvérsia na literatura quanto ao uso rotineiro de aferição da estabilidade primária pelo método da frequência de ressonância. Alguns autores apontam, como fragilidade do método, a limitação de inserção do transdutor no implante até a fase de confecção da prótese e sugerem que o método possa ser modificado para se tornar mais utilitário⁸⁰.

Alguns autores comentaram que o limiar de ISQ= 70 pode ser considerado o parâmetro inicial para reabilitação protética em implantes, após 8 semanas da instalação. Além disso, salientam que a ancoragem mecânica dos implantes está diretamente relacionada às condições do sítio de implantação, na maxila posterior, que incluem a altura e a densidade do osso nativo. Os autores também reiteraram que o método é confiável e pode ser utilizado em diversos tempos do processo de osseointegração, por isso serve como método de monitoramento desse processo para o clínico⁸¹.

3 PROPOSIÇÃO

Realizar ensaio clínico randomizado controlado para o aumento do rebordo ósseo alveolar em região de maxila posterior, comparando-se dois tipos de enxerto ósseo alógeno: liofilizado desmineralizado (ALD) e fresco congelado mineralizado (ACM); e responder se:

Existe diferença entre a estabilidade primária e a tardia em implantes osseointegrados inseridos em regiões de enxertos alógenos ACM ou ALD?

Existe diferença entre a quantidade e a qualidade de neoformação óssea nas regiões dos enxertos alógenos ACM ou ALD?

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em conformidade com a resolução 466/2013 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisas em seres humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) sob protocolo CAEE 30738714.0.0000.0075 (Anexo A) e registrada no Registro Internacional de ensaios clínicos: ClinicalTrials.gov sob o número NTC02583737 (Anexo B).

4.1 Recrutamento, seleção e alocação dos participantes da pesquisa

Foram recrutados 15 pacientes adultos de ambos os gêneros com idade compreendida entre 30 e 60 anos que buscavam tratamento cirúrgico odontológico na Clínica de Pós-graduação em Cirurgia Odontológica e Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), com necessidade de instalação de implantes dentários na região posterior (região de molares e pré-molares) da maxila.

Foram considerados elegíveis: pacientes edêntulos ou parcialmente desdentados, na região de pré-molares e molares, com atrofia óssea do processo alveolar bilateral, que apresentavam pneumatização do seio maxilar e altura óssea remanescente na região posterior menor que 7 mm, ausência de comprometimento na saúde sistêmica, sem história anterior de sinusite ou quadros de alergia, negar tabagismo e etilismo; não apresentavam doenças periodontais e sem hipersensibilidade a medicamentos utilizados no pré e pós-operatório.

Não foram incluídos na amostra final pacientes em desacordo com o consentimento livre e esclarecido; aqueles que discordavam com o agendamento dos retornos e/ou se ausentassem na segunda etapa cirúrgica, no tempo estipulado máximo de nove meses, ou quando ocorresse a fenestração da membrana sinusal durante a cirurgia, impossibilitando a colocação de enxerto ósseo.

Após a seleção, os pacientes foram alocados em grupos de forma randomizada, por sorteio em envelope lacrado, quanto ao lado a ser operado e

quanto a um dos dois tipos de enxerto ósseo alógeno proveniente de banco de tecidos orgânicos.

4.2 Obtenção das imagens tomográficas pré e pós-operatórias

Após o recrutamento dos pacientes para cada caso foi realizado um planejamento clínico e imaginológico por meio de tomografia computadorizada inicial obtida pelo aparelho Planmeca Pro Max 3D Max (Illinois-USA) da FOUSP, no ambulatório do Centro de Atendimento a Pacientes especiais (CAPE). As imagens foram gravadas pelo software Planmeca Romexis Viewer (Illinois-USA) e avaliadas pré-operatoriamente quanto a: altura do rebordo ósseo remanescente; extensão necessária da elevação do seio maxilar; e previsão da quantidade de enxerto.

Após 6 meses, nova imagem foi obtida para avaliar o resultado do procedimento de enxertia (aumento vertical) e para o planejamento da reabilitação por implantes .

4.3 Obtenção dos aloenxertos

O aloenxerto ACM foi adquirido do Banco de Tecidos da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. O aloenxerto ALD desmineralizado foi adquirido no Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Curitiba-PR). Esses Bancos de tecido seguem rigorosamente os cuidados estritos de assepsia e controle ambiental, e seguem as diretrizes estabelecidas pela legislação brasileira (Portaria nº 1.686 de 20 de setembro de 2002) e pelos padrões da Associação Europeia (EATB) e Americana (AATB) de Bancos de Tecidos.

O osso ACM, de tamanho de granulação variável, era acondicionado em embalagens estéreis plástico de 3g e 5g (Figura 4.1-A) e o osso ALD, com tamanho de granulação médio de 850 μ era acondicionado em embalagens de vidro estéril de 1,5cc e 10cc de aloenxerto (Figura 4.1-B). Ambos possuíam as informações da área

doadora, exames sorológicos realizados e antibióticos, antimicóticos e agentes antivirais utilizados no processamento.

Figura 4.1 - Embalagem de enxerto ósseo alógeno congelado (ACM - esquerdo) e do enxerto ósseo alógeno desmineralizado (ALD - direito)

4.4 Procedimentos cirúrgicos

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados na Clínica de Cirurgia da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), sempre pelo mesmo operador e assistente em duas etapas.

Na primeira etapa, os pacientes previamente selecionados foram orientados a utilizar, no dia anterior ao procedimento cirúrgico, 2 gotas de descongestionante nasal em cada narina de 6 e 6 horas (Afrin® 0,05 mg/ml Merck Sharp&Dohme Farmacêutica Ltda. - São Paulo, Brasil). Uma hora antes da cirurgia foi administrado 2 g de Amoxicilina (Laboratório Teuto, São Paulo, Brasil) e 4 mg de Dexametasona (Laboratório Teuto, São Paulo, Brasil). Foi realizada a antisepsia extra com clorexidina 2% (Laboratório Vic Pharma - São Paulo, Brasil) e intra-oral com clorexidina 0,12% (Colgate-Palmolive, São Paulo, Brasil). Os pacientes foram

submetidos a anestesia local dos nervos alveolares posteriores superiores e médio, por técnica de anestesia infiltrativa, com complementação no nervo paliativo maior utilizando-se Mepivacaina (2%) com vaso constritor epinefrina 1:100.000 (Nova DFL, Rio de Janeiro, Brasil).

Em seguida, foi realizada incisão retilínea, sobre a crista do rebordo, e incisão oblíqua, na face vestibular do rebordo, até o fundo de sulco do véstíbulo adjacente ao seio maxilar, por meio de lâmina em bisturi estéril descartável. A divulsão do retalho mucoperiosteal foi realizada por acesso à parede anterior do seio maxilar. Com uma broca diamantada esférica nº 10, montada em uma peça reta cirúrgica, em baixa velocidade e sob irrigação constante por soro fisiológico estéril, foi realizada osteotomia na parede anterior do seio maxilar, gradualmente desgastada no formato retangular até a visualização da membrana mucosa do seio maxilar.

Utilizando-se curetas apropriadas, sem ponta cortante, a membrana de Schneiderian foi cuidadosamente divulsionada e elevada até a altura planejada e necessária para a inserção do enxerto de preenchimento. Esse enxerto tinha como função apoiar a membrana que foi deslocada, além de se integrar ao tecido ósseo original da região.

A região, abaixo da membrana deslocada do seio, foi preenchida por meio de um dos dois tipos de enxerto aleatoriamente. Quando ALD foi utilizado, era hidratado por soro fisiológico estéril por 5 minutos para obter consistência pastosa e de fácil manipulação. Com auxílio das curetas era introduzido sob a membrana elevada do seio e condensado cuidadosamente. A janela do seio maxilar era protegida por membrana reabsorvível de osso bovino cortical (Genderm, Baumer, Mogi Mirim, São Paulo, Brasil) e o retalho mucoperiosteal era reposicionado e suturado por fio de Seda 3.0 (EthiconInc, Johnson&Johnson, São Paulo, Brasil) igualmente em todos os grupos.

No lado contralateral era realizado o mesmo procedimento cirúrgico com preenchimento do espaço, sob a membrana, realizado com ACM hidratado por soro fisiológico estéril. O intervalo entre as cirurgias do lado esquerdo e direito foi de no mínimo 15 dias (Figuras 4.2 e 4.3).

Figura 4.2 - Sequência clínica dos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar e aumento do rebordo ósseo com ACM

Figura 4.3 - Sequência clínica dos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar e aumento do rebordo ósseo com ALD

No pós-operatório das cirurgias, todos os pacientes receberam: 500 mg de Amoxicilina (Laboratório Teuto, São Paulo, Brasil) a cada 8h por 7 dias; 100 mg de Nimesulida (Laboratório EMS, São Paulo, Brasil) a cada 12h por 3 dias; e Dipirona Sódica – 500 mg (Laboratório EMS, São Paulo, Brasil) a cada 6 horas para analgesia, se necessário.

As tomografias computadorizadas (inicial e pós-enxerto) foram realizadas no CAPE (Centro de Atendimento a Pacientes Especiais). As do pós-operatório foram realizadas após 6 meses para a verificar o aumento em altura do rebordo ósseo na região dos enxertos, comparadas à tomografia de planejamento inicial.

As aferições lineares foram realizadas no pré-operatório e pós-operatório com auxílio da ferramenta régua, presente no software Planmecca Romexis Viewer (Figura 4.4). Os pontos de referência foram repetidos nas imagens pré e pós-operatória, o ponto mais baixo do assoalho do seio e o ponto mais alto da imagem radiopaca representada pelo enxerto.

Figura 4.4 - Representação das aferições lineares realizadas nas imagens tomográficas para a obtenção da altura do rebordo ósseo no pré e pós-operatório

A segunda etapa cirúrgica ocorreu de 6 até no máximo 9 meses. Após as análises das imagens tomográficas pós-operatórias, esses pacientes foram medicados novamente com 1 g de Amoxicilina (Laboratório Teuto, São Paulo, Brasil) e 4 mg de Dexametasona (Laboratório Teuto, São Paulo, Brasil) uma hora antes da cirurgia. Foi realizada a antissepsia extra e intra-oral com clorexidina 2% e 0,12% respectivamente. Os pacientes foram submetidos à anestesia dos nervos alveolares, posteriores superiores e médio, por técnica de anestesia infiltrativa com

complementação no nervo palatino maior utilizando-se Mepivacaina (2%) com vaso constritor epinefrina 1:100.000 (Nova DFL, Rio de Janeiro, Brasil). Um novo retalho mucoperiosteal foi realizado, para a instalação de implantes osseointegrados (SIN, Tryon®, São Paulo, Brasil) de 3.75 mm de diâmetro, comprimentos variados de 7 a 13 mm e plataforma protética de hexágono externo, planejados previamente para a região.

Uma avaliação trans-operatória macroscópica da janela cirúrgica foi realizada para verificar a formação óssea completa: janela óssea totalmente preenchida por tecido mineral ou incompleta (considerada quando ocorria formação de depressão ou falta de preenchimento por tecido mineral), o que orientou o sítio de inserção dos implantes. Por meio de uma broca de trefina de 2 mm x 10 mm (Dentoflex, São Paulo, Brasil) foram coletadas amostras do tecido ósseo da região que sofreu o enxerto na primeira fase cirúrgica para avaliação microtomográfica e histológica (Figura 4.5). A trefina foi inserida nos mesmos eixos das perfurações que iriam receber fresagem para a instalação dos implantes. A depender do caso, mais de uma amostra foi obtida, pois mais de um implante foi instalado na região. Em um dos pacientes com planejamento prévio de instalação de implante, em região não enxertada, foi obtida amostra de tecido ósseo nativo, sem material de enxerto para referência de comparação de imagem de osso nativo para microtomografia.

Figura 4.5 - Coleta das amostras ósseas, e instalação dos implantes

4.5 Mensuração da estabilidade dos implantes por frequência de ressonância (ISQ)

A estabilidade dos implantes instalados foi realizada por meio da mensuração da frequência de ressonância, imediatamente após a colocação dos implantes (T1) e seis meses do pós-operatório (T2). Um transdutor SmartPeg Ostell® (Göteborg, Suécia) era fixado com auxílio de um apoio ao implante, e a sonda medidora era mantida próxima à parte superior do sensor sem tocá-lo. Avisos sonoros eram emitidos, e o visor do aparelho de medição por ressonância Ostell® (Göteborg, Suécia) apresentava o coeficiente de estabilidade dos implantes (ISQ). Conforme o manual do fabricante, o implante tem graus de estabilidade diferentes em direções diferentes. O coeficiente de estabilidade total consistia na somatória dos coeficientes de estabilidade do implante, em relação ao osso circundante e na estabilidade do próprio osso. Assim, as mensurações foram feitas sempre pelo mesmo operador, em duas direções perpendiculares entre si: aferição no sentido méso-distal e no sentido véstíbulo-palatino que foram, ao final, somadas para formar os valores de T1 e T2 (Figura 4.6).

Figura 4.6 - Aferição da estabilidade primária

Após cada medição, os valores do ISQ foram registrados e utilizados como referência de orientação para a próxima medição a efetuar.

As amostras de tecido ósseo foram fixadas em solução de formol a 10% e mantidos sob refrigeração por 48h.

Após o estudo as próteses sobre os implantes estão sendo realizadas sem qualquer ônus aos pacientes.

4.6 Aquisição das imagens e análise em microtomografia computadorizada (μ CT)

A captura de imagens em microtomografia computadorizada (μ CT) foi realizada no equipamento multiusuário no Instituto de Biociências, no Departamento de Biologia da Universidade de São Paulo, utilizando-se o microtomógrafo por raio-X de alta resolução Skyscan (modelo 1172, Bélgica).

Trinta amostras aleatórias de tecido ósseo, obtidas no momento da inserção dos implantes (15 de cada grupo experimental), que apresentassem um cilindro completo de tecido ósseo, foram lavadas em solução tampão e mantidas hidratadas. Para a realização do procedimento de captação das imagens foram inseridas em um dispositivo, confeccionado artesanalmente em polipropileno (PP) para que não houvesse ressecamento das peças, nem interferência no processo de escaneamento dos espécimes.

Na aquisição das imagens foram inseridas, em média, 10 amostras por vez, com espaço entre elas e com a mesma orientação: a base (região correspondente ao local de inserção da trefina na cortical óssea) voltada para baixo (figura x). Cada amostra era identificada com o número do espécime correspondente ao grupo de estudo. As especificações e os parâmetros do equipamento para escaneamento e aquisição das imagens estão resumidas na Quadro 4.1.

Quadro 4.1 - Especificações técnicas do Microtomógrafo

Especificações	Unidade
Voltagem da Fonte de Raio-X	80 KV
Corrente da Fonte DE Raio-X	120 μ A
Distância da Fonte ao Objeto	73.390 mm
Distância da Fonte ao Detector da radiação	213.267 mm
Tamanho do Pixel das Secções Transversais	12,07 μ m
Resolução das Secções Transversais	1000x1000pixel
Tamanho do Pixel da Câmera	8,77 μ m
Resolução Tomográfica	12,08 μ m
Filtro de Alumínio	0,5 mm
Passo de Rotação	0,7°
Ângulo de Rotação	360°
Quantidade média de Secções Transversais	3.500

Após a reconstrução das imagens, utilizou-se o software Invesalius (Centro de Tecnologia da Informação “Renato Archer – Divisão de Tecnologias Tridimensionais, Campinas, São Paulo, Brasil), cujos dados morfométricos possibilitaram a análise e a interpretação dos resultados, em porcentagem do volume ósseo e de material remanescente de cada amostra, além de fornecer imagens em 2D e reconstruções 3D para comparação da arquitetura óssea resultante dos enxertos.

A sequência para as análises desses dados, pelo InVesalius é:

- abertura do arquivo e visualização 2D da reconstrução microtomográfica das amostras ósseas;
- separação da região de interesse: a) delimitação dos limites inferior e superior (linhas vermelhas) das secções transversais de cada amostra analisada para determinação do volume de interesse (VOI) do cilindro ósseo; b) determinação da região de interesse (ROI) de cada secção transversal da VOI do cilindro. Adaptou-se uma forma circular de mesmo diâmetro ósseo que foi aplicado a todas as secções do espaço, delimitado pelas linhas vermelhas, correspondente somente ao volume compreendido no cilindro de interesse.
- binarização das imagens utilizando-se um limiar dos tons de cinza para determinação do valor médio dos coeficientes de atenuação dos voxels do VOI.

- delinição dos níveis correspondentes às áreas ósseas e aos materiais dos enxertados. Definiram-se dois tipos de intervalos de valores: um correspondente à parte óssea; e outro correspondente ao material enxertado, sempre mais denso.

Assim, os valores foram definidos manualmente, comparando-se imagens binárias, resultantes da seleção do intervalo, com a original e as da histologia correspondente à mesma amostra. Como referência utilizou-se amostra de tecido ósseo humano de maxila, sem preenchimento por enxerto. Foi definido o intervalo correspondente à escala de Hounsfield de -18.598 a 32.767, e para as amostras das regiões enxertadas o intervalo da escala de Hounsfield foi de -28.340 a 18.598.

4.7 Processamento e avaliações histológicas

As amostras que foram utilizadas para captação das imagens em μ CT voltaram ao fixador e, em conjunto com as demais, foram processadas para exame histológico. Duas amostras de cada enxerto foram processadas para inclusão em resina, sem descalcificação e coloração por Stevenel Blue, para documentação microfotográfica; as demais amostras foram descalcificadas em EDTA 4,13% por 3 semanas, desidratadas em uma série de alcoóis, incluídos em parafina para cortes histológicos seriados longitudinais de 5 μ m e coloração por hematoxina e Eosina (HE) para análise histomorfológica e histomorfométrica.

Utilizando-se microscópio de luz convencional (Olimpus® CH2- Olympus Optimal CO Ltd. - Japão), sob foco fixo e clareza de campo, com aumento original de 50X, 100X e 400X, foram avaliados três cortes histológicos de cada espécime, de forma cega, escolhidos de forma aleatória. A avaliação histomorfológica dos cortes aconteceu de forma subjetiva por meio de uma escala arbitrária: (0); ausente (1); moderado (2); intenso (3) – consideradas as características morfológicas teciduais da medula óssea em presença de necrose, vascularização, fibrose, tecido conjuntivo frouxo, tecido gorduroso e resposta de corpo estranho.

Para o estudo histomorfométrico, as imagens de três cortes de cada espécime de ambos os tipos de enxerto, incluída a região apical (terminal da

amostra óssea) e basal (base de entrada da trefina na obtenção da amostra) foram capturadas em aumento original de 50X por câmera tipo CCD (Sony®) acoplada a microscópio Jeol® e transferidas para o software ImageJ (National Institute of Health – NIH – Bethesda, EUA). Utilizando-se a ferramenta de desenho livre (*freehand*) o perímetro das regiões, apical e basal, era selecionado; e a área total (AT: pixels²) calculada. As imagens eram, então, convertidas em 8 bits (tons de cinza) e as áreas que apresentavam limiar de tons de cinza correspondentes às áreas de tecido ósseo neoformado/enxerto remanescente, reconhecidas pela morfologia de formação de tecido osteóide apresentando lacunas e osteócitos em seu interior, foram calculadas para cada corte (ONE: pixels²). A quantidade de tecido ósseo neoformado foi expressa pela porcentagem obtida pela fórmula: $(ONE \times 100)/AT$.

4.8 Estudo estatístico

Os dados obtidos em cada análise foram anotados em planilhas do Excell versão (Microsoft Office) e submetidos a análise estatística descritiva (Programa Biostat 5.0) calculando-se médias e desvios-padrão. Os dados foram testados quanto à normalidade (Teste de Shapiro-Wilks). Comparações, par a par, foram realizadas pelo Test *t* de Student, consideradas as diferenças entre as médias em cada grupo, ou antes e depois. O nível de significância (*p*) foi definido em 5%.

5 RESULTADOS

Foram operados 15 pacientes. Cinco foram excluídos da amostra final: dois por não comparecerem ao retorno para instalação dos implantes; dois em que ocorreu laceração da membrana sinusal; e outro no qual não ocorreu incorporação, após 6 meses, na região de enxerto congelado (ACM).

A amostra final compreendeu quatro homens e seis mulheres com idade média de 49 anos. Não houve relatos de complicações imediatas, ou após o período do estudo nos participantes da amostra final. Foram instalados dois ou mais implantes bilateralmente nas regiões dos enxertos. Foram instalados, entre 6 a 9 meses, 37 implantes, hexágonos externos (S.I.N.[®] Sistemas de Implante - São Paulo, Brasil), todos com 3,75 mm de diâmetro e comprimento de 7 a 13 mm.

Todos os procedimentos de enxertia resultaram em aumento da altura nas regiões de maxila posterior. As imagens panorâmicas, pré-operatória e após 6 meses, reconstruídas das tomografias de feixe cônico dos dez casos operados, estão ilustradas pelas Figuras 5.1 e 5.2.

5.1 Altura do rebordo ósseo alveolar obtida após o enxerto

A tabela abaixo apresenta os valores médios para as alturas mensuradas nos dois momentos pré e pós-operatório de 6 a 9 meses (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Médias ($\pm$ DP) das alturas do rebordo ósseo na região de maxila posterior nos momentos pré-operatório e após 6 a 9 meses para os dois tipos de enxerto

Enxerto	Período	Média $\pm$ DP	Máximo	Mínimo	Mediana	p
ALD	Pré	2,66 $\pm$ 2,37	7,03	0,8	1,6	<0.0001
	6 meses	13,13 $\pm$ 2,78	17,43	7,41	13,22	
ACM	Pré	2,6 $\pm$ 2,00	7,8	0,8	1	<0.0001
	6 meses	13,39 $\pm$ 5,14	18,8	7,4	13,2	

ALD = Enxerto alógeno Liofilizado Desmineralizado; ACM = enxerto alógeno congelado mineralizado. Teste t – estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

Figura 5.1 - Imagens panorâmicas reconstruídas das Tomografias de feixe cônico apresentando as regiões que sofreram elevação do assoalho do seio maxilar e preenchimento pelos enxertos liofilizado ou congelado. Momentos pré e pós-operatórios

Figura 5.2 - Imagens panorâmicas reconstruídas das Tomografias de feixe cônico apresentando as regiões que sofreram elevação do assoalho do seio maxilar e preenchimento pelos enxertos liofilizado ou congelado. Momentos pré- e pós-operatório

Houve acréscimo significativo em altura em todos os rebordos de todos pacientes independentemente do tipo de enxerto considerando os momentos pré e pós operatório (Figura 5.3). Não houve diferença estatística quanto ao acréscimo em altura após seis meses entre os dois tipos de enxerto (Figura 5.4).

Figura 5.3 - Médias e desvios-padrão das alturas (mm) do rebordo ósseo nos momentos pré e após 6 meses para cada tipo de enxerto

Figura 5.4 - Médias do acréscimo em altura (mm), após 6 meses nas regiões de preenchimento nos dois tipos de enxerto

5.2 Coeficiente de estabilidade dos implantes

Na análise do coeficiente de estabilidade foram comparados os escores nos momentos imediato (T1) e após 6 meses da instalação dos implantes (T2). A Figura 5.5 representa a distribuição das médias dos escores entre os dois grupos, nos diferentes momentos, T1 e T2. Houve diferença entre os escores entre os tipos de enxerto, quando analisados par a par. Não houve diferença no período tardio (T2) entre os dois tipos de enxerto.

Figura 5.5. Média dos escores de estabilidade dos implantes em cada tipo de enxerto em dois momentos (T1) imediato e (T2) após seis meses do enxerto

Teste t - * mostra diferenças significativas quando $p < 0.05$

A Tabela 5.2 mostra os valores descritivos para todos os escores aferidos nos dois momentos em todos os implantes. O resultado da subtração dos escores de estabilidade, entre os dois momentos (T2) - (T1), para os dois tipos de enxerto, mostrou que os implantes, inseridos nos enxertos liofilizados, apresentaram aumento significativo da estabilidade em relação àqueles nos enxertos congelados (Tabela 5.2 e Figura 5.6).

Tabela 5.2 – Valores descritivos das diferenças dos escores para estabilidade dos implantes entre o período imediato (T1) e após seis meses (T2) da instalação

Grupo	N	Média ± DP	Máximo	Mínimo	Mediana	p
ALD	18	15.97±16.75	53	-17	10	0,0054
ACM	21	6.33±11.64	37	-20	4,5	

DP= Desvio Padrão – Teste t –significativo quando $p < 0,05$

Figura 5.6 - Médias das diferenças (T2-T1) dos coeficientes de estabilidade dos implantes, calculadas entre os momentos imediatamente após a instalação dos implantes e após 6 meses (T2-T1), para cada tipo de enxerto

Teste t - * mostra diferenças significativas quando $p < 0.05$

5.3 Análise microtomográfica da neoformação óssea

A reconstrução 3D dos cortes tomográficos, realizada para os dois tipos de enxerto, nos espécimes mais íntegros: ACM (n=6) e ALD (n=6), e a colorização das áreas consideradas de neoformação óssea estão representadas na Figura 5.7. A Tabela 5.3 mostra os valores obtidos no cálculo das porcentagens de neoformação óssea na análise em μ CT.

Figura 5.7 – Imagem representativa da reconstrução tridimensional das imagens microtomográficas das biópsias ósseas na região do enxerto. Em azul, área correspondente ao osso neoformado nos espécimes. Em (A) enxerto autógeno congelado mineralizado (ACM); em (B) enxerto autógeno liofilizado desmineralizado (ALD)

Tabela 5.3 - Valores descritivos das médias das porcentagens de neoformação óssea pela análise em microtomografia computadorizada (μ CT) após 6-9 meses do enxerto

Grupo	n	média $\pm$ DP	maximo	mínimo	mediana	p
Liofilizado	4	37,5 $\pm$ 5,00	43	31,54	38	0,0294
Congelado	4	29,75 $\pm$ 7,5	37,40	20,36	31	

DP= Desvio Padrão – Teste t –significativo quando $p < 0,05$

Figura 5.8 - Média das porcentagens de formação óssea em cada tipo de enxerto, após seis meses, pela análise em microtomografia computadorizada (μ CT)

Teste t - * mostra diferenças significativas quando $p < 0.05$

Tabela 5.4 - Valores descritivos das médias dos volumes de material remanescente e de neoformação óssea, pela análise em microtomografia computadorizada (μ CT), após 6-9 meses do enxerto

	Volume (mm^3)	n	Média $\pm$ S D	Máximo	Mínimo	Mediana	p
Material Remanescente		6					
ALD			9,12 $\pm$ 1,22	11,10	7,85	9,13	NS
ACM			7,20 $\pm$ 1,33	9,45	5,75	6,67	
Osso neoformado		6					
ALD			3,28 $\pm$ 0,85	4,37	2,10	3,30	0,023
ACM			1,85 $\pm$ 0,65	2,81	1,36	1,62	

Teste t - * mostra diferenças significativas quando $p < 0.05$.

Figura 5.9 - Média do volume(mm^3) de material remanescente e de formação óssea em cada tipo de enxerto após 6-9 meses pela análise em microtomografia computadorizada (μCT)

Teste t - * mostra diferenças significativas quando $p < 0.05$

5.4 Análise Histológica

5.4.1 Histomorfologia

A histomorfologia foi realizada nos cortes histológicos de cada grupo, considerados os aspectos do tecido formado, nas amostras ósseas obtidas pela broca de trefina de 2X10mm de diâmetro no momento da realização das perfurações para a instalação dos implantes. Algumas peças sofreram fratura, no ato da remoção do interior das trefinas. Foram selecionadas 11 peças do enxerto de ACM; e 14 peças do enxerto ALD. As Figuras 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12 ilustram as características do tecido neoformado nos dois tipos de enxerto. A Figura 5.13 mostra aspectos comparativos da histologia com a imagem microtomográfica em 2D para os dois tipos de enxerto.

Não houve diferença, estatisticamente significativa, entre as medianas dos valores para os escores de avaliação histomorfológica das características do tecido

medular, entre os dois tipos de enxerto. A Tabela 5.5 mostra o resumo dos valores descritivos dessa análise.

Tabela 5.5 - Valores descritivos das medianas dos escores para avaliação histomorfológica das características do tecido medular nas biópsias ósseas após 6-9 meses dos enxertos

	necrose	vascularização	fibrose	tecido conjuntivo frouxo	tecido gorduroso	Resposta a corpo estranho
ALD	1(2-1)	2(3-2)	1(2-1)	1(2-1)	1(2-1)	0(0-0)
ACM	1(2-1)	1,5(3-1)	1(3-0)	1,5(3-1)	1(2-0)	0(0-0)

Medianas (valor máximo – valor mínimo)

Figura 5.10 – Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses) nas regiões do enxerto (Hematoxilina e eosina - aumento original 50X) **A** – enxerto alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) e em **B** – enxerto alógeno Congelado Mineralizado (ACM). **C**- Detalhe do corte histológico do enxerto ALD exibindo deposição de tecido osteóide com osteócitos em lacunas e diferentes graus de maturação óssea além de áreas de material remanescente do enxerto com permeado por tecido conjuntivo denso. Linhas de deposição óssea podem ser observadas. Em D- detalhe do corte histológico do enxerto ACM exibindo fragmentos de material de enxerto envolvido por tecido osteóide imaturo. (Hematoxilina e eosina - aumento original 200X)

Figura 5.11 - Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses), nas regiões do enxerto alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) (Hematoxilina e eosina) **A** – aumento original de 100X exibindo formação de tecido ósseo maduro e lacuna com ostócito em seu interior (ponta de seta). Em região focal do corte (asterisco) neoformação óssea em padrão endocondral. **B** - Aumento original 200X – exibindo áreas focais da neoformação endocondral (asterisco) e linhas incrementais de deposição mineral em tecido ósseo maduro (pontas de seta)

Figura 5.12 - Fotomicrografias dos cortes histológicos representativos das biópsias ósseas obtidas tardiamente (6 a 9 meses) nas regiões do enxerto **A** – alógeno liofilizado desmineralizado (ALD) (Hematoxilina e eosina aumento original de 400X exibindo formação de tecido ósseo maduro e lacunas com osteócitos em seu interior e material remanescente do enxerto envolvido pela matriz óssea neoformada (pontas de seta). **B** - Aumento original 400X – exibindo áreas focais de neoformação óssea, “dissolução” de material de enxerto remanescente e deposição mineral em tecido ósseo maduro (pontas de seta)

Figura 5.13 - Fotomicrografias de cortes histológicos representativos das amostras da região dos enxertos (Stevenel Blue aumento original de 50X) e imagens de microtomografia computadorizada 2D exibindo áreas de osso nativo do rebordo alveolar hiperdenso, quando comparado aos remanescentes de enxerto ósseo e osso jovem. A aposição de novo osso pode ser vista na junção entre tecido ósseo nativo e enxerto com densidades diferentes em tonalidades de cinza (μ CT). **(A)** e **(B)** enxerto liofilizado desmineralizado (ALD) e em **(C)** e **(D)** enxerto congelado mineralizado (ACM)

5.4.2 Histomorfometria da neoformação óssea

Na avaliação histomorfométrica o material remanescente de enxerto e o tecido ósseo neoformado apresentaram padrão de coloração muito aproximado. Assim, o resultado apresentado para neoformação óssea considerou a quantidade de tecido ósseo neoformado/enxerto remanescente em porcentagem, para os dois tipos de enxerto, analisada em três cortes histológicos de cada tipo de enxerto, os resultados estão apresentados na Tabela 5.6. As diferenças estatísticas entre as médias destas porcentagens para os dois tipos de enxertos estão expressas na Figura 5.14.

Tabela 5.6 - Diferenças entre as médias de porcentagens (%) de neoformação óssea pela histomorfometria entre os dois tipos de enxerto

	n	média $\pm$ DP	Máximo	mínimo	p
ALD	17	21.9 $\pm$ 6.70	34.93	11.82	0.0137
ACM	12	12.11 $\pm$ 4.42	21.67	6.5	

DP= Desvio Padrão – Teste t–significativo quando $p < 0,05$

Figura 5.14 - Média das porcentagens de formação óssea em cada tipo de enxerto após seis meses

Teste t - * diferença significativa quando $p < 0.05$.

6 DISCUSSÃO

O crescimento da implantodontia, observado ao longo das últimas décadas, tem levado os profissionais frequentemente a deparar com casos desafiadores em relação à pouca disponibilidade óssea, sobretudo na região posterior de maxila. Diferentes técnicas já foram apresentadas para superar esse problema, muitas delas incluem o aumento do volume ósseo do rebordo alveolar, por meio de enxertos ósseos.

A literatura aponta, com muita frequência, o osso autógeno como o padrão de referência tanto para o aumento ósseo em humanos, quanto para utilização como grupo controle, em diversas pesquisas sobre biomateriais de enxertia^{9,52,53,54,55,56}.

Mesmo considerado padrão, a literatura também aponta todas as dificuldades técnicas e as desvantagens clínicas do enxerto ósseo autógeno^{3,4,5}. Dessa maneira, a busca por outros tipos de substitutos ósseos é um desafio constante da pesquisa em implantodontia. A utilização dos aloenxertos surgiu como uma das alternativas devido a: disponibilidade, custo, facilidade de armazenamento e transporte para diferentes regiões em países continentais, como o nosso.

Diversos tipos de aloenxertos, provenientes de banco de tecidos, têm se mostrado adequados como substitutos ao osso autógeno. Dada a importância do assunto, recentemente, o Conselho Federal de Odontologia criou comissões internas e portarias (CFO-SEC 55/2016), em acordo com a Resolução (RDC 55) da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), de 11 de dezembro de 2015, quanto ao acesso de cirurgiões dentistas ao uso de tecidos humanos provenientes desses Bancos.

Um estudo *in vivo* do nosso grupo de pesquisa já havia observado em um modelo de regeneração guiada em coelhos que os enxertos ALD e ACM foram capazes de formar osso vertical de forma mais intensa do que enxertos autógenos²⁰.

A literatura, contudo, carece de ensaios clínicos padronizados que mostrem vantagens ou desvantagens entre os aloenxertos, que possam cientificamente fundamentar a escolha individual pelos profissionais.

Neste estudo, dentro das limitações de análise dos parâmetros escolhidos, os resultados mostram que o aloenxerto liofilizado desmineralizado (ALD) apresentou

comportamento melhor do que o congelado fresco mineralizado (ACM) para ser utilizado no aumento do rebordo ósseo da região posterior da maxila atrófica.

Do ponto de vista clínico-imaginológico, o ensaio clínico não mostrou diferenças para o desfecho de acréscimo em altura, o que era de certa forma esperado. Resultados semelhantes já haviam sido observados comparando-se enxertos autógenos com outros tipos de aloenxertos ou de materiais aloplásticos^{55,56,13,64,14,66}.

A variabilidade de seis a 9 meses para a instalação dos implantes ocorreu pela operacionalidade do estudo, quanto aos retornos dos pacientes. Em um estudo clínico, no qual o mesmo operador deve executar os procedimentos cirúrgicos para padronizar traumatismos e técnica, pode não haver possibilidade prática de atender todos os pacientes, no mesmo período de retorno. A exclusão de 5 pacientes da amostra final por não retorno, perda do implante ou perfuração da membrana sinusal não deve ter afetado as comparações dos desfechos clínicos, porque as extensões obtidas de aumento ósseo, vertical e horizontal, permitiram a instalação de múltiplos implantes bilaterais em um mesmo paciente que elevou o número das amostras que poderiam ser pareadas para as análises.

O sucesso da implantodontia está na osseointegração, que depende por sua vez de uma série de fatores, aqueles relacionados com procedimentos e aqueles relacionados com os pacientes. A frequência de ressonância mensurada nos implantes obviamente não reflete a complexa biologia da regeneração e remodelação óssea que acontece na interface osso/implante (BIC), durante a osseointegração, embora sirva como referencial clínico.

Este estudo aferiu a estabilidade primária, aquela associada ao travamento mecânico inicial do implante no seu leito receptor. É um método rápido – não invasivo – de avaliar esse processo^{73,76,74}. Aferir a estabilidade é importante para obter um referencial clínico sobre quando aplicar carga mastigatória: se imediata ou mais tardiamente – depende dos escores. O que deve orientar são as diferenças entre os momentos de aferição.

Apesar de o coeficiente de estabilidade primária dos implantes, entre ACM e ALD, comparativamente demonstrar valores iniciais significativamente maiores para ACM; no período mais tardio, a avaliação mostrou que, em ALD, os implantes adquiriram acréscimo mais significativo na estabilidade. Contudo, nenhum dos implantes inseridos, tanto em ALD como em ACM, mostraram valores primários ou

tardios próximos a 70 ISQ, recomendado por alguns autores⁸¹ como o ideal para implementar cargas mastigatórias.

O que nos encorajou à instalação foi que os implantes estavam clinicamente estáveis, no pós-operatório, e havia indicações de que a estabilidade deveria aumentar com o tempo de enxertia, o que realmente ocorreu. Os valores tardios não atingiram os recomendados de 70 ISQ, mesmo assim novas mensurações – antes da instalação de próteses e o acompanhamento desses pacientes – poderão comprovar se houve ou não aumento da estabilidade por frequência de ressonância em longo prazo.

Valores negativos, apresentados nos cálculos das diferenças entre T2 e T1, revelam que houve perda de estabilidade – o que aconteceu em três casos do ALD, e em 10 casos do ACM (dados não mostrados).

A variabilidade no comprimento dos implantes utilizados não influenciou a avaliação para o desfecho da estabilidade, pois não houve diferença significativa nos valores em T2, para ALD ou ACM, o que mostra que – ao final – os dados estavam uniformes e puderam ser comparáveis entre si. Além disso, o ganho na estabilidade tardia considerou as diferenças entre os escores, em dois momentos no mesmo implante, no mesmo tipo de enxerto e no mesmo indivíduo.

A forma de utilização do dispositivo de mensuração de estabilidade por frequência de ressonância simulou o que seria realizado por um clínico, seguindo as orientações do fabricante. Poderia ser apontada como fragilidade a subjetividade metodológica de aferição da estabilidade por um único observador^{75,77,78}. Podemos, contudo, sugerir que, em futuros estudos, três aferições sejam repetidas em cada direção (Mésio-Distal e Vestíbulo-Lingual) em cada grupo de estudo, por dois observadores calibrados de forma cega, quanto aos grupos para minimizar possíveis vieses na análise do desfecho clínico.

As análises microtomográficas das amostras ósseas, obtidas no momento da instalação dos implantes, refletiram a formação óssea presente e a quantidade de material remanescente. A avaliação visual pela reconstrução em 2D e 3D mostraram representação precisa do trabeculado ósseo neoformado, nos dois tipos de enxerto. Para o ALD houve mais quantidade de material remanescente e menos neoformação óssea.

Nossos resultados estão de acordo com os de outros pesquisadores^{67,69,70} que mostraram que é possível traçar forte correlação entre o parâmetro de

percentual de formação óssea em 2D ou 3D micro-TC com aquele que pode ser observado em imagens histológicas.

Quanto à quantidade de material remanescente dos enxertos, como não há estudos clínicos na literatura que comparem ALD com ACM, não temos como comparar nossos resultados com o de outros autores. É fato que alguns estudos^{9,56}, empregaram isoladamente ACM ou ALD, como grupo experimental, e também mostraram a permanência de fragmentos de enxerto remanescentes, por longos e variados períodos do reparo ósseo pós-enxerto, com permanência maior de fragmentos, quando enxertos alógenos são utilizados.

Foi interessante verificar que, apesar das quantidades de enxerto remanescente, observadas para ambos os aloenxertos, não foi possível constatar resposta do tipo corpo estranho para nenhum deles. As análises histomorfológicas revelaram ainda características semelhantes da medula óssea para os dois tipos de enxerto.

Na coleta com a broca trefina, uma das dificuldades da metodologia foi retirar amostras ósseas íntegras. Das 37 retiradas, apenas 25 permaneceram com boa qualidade e possibilitaram a realização de μ -TC e de análises histológicas. Isso possivelmente está relacionado à permanência extemporânea dos aloenxertos, após 6 meses dos implantes, tornando a amostra menos consistente⁸².

As análises microtomográficas e histológicas complementaram-se para dar consistência aos resultados. Em ambas, a grande diferença observada ocorreu quanto à porcentagem mais significativa de neoformação óssea, nos enxertos liofilizados (ALD), diferentemente do que foi encontrado por outros pesquisadores⁶⁰. Pesquisas anteriores mostraram que os dois tipos de enxerto apresentam propriedades de osteocondução^{42,43,44,13} com formação de osso maduro, remodelado e vital, como observado aqui nos nossos resultados. E que especialmente os aloenxertos desmineralizados como o ALD tem potencial osteoindutivo¹⁴.

As trabéculas ósseas nos ALD pareceram mais uniformes e regulares exibindo mais linhas de aposição óssea do que nos ACM. Em alguns cortes das regiões que sofreram o enxerto ALD houve formação de cartilagem, o que mostra que o enxerto alógeno guarda as características de neoformação de tecido mineralizado proveniente de vários ossos coletados do esqueleto. O número de osteócitos, no interior das lacunas nos enxertos ALD, pareceu mais expressivo do que em ACM, porém somente uma análise quantitativa dessa célula poderia

sustentar tal observação. Todavia, algumas pesquisas *in vitro* mostraram que a matriz de osso desmineralizado de banco contém osteócitos ativos, capazes de liberar moléculas sinalizadoras de maturação óssea ¹⁴.

Apesar das controvérsias na literatura, o tamanho das partículas dos enxertos ACM e ALD pode ter influenciado os valores da formação óssea e a quantidade de material remanescente. Alguns pesquisadores⁶¹ acreditam que mais atividade osteoclástica possa ser observada em torno de grânulos de menor volume, levando a maior reabsorção óssea desses grânulos e a abertura de espaços acompanhada de vascularização e formação de tecido ósseo neoformado. Outros acreditam que os efeitos osteoindutivos de matriz de osso mineralizado estariam relacionados a partículas de tamanho semelhante àsquelas utilizadas aqui neste estudo, ou seja 850µm⁶².

Muito ainda tem de ser estudado quanto à otimização da gramatura dos fragmentos ósseos para o melhor desempenho clínico, na formação de volume de tecido ósseo de qualidade. Obviamente, além do tamanho das partículas, outras propriedades físico-químicas e estruturais influenciarão o potencial osteocondutor e/ou osteoindutor. Aqui não foi nossa preocupação direta estabelecer diferenças de performance, quanto ao tamanho das partículas, e sim utilizar os aloenxertos, assim como eles estão disponíveis nos bancos de tecido para uso clínico.

Finalmente, consideramos que a continuidade deste trabalho deva se concentrar nos resultados clínicos em longo prazo. Assim, pretende-se acompanhar os participantes, mesmo após a confecção das próteses e confirmar (ou não) a superioridade clínica dos enxertos alógenos liofilizados desmineralizados no aumento do rebordo ósseo alveolar, na região posterior da maxila, verificada neste ensaio clínico.

7 CONCLUSÕES

Dentro dos limites deste estudo podemos concluir que, comparativamente, entre ALD e ACM:

1. houve diferença significativamente maior na estabilidade primária dos implantes nos enxertos ACM;
2. a estabilidade dos implantes, em enxertos ALD, aumentou significativamente com o tempo de implantação; e
3. as regiões do enxerto ALD apresentaram maior quantidade e melhor qualidade de neoformação óssea.

REFERÊNCIAS¹

- 1.Smiler DG, Johnson PW, Lozada JL, Misch C, Rosenlicht JL, Tatum OH Jr, Wagner JR. Sinus lift grafts and endosseous implants Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dent Clin North Am*. 1992 Jan;36(1):151-86.

- 2.Von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Lateral ridge augmentation and implant placement: an experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001 May-Jun;16(3):343-54.

- 3.Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, Greenfield ML. Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment. *Clin Orthop Relat Res*. 1997 Jun;(339):76-81.

- 4.Kalk WW, Raghoobar GM, Jansma J, Boering G. Morbidity from iliac crest bone harvesting. *J Oral Maxillofac Surg*. 1996 Dec;54(12):1424-9.

- 5.Raghoobar GM, Meijndert L, Kalk WW, Vissink A. Morbidity of mandibular bone harvesting: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007 May-Jun;22(3):359-65.

- 6.Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965 Nov 12;150(3698):893-9.

- 7.Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 Jan-Feb;11(1):55-66.

- 8.Nauth A, Lane J, Watson JT, Giannoudis P. Bone graft substitution and augmentation. *J Orthop Trauma*. 2015 Dec;29 Suppl 12:S34-8.

- 9.Pelegrine AA, Sorgi da Costa CE, Sendyk WR, Gromatzky A. The comparative analysis of homologous fresh frozen bone and autogenous bone graft, associated or not with autogenous bone marrow, in rabbit calvaria: a clinical and histomorphometric study. *Cell Tissue Bank*. 2011 Aug;12(3):171-84.

¹ De acordo com o Estilo Vancouver.

10. De Stavola L, Tunkel J. A new approach for regenerated autogenous bone volume maintenance by a delayed relining with xenograft and resorbable membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jul-Aug;28(4):1062-7.
11. Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007 Nov;19(4):513-21.
12. Pimentel AC, Napimoga MH, Manzi MR, Sendyk WR. Reconstruction of the edentulous mandible with fresh frozen bone grafts and implants: a 4-year report of a prospective clinical study. *Cell Tissue Bank*. 2014 Mar;15(1):1-6.
13. Wood RA, Mealey BL. Histologic comparison of healing after tooth extraction with ridge preservation using mineralized versus demineralized freeze-dried bone allograft. *J Periodontol*. 2012 Mar;83(3):329-36.
14. Miron RJ, Sculean A, Shuang Y, Bosshardt DD, Gruber R, Buser D, Chandad F, Zhang Y. Osteoinductive potential of a novel biphasic calcium phosphate bone graft in comparison with autographs, xenografts, and DFDBA. *Clin Oral Implants Res*. 2016 Jun;27(6):668-75.
15. Van den Bergh JP, ten Bruggenkate CM, Disch FJ, Tuinzing DB. Anatomical aspects of sinus floor elevations. *Clin Oral Implants Res*. 2000 Jun;11(3):256-65.
16. Monje A, Diaz KT, Aranda L, Insua A, Garcia-Nogales A, Wang HL. Schneiderian Membrane Thickness and Clinical Implications for Sinus Augmentation: A Systematic Review and Meta-Regression Analyses. *J Periodontol*. 2016 Apr 18:1-24. [Epub ahead of print]
17. Lee JE, Jin SH, Ko Y, Park JB. Evaluation of anatomical considerations in the posterior maxillae for sinus augmentation. *World J Clin Cases*. 2014 Nov 16;2(11):683-8.
18. Kang SJ, Shin SI, Herr Y, Kwon YH, Kim GT, Chung JH. Anatomical structures in the maxillary sinus related to lateral sinus elevation: a cone beam computed tomographic analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2013 Aug;24 Suppl A100:75-81.
19. Zinner ID, Shapiro HJ, Gold SD. Sinus graft complications. Problem solving. *NY State Dent J*. 2008 Jun-Jul;74(4):40-3.

20. Rancitelli D, Borgonovo AE, Cicciù M, Re D, Rizza F, Frigo AC, Maiorana C. Maxillary Sinus Septa and anatomic correlation with the Schneiderian membrane. *J Craniofac Surg*. 2015 Jun;26(4):1394-8.
21. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg*. 1980 Aug;38(8):613-6.
22. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am*. 1986 Apr;30(2):207-29.
23. Woo I, Le BT. Maxillary sinus floor elevation: review of anatomy and two techniques. *Implant Dent*. 2004 Mar;13(1):28-32.
24. Thoma DS, Haas R, Tutak M, Garcia A, Schincaglia GP, Hämmerle CH. Randomized controlled multicentre study comparing short dental implants (6 mm) versus longer dental implants (11-15 mm) in combination with sinus floor elevation procedures. Part 1: demographics and patient-reported outcomes at 1 year of loading. *J Clin Periodontol*. 2015 Jan;42(1):72-80.
25. Soardi CM, Spinato S, Zaffe D, Wang HL. Atrophic maxillary floor augmentation by mineralized human bone allograft in sinuses of different size: an histologic and histomorphometric analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2011 May;22(5):560-6.
26. Moreno Vazquez JC, Gonzalez de Rivera AS, Gil HS, Mifsut RS. Complication rate in 200 consecutive sinus lift procedures: guidelines for prevention and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014 May;72(5):892-901.
27. Junqueira LC, Carneiro LU. *Histologia básica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
28. Marx RE, Garg AK. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. *Implant Dent*. 1998;7(4):267-76.
29. Hasegawa T. Bone cell biology assessed by microscopic approach. Bone mineralization by ultrastructural imaging. *Clin Calcium*. 2015 Oct;25(10):1453-60.
30. Allegrini S Jr, Koenig B Jr, Allegrini MR, Yoshimoto M, Gedrange T, Fanghaenel J, Lipski M. *Ann Acad Med Stetin*. Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review 2008;54(1):70-81.

31. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. Clin Orthop Relat Res. 2000 Feb;371:10-27.
32. Tomford WW. Bone allografts: past, present and future. Cell Tissue Bank. 2000;1(2):105-9.
33. Marx RE. Biology of bone grafts. Am Assoc Oral and Maxillofac. 1994;1:3-17.
34. Rondinelli PC, Cabral FP, Freitas EH, Penedo JL, Leite JER, Silveira SLC. Rotina do Banco de Ossos do Hospital de Traumatismo-Ortopedia (HTO-RJ). Rev Bras Ortop. 1994;29(6):385-88.
35. Tomford WW. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. J Bone Joint Surg Am. 1995 Nov;77(11):1742-54.
36. Virolainen P, Vuorio E, Aro HT. Different healing rates of bone autografts, syngeneic grafts, and allografts in an experimental rat model. Arch Arthrop Trauma Surg. 1997;116(8):486-91.
37. Accetturi E, Ermani KB, Goldoni PR, Esteves SRR, Acceturi FD. Reconstrução de defeitos ósseos na maxila e mandíbula com osso humano fresco congelado. Rev Ciênc. Odontol 2000 3(3):27-30.
38. Delloye C, Simon P, Nyssen-Behets C, Banse X, Bresler F, Schmitt D. Perforations of cortical bone allografts improve their incorporation. Clin Orthop Relat Res. 2002 Mar;(396):240-7.
39. Vaccaro AR, Cirello J. The use of allograft bone and cages in fractures of the cervical, thoracic, and lumbar spine. Clin Orthop Relat Res. 2002 Jan;(394):19-26.
40. Leonetti JA, Koupp R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: case reports. Implant Dent. 2003;12(3):217-26.
41. Torrezan PR, Grein RL, Rocha ALR, Silva MM. Utilização de homoenxerto congelado para reconstrução em áreas atroficas pré-implante: um relato de caso clínico. Rev Bras Implantodont Prótese Implant 2003 jul-set;10(39): 201-7, jul.-set. 2003.

42. Petrungaro PS, Amar S. Localized ridge augmentation with allogenic block grafts prior to implant placement: case reports and histologic evaluations. *Implant Dent.* 2005;14(2):139-48.
43. Cosmo LAM. Avaliação do uso de enxerto de osso homogêneo fresco congelado particulado em cirurgias para levantamento do assoalho do seio maxilar em humanos. Estudo clínico e histomorfométrico [tese]. São Paulo: Universidade de Santo Amaro; 2006.
44. Keith JD Jr, Petrungaro P, Leonetti JA, Elwell CW, Zeren KJ, Capute C, Nikitakis NG, Schöpf c, Warner MM. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the development period (2001-2004). *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Aug;26(4):321-7.
45. Macedo LG, Mazzucchelli-Cosmo LA, Macedo NL, Monteiro AS, Sendyk WR. Fresh-frozen human bone allograft in vertical ridge augmentation: clinical and tomographic evaluation of bone formation and resorption. *Cell Tissue Bank.* 2012 Dec;13(4):577-86.
46. Cosmo LAM, Macedo LGS de, Pelegriane AA, Macedo NL de. Enxerto ósseo em levantamento de seio maxilar com osso humano fresco congelado. *Implant News* 2007 Jul-Ago;4(4):385-90.
47. Stacchi C, Orsini G, Iorio DD, Breschi L, Lenarda R. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol.* 2008 Sep;79(9):1789-96.
48. Carinci F, Brunelli G, Zollino I, Franco M, Viscioni A, Rigo L , Guidi R, Strohmer L. Mandibles grafted with fresh-frozen bone: An evaluation of implant outcome. *Implant Dent.* 2009 Feb;18(1):86-95.
49. Contar CMM, Sarot JR, Bordini Junior J, Galvão GH, Nicolau GV, Machado MA. Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Jun;67(6):1280-5.
50. Franco M, Viscioni A, Rigo L, Guidi R, Brunelli G, Carinci F. Iliac crest fresh frozen homografts used in pre-prosthetic surgery: a retrospective study. *Cell Tissue Bank.* 2009 Aug;10(3):227-33.
51. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Borgonovo A, Rezzani R, Santoro F. TGF- β 1 and VEGF after fresh frozen bone allograft insertion in oral-maxillo-facial surgery. *Histol Histopathol.* 2010 Apr;25(4):463-71.

52. Albanese M, Procacci P, Sancassani G, Nocini PF. Fresh frozen human bone graft to repair defect after mandibular giant follicular cyst removal: a case report. *Cell Tissue Bank*. 2011 Jun; 13(2):305-13.
53. Contar CMM, Sarot JR, da Costa MB, Bordini Junior J, de Lima AA, Alanis LR, Trevilatto PC, Machado MA. Fresh-frozen bone allografts in maxillary ridge augmentation: Histologic analysis. *J Oral Implantol*. 2011 Apr;37(2):223-31.
54. Rigo L, Viscioni A, Franco M, Lucchese A, Zollino I, Brunelli G, Carinci F. Overdentures on implants placed in bone augmented with fresh frozen bone. *Minerva Stomatol*. 2011 Jan-Feb;60(5):5-14.
55. Pimentel, AC, Manzi MR, Tanaka, R, Yamazaki JS, Sendyk WR. Utilização de osso humano fresco congelado para aumento vertical na região posterior de mandíbula. *Implant News Perio* 2010; 7(6):27-37.
56. De Castilho TR, Tortamano P, Marotti J, de Andrade JC Jr, Chilvarquer I, Ximenez ME et al., Alves MT. Clinical and Histomorphometric Evaluation of Fresh Frozen Bone Allograft in Sinus Lift Surgery. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016 Feb;18(1):40-50.
57. Xavier SP, Silva ER, Kahn A, Chaushu L, Chaushu G. Maxillary sinus grafting with autograft versus fresh-frozen allograft: a split-mouth evaluation of bone volume dynamics. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 Sep-Oct;30(5):1137-42.
58. Nishibori M, Betts NJ, Salama H, Listgarten MA. Short-term healing of autogenous and allogeneic bone grafts after sinus augmentation: a report of 2 cases. *J Periodontol*. 1994 Oct;65(10):958-66.
59. Andreana S, Cornelini R, Edsberg LE, Natiella JR. Maxillary sinus elevation for implant placement using calcium sulfate with and without DFDBA: six cases. *Implant Dent*. 2004 Sep;13(3):270-7.
60. Cammack GV 2nd, Nevins M, Clem DS 3rd, Hatch JP, Mellonig JT. Histologic evaluation of mineralized and demineralized freeze-dried bone allograft for ridge and sinus augmentations. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2005 Jun;25(3):231-7.
61. Chackartchi T, Iezzi G, Goldstein M, Klinger A, Soskolne A, Piattelli A, Shapira L. Sinus floor augmentation using large (1-2 mm) or small (0.25-1 mm) bovine bone mineral particles: a prospective, intra-individual controlled clinical, microcomputerized

tomography and histomorphometric study. Clin Oral Implants Res. 2011 May;22(5):473-80.

62.Gruskin E, Doll BA, Futrell FW, Schmitz JP, Hollinger JO. Demineralized bone matrix in bone repair: History and use. Adv Drug Deliv Rev. 2012 Sep; 64(12):1063-77.

63.Lima JLO. Análise comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado, aloenxerto ósseo congelado e enxerto autógeno: estudo histológico em coelhos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013.

64.Kukreja BJ, Dodwad V, Kukreja P, Ahuja S, Mehra P. A comparative evaluation of platelet-rich plasma in combination with demineralized freeze-dried bone allograft and DFDBA alone in the treatment of periodontal intrabony defects: A clinic radiographic study. J Indian Soc Periodontol. 2014 Sep;18(5):618-23.

65.Brolese E, Buser D, Kuchler U, Schaller B, Gruber R. Human bone chips release of sclerostin and FGF-23 into the culture medium: an in vitro pilot study. Clin Oral Implants Res. 2015 Oct;26(10):1211-4.

66.Whetman J, Mealey BL. Effect of healing time on new bone formation following tooth extraction and ridge preservation with demineralized freeze-dried bone allograft. A Randomized Controlled Clinical Trial. J Periodontol. 2016 Apr; 30:1-13. [Epub ahead of print]

67.Draenert ME, Draenert AI, Forriol F, Cerler M, Kunzelmann KH, Hickel R, Draenert K. Value and limits of μ -CT for non demineralized bone tissue processing. Microsc Res Tech. 2012 Apr;75(4):416-24.

68.Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jasion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. J Bone Miner Res. 1989 Feb;4(1):3-11.

69.Oliveira AL, Malafaya PB, Costa SA, Reis RL. Micro-computed tomography (micro-CT) as a potential tool to assess the effect of dynamic coating routes on the formation of biomimetic apatite layers on 3D-plotted biodegradable polymeric scaffolds. J Mater Sci Mater Med. 2007 Feb;18(2): 211-23.

70.Yeom H, Blanchard S, Kim S, Zunt S, Chu TM. Correlation between micro-computed tomography and histomorphometry for assessment of new bone formation in a calvarial experimental model. J Craniofac Surg. 2008 Mar;19(2):446-52.

- 71.Nedir R, Bischof M, Szmukler-Moncler S, Bernard JP, Samson J. Predicting osseointegration by means of implant primary stability. Clin Oral Implants Res. 2004 Oct; 15(5):520-8.
- 72.Lachmann S, Laval JY, Jager B, Axmann D, Gomez-Roman G, Groten M, Weber H. Resonance frequency analysis and adamping capacity assessment. Part 2: prio-implant bone loss follow-up. An in vitro study with the Perioste™ and Osstell™ instruments. Clin Oral Implant Res. 2006 Feb;17(1):80-4.
- 73.Cassetta M, Ricci L, Iezzi G, Dell'Aquila D, Piattelli A, Perrotti V. Resonance frequency analysis of implants inserted with a simultaneous grafting procedure: a 5-year follow-up study in man. Int J Periodontics Restorative Dent. 2012 Oct;32(5):581-9.
- 74.Sadeghi R, Rokn AR, Miremadi A. Comparison of implant stability using resonance frequency analysis: osteotome Versus conventional drilling. J Dent (Tehran). 2015 Sep;12(9):647-54.
- 75.Barikani H, Rashtak S, Akbari S, Badri S, Daneshparvar N, Rokn A. The effect of implant length and diameter on the primary stability in different bone types. J Dent (Tehran). 2013 Sep;10(5):449-55. Epub 2013 Sep 30.
- 76.Fraguas E, Ribeiro M, Croci A, Santos L, Pallos D, Sendyk W. Stability of implants placed simultaneously or in a delayed manner on fresh frozen onlay allografts in rabbits. Clin Oral Implants Res. 2013 Dec;24(12):1295-9.
- 77.Qian SJ, Gu YX, Mo JJ, Qiao SC, Zhuang LF, Lai HC. Resonance frequency analysis of implants placed with osteotome sinus floor elevation in posterior maxillae. Clin Oral Implants Res. 2016 Jan;27(1):113-9.
- 78.Xing Y, Khandelwal N, Petrov S, Drew HJ, Mupparapu M. Resonance frequency analysis (RFA) and insertional torque (IT) stability comparisons of implants placed using osteotomes versus drilling techniques: A preliminary case study. Quintessence Int. 2015 Oct;46(9):789-98.
- 79.Gehrke SA, da Silva UT, Del Fabbro M. Does implant design affect implant primary stability? A resonance frequency analysis-based randomized split-mouth clinical trial. J Oral Implantol. 2015 Dec;41(6):e281-6.

80. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. *Interv Med Appl Sci*. 2013 Dec;5(4):162-7.

81. Kuchler U, Chappuis V, Bornstein MM, Siewczyk M, Gruber R, Maestre L, Buser D. Development of implant stability quotient values of implants placed with simultaneous sinus floor elevation – results of a prospective study with 109 implants *Clin Oral Implants Res*. 2016 Jan 16. doi:10.1111/Clr.12768.[Epub ahead of print]

82. Nakata H, Kuroda S, Tachikawa N, Okada E, Akatsuka M, Kasugai S, Kondo H. Histological and micro-computed tomographic observations after maxillary sinus augmentation with porous hydroxyapatite alloplasts: a clinical case series. *Springerplus*. 2016 Mar 2;5:260.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação histológica e microtomográfica comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado e o aloenxerto ósseo congelado para preenchimento na elevação do assoalho de seio maxilar.

Pesquisador: Marcello Roberto Manzi

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30738714.0.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 697.562

Data da Relatoria: 25/06/2014

Apresentação do Projeto:

A instalação de implantes dentários na região posterior da maxila é frequentemente confrontada por processos alveolares reabsorvidos, resultante de uma combinação da reabsorção óssea alveolar pós exodontias e por doença periodontal, que pode provocar uma pneumatização do seio maxilar diminuindo o volume ósseo adequado em altura que pode ser utilizado para a inserção de implantes dentais. Neste contexto, a cirurgia de elevação do assoalho do seio maxilar, que tem sido praticada desde 1980, tem como objetivo aumentar a altura óssea na região posterior, para viabilizar a inserção de um implante osseointegrável e a reabilitação por meio de prótese. Vários tipos de biomateriais, substâncias e enxertos tem sido propostos para o preenchimento na manutenção da elevação do assoalho do seio maxilar. Entretanto, os enxertos de tecido ósseo tem se mostrado o melhor tipo de enxerto para preenchimento de defeitos como este. Os do tipo autógeno são o que melhor apresentam melhor desempenho clínico porém o grande traumatismo e as complicações associadas à sua coleta e utilização são desvantagens que tem muitas vezes desencorajado seu uso. A utilização de enxertos ósseos provenientes de banco de tecido pode ser uma proposta viável mais vantajosa sob alguns aspectos

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepto@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 697.562

operacionais entretanto, pouco se sabe sobre seu desempenho na técnica de elevação de seio maxilar. Com base neste contexto, propusemo-nos a realizar uma pesquisa clínica, randomizada caso-controle comparativa entre dois tipos de enxerto ósseo alógeno proveniente de banco de tecidos orgânicos: aloenxerto ósseo liofilizado desmineralizado e aloenxerto ósseo congelado mineralizado. Serão selecionados 15 pacientes que necessitem de aumento ósseo bilateral do seio maxilar para futura colocação de implantes osseointegrados. Cada lado a ser operado será randomizado para o tipo de enxerto. Todos os pacientes terão assistência integral quanto a possíveis complicações e receberão as medicações para controle de infecção e de dor no pós-operatório. Após um período que poderá variar entre 6 e no máximo 9 meses uma avaliação clínica e radiográfica será realizada na região do eixo de inserção do futuro implante. Será planejado um implante osseointegrado na região e antes da confecção do eixo de inserção do parafuso de implante será colhida uma amostra de tecido ósseo por meio de trefina de 2mm de diâmetro. De cada paciente será obtida duas amostras (D e E). As 30 amostras serão fixadas em solução tamponada de paraformaldeído a 4% por 48H após a fixação serão submetidas a aquisição de imagens em microtomografia computadorizada. Após, seguiram para o processamento e preparo de lâminas histológicas para avaliação histomorfológica e histomorfométrica. Os critérios a serem avaliados incluirão a morfologia do reparo ósseo, o volume e a área de tecido ósseo formado, a qualidade do tecido ósseo formado e a quantidade de reabsorção dos enxertos comparativamente. Os dados objetivos como volume, área de tecido formado e tecido reabsorvido e medida de estabilidade serão submetidos a teste estatístico comparativamente entre os dois tipos de enxerto.

Objetivo da Pesquisa:

- 1- Verificar a qualidade e a quantidade de tecido osseo neoformado ou reabsorvido nos dois tipos de enxerto.
- 2- Verificar a diferença na estabilidade primária e tardia dos implantes nos dois tipos de enxertos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: Os desconfortos relacionados a esta cirurgia são edema facial diminuição da amplitude de abertura bucal e hematomas que podem ser aliviados com o uso de analgésicos, anti-inflamatórios. Há ainda o risco de ocorrer sangramentos ou até mesmo hemorragias, solucionadas

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 697.562

com auxílio de compressas locais, hemostáticos, gelo em face e repouso físico e se necessário o encaminhamento do paciente a um serviço médico de urgência. Os riscos mais frequentes observados com o uso da técnica de elevação da membrana sinusal são a perfuração da membrana sinusal durante a osteotomia e o descolamento da mesma, que dependendo do diâmetro desta perfuração pode ser suturada ou coberta por uma membrana reabsorvível de colágeno. Também pode ocorrer casos raros de sinusopatias, que são tratados com antibioticoterapia, na maioria das vezes, com um excelente prognóstico. Entretanto todos os pacientes serão orientados quanto a medicações pós-operatórias que serão fornecidas a todos bem como assistência total e integral na ocorrência de complicações pós-operatórias. **BENEFÍCIOS:** A utilização de enxertos para reconstrução das áreas a receber os implantes é necessária. Os pacientes receberão os enxertos sem custo. Se os resultados forem positivos para qualquer um dos tipos de enxerto todos os pacientes que necessitarem desta técnica poderão ser beneficiados por uma escolha do tipo de enxerto mais adequada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O objetivo deste estudo é realizar uma análise comparativa entre o aloenxerto ósseo liofilizado desmineralizado irradiado e o aloenxerto ósseo congelado mineralizado como materiais de preenchimento, para avaliar o ganho ósseo em altura e o grau de reabsorção destes enxertos quando utilizados na técnica de elevação do assoalho de seio maxilar em pacientes que necessitem este tipo de técnica no planejamento de tratamento de reabilitação oral por meio de implantes osseointegrados.

Pretendemos responder as seguintes questões:

1. Qual dos enxertos apresentará maior neoformação óssea?
2. Existe diferença entre os dois tipos de enxerto na arquitetura trabecular da formação óssea que será obtida?
3. Qual dos dois enxertos apresentará maior processo de reabsorção?
4. Existe diferença na estabilidade primária e tardia dos implantes nos dois tipos de enxertos?

Para esta análise utilizaremos parâmetros microtomográficos e histológicos das amostras destes enxertos que serão obtidas no segundo tempo cirúrgico na perfuração óssea para instalação de implantes osseointegrados.

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 697.562

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos necessários para a presente pesquisa foram apresentados de acordo com as normas do CEP, sendo as pendências anteriores solucionadas.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 25 de Junho de 2014

Assinado por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

ANEXO B – Registro do *Clinical Trials*

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov Protocol Registration and Results System (PRS) Receipt
 Release Date: 05/10/2016

ClinicalTrials.gov ID: NCT02583737

Study Identification

Unique Protocol ID: CAEE 30738714.0.0000.0075.

Brief Title: Comparative Study Between Lyophilized or Frozen Bone Allografts for Sinus-lifting

Official Title: Histological and Microtomographic Comparative Study Between Lyophilized or Frozen Bone Allografts for Sinus-lifting: A Randomized Clinical Trial

Secondary IDs:

Study Status

Record Verification: May 2016

Overall Status: Active, not recruiting

Study Start: June 2014

Primary Completion: December 2016 [Anticipated]

Study Completion: December 2016 [Anticipated]

Sponsor/Collaborators

Sponsor: University of Sao Paulo

Responsible Party: Principal Investigator

Investigator: Maria Cristina Zindel Deboni [mdeboni]

Official Title: Associate Professor

Affiliation: University of Sao Paulo

Collaborators:

Oversight

FDA Regulated?: No

IND/IDE Protocol?: No

Review Board: Approval Status: Approved

Approval Number: 30738714.0.0000.0075.

Board Name: Departamento de Cirurgia Protese e Traumatologia Maxilofaciais

Board Affiliation: Faculdade de Odontologia de USP

Phone: 30917887

Email: rbdias@usp.br

Data Monitoring?: No

Plan to Share Data?:

Oversight Authorities: Brazil: National Committee of Ethics in Research

Study Description

Brief Summary: Bone resorption and atrophy in maxillary posterior region is due to severe periodontal disease and is consequent tooth extractions. Sinus pneumatization can occur after tooth extraction and alveolar bone loss. Consequently, bone-reducing volume at that region is a great challenge to implantodontists. Sinus lifting surgery have been practiced since 80's and many biomaterials have been used to solve filling issues to maintain the sinus floor lifted in a position that can allow dental implants installation. Bone grafts have shown to be the best choice of filling grafts. Despite autologous bone are the gold standard filling biomaterial it is associates with great mortality and morbidity. So, bone allografts from tissue bank had been shown to be an advantageous alternative. Lyophilized or freeze tissue bone are the most common allografts but literature is poor in randomized controlled parallel clinical trials regarding those filling grafts for sinus lifting. The aim of this study is to perform a randomized controlled clinical trial comparing two bone allografts: lyophilized and freeze bone allografts from human bone tissue bank. The investigators want to verify which one can develop greater osteogenesis, if is there any difference between them regarding the architectural trabeculae formation, if there are different patterns of reabsorption and finally if is there any differences between them regarding primary and lately dental implants stability. To answer those questions the investigators propose firstly, to carry out microtomographic and histological analysis from trephine bone samples after six months of sinus lifting and grafting in healthy participants undergoing osseointegrated dental implants. Secondly, the primary and lately implant stability is going to be achieved employing Resonance Frequency Analysis (RFA).

Detailed Description:

Conditions

Conditions: Disorder of Maxillary Sinus
Accessory; Bone
Bone Atrophy

Keywords: bone
maxillary sinus

Study Design

Study Type: Interventional
Primary Purpose: Treatment
Study Phase: N/A
Intervention Model: Parallel Assignment
Number of Arms: 2
Masking: Double Blind (Subject, Outcomes Assessor)
Allocation: Randomized
Endpoint Classification: Efficacy Study
Enrollment: 15 [Anticipated]

Arms and Interventions

Arms	Assigned Interventions
Active Comparator: group lyophilized bone allograft sinus lifting with tissue bank lyophilized bone filling	Procedure/Surgery: lyophilized bone allograft

Arms	Assigned Interventions
	sinus lifting filling procedure employing lyophilized bone allograft from tissue bone bank.
Active Comparator: group freeze bone allograft sinus lifting with freeze bone bank filling	Procedure/Surgery: freeze bone allograft sinus lifting filling procedure employing freeze bone allograft from tissue bone bank.

Outcome Measures

Primary Outcome Measure:

1. volume of bone neoformation in mm³
[Time Frame: six months after grafting] [Safety Issue: No]
computational software for analysis the micro CT scanning of trephine bone samples images
2. area of bone neoformation in µm²
[Time Frame: six months after grafting] [Safety Issue: No]
IMAGEJ histomorphometric software for analysis of trephine bone samples micrographic images

Secondary Outcome Measure:

3. dental implants stability value
[Time Frame: six months after grafting] [Safety Issue: No]
primary implant stability by Resonance Frequency Analysis (RFA) in ISQ
4. dental implants stability value
[Time Frame: six months after dental implant] [Safety Issue: No]
late stability by Resonance Frequency analysis (RFA) in ISQ

Eligibility

Minimum Age: 30 Years

Maximum Age: 60 Years

Gender: Both

Accepts Healthy Volunteers?: Yes

Criteria: Inclusion Criteria:

- healthy
- totally or partially edentulous patients, bilaterally, in upper premolar or molar region; presenting maxillary sinus lifting necessity with bilateral alveolar bone height lower than 5mm and indication for at least one osseointegrated dental implant in premolar or molar region.

Exclusion Criteria:

- recent sinusitis history
- hypersensitivity for sinus allergens, tabagism, ethylism
- severe periodontal disease, diabetes, hypertension.
- Cases that occur schneiderian membrane perforation will be excluded from the final sample.

Contacts/Locations

Study Officials:

Locations:

References

- Citations: Acocella A, Bertolai R, Nissan J, Sacco R. Clinical, histological and histomorphometrical study of maxillary sinus augmentation using cortico-cancellous fresh frozen bone chips. *J Craniomaxillofac Surg.* 2011 Apr;39(3):192-9. doi: 10.1016/j.jcms.2010.03.019. Epub 2010 May 7. PubMed 20452232
- Chiapasco M, Giammattei M, Carmagnola D, Autelitano L, Rabbiosi D, Dellavia C. Iliac crest fresh-frozen allografts and autografts in maxillary and mandibular reconstruction: a histologic and histomorphometric evaluation. *Minerva Stomatol.* 2013 Jan-Feb;62(1-2):3-16. English, Italian. PubMed 23422679
- de Castilho TR, Tortamano P, Marotti J, de Andrade JC Jr, Chilvarquer I, Ximenez ME, Alves MT. Clinical and Histomorphometric Evaluation of Fresh Frozen Bone Allograft in Sinus Lift Surgery. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016 Feb;18(1):40-50. doi: 10.1111/cid.12234. Epub 2014 Jun 6. PubMed 24909241
- Deluiz D, Oliveira LS, Pires FR, Tinoco EM. Time-dependent changes in fresh-frozen bone block grafts: tomographic, histologic, and histomorphometric findings. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015 Apr;17(2):296-306. doi: 10.1111/cid.12108. Epub 2013 Jul 9. PubMed 23837530
- Eskan MA, Greenwell H, Hill M, Morton D, Vidal R, Shumway B, Girouard ME. Platelet-rich plasma-assisted guided bone regeneration for ridge augmentation: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2014 May;85(5):661-8. doi: 10.1902/jop.2013.130260. Epub 2013 Jul 29. PubMed 23895252
- Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, Greenfield ML. Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment. *Clin Orthop Relat Res.* 1997 Jun; (339):76-81. PubMed 9186204
- Holtzclaw D, Toscano N, Eisenlohr L, Callan D. The safety of bone allografts used in dentistry: a review. *J Am Dent Assoc.* 2008 Sep;139(9):1192-9. Review. PubMed 18762629
- Le B, Rohrer MD, Prasad HS. Screw "tent-pole" grafting technique for reconstruction of large vertical alveolar ridge defects using human mineralized allograft for implant site preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Feb;68(2):428-35. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.059. Epub 2010 Jan 15. Erratum in: *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Apr;68(4):953. Prasad, Hari S [corrected to Prasad, Hari S]. PubMed 20116718
- Pimentel AC, Napimoga MH, Manzi MR, Sendyk WR. Reconstruction of the edentulous mandible with fresh frozen bone grafts and implants: a 4-year report of a prospective clinical study. *Cell Tissue Bank.* 2014 Mar;15(1):1-6. doi: 10.1007/s10561-012-9352-y. Epub 2012 Nov 27. PubMed 23184222
- Pelegrine AA, Sorgi da Costa CE, Sendyk WR, Gromatzky A. The comparative analysis of homologous fresh frozen bone and autogenous bone graft, associated or not with autogenous bone marrow, in rabbit calvaria: a clinical and histomorphometric study. *Cell Tissue Bank.* 2011 Aug;12(3):171-84. doi: 10.1007/s10561-010-9178-4. Epub 2010 May 16. PubMed 20473718
- Schwartz Z, Goldstein M, Raviv E, Hirsch A, Ranly DM, Boyan BD. Clinical evaluation of demineralized bone allograft in a hyaluronic acid carrier for sinus lift augmentation in humans: a computed tomography and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Apr;18(2):204-11. PubMed 17348885

Links: