**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

CAROLINE ANDRADE ROCHA

**Avaliação comparativa da neoformação óssea após enxertia de
HA/TCPp, Bio-Oss e osso autógeno associados ou não ao PRP em
cirurgias de levantamento de seio maxilar de coelhos**

**BAURU
2015**

CAROLINE ANDRADE ROCHA

**Avaliação comparativa da neoformação óssea após enxertia de
HA/TCPp, Bio-Oss e osso autógeno associados ou não ao PRP em
cirurgias de levantamento de seio maxilar de coelhos**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de
Bauru da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências no
Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas,
na área de concentração Biologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Rumio Taga

Versão Corrigida

**BAURU
2015**

R582a Rocha, Caroline Andrade
Avaliação comparativa da neoformação óssea
após enxertia de HA/TCPp, Bio-Oss e osso autógeno
associados ou não ao PRP em cirurgias de
levantamento de seio maxilar de coelhos / Caroline
Andrade Rocha. – Bauru, 2015.
158p. : il. ; 30cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia
de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Rumio Taga

Nota: A versão original desta tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta tese, por processos
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Caroline Andrade Rocha

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 039/2011
Data: 20/12/2011

CAROLINE ANDRADE ROCHA

Nascimento	12 de Dezembro de 1986 Assis – SP
Filiação	Osvaldo Esperança Rocha Miryam Cecília Gonçalves Andrade Rocha
2004 – 2007	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP).
2008 – 2010	Curso de Especialização em Ortodontia pela Uningá – ACOPEN.
2009 – 2011	Curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado em Ortodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP).
Associações	APCD – Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas.

DEDICATÓRIA

A **Deus** pela vida, pelo amor e por me acompanhar permanentemente. Obrigada por me proporcionar momentos de intensa felicidade como a realização deste sonho.

Aos meus pais **Miryam** e **Oswaldo** pelo apoio e exemplo de honestidade e respeito. Agradeço também ao meu irmão **Vitor** pela sua amizade e incentivo. Em especial à minha **querida mãe** que é minha vida, minha melhor amiga, meu porto seguro. Agradeço todos os dias a Deus por ter me presenteado com uma mãe tão especial que me acompanha em todos os passos da minha vida, dando todo apoio e carinho. Você sempre foi fundamental para tudo, sem você nada seria possível. Muito obrigada pela total dedicação. Meu **querido pai**, muito obrigada por ser uma pessoa trabalhadora, um exemplo de garra e dedicação a tudo o que faz, não poupando esforços para atingir seus objetivos. Seu carinho, afeto e incentivo são determinantes para minha vida. Amo vocês!

Ao meu querido **Carlos**, obrigada por todo amor e incentivo. Sem você ao meu lado, com certeza, tudo seria mais difícil.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador **Prof. Dr. Rumio Taga**, que permitiu a realização deste trabalho, sempre disposto aos questionamentos, orientação e compreensão. Muito obrigada pelos ensinamentos transmitidos durante todos os anos de orientação. Minha eterna gratidão pelos votos de confiança depositados desde o início da minha graduação com a iniciação científica. Eu o admiro pela sabedoria e paciência. Foi uma honra tê-lo como meu orientador.

À minha “co-orientadora” **Dra. Tania Mary Cestari** obrigada por toda sua atenção, paciência e amizade. Sempre disposta a ajudar, apoiando-me em todos os momentos de necessidade. Você é um exemplo de determinação! Obrigada por todo conhecimento transmitido. Serei eternamente grata a você.

Aos Professores do Laboratório de Histologia (FOB/USP), **Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis**, **Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet**, **Profa. Dra. Camila de Oliveira Rodini Pegoraro** e **Prof. Dr. Dagoberto S. Filho**, pela atenção e incentivo para a realização deste trabalho.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Bauru e em especial aos do Laboratório de Histologia, **Daniele**, **Patrícia**, **Divina** e **Teresa**, pelo apoio e pela constante disponibilidade em ajudar.

Aos alunos de Pós-Graduação e de Iniciação Científica do Laboratório de Histologia, por todos os momentos de alegria e descontração! Especialmente a **Bruna**, **Paulinha**, **Ricardo**, **Dani**, **Ever** e **Suelen** que estavam sempre dispostos a ajudar durante as cirurgias e coletas, sendo de fundamental importância para este trabalho.

À **Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo**, representada pela Diretora, **Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**.

A todos os **coelhos** que foram essenciais para a realização deste trabalho.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa **Baumer - Divisão Genius**, pelo fornecimento do biomaterial HA/TCPp aqui utilizado.

RESUMO

O objetivo da presente pesquisa foi investigar o ganho e a qualidade óssea promovidos com a utilização da cerâmica bifásica HA/TCPp porosa comparativamente ao enxerto ósseo autógeno e ao Bio-Oss® associados ou não ao plasma rico em plaquetas (PRP), em cirurgias de levantamento de seio maxilar em coelhos. Em 54 coelhos foram realizados levantamento bilateral dos seios, sendo um dos seios preenchido com enxerto/biomaterial e sangue (SG) e o contralateral com o enxerto/biomaterial e PRP, e os grupos de tratamento designados de HA/TCPp/SG, HA/TCPp/PRP, AUT/SG, AUT/PRP, Bio-Oss/SG e Bio-Oss/PRP. Após os períodos de 30, 60 e 180 dias (n=18/período), as peças histológicas foram coletadas e fixadas em formol a 10% tamponado. Em seguida, imagens microtomográficas foram obtidas e as peças processadas histologicamente. O volume e altura do seio maxilar elevado foram determinados nas imagens microtomográficas e o percentual e volume do biomaterial e tecido ósseo avaliados nos cortes histológicos pela técnica morfométrica de volumetria de pontos. Os dados foram comparados pela ANOVA a três critérios e as médias contrastadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. O volume e altura do seio maxilar elevado se mantiveram estáveis nos grupos Bio-Oss e HA/TCP, com valores médios de, respectivamente, 154,9mm³ e 5,6mm entre 30 e 180 dias, enquanto que, no grupo AUT essas mesmas dimensões reduziram, respectivamente, 33,3% e 21,7%. O enxerto autógeno sofreu rápida reabsorção e promoveu concomitantemente intensa neoformação/remodelação óssea até os 60 dias. Entre 60 e 180 dias o volume ósseo ganho não se manteve, reduzindo 52,5%. A associação do enxerto AUT com PRP acelerou o processo de neoformação/remodelação óssea e a reabsorção osteoclástica das partículas enxertadas. Já o volume do Bio-Oss® e HA/TCP, praticamente não se modificou em todo período e a formação óssea ocorreu nos espaços entre as partículas, ocupando um volume em média de 42,85mm³ aos 60 dias, que se manteve até os 180 dias. A adição do PRP aos biomateriais Bio-Oss® e HA/TCPp não promoveu alterações na quantidade de tecido ósseo neoformado, porém acelerou o seu processo de maturação, em relação aos grupos associados com SG. Os três materiais aqui usados no levantamento de seio maxilar, permitiram uma expressiva formação óssea, porém o volume ganho se manteve estável nos grupos HA/TCP e Bio-Oss, mas não no grupo AUT, onde esse volume reduziu drasticamente devido aceleração na remodelação óssea, com predomínio da reabsorção osteoclástica aliada à pressão sinusal. Conclui-se que o ganho ósseo no levantamento de seio maxilar com o HA/TCPp ou Bio-Oss mantém-se estável porque oferece melhor resistência contra a pressão sinusal e a re-pneumatização em relação ao obtido com enxerto autógeno. A associação do PRP ao enxerto autógeno acelera o processo de formação/remodelação óssea, porém a sua associação ao HA/TCPp ou Bio-Oss não influencia no ganho final de volume ósseo, mas aumenta a velocidade de sua maturação.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Enxerto ósseo. Materiais Biocompatíveis. Plasma rico em Plaquetas. Seio maxilar. Coelhos.

ABSTRACT

Comparative evaluation of new bone formation after grafting with HA/TCPp, Bio-Oss and autogenous bone associated or not with PRP in maxillary sinus lift surgeries in rabbits

This study investigated the bone gain and quality achieved by utilization of biphasic porous ceramic HA/TCPp compared to autogenous bone graft and Bio-Oss[®] associated or not with platelet-rich plasma (PRP), in maxillary sinus lift surgeries in rabbits. Bilateral sinus lift was performed in 54 rabbits, being one side filled with graft/biomaterial and blood (SG) and the contralateral side was filled with graft/biomaterial and PRP, and the treatment groups were designed as HA/TCPp/SG, HA/TCPp/PRP, AUT/SG, AUT/PRP, Bio-Oss/SG and Bio-Oss/PRP. After periods of 30, 60 and 180 days (n=18/period), the histological specimens were collected and fixed in buffered 10% formalin. Following, microtomographic images were obtained and the specimens were histologically processed. The volume and height of the lifted maxillary sinus were determined on the microtomographic images, and the percentage and volume of graft/biomaterial and bone tissue were morphometrically evaluated on the histological sections by point counting volumetry. Data were compared by three-way ANOVA and the means were compared by the Tukey test, at significance level of 5%. The volume and height of the lifted maxillary sinus were stable in the groups Bio-Oss and HA/TCP, with mean values of 154.9mm³ and 5.6mm between 30 and 180 days respectively, while in the group AUT the same dimensions were reduced in 33.3% and 21.7%, respectively. The autogenous graft exhibited fast resorption with concomitant intense new bone formation and remodeling up to 60 days. Between 60 and 180 days, the increase in bone volume was not maintained, reducing in 52.5%. The association of AUT graft with PRP accelerated the new bone formation/remodeling process and the osteoclastic resorption of grafted particles. Conversely, the volume of Bio-Oss[®] and HA/TCP was nearly unchanged throughout the period and bone formation occurred in the spaces between particles, filling a mean volume of 42.85mm³ at 60 days, which was maintained up to 180 days. The addition of PRP to the biomaterials Bio-Oss[®] and HA/TCPp did not promote changes in the quantity of newly formed bone, yet accelerated its maturation in relation to groups associated with SG. The three materials presently used for maxillary sinus lift allowed significant bone formation, yet the volume gain was stable in the groups HA/TCP and Bio-Oss but not in the group AUT, in which this volume was dramatically reduced due to the accelerated bone remodeling, with predominance of osteoclastic resorption associated with sinus pressure. It was concluded that, the bone gain in maxillary sinus lift with HA/TCPp or Bio-Oss remains stable because it offers better strength against the sinus pressure and pneumatization compared to that obtained with autograft. The association of PRP with the autogenous graft accelerates the process of bone formation/remodeling, yet its association with HA/TCPp or Bio-Oss does not influence the final bone volume gain, but increases the rate of bone maturation.

Keywords: Bone regeneration. Bone graft. Biocompatible materials. Platelet-rich plasma. Maxillary sinus. Rabbits.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Enxerto e biomateriais utilizados no volume de 0,2 mL	51
Figura 2 -	A- Sangue total; B- Após a primeira centrifugação: células vermelhas do sangue (CV) (fundo do tubo), PRP (meio do tubo) e plasma pobre em plaquetas (PPP) (parte superior do tubo); C- Plasma e os leucócitos (2 mL); D- Após a segunda centrifugação: o PPP e a substância remanescente correspondente ao PRP; E- Adição de 0,06 mL da solução de cloreto de cálcio 10% na proporção de 1:8; F- Biomaterial e PRP após a geleificação	53
Figura 3 -	A- Amostra de sangue total; B- 0,5 mL de PRP e 0,5 mL de PPP...	54
Figura 4 -	A- Animal após tricotomia e antissepsia; B- Incisão em meia lua de 3 cm na pele da região do crânio e descolamento do periósteo; C e D- Realização de dois defeitos na região da calota craniana com broca trefina de 8 mm para a retirada de osso autógeno; E- Enxerto autógeno triturado.....	56
Figura 5 -	A- Incisão na pele e descolamento do periósteo; B- Acesso ao seio maxilar esquerdo; C- Acesso bilateral aos seios maxilares direito e esquerdo; D- Preenchimento do seio maxilar; E- Recobrimento das aberturas com membrana; F- Sutura da pele com fio de seda 4-0.....	57
Figura 6 -	Software DataViewer utilizado para as análises bidimensionais mostrando o alinhamento transaxial, coronal e sagital.....	59
Figura 7 -	Imagens do Software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da altura do seio maxilar.....	60
Figura 8 -	A- Seleção da área para avaliação do volume do seio maxilar; B- Imagem do Software CTAn mostrando a realização da análise 3D para a obtenção do volume do seio maxilar.....	61

Figura 9 -	Cortes sagitais dos seios maxilares preenchidos com enxerto autógeno e sangue (A, B, C) e enxerto autógeno e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Observar aos 30 dias grandes partículas de osso autógeno (seta vermelha), e espaços entre elas preenchidos por finas trabéculas ósseas (seta amarela), sendo mais evidente no grupo tratado com PRP. Aos 60 e 180 dias ocorre gradual redução das partículas de osso autógeno (seta vermelha) com formação de trabéculas ósseas (seta amarela) mais espessas, porém menos frequentes	69
Figura 10 -	Cortes sagital do seio maxilar preenchido com Bio-Oss® e sangue (A, B, C) e Bio-Oss® e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Observar presença de biomaterial de radiopacidade levemente superior a do tecido ósseo remanescente. Presença de pouco espaço radiolúcido entre as partículas de material.....	70
Figura 11 -	Cortes sagital do seio maxilar preenchido com HA/TCPp e sangue (A, B, C) e HA/TCPp e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Pode-se observar que as partículas de biomaterial (seta vermelha) em todos os períodos apresentam radiopacidade elevada. Aos 30 dias, pequenas áreas de formação óssea (seta amarela) pode ser observada ao redor das partículas de biocerâmica. Nos períodos de 60 e 180 dias ocorre um aumento significativo na formação óssea (seta amarela).....	71
Figura 12 -	Imagens do volume do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	72
Figura 13 -	Gráfico da média e desvio padrão do volume do seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.....	73
Figura 14 -	Gráfico da média e desvio padrão da altura do seio maxilar preenchido (mm) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.....	75

-
- Figura 15 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal (seta preta). Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envoltas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por tecido medular (TM) e tecido conjuntivo (TC). Objetivas de 10x e 40x. HE **77**
- Figura 16 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE **79**
- Figura 17 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC), tecido medular (TM) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE..... **81**

-
- Figura 18 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envoltas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por medula óssea amarela (TM). Objetivas de 10x e 40x. HE **85**
- Figura 19 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos na sua maior parte por tecido medular (TM), em menor parte por tecido conjuntivo (TC) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE **87**
- Figura 20 -** Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC) e tecido medular (TM). Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE **89**

Figura 21 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envoltas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por grande quantidade de medula óssea amarela (TM). Objetivas de 10x e 40x. HE	93
Figura 22 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos medula óssea (TM). Células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE	95
Figura 23 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos por tecido medular (TM). Células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE	97
Figura 24 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de material no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	100

Figura 25 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de material no seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	102
Figura 26 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	103
Figura 27 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	105
Figura 28 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	106
Figura 29 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	108
Figura 30 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	110
Figura 31 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de medula óssea no seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	111
Figura 32 - Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas sobre o enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.....	113
Figura 33 - Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos no tecido ósseo do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Média e desvio padrão da massa corporal (Kg) dos animais no dia da cirurgia (MCi) e ao término de cada período experimental (MCf). Comparação entre períodos ANOVA um critério e comparação entre a MCi e MCf pelo teste “t” pareado.....	67
Tabela 2 -	Média e desvio padrão do NPla-ST ($\times 10^3/\text{mm}^3$), NPla-PRP ($\times 10^3/\text{mm}^3$) e NPla-PPP ($\times 10^3/\text{mm}^3$) e o percentual de aumento de plaquetas no PRP em relação ao sangue total (%). Comparação entre períodos One-way ANOVA.....	68
Tabela 3 -	Comparação entre o volume do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios.....	73
Tabela 4 -	Média e desvio-padrão do volume do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material	73
Tabela 5 -	Comparação entre a altura do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios.....	74
Tabela 6 -	Média e desvio-padrão da altura do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material	74
Tabela 7 -	Comparação entre o percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios.....	99

Tabela 8 -	Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	100
Tabela 9 -	Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar tratado com SG ou PRP nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e tratamento	100
Tabela 10 -	Comparação entre o volume de enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	101
Tabela 11 -	Média e desvio-padrão do volume de enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	101
Tabela 12 -	Comparação entre o percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	103
Tabela 13 -	Média e desvio-padrão do percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material	103
Tabela 14 -	Comparação entre o volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	104
Tabela 15 -	Média e desvio-padrão do volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	104

Tabela 16 - Comparação entre o percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	106
Tabela 17 - Média e desvio-padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento	106
Tabela 18 - Comparação entre o volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	107
Tabela 19 - Média e desvio-padrão do volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	107
Tabela 20 - Comparação entre o percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	109
Tabela 21 - Média e desvio-padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	109
Tabela 22 - Média e desvio-padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar tratado com SG ou PRP nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e tratamento	109

Tabela 23 - Comparação entre o volume de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	111
Tabela 24 - Média e desvio-padrão do volume de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	111
Tabela 25 - Comparação entre o número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas na superfície do enxerto/biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios.....	112
Tabela 26 - Média e desvio-padrão do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas na superfície do enxerto/biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento ..	112
Tabela 27 - Comparação entre o número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios	113
Tabela 28 - Média e desvio-padrão do número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μA	microampère
μm	micrômetro
μL	microlitro
ANOVA	análise de variância
AUT	enxerto autógeno
B	biomaterial
BCP	<i>biphasic calcium phosphate</i> (fosfato de cálcio bifásico)
BIC	<i>bone-implant contact</i> (contato osso-implante)
BMP-7	<i>bone morphogenetic protein 7</i> (proteína morfogenética óssea 7)
CGM	células gigantes multinucleadas
cm	centímetro
CV	células vermelhas
DFDBA	<i>demineralized freeze-dried bone allograft</i> (enxerto alogênico ósseo desmineralizado criodissecado)
EDTA	<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> (ácido etilenodiamino tetra-acético)
FDBA	<i>freeze dried bone allograft</i> (enxerto alogênico ósseo criodissecado)
g	aceleração da gravidade
HA	hidroxiapatita
HA/TCP	mistura de hidroxiapatita e fosfato tricálcio
HA/TCPp	mistura de hidroxiapatita e fosfato tricálcio porosa
HE	hematoxilina e eosina
i	cada constituinte
kg	kilograma
kV	quilovolt
LP-PRP	<i>leukocyte-poor platelet-rich plasma</i> (plasma rico em plaquetas pobre em leucócitos)
M	molar

MCf	massa corporal final
MCi	massa corporal inicial
mg	miligrama
MicroCT	<i>micro-computed tomography</i> (microtomografia computadorizada)
mL	mililitro
mm	milímetro
mm²	milímetro quadrado
mm³	milímetro cúbico
Nm	número de imagens de secções de osteoclastos
NPla-PPP	número total de plaquetas no PPP
NPla-PRP	número total de plaquetas no PRP
NPla-ST	número total de plaquetas no sangue total
P	loja cirúrgica inteira
PDGF	<i>platelet-derived growth factor</i> (fator de crescimento derivado de plaquetas)
pi	número de pontos
PPP	plasma pobre em plaquetas
PRP	plasma rico em plaquetas
PVP-I	tópico: solução aquosa de polivinilpirrolidona
rhTF	fator tecidual recombinante humano
rpm	rotações por minuto
SG	sangue
ST	sangue total
TC	tecido conjuntivo
TCP	fosfato tricálcio
TGF	<i>transforming growth factor</i> (fator de crescimento e transformação)
TM	tecido medular
TO	tecido ósseo
VT	volume total
Vti	volume total de cada estrutura
Vvi	densidade de volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1	LEVANTAMENTO DE SEIO MAXILAR EM HUMANOS	33
2.2	LEVANTAMENTO DE SEIO MAXILAR EM ANIMAIS	40
3	PROPOSIÇÃO	45
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	MATERIAIS DE PREENCHIMENTO UTILIZADOS	51
4.2	PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)	52
4.2.1	Protocolo de obtenção do PRP	52
4.2.2	Contagem das plaquetas no sangue total, PRP e PPP	53
4.3	SELEÇÃO DOS ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	54
4.3.1	Intervenções cirúrgicas	55
4.3.2	Cuidados pós-operatório	57
4.3.3	Sacrifício dos animais e obtenção das peças	58
4.4	MICROTOMOGRFIA COMPUTADORIZADA	58
4.4.1	Obtenção das imagens e reconstrução digital	58
4.4.2	Análises bidimensionais e tridimensionais de cada seio maxilar	58
4.4.2.1	<i>Análise da altura do seio maxilar (2D)</i>	58
4.4.2.2	<i>Análise volumétrica (3D)</i>	60
4.5	PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	61
4.6	ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA	62
4.7	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	62
4.7.1	Casualização dos cortes histológicos	62
4.7.2	Avaliação morfométrica da densidade de volume	63
4.7.3	Avaliação do volume total de cada estrutura	63
4.7.4	Determinação do número de osteoclastos por mm² no tecido ósseo neoformado	64
4.7.5	Determinação do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas (CGM) por mm² no biomaterial/enxerto	64
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	64
5	RESULTADOS	65

5.1	MASSA CORPORAL	67
5.2	NÚMERO TOTAL DE PLAQUETAS	67
5.3	AVALIAÇÃO MICROTOMOGRÁFICA	68
5.3.1	Padrão das imagens obtidas ao MicroCT nos diferentes períodos e grupos experimentais	68
5.3.2	Volume total do seio maxilar preenchido com os diferentes biomateriais e enxerto	71
5.3.3	Altura da área reconstruída com os diferentes biomateriais e enxerto	74
5.4	RESULTADOS HISTOLÓGICOS.....	75
5.4.1	Período de 30 dias	75
5.4.2	Período de 60 dias	83
5.4.3	Período de 180 dias	91
5.5	RESULTADOS HISTOMORFOMÉTRICOS.....	99
5.5.1	Densidade de volume de enxerto/biomaterial	99
5.5.2	Volume total de enxerto/biomaterial	101
5.5.3	Densidade de volume de tecido conjuntivo.....	102
5.5.4	Volume total de tecido conjuntivo	104
5.5.5	Densidade de volume de tecido ósseo	105
5.5.6	Volume de tecido ósseo	107
5.5.7	Densidade de volume de medula óssea.....	108
5.5.8	Volume de medula óssea	110
5.6	RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE NÚMERO DE OSTEOCLASTOS/CGM.....	112
6	DISCUSSÃO	115
6.1	METODOLOGIA UTILIZADA	117
6.2	REPARO ÓSSEO E VOLUME SINUSAL NOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS	121
7	CONCLUSÕES	131
	REFERÊNCIAS	135
	ANEXO	155

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Um desafio na reabilitação oral com o uso de implantes dentários metálicos é a deficiência na quantidade de osso no rebordo alveolar provocada pela perda precoce dos dentes e falta de estímulo funcional no local, além de ser acentuada pela colocação de próteses mal adaptadas (UEDA; TOHNAI; NAKAI, 2001).

Particularmente na região posterior da maxila este problema é mais evidente pela proximidade dos seios maxilares, pois a perda precoce dos molares pode resultar em uma redução do volume ósseo vertical e horizontal além de outras condições anatômicas desfavoráveis para as cirurgias (YILDIRIM et al., 2001). Assim, a perda óssea mais proeminente nessa região, ocorre pelo aumento da atividade osteoclástica tanto junto a membrana sinusal devido a pressão no interior do seio maxilar promovendo a sua expansão, como junto ao osso alveolar devido a extração dentária (CHANAVAZ, 1990).

Atualmente, para corrigir esse tipo de defeito ósseo em maior ou menor extensão, cirurgias reconstrutivas, como a de levantamento do assoalho do seio maxilar, com o uso de enxertos ósseos são rotineiramente realizadas previamente à instalação de implantes dentários (BOYNE et al., 2005; NKENKE; STELZLE, 2009). Nesse sentido, os enxertos podem ser autógeno quando o osso é removido de sítio extra ou intraoral do próprio paciente; homogêneo ou alógeno quando proveniente de outro indivíduo da mesma espécie; e heterógeno ou xenógeno se obtidos de outras espécies.

Dentre esses tipos de enxertos, o osso autógeno é considerado o melhor, ou seja, o padrão ouro para o tratamento de defeitos ósseos (PROUSSAEFS et al., 2002; DEL FABBRO et al., 2004; BORONAT-LOPEZ et al., 2009), pois apresenta concomitantemente as propriedades de osteogênese, osteoindução e osteocondução (TONG et al., 1998; PEJRONE et al., 2002; GALINDO-MORENO et al., 2007; OPPENHEIMER; TONG; BUCHMAN, 2008; NKENKE; STELZLE, 2009).

Convém salientar, que apesar das suas propriedades biológicas ideais esse tipo de enxerto possui também algumas limitações e/ou desvantagens: 1) na utilização de osso autógeno de origem intraoral existe a necessidade de intervenções cirúrgicas, com aumento da morbidade nos sítios doadores, além da

limitação na quantidade de osso autógeno (RAGHOEBAR et al., 2001; JOSHI, 2004; SCHIMMING; SCHMELZEISEN, 2004; RAGHOEBAR et al., 2007); 2) no uso de osso de áreas doadoras extraorais, há um aumento significativo no custo devido à necessidade de internação hospitalar, bem como uma maior morbidade na região doadora devido a extensão do defeito, com propensão de ocorrência de outras complicações no local (YOUNGER; CHAPMAN, 1989; UEDA; TOHNAI; NAKAI, 2001); e 3) um outro fato importante salientado por alguns é que já durante o período de reparo da ferida ocorre uma reabsorção substancial do enxerto autógeno (HATANO; SHIMIZU; OUYA, 2004; OHYA et al., 2005; SUN et al., 2008), com diminuição significativa no volume total da região reparada. Em relação a esse último fato a origem embriológica da área doadora do enxerto estaria relacionada ao grau dessa reabsorção (ZINS; WHITAKER, 1983), sendo os obtidos da calvária apresentando menor taxa de reabsorção comparados aos obtidos da crista ilíaca (DONOVAN et al., 1993; JOHANSSON et al., 2001; SMOLKA et al., 2006; CRESPI et al., 2007).

Visando contornar estes inconvenientes, nas últimas décadas, as pesquisas vêm buscando o desenvolvimento de biomateriais ósseo-substitutos com propriedades osteogênica e biomecânica ideais para serem utilizados em cirurgias ortopédicas e maxilofaciais (FUGAZZOTTO; VLASSIS, 1998; VALENTINI; ABENSUR, 2003; KURKCU et al., 2012). Especialmente no caso de cirurgias de levantamento do assoalho do seio maxilar quando o material é colocado logo abaixo da membrana sinusal buscando aumentar a produção e o volume ósseo nessa região, a estrutura do enxerto após o processo de reparo deve promover uma microarquitetura que permita uma ancoragem suficiente do implante através de sua osteointegração (KUHL et al., 2013).

O uso de cerâmicas a base fosfato de cálcio sintéticos [hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcio (TCP) ou a mistura de ambos (HA/TCP)] tem sido uma destas alternativas (WAGNER et al., 2012). Essas biocerâmicas apresentam: 1) boa biocompatibilidade e se ligam diretamente ao osso sem a interposição de qualquer outro tipo de tecido (GROSS; MULLER-MAI; VOIGT, 1990); 2) similaridade química com a fase mineral do tecido ósseo, sendo capazes de participar do equilíbrio cálcio/fosfato no organismo (KURASHINA et al., 1997); 3) excelente bioatividade e osteocondutividade (DACULSI et al., 2003), favorecendo o crescimento ósseo nos

locais em que se encontram; e 4) além disso, reagem com os fluídos fisiológicos ligando-se fortemente ao tecido duro e em alguns casos aos tecidos moles (BOCCACCINI; BLAKER, 2005).

No entanto, os produtos comerciais caracterizados como sendo hidroxiapatita (HA) ou fosfato tricálcio (TCP) puros apresentam características favoráveis diferentes entre si (NERY et al., 1992). A HA exibe uma biocompatibilidade maior (AOKI, 1994) e isso é explicado pelo fato do fosfato de cálcio mais abundante no tecido ósseo ser aquele cuja composição química e estequiometria se aproxima da hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (BUSER; DAHLIN; SCHENK, 1996), mas a sua reabsorção é muito lenta (NORDSTROM; KARLSSON, 1990). Por outro lado, o TCP (β - $Ca_3(PO_4)_2$), embora seja menos biocompatível, tem um grau e velocidade de dissolução e degradação maior (DE GROOT, 1983; KOHRI et al., 1993). Diante deste quadro, muitos pesquisadores têm trabalhado no desenvolvimento de cerâmicas bifásicas, ou seja, contendo na sua estrutura a associação da HA com o TCP, na tentativa de associar as boas qualidades de ambos. Assim, o compósito bifásico resultante dessa associação proporciona um tempo de reabsorção mais lento da porção HA, permitindo dessa forma atuar como um suporte para a deposição de células, e um tempo de reabsorção mais rápido da porção TCP, disponibilizando maior quantidade de poros que favorecem sobremaneira o crescimento ósseo.

Nesse sentido, estudos realizados utilizando produtos cerâmicos bifásicos constituídos de HA/TCP, em uma proporção de 70/30 ou 60/40, têm demonstrado uma eficiência bem maior no reparo de defeitos ósseos do que a utilização de produtos contendo isoladamente HA ou TCP puros (NERY et al., 1992; KOHRI et al., 1993).

Por outro lado, uma característica muito importante para a atuação dos materiais cerâmicos é a presença de porosidades nas suas partículas. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material isoladamente, a existência de poros com dimensões adequadas podem favorecer deposição de tecido mineralizado no interior das porosidades do material o que aumenta substancialmente a sua resistência in vivo (FERNANDES; LARANJEIRAS, 2000). Trabalhos recentes em nosso laboratório utilizando uma nova cerâmica bifásica HA/TCP porosa na proporção 70:30 tem demonstrado resultados promissores

quanto a sua utilização como material osteocondutor no tratamento de defeitos ósseos (CESTARI, 2010).

Atualmente o biomaterial mais utilizado em cirurgias ósseas reconstrutivas é a matriz óssea inorgânica de origem bovina ou osso inorgânico, conhecida comercialmente por Bio-Oss[®] (CORINALDESI et al., 2013). Este material é uma matriz óssea mineral produzida pela remoção a altas temperaturas de todos componentes orgânicos do osso bovino medular sendo física e quimicamente comparável à matriz mineral do osso humano. Atua devido as suas propriedades osteocondutoras permitindo a integração do osso neoformado com a superfície de suas partículas (AABOE et al., 2000; ARTZI; TAL; DAYAN, 2001; CARMAGNOLA; ADRIAENS; BERGLUNDH, 2003; CORINALDESI et al., 2013). Segundo alguns pesquisadores, além de fornecer uma estrutura de suporte, este material também promove uma alta liberação de cálcio (HOEXTER, 2002) e fósforo, essenciais para a neoformação óssea. Devido ao enorme sucesso na sua utilização, esse biomaterial tem sido atualmente considerado o “padrão ouro” entre os materiais ósseo-substitutos. O Bio-Oss[®] tem sido testado, em diversos modelos animais e de defeitos, como por exemplo, na elevação de seio maxilar, demonstrando a sua alta aplicabilidade (SCHLEGEL et al., 2003; LAMBERT et al., 2011; CHAVES et al., 2012; JENSEN et al., 2012; LAMBERT et al., 2013), que tem sido confirmada pelos inúmeros relatos clínicos nas diversas áreas da odontologia (RICKERT et al., 2011; PETTINICCHIO et al., 2012; SCHMITT et al., 2013).

Outro assunto que tem chamado atenção nessa área são os estudos utilizando os fatores de crescimento (URIST, 1992), como substâncias auxiliares no processo de reparação dos tecidos. Estas substâncias são produzidas por vários tipos celulares especialmente durante o desenvolvimento e o reparo tecidual e atuam promovendo a diferenciação, o crescimento e a proliferação celular, e seu uso como forma de modular os eventos celulares no reparo do tecido ósseo tem sido extensivamente relatado na literatura (CENTRELLA; MCCARTHY; CANALIS, 1989; HELDIN; WESTERMARK, 1999; ALBERTS et al., 2004).

Entre esses relatos, chamam atenção os relativos ao fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento e transformação (TGF), fatores produzidos e liberados pelas plaquetas, e descritos como capazes de atuarem como mitógenos para as células do tecido ósseo, favorecendo o processo

de osteogênese e osteointegração dos enxertos aos implantes (CENTRELLA; MCCARTHY; CANALIS, 1989; OSTMAN et al., 1992; GRAVES; COCHRAN, 1994; SUMNER et al., 1995; MARX et al., 1998; ALBERTS et al., 2004).

Uma opção segura e simples de obter o PDGF e TGF é através da técnica de dupla centrifugação do plasma rico em plaquetas (PRP). O plasma autólogo rico em plaquetas é um hemoderivado atóxico, não imunorreativo, obtido através de técnicas simplificadas de sequestração e concentração de plaquetas após múltiplas centrifugações de amostras sanguíneas. É descrito como um método de baixo custo, fácil obtenção, seguro e de aplicação clínica muito factível (MARX et al., 1998; ANITUA, 1999; LOZANO et al., 1999; OKUDA et al., 2003).

Um dos maiores problemas na técnica cirúrgica de levantamento do assoalho do seio maxilar é o longo tempo de cicatrização. Uma das razões para utilização do PRP associado com materiais aloplásticos é a redução desse tempo em cerca de 50% (BOYAPATI; WANG, 2006). Vários benefícios foram observados quando da aplicação do PRP juntamente com o enxerto ósseo para a elevação do seio maxilar, como: 1) melhora na manipulação das partículas de enxerto, 2) facilitação na inserção do material particulado dentro do seio maxilar, 3) melhora na velocidade de formação e qualidade do osso neoformado, 4) maior vascularização, 5) aumento na regeneração óssea, 6) aceleração da cicatrização dos tecidos moles, 7) efeitos mitogênicos, 8) fonte de fatores de crescimento, 9) selante biológico natural, e 10) ausência de riscos de transmissão de doenças (BOYAPATI; WANG, 2006). Uma meta-análise realizada a partir de 8 estudos clínicos controlados indicou que quando usado associado ao enxerto ósseo autógeno para elevação sinusal, o PRP reduziu o tempo total de cicatrização e promoveu na fase inicial, um aumento da formação óssea, mas não apresentou efeito significativo em relação à sobrevivência do enxerto no longo prazo (BAE; KIM; MYUNG, 2011). Apesar dos benefícios do uso do PRP relatados por alguns (WILTFANG et al., 2003; CONSOLO et al., 2007; INCHINGOLO et al., 2012; KHAIRY et al., 2013), outros salientam a existência de controvérsias sobre os efeitos do PRP na regeneração óssea (CAMARGO et al., 2002; LEKOVIC et al., 2003; FENNIS; STOELINGA; JANSEN, 2004; KASSOLIS; REYNOLDS, 2005; NIKOLIDAKIS et al., 2006), com algumas publicações reportando pouco ou nenhum efeito benéfico na sua utilização (FROUM

et al., 2002; MONOV et al., 2005; RAGHOEBAR et al., 2005; PLACHOKOVA et al., 2006; THOR et al., 2007).

No sentido de dirimir essas dúvidas, inúmeras investigações com o PRP associado a diferentes tipos de substitutos ósseos têm sido desenvolvidos pelos pesquisadores em estudos em humanos (MAZOR et al., 2004; KASSOLIS; REYNOLDS, 2005; THOR et al., 2005; CONSOLO et al., 2007; SCHAAF et al., 2008b; TORRES et al., 2009; STENPORT; ORTORP; THOR, 2011); em modelos experimentais com animais (ROLDAN et al., 2004; WILTFANG et al., 2004; ZHANG; YUAN; ZENG, 2004; BUTTERFIELD et al., 2005; FENNIS; STOELINGA; JANSEN, 2005; JUNG et al., 2005; DALLARI et al., 2006; SCHLEGEL et al., 2007; MESSORA et al., 2008; ZHANG et al., 2011); e em estudos *in vitro* (EFEOGLU; AKCAY; ERTURK, 2004; KANNO et al., 2005; NAGATA et al., 2010b).

Apesar dos diversos tipos de materiais disponíveis, a eficácia de cada um deles em termos de formação óssea e taxa de reabsorção tem sido raramente comparadas. Além disso, a associação do PRP à cerâmica de HA/TCPp em cirurgias de levantamento de seio maxilar não tem sido comparada na literatura. Com o interesse de analisar detalhadamente o comportamento biológico da HA/TCPp associada ao sangue ou ao PRP em cirurgia de levantamento de seio maxilar, considerou-se interessante a proposta de compará-la com o Bio-Oss e enxerto autógeno, ambos consagrados na literatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Complementando o que já foi apresentado na introdução, no presente capítulo far-se-á uma revisão dos trabalhos relacionados ao levantamento de seio maxilar utilizando osso autógeno e/ou biomateriais ósseo substitutos associados ou não ao PRP.

Diversos trabalhos têm avaliado a utilização do PRP associado a materiais de preenchimento em cirurgias de levantamento de seio maxilar (FURST et al., 2003; JAKSE et al., 2003; WILTFANG et al., 2003; MAZOR et al., 2004; RÓLDAN et al., 2004; KASSOLIS; REYNOLDS, 2005; INCHINGOLO et al., 2012). A maioria dos autores concorda que o PRP apresenta características adesivas biológicas que facilitam a manipulação do enxerto ósseo ou biomaterial ósseo substituto, especialmente no levantamento sinusal, por facilitar a inserção do material (FURST et al., 2003; JAKSE et al., 2003; MAZOR et al., 2004; STEIGMANN; GARG, 2005). No entanto, o que ainda gera alguma dúvida é se o PRP melhora a quantidade e a qualidade de osso neoformado e se acelera o processo de reparo ósseo após a elevação sinusal. Assim, a maioria dos trabalhos tem perseguido esclarecer esses pontos.

2.1 LEVANTAMENTO DE SEIO MAXILAR EM HUMANOS

Philippart et al. (2003) submeteram 18 pacientes a cirurgia de levantamento de assoalho de seio maxilar, utilizando uma “pasta óssea” constituída por PRP, fator tecidual recombinante humano (rhTF), enxerto autógeno obtido de calvária e tetraciclina. Cinco a seis meses após a enxertia, uma amostra de osso foi removida no momento da colocação de cada implante metálico. A análise histológica das amostras mostrou a presença de tecido conjuntivo vascularizado e muitas espículas de osso lamelar, contendo osteócitos e circundadas por osteoblastos. Os autores concluíram que a ampliação da utilização deste protocolo poderia facilitar o processo de reparação, como também a segurança do paciente e o conforto do cirurgião.

Thor et al. (2007) avaliaram o enxerto autógeno obtido de crista ilíaca e o PRP no levantamento sinusal. Onze pacientes foram submetidos à cirurgia bilateral, sendo que de um lado foi aplicado enxerto autógeno e PRP e no lado oposto

somente osso autógeno. Biópsias foram obtidas após 3 e 6 meses com o intuito de avaliar o efeito do PRP no reparo a curto e longo prazo. Os resultados histológicos mostraram que após 3 meses da cirurgia foi formado significativamente mais osso no lado tratado com osso autógeno + PRP comparado ao lado controle tratado somente com enxerto autógeno. Após 6 meses este efeito não foi mais observado. Esses resultados estão de acordo com os de estudos anteriores que mostraram que o PRP apesar de apresentar pequena capacidade regenerativa, pode influenciar positivamente as fases iniciais do processo de reparo.

Estudo semelhante realizado por Khairy et al. (2013) em 15 pacientes que tiveram os seios maxilares elevados com enxerto autógeno com ou sem PRP observaram que o PRP não melhorou significativamente a densidade óssea 3 meses após o enxerto, mas que pode estar relacionada com a maior densidade óssea observada aos 6 meses.

Com o objetivo de avaliar as mudanças na altura óssea alveolar através de análises radiográficas Kumar et al. (2015) realizaram levantamento de seio maxilar em 50 pacientes. Estes foram divididos em dois grupos (n=25), um recebeu enxerto autógeno obtido do ramo mandibular associado ao PRP enquanto o outro grupo recebeu enxerto autógeno associado ao sangue venoso. Radiografias panorâmicas foram realizadas antes da cirurgia, imediatamente após, 6 meses e 1 ano após a cirurgia. Os resultados deste estudo revelaram que ambos os grupos apresentaram aumento na altura óssea alveolar após a elevação sinusal e não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados entre si 1 ano após a cirurgia.

Mazor et al. (2004) utilizaram enxerto autógeno, Bio-Oss® e PRP para o tratamento de 105 pacientes que necessitavam de levantamento unilateral do seio maxilar. Todos os seios foram elevados com uma mistura formada por 30% a 40% de enxerto autógeno, 60% a 70% de Bio-Oss® e PRP. Simultaneamente foram inseridos um total de 276 implantes nesses pacientes, e o período de acompanhamento variou de 16 a 32 meses. Os implantes foram expostos após 6 meses, observando-se que a região não apresentava perda de altura óssea. Por outro lado, os pesquisadores verificaram que levantamentos de seios maxilares realizados anteriormente, sem a associação do PRP, a média de tempo necessário para a exposição de implantes foi de 9 meses. Assim, neste estudo, eles mostraram

que havia uma redução de 3 meses no período necessário para exposição, com o uso do PRP. Mas esse efeito do PRP descrito aqui deve ser considerado com cautela, visto que o modelo utilizado na pesquisa acima não tinha grupo controle.

Galindo-Moreno et al. (2007) utilizaram a mesma combinação de enxerto autógeno, Bio-Oss® e PRP no levantamento de seio maxilar em 70 pacientes, sendo 263 implantes instalados imediatamente ou após 6-8 meses. Foi observado praticamente 100% de sucesso nos implantes. As biópsias obtidas de 16 seios maxilares revelaram presença de 34,0% de tecido ósseo, 49,6% de tecido conjuntivo e 16,4% de biomaterial remanescente, sendo que as partículas de biomaterial estavam incorporadas ao novo osso formado. Levando em consideração as limitações apresentadas pelo estudo, os autores concluíram que essa combinação pode ser usada com sucesso em procedimentos de levantamento de seio maxilar.

Inchingolo et al. (2012) utilizaram uma mistura de enxerto autógeno, matriz orgânica óssea e matriz inorgânica associados ou não ao PRP em 127 pacientes. Análises clínicas e radiográficas foram realizadas 6 meses após a realização da elevação sinusal. Após a instalação dos implantes, 63 pacientes tratados com PRP apresentaram melhores resultados em relação a integração óssea, em comparação com os outros 64 pacientes que não receberam PRP.

Mendonca-Caridad et al. (2013) avaliaram a associação do enxerto autógeno, PRP e β -TCP na elevação sinusal em 33 pacientes com instalação simultânea de implantes dentários. Sendo observada alta taxa de sucesso (94,2%) e sobrevivência (96,5%) dos implantes. Os autores concluíram que a utilização desta combinação de materiais com PRP na elevação sinusal com a instalação imediata de implantes, apresenta baixa morbidade cirúrgica e permite um menor tempo para a reparação óssea.

Rodriguez et al. (2003) investigaram a aplicabilidade clínica do Bio-Oss® associado ao PRP em elevação de seio maxilar de humanos com a instalação simultânea de implantes. Foram realizados 24 levantamentos de seios maxilares em 15 pacientes, sendo 70 implantes simultaneamente inseridos nas áreas elevadas. Após 4 meses foi obtido uma biópsia do seio maxilar de um paciente e análise tomográfica realizada em 3 pacientes. A taxa de sucesso dos implantes foi alta (92,9%) e a biópsia mostrou a formação de novo osso em íntimo contato com as partículas do biomaterial. A densidade óssea da área elevada foi similar ou maior

que a do tecido ósseo nativo na região vizinha. Os pesquisadores concluíram que o tratamento usando PRP combinado com Bio-Oss[®] é efetivo na elevação sinusal com simultânea inserção de implantes dentários. No entanto, a confiabilidade deste estudo é comprometida pelo limitado grupo de pacientes, uma única biópsia óssea e ausência de grupo controle para comparação dos resultados.

Estudos posteriores com o Bio-Oss[®] e o PRP, incluindo agora os grupos controle, foram realizados (TORRES et al., 2009; YILMAZ et al., 2013). Assim, Torres et al. (2009) realizaram um estudo clínico randomizado em 87 pacientes com 144 procedimentos de elevação sinusal, com o objetivo de verificar se a associação do PRP melhorava ou não os resultados da elevação sinusal com o uso do Bio-Oss[®]. Um total de 286 implantes foram instalados e a sua evolução acompanhada por um período de 24 meses. Para as análises histológica e histomorfométrica um estudo paralelo foi realizado em 5 pacientes edêntulos com a maxila simétrica severamente reabsorvida. Nestes pacientes foi realizada elevação sinusal bilateral, sendo que um lado foi preenchido com Bio-Oss[®] e PRP e o outro somente com Bio-Oss[®] e após 6 meses biópsias ósseas foram obtidas. No estudo com 87 pacientes a taxa de sucesso dos implantes durante o período de monitoramento foi alta nos dois grupos sem diferença significativa entre os sítios. No entanto, as análises histológica e histomorfométrica revelaram que o aumento ósseo foi estatisticamente significativo maior nos locais tratados com Bio-Oss[®] e PRP. Portanto, os autores concluíram que o PRP não é um fator determinante para a sobrevivência dos implantes, mas que esse estudo revelou que o PRP aumenta as propriedades osteocondutivas do Bio-Oss[®] aumentando com isso o volume de tecido ósseo formado.

Seguindo a mesma linha de estudo Yilmax et al. (2013) realizaram a elevação sinusal bilateral em 10 pacientes com a utilização de Bio-Oss[®] e PRP em um lado e Bio-Oss[®] puro no outro. Após 8 meses, durante a instalação dos implantes biópsias ósseas foram obtidas. As análises radiográfica e histológica mostraram altura óssea satisfatória em ambos os grupos, porém no grupo tratado com PRP uma maior formação óssea com presença de um osso mais maduro.

Del Fabbro et al. (2013) realizaram um estudo randomizado de levantamento de seio maxilar usando Bio-Oss (grupo controle) e Bio-Oss + PRP (grupo experimental) com o intuito de avaliar o possível impacto do PRP favorecendo a qualidade de vida dos pacientes nos períodos pós-operatórios. Assim, verificaram

que nos primeiros dias após a cirurgia, o grupo Bio-Oss + PRP exibiu significativamente menos dor, inchaço e hematoma, com substancial melhora nas atividades funcionais em comparação ao grupo controle. Com isso, os pesquisadores concluíram que o PRP na elevação sinusal tem efeitos benéficos na qualidade de vida do paciente nos períodos iniciais após as cirurgias.

Em um estudo comparativo entre os biomateriais ósseo-substitutos xenogênicos, os ossos inorgânicos Bio-Oss® e o OCS, ambos associados ao PRP, em levantamento de seio maxilar em 21 pacientes, com a colocação de implantes após 6-8 meses, Hieu et al. (2010) não observaram diferenças entre os dois biomateriais no período compreendido de 7 a 48 meses após a colocação das próteses.

Com o intuito de avaliar e comparar a quantidade de novo osso formado Taschieri et al. (2015) realizaram a elevação sinusal bilateral em 6 pacientes com a região posterior de maxila edêntula. Um lado foi preenchido com matriz óssea bovina + PRP (grupo experimental) e o lado oposto preenchido somente com a matriz óssea bovina (grupo controle). Seis meses após a cirurgia duas biópsias ósseas foram obtidas de cada paciente para realização de análises histológica e histomorfométrica. O valor médio de osso novo no grupo controle foi de 22,7%, enquanto no grupo experimental foi de 30,7%. A adição de PRP à matriz óssea bovina pode aumentar a formação óssea nos primeiros 6 meses após a elevação sinusal, no entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Kassolis e Reynolds (2005) publicaram os resultados obtidos em um estudo simples cego randomizado em 10 pacientes onde a elevação sinusal bilateral foi realizada com o intuito de comparar o *freeze dried bone allograft* (FDBA) + PRP e FDBA + membrana reabsorvível. Biópsias foram obtidas 4 e 5-6 meses após o enxerto quando da colocação dos implantes. A análise histomorfométrica mostrou uma porcentagem maior de tecido vital (osso e tecido conjuntivo) formado no grupo FDBA + PRP ($78,8\% \pm 8,3\%$) comparado ao grupo FDBA + membrana reabsorvível ($63,0\% \pm 15,7\%$), assim como uma menor quantidade de partículas de FDBA no primeiro grupo. Os autores concluíram que a associação de FDBA e PRP aumenta o nível de formação óssea em comparação a técnica usando FDBA e membrana reabsorvível em elevação sinusal.

O β -TCP em combinação com o PRP também foi testado para elevação do assoalho do seio maxilar. Wiltfang et al. (2003) em experimento randomizado realizaram 45 procedimentos de elevação sinusal em 39 pacientes, sendo 22 com β -TCP + PRP e 23 somente com β -TCP. Após 6 meses durante a colocação dos implantes foram coletados amostras de osso da região elevada. Foi observado um aumento pequeno na formação óssea, ao redor de 8-10%, quando o PRP foi adicionado ao β -TCP e a reabsorção do β -TCP não foi acelerada por essa adição.

O enxerto ósseo autógeno é o padrão ouro também para procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar devido a presença na sua estrutura de células com potencial osteogênico. No entanto, fatores como a quantidade limitada, a necessidade de uma segunda intervenção cirúrgica e a morbidade pós-operatória podem limitar seu uso. Devido a disponibilidade e custo-efetividade, o PRP tem sido testado como potencial substituto ao enxerto autógeno intraoral. Nesse sentido, Steigmann e Garg (2005) compararam o reparo ósseo em levantamento bilateral de seio maxilar com PRP de um lado e TCP com sangue do outro, em 20 pacientes com altura óssea residual de 7-9 mm. Simultaneamente implantes foram instalados. Após 6 meses, evidências radiográficas apontaram para a presença de osso maduro principalmente na região apical dos implantes. Os pesquisadores observaram ainda que o lado que recebeu somente o PRP estava constituído na sua maior parte por tecido ósseo, enquanto que o contralateral continuava a apresentar evidência radiopaca de material residual de preenchimento. Os autores concluíram que o uso do PRP sozinho em casos com altura residual de 7 mm pode produzir crescimento ósseo.

Diversos estudos têm sido publicados apontando os efeitos positivos do PRP no reparo ósseo após elevação sinusal (WILTFANG et al., 2003; KASSOLIS; REYNOLDS, 2005). No entanto, muitos são relatos de casos apresentando falta de um grupo controle (MAIORANA et al., 2003; PHILIPPART et al., 2003; RODRIGUEZ et al., 2003; MAZOR et al., 2004; GRAZIANI et al., 2005; PHILIPPART; DAUBIE; POCHET, 2005). Por outro lado, diversos estudos não mostraram efeitos positivos quando o PRP é associado com materiais de preenchimento na elevação sinusal (RAGHOEBAR et al., 2005; THOR et al., 2005; SCHAAF et al., 2008a, 2008b). Raghoobar et al. (2005) não encontraram efeitos benéficos quando o PRP foi combinado com enxerto ósseo autógeno obtido de crista ilíaca.

Schaaf et al. (2008a) avaliaram a influência do PRP em levantamento do seio maxilar utilizando enxerto ósseo autógeno obtido de crista ilíaca. Cirurgias foram realizadas em 53 pacientes com osso autógeno com e sem PRP e 4 meses após as cirurgias foram obtidas biópsias ósseas por ocasião da colocação dos implantes. A análise histomorfométrica das biópsias não indicou superioridade de nenhum dos tratamentos em termos de ganho de volume ósseo. Assim, os autores concluíram que o PRP não melhora o ganho de volume ósseo maxilar de maneira estatisticamente significativa. O mesmo grupo de pesquisadores avaliou ainda em 2008, a hipótese do PRP influenciar na densidade óssea da maxila (SCHAAF et al., 2008b). Com esse intuito 34 pacientes passaram pelos mesmos procedimentos do estudo anterior e também não observaram efeito positivo do PRP na densidade óssea avaliada por tomografia computadorizada (SCHAAF et al., 2008b).

Thor et al. (2005) avaliaram o efeito do PRP associado a enxerto autógeno de crista ilíaca em procedimentos de elevação do seio maxilar. Dezenove pacientes foram tratados com enxerto autógeno com e sem PRP, e 6 meses depois 152 implantes foram colocados sendo 76 em sítios com PRP e 76 em sítios sem PRP. O estudo mostrou alta taxa de sobrevivência dos implantes e condições estáveis do osso marginal após 1 ano tanto no grupo com PRP como no sem PRP. Não foram observados efeitos positivos no reparo ósseo com a adição do PRP, mas a manipulação das partículas de enxerto foi facilitada com essa adição.

Contrapondo a esses vários trabalhos não mostrando vantagens (RAGHOEBAR et al., 2005; THOR et al., 2005; SCHAAF et al., 2008a, 2008b) na utilização do PRP quando associado a materiais de preenchimento na elevação sinusal, diversos outros estudos clínicos em humanos têm sugerido benefícios na sua aplicação (WILTFANG et al., 2003; KASSOLIS; REYNOLDS, 2005; CONSOLO et al., 2007; THOR et al., 2007; INCHINGOLO et al., 2012, KHAIRY et al., 2013). Essas diferenças nos resultados poderiam estar ligadas às biópsias como fator limitante, já que a região central em que ela é obtida poderia não ser representativa do restante do volume elevado do seio maxilar. Cumpre salientar, que em modelos animais o volume total da região elevada do seio maxilar pode ser avaliado após o levantamento sinusal. Além disso, quando utilizado o modelo animal, diminui-se a influência de fatores como a saúde sistêmica e resposta individual. Deste modo, vários estudos em animais já foram realizados em elevação de assoalho do seio

maxilar utilizando vários tipos de enxertos, como o enxerto autógeno, aloenxertos e xenoenxertos, com e sem PRP.

2.2 LEVANTAMENTO DE SEIO MAXILAR EM ANIMAIS

Jakse et al. (2003) avaliaram o potencial regenerativo do PRP associado ao osso autógeno no levantamento de seio maxilar de ovelhas. A elevação sinusal foi realizada com osso autógeno associado ou não ao PRP e as biópsias foram obtidas após 4 e 12 semanas. A análise histológica mostrou resultados morfológicos similares tanto no grupo PRP quanto no controle. Morfometricamente o percentual de tecido ósseo entre os dois períodos avaliados foi de 26,1% para 46,9% no grupo controle comparado com 29,2% a 51,1% no grupo PRP, sem diferenças estatisticamente significantes entre grupos para cada período. Em um estudo similar realizado em coelhos, Butterfield et al. (2005) também não conseguiram encontrar ganhos no reparo ósseo com a adição do PRP no tratamento. Ambos os estudos utilizaram enxerto autógeno obtido da crista ilíaca, que apresenta um sério inconveniente, o seu significativo potencial de reabsorção (CARINCI et al., 2005). Assim, a ocorrência de uma grande reabsorção do enxerto poderia ter mascarado qualquer possível potencial regenerador do PRP.

Furst et al. (2003) compararam o osso inorgânico bovino (Bio-Oss[®]) puro ao associado com PRP na elevação sinusal bilateral em 12 minipigs. Simultaneamente implantes foram instalados nas regiões elevadas de ambos os lados. Quatro animais de cada grupo experimental foram sacrificados nos períodos de 3, 6 e 12 semanas e as peças histológicas processadas sem descalcificação. A seguir o contato osso-implante (BIC) foi mensurado nos cortes histológicos. Em termos de BIC cortical, o grupo PRP apresentou valores inferiores nos períodos de 3 e 6 semanas em relação ao grupo sem PRP, mas valores equivalentes no período de 12 semanas. Os autores concluíram que o grupo PRP não apresentou resultados significativamente melhores que o grupo controle. No entanto, esses resultados poderiam ser parcialmente explicados pelo período relativamente curto de avaliação.

Achados semelhantes foram relatados por Róldan et al. (2004) em levantamento de seio maxilar em minipigs, tratados com o Bio-Oss[®] + 15% em volume de osso autógeno associado ao PRP versus o Bio-Oss[®] + 15% de osso

autólogo associado à BMP-7, e colocação simultânea de implantes. A análise dos resultados obtidos mostrou que após 6 semanas da cirurgia, a altura média do seio maxilar preenchido no grupo BMP-7 foi de 8,3 mm contra 3,6 mm no grupo PRP. No entanto, em relação à formação óssea o grupo PRP apresentou 51,35% de tecido ósseo neoformado enquanto o grupo BMP-7 apresentou 33,1%, sem diferença estatisticamente significativa entre esses valores. Os pesquisadores concluíram que nas condições experimentais selecionadas o uso da BMP-7 apresentou melhor comportamento em relação à osseointegração dos implantes dentais e a altura de tecido ósseo neoformado comparado ao uso do PRP. Esse mesmo grupo de pesquisadores (ROLDAN et al., 2008) utilizando o mesmo modelo experimental avaliou a osseointegração de implantes dentários colocados simultaneamente ao levantamento sinusal realizado com 50% de enxerto autólogo e 50% de Bio-Oss® com a adição ou não de PRP. Os resultados obtidos mostraram que apesar do PRP possibilitar maior formação óssea na base do seio maxilar, ele não melhorou a osseointegração dos implantes e nem o crescimento ósseo ao redor das partículas de biomaterial.

Grageda et al. (2005) investigaram o efeito do PRP no enxerto alógeno em levantamento de seio maxilar de ovelhas. Foi realizado o levantamento sinusal bilateral em 10 ovelhas usando osso alógeno desmineralizado e liofilizado (DFDBA - *demineralized freeze-dried bone allograft*) combinado com *freeze-dried bone allograft* (FDBA) córtico-medular com ou sem PRP. Após os períodos de 3 e 6 meses, as análises histomorfométricas não mostraram diferença na área total de osso ou no percentual de tecido ósseo formado. Os pesquisadores concluíram que dentro das limitações do estudo, o PRP não promoveu aumento ou aceleração da regeneração óssea.

Devido ao fato do efeito do PRP poder ser dependente da presença de células vitais, a combinação de células tronco e PRP tem sido investigada em estudos animais. Ohya et al. (2005) comparou a regeneração óssea entre um método de engenharia tecidual usando células tronco mesenquimais e PRP. A elevação sinusal foi realizada em 18 coelhos, sendo que o seio maxilar esquerdo recebeu um complexo de células tronco e PRP e o seio direito uma mistura de enxerto autógeno particulado obtido da crista ilíaca e PRP. Os animais foram divididos em períodos de 2, 4 e 8 semanas. O volume ósseo após 8 semanas foi de

20,6% e 20,9%, respectivamente, para cada grupo. Da mesma forma, não houve diferença na altura do seio elevado entre os dois grupos em nenhum dos períodos avaliados. Os pesquisadores concluíram que a aplicação da mistura de células tronco mesenquimais/PRP pode ser um novo método promissor para a elevação sinusal comparado ao enxerto autógeno e PRP. Neste estudo, além do PRP atuar como fonte de fatores de crescimento ele desempenha um papel de transportador de células tronco. No entanto, o efeito coadjuvante do PRP não pode ser aqui comprovado pela ausência do controle negativo.

Klongnoi et al. (2006b) avaliaram em curto e longo prazo os efeitos do PRP associado ao osso autógeno ou fluoridroxiapatita (Algipore) no levantamento de seio maxilar em 16 minipigs. Três implantes dentários foram instalados simultaneamente em cada lado. Os períodos de avaliação foram de 1, 2, 8 e 12 meses pós-cirurgias. A adição de PRP resultou em menor formação óssea e menor contato osso-implante comparado com o enxerto autógeno ou Algipore puros, no entanto, sem diferenças estatisticamente significantes. Portanto, a aplicação de PRP não apresentou benefícios significantes no percentual de osso formado nem no contato osso-implante. No mesmo ano, Klongnoi et al. (2006a) utilizando o mesmo modelo anterior avaliaram o osso autógeno e vidro bioativo associados ou não ao PRP em levantamento de seio maxilar. Pode ser observado aumento no contato osso-implante em todos os grupos e períodos. No entanto, os resultados não mostraram efeito positivo significativo do PRP no contato osso-implante após a elevação sinusal em ambos os grupos.

Seguindo o mesmo modelo dos estudos anteriores, de levantamento de seio maxilar em minipigs, com inserção simultânea de implantes, Schlegel et al. (2007) avaliaram o enxerto autógeno e o Bio-Oss[®], ambos associados ou não ao PRP. Os achados microrradiográficos não mostraram diferenças significativas quando se utilizava o enxerto autógeno sozinho ou associado ao PRP. Usando o Bio-Oss[®] foi observado um efeito somente no período de 8 semanas no grupo PRP, mas esse efeito não foi estatisticamente significativo. Em todos os outros períodos não foram observados efeitos positivos relacionados ao PRP. Os pesquisadores concluíram que não foram observados influência significativa do PRP.

Trindade-Suedam et al. (2010) por meio de histomorfometria e análise radiográfica avaliaram os resultados do enxerto ósseo autógeno e vidro bioativo,

associados ou não ao *leukocyte-poor platelet-rich plasma* (LP-PRP) nos seios maxilares de 20 coelhos. O período de avaliação foi de 90 dias pós-cirurgia. A análise dos dados histomorfométricos e radiográficos mostrou que os melhores resultados foram alcançados com o osso autógeno, em relação ao vidro bioativo ou à associação destes materiais com o PRP. Concluíram que o osso autógeno deve ser considerado o material de escolha para a enxertia em cirurgias de levantamento de seio maxilar.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente a formação óssea sinusal após cirurgia de levantamento de seio maxilar em coelhos tratados com: 1) cerâmica bifásica HA/TCP porosa na proporção de 70:30, 2) osso inorgânico Bio-Oss[®] e 3) osso autógeno, todos associados ou não ao plasma rico em plaquetas (PRP) , durante os períodos experimentais de 30, 60 e 180 dias pós-cirurgia.

Os objetivos específicos são:

- avaliar pela microtomografia de raios X o volume, altura do seio maxilar e modificações no seu conteúdo de preenchimento (enxerto e osso neoformado) nos diferentes grupos e períodos experimentais;
- avaliar histologicamente a resposta tecidual e a formação óssea frente aos três tipos de materiais de preenchimento associados ao sangue ou ao PRP;
- avaliar histomorfometricamente a densidade de volume do enxerto/biomaterial, tecido conjuntivo, tecido ósseo neoformado e medula óssea nos diferentes grupos e períodos experimentais.
- avaliar indiretamente o volume total do enxerto/biomaterial, tecido conjuntivo, tecido ósseo neoformado e medula óssea nos diferentes grupos e períodos experimentais.

Com os dados obtidos pretende-se verificar:

- qual dos três materiais promoveu o maior ganho de formação óssea;
- e se a associação do PRP ao tratamento favoreceu a ação de algum dos materiais testados no ganho e manutenção de volume ósseo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS DE PREENCHIMENTO UTILIZADOS

Para a pesquisa, foram utilizados os seguintes materiais (Figura 1):

- osso autógeno córtico-medular triturado obtido da calvária dos animais;
- cerâmica bifásica de hidroxiapatita e fosfato tricálcio porosa na proporção 70/30 (HA/TCPp) – em desenvolvimento (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil, Lote 4052380, com granulação 0,5-0,75 mm);
- matriz óssea bovina inorgânica (desproteínizada a 300°C) – Bio-Oss® (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suíça, Lote 00120428 granulação de 0,25-1,0 mm);
- e membrana de osso cortical bovino reabsorvível – Gen-Derm® (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil, com registro ANVISA nº 103.455.00007, Lote: 4076638), para a cobertura do acesso ósseo de cada seio.

Figura 1 - Enxerto e biomateriais utilizados no volume de 0,2 mL

4.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)

4.2.1 Protocolo de obtenção do PRP

Após anestesia geral, foi realizada a punção cardíaca utilizando-se uma seringa de 20 mL acoplada a agulha 30 X 0,80 mm, obtendo-se 11 mL de sangue de cada animal. Deste volume, 2 mL do sangue foi transferido para um tubo contendo 3,6 mg de EDTA K₂ (BD Vacumtainer Ref 367841) e 9 mL foi transferido igualmente para dois tubos de vidro estéreis contendo citrato de sódio tamponado a 0,105 M (BD Vacumtainer Ref 369714). A preparação do PRP foi realizada por um único profissional com paramentação cirúrgica (avental, gorro, máscara e luvas e óculos) de acordo com as recomendações feitas por Marx (2004).

A obtenção do PRP foi realizada por centrifugação do sangue de acordo com o protocolo utilizado por Suaid et al. (2008). A separação celular dos elementos do sangue coletado foi feita por uma primeira centrifugação, utilizando-se uma centrífuga laboratorial (Modelo 80-2B, CentriBio). Os tubos (Figura 2A) foram centrifugados a 200 g (1200 rpm) por 10 minutos resultando em três componentes básicos: células vermelhas do sangue (CV) (fundo do tubo), PRP (meio do tubo) e plasma pobre em plaquetas (PPP) (parte superior do tubo) (Figura 2B). A seguir com o auxílio de uma pipeta a parte superior do tubo contendo o plasma e os leucócitos (2 mL) foi separada da parte inferior, contendo as células vermelhas sanguíneas, o conteúdo pipetado foi então transferido para um tubo de plástico para soro (BD Vacumtainer Ref 367812), sem anticoagulante, para uma segunda centrifugação a 200 g (1200 rpm) por 15 minutos (Figura 2C) separando todo o PPP da substância remanescente corresponde ao PRP (cerca de 0,5 mL) (Figura 2D). O PRP foi então coletado com o auxílio de uma micropipeta de 1000 µL e transferido para um tubo estéril contendo o biomaterial onde foi acrescentado 0,06 mL de solução de cloreto de cálcio a 10% na proporção de 1:8 (Figura 2E). O tubo foi levado ao banho-maria a 37°C, por cerca de 10 minutos até que ocorresse a geleificação (Figura 2F) e o conteúdo pudesse ser aplicado no seio maxilar.

Figura 2 - A- Sangue total; B- Após a primeira centrifugação: células vermelhas do sangue (CV) (fundo do tubo), PRP (meio do tubo) e plasma pobre em plaquetas (PPP) (parte superior do tubo); C- Plasma e os leucócitos (2 mL); D- Após a segunda centrifugação: o PPP e a substância remanescente correspondente ao PRP; E- Adição de 0,06 mL da solução de cloreto de cálcio 10% na proporção de 1:8; F- Biomaterial e PRP após a geleificação

4.2.2 Contagem das plaquetas no sangue total, PRP e PPP

De cada animal foi obtido 0,5 mL de PPP e 1 mL de PRP. Destes, 0,5 mL de PRP foi adicionado ao material e geleificado para posterior preenchimento do seio maxilar, e 0,5 mL de PRP e 0,5 mL de PPP acondicionados em tubos de 0,6 mL (Figura 3B) e enviados ao laboratório de análises clínicas do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais (HRAC-USP) para determinação do número de plaquetas. Além disso, foi obtido 2 mL de sangue de cada animal e colocados em um tubo contendo 3,6mg de EDTA K₂ (BD Vacumtainer Ref 367841) para posterior avaliação do número de plaquetas pela determinação do hemograma completo (Figura 3A). Estas análises foram realizadas no analisador hematológico Horiba-Abx, modelo Pentra 80, sob a supervisão do responsável técnico Luiz Henrique Marchesano.

Figura 3 - A- Amostra de sangue total; B- 0,5 mL de PRP e 0,5 mL de PPP

4.3 SELEÇÃO DOS ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após o projeto ter sido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Animais (CEEPA-Proc. N° 039/2011) a parte experimental foi realizada. Para este experimento foram utilizados 54 coelhos adultos (*Oryctolagus cuniculus*, *New Zealand White*) machos, adquiridos no Setor de Cunicultura da Fazenda Lageado da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Campus de Botucatu. Os animais, após chegarem ao Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Bauru, passaram por um período de quarentena supervisionado, para o ganho de peso e a verificação de possíveis alterações de comportamento e de consumo de ração. Os coelhos foram confinados individualmente em gaiolas de aço e alimentados antes e durante o experimento com ração sólida triturada e água a vontade, exceto nas 12 horas pré-operatórias. As cirurgias dos animais foram realizadas quando estes estavam com cerca de 140 dias de idade e com massa corporal entre 3,5 a 4,5 kg. Foram utilizados somente coelhos machos para evitar a influência das variações hormonais no processo de reparo.

Cada coelho, do total de 54, recebeu em cada seio maxilar o enxerto/biomaterial, no volume de 0,2 mL (Figura 1), sendo que um dos seios foi preenchido com material de preenchimento e 0,5 mL de sangue (SG) e o contralateral com material de preenchimento e 0,5 mL de PRP. Os grupos experimentais foram: 1) HA/TCPp/SG - HA/TCPp hidratado com sangue, 2) HA/TCPp/PRP - HA/TCPp associado ao PRP, 3) AUT/SG - osso autógeno previamente triturado hidratado com sangue, 4) AUT/PRP - osso autógeno previamente triturado associado ao PRP, 5) Bio-Oss/SG - Bio-Oss® hidratado com

sangue e 6) Bio-Oss/PRP - Bio-Oss[®] associado ao PRP. No total foram avaliados 18 seios maxilares de cada tipo de tratamento, divididos em 3 períodos (30, 60 e 180 dias). O osso autógeno córtico-medular utilizado aqui, foi removido da calota craniana.

4.3.1 Intervenções cirúrgicas

As cirurgias foram realizadas com os animais sob anestesia geral obtida pela aplicação inicial do relaxante muscular cloridrato de xilazina (AgriBrands Ltda.) na dose de 10mg/kg por via intramuscular, seguida após 10 minutos por injeção pela mesma via de cloridrato de quetamina (Dopalen AgriBrands Ltda.) na dose de 50mg/kg, conforme especificações do *The Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) (2010). Após a tricotomia da região da face e do crânio e antissepsia com solução aquosa de polivinilpirrolidona (PVP-I tópico) (Figura 4A), uma incisão em meia lua de 3 cm foi feita na pele da região do crânio (Figura 4B). O periósteo foi descolado expondo a superfície óssea do crânio e com uma broca trefina de 8 mm de diâmetro (Figura 4C), sob irrigação constante com solução salina fisiológica estéril, foram realizados dois defeitos na região da calota craniana para a retirada de cerca de 0,2 mL de osso autógeno de cada lado (Figura 4D). Após a coleta do enxerto autógeno este foi triturado com o auxílio de um alveolótomo (Figura 4E).

Após a obtenção do enxerto autógeno, uma incisão em meia lua de 5 cm foi realizada no tegumento da região nasal. O periósteo foi descolado (Figura 5A) e com uma broca trefina de 4 mm de diâmetro (Figura 5B), sob irrigação de solução salina estéril abundante, foi perfurada uma janela cerca de 2 cm abaixo da sutura nasofrontal e 0,5 cm para lateral da sutura internasal de cada lado do animal. Após a remoção dos tampões ósseos para acesso aos seios maxilares superiores direito e esquerdo (Figura 5C), a membrana sinusal de cada seio foi delicadamente elevada com a utilização de uma cureta de dentina para prevenir perfuração e para possibilitar o preenchimento com os materiais conforme cada grupo de tratamento (Figura 5D).

Após o preenchimento da cavidade sinusal colocou-se sobre a abertura de cada seio, uma membrana de osso cortical bovino reabsorvível (Gen-Derm[®], Baumer S.A., Mogi Mirim, Brasil, RMS: 103.455.00007) para prevenir a invasão do local por outro tecido vizinho (Figura 5E). A sutura no local foi realizada com fio de seda 4-0 (Figura 5F).

Figura 4 - A- Animal após tricotomia e antissepsia; B- Incisão em meia lua de 3 cm na pele da região do crânio e descolamento do periósteo; C e D- Realização de dois defeitos na região da calota craniana com broca trefina de 8 mm para a retirada de osso autógeno; E- Enxerto autógeno triturado

Figura 5 - A- Incisão na pele e descolamento do periósteo; B- Acesso ao seio maxilar esquerdo; C- Acesso bilateral aos seios maxilares direito e esquerdo; D- Preenchimento do seio maxilar; E- Recobrimento das aberturas com membrana; F- Sutura da pele com fio de seda 4-0

4.3.2 Cuidados pós-operatório

Após a cirurgia foi aplicado 10mg/kg do antibiótico enrofloxacino 2,5% (Flotril® 2,5%; Intervet - Schering-Plough, Rio de Janeiro, Brasil) durante 7 dias e 0,1 mL por kg de peso do anti-inflamatório ketoprofeno (Ketofen® 1%, Merial, Brasil) durante 3 dias. Ambos os medicamentos foram administrados por via subcutânea. Durante os 7 dias do pós-operatório a ferida cirúrgica foi tratada com Rifocina® spray e após esse período os pontos foram removidos.

4.3.3 Sacrifício dos animais e obtenção das peças

Após os períodos de 30, 60 e 180 dias (18 animais por período), os animais foram previamente sedados com a mistura de xilazina e quetamina na dose de 1 mL/Kg e a seguir submetidos a injeção letal intracardíaca de cloreto de potássio a 19% de acordo com a resolução número 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. As amostras contendo os seios foram colhidas e fixadas em formalina 10% em tampão fosfato pH 7,2 por uma semana.

4.4 MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA

4.4.1 Obtenção das imagens e reconstrução digital

As peças foram submetidas a uma varredura de feixe de raios X em um microtomógrafo (MicroCT) modelo 1176 (Skyscan, Bélgica) na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP - Campus de Araraquara. A fonte de feixes de raios X foi operada a 80 kV e a 300 μ A. Foi utilizado um filtro de Cu + Al e a amostra foi rotacionada a 180°, com um *rotation step* de 0,5°, gerando um tempo de aquisição de 15 minutos por amostra. Cada região de interesse foi reconstruída utilizando o software NRecon 1.6.1.5 (SkyScan, Belgium) mantendo-se sempre o mesmo padrão de reconstrução.

4.4.2 Análises bidimensionais e tridimensionais de cada seio maxilar

4.4.2.1 Análise da altura do seio maxilar (2D)

Utilizando um software bidimensional DataViewer 1.4.3.1 (SkyScan, Belgium) foi realizado o alinhamento das imagens para obtenção de um corte sagital do centro do seio maxilar (Figura 6). Neste corte, foram realizadas 5 medidas da altura em mm (Figura 7) e em seguida obtidas as médias. Através deste mesmo programa foram obtidas imagens individuais nos planos sagital, coronal e transaxial.

Além das imagens individuais, foi obtido um grupo de imagens no plano coronal reconstruídas e alinhadas para posterior avaliação do volume do seio maxilar no software CTAn.

Figura 6 - Software DataViewer utilizado para as análises bidimensionais mostrando o alinhamento transaxial, coronal e sagital

Figura 7 - Imagens do Software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da altura do seio maxilar

4.4.2.2 Análise volumétrica (3D)

A mensuração do volume do seio maxilar foi obtida utilizando um software específico CTAn 1.10.1.0 (SkyScan, Belgium), seguindo a seleção de uma área de interesse (ROI foi selecionado manualmente) posicionado entre o início do seio

maxilar preenchido e seu final. Assim, o volume total (VT) em mm^3 de cada seio maxilar foi obtido, conforme ilustrado na Figura 8.

Figura 8 - A- Seleção da área para avaliação do volume do seio maxilar; B- Imagem do Software CTAn mostrando a realização da análise 3D para a obtenção do volume do seio maxilar

4.5 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Após serem submetidas a obtenção das radiografias e das microtomografias computadorizadas, as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas e colocadas em solução de EDTA (solução contendo 4,13% de Tritriplex III Merck® e 0,44 de hidróxido de sódio) a temperatura de 2 a 8°C, por um período de

aproximadamente 80 dias, sendo realizadas trocas semanais. As peças desmineralizadas foram processadas histologicamente para inclusão em Histosec-Merck® e cortes alternados de 5 µm de espessura (espaçamento de 100 µm) foram obtidos e corados pela hematoxilina-eosina (LUNA, 1968).

4.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA

Os cortes histológicos foram examinados em um microscópio binocular Axioskop 2 (Carl Zeiss). A ocorrência dos seguintes eventos foram consideradas: a) integridade da membrana sinusal; b) presença de infiltrado inflamatório, c) formação de tecido ósseo e conjuntivo ao redor das partículas enxertadas; d) presença de células reabsortivas na superfície do material enxertado; e f) grau de maturidade do tecido ósseo formado.

As fotomicrografias foram obtidas em no microscópio Olympus BX-50 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) com câmera fotográfica acoplada (Olympus DP-71) e software Image-Pro Plus® 6.0 (Media Cybernetics; Bethesda, MD, USA).

4.7 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

4.7.1 Casualização dos cortes histológicos

Todos os métodos estereológicos são baseados em princípios geométricos estatísticos, derivados da probabilidade em que imagens da estrutura na secção histológica coincidam com um sistema-teste apropriado.

Deste modo, o ponto central nesses métodos está na casualização das amostras, ou seja, a escolha das amostras do tecido a serem confrontadas com o sistema-teste, deve ser realizada por um método que elimine a ocorrência de vício na amostragem. Para tanto, de cada peça histológica foram obtidas 6 lâminas contendo 3 cortes semi-seriados cada uma. Por meio de sorteio foram escolhidas 3 lâminas para serem utilizadas e de cada lâmina selecionado um 1 corte histológico.

Toda extensão do seio maxilar preenchido foi avaliado em cada corte histológico selecionado.

4.7.2 Avaliação morfométrica da densidade de volume

A densidade de volume (V_{vi}) é definida como a fração ou percentual de volume do todo (enxerto/biomaterial + tecido reacional) ocupada por um determinado constituinte do todo (enxerto/biomaterial, tecido conjuntivo, tecido ósseo e medula óssea). A densidade de volume foi avaliada pela técnica de volumetria relativa de contagem de pontos usando um retículo de integração II Zeiss composta de 10 linhas paralelas e 100 pontos numa área quadrangular colocada em uma ocular Kpl 8x Zeiss. No microscópio com objetiva 20x e ocular Kpl 8x a imagem do retículo foi superposta a campos histológicos por todo o seio maxilar preenchido (WEIBEL, 1969) e os seguintes dados foram anotados: o número de pontos (p_i) que caíam sobre cada constituinte (i) e sobre a loja cirúrgica inteira (P). A densidade de volume (V_{vi}) de cada tipo de estrutura foi calculada pela relação: $V_{vi} = P_{pi} = p_i/P$ (WEIBEL, 1969).

4.7.3 Avaliação do volume total de cada estrutura (V_{ti})

Devido ao fato do tecido ósseo neoformado ter densidade radiográfica muito próxima ou similar aos biomateriais e especialmente ao enxerto autógeno não foi possível realizar uma quantificação volumétrica direta com precisão, das estruturas (enxerto/biomaterial, tecido ósseo) através do MicroCT. Assim, os dados quantitativos foram obtidos indiretamente utilizando-se nos cálculos, o volume total (V_T) de cada seio maxilar obtido no MicroCT e a densidade de volume (V_{vi}) de cada estrutura (i) obtida pela morfometria. O volume total de cada estrutura (V_{ti}) no interior do seio maxilar foi calculado pela seguinte regra: $V_{ti} = (V_T \times V_{vi})/100$.

4.7.4 Determinação do número de osteoclastos por mm² no tecido ósseo neoformado

O número de osteoclastos/mm² no tecido ósseo neoformado foi determinado utilizando uma objetiva de 20x e uma grade quadrangular acoplada a ocular perfazendo uma área de 0,25 mm². Em 80 campos selecionados por amostragem sistemática (WEIBEL, 1969) foram contados o número de imagens de secções de osteoclastos (Nm), somente aquelas secções contendo 2 ou mais núcleos (ou seja, secções das células próximas do seu centro), localizados na superfície do osso neoformado. Conhecendo-se a área total analisada ($A = 0,25 \text{ mm}^2 \times 80 \text{ campos} = 20 \text{ mm}^2$) e o número de imagens de osteoclastos contados nessa área, o número de osteoclastos/mm² de tecido do seio preenchido foi calculado por uma simples regra de três.

4.7.5 Determinação do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas (CGM) por mm² no biomaterial/enxerto

O número de osteoclastos/CGM/mm² na superfície do biomaterial/enxerto foi determinado utilizando a mesma metodologia utilizada para avaliação do número de osteoclastos/mm² no tecido ósseo neoformado (item 4.7.4).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística dos dados quantitativos obtidos, avaliou-se primeiramente a homogeneidade das variâncias para cada variável pelo teste de Hartley, Cochran e Bartlett. Em seguida, os dados foram comparados pela análise de variância (ANOVA) a três critérios (material de enxerto, tratamento com PRP ou sangue e período de tratamento). Para as variáveis que apresentaram diferenças, ou seja, significância estatística com $p < 0,05$, as médias foram contrastadas entre si pelo teste de Tukey. Todos os testes foram efetuados utilizando o software Statistica (Version 10.0; StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA), adotando-se um nível de significância de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 MASSA CORPORAL

A massa corporal dos coelhos no dia da cirurgia (MCi) e ao término de cada período experimental (MCf), assim como os resultados da análise estatística estão apresentados na Tabela 1. A análise dos dados mostra que a massa corporal inicial (MCi), obtida no dia da cirurgia foi similar nos animais em todos os períodos experimentais, sendo em média de $3,97 \pm 0,30$ Kg. A massa corporal dos animais aos 30 dias não aumentou (MCi = MCf), enquanto que, os animais dos períodos de 60 e 180 dias apresentaram ganho significativo de massa corporal (MCf > MCi) de, respectivamente, 190 e 250 g.

Tabela 1 - Média e desvio padrão da massa corporal (Kg) dos animais no dia da cirurgia (MCi) e ao término de cada período experimental (MCf). Comparação entre períodos ANOVA um critério e comparação entre a MCi e MCf pelo teste “t” pareado

Período Experimental em dias	MCi (Kg)	MCf (Kg)	Teste “t” pareado “p”
30	$3,8 \pm 0,25$	$3,8 \pm 0,43^a$	0,87568
60	$4,0 \pm 0,32^a$	$4,2 \pm 0,35^b$	0,00102
180	$4,0 \pm 0,27^a$	$4,3 \pm 0,30^b$	0,00204
Anova “p”	0,05195	0,00130	

18 animais/período
Letras diferentes $p < 0,05$.

5.2 NÚMERO TOTAL DE PLAQUETAS

Os dados laboratoriais de número total de plaquetas e as respectivas análises estatísticas estão apresentados na Tabela 2. A análise dos dados mostra que o número total de plaquetas no sangue total (NPla-ST) foi similar entre os grupos de coelhos de cada período, sendo em média de $275,4 \pm 48,18 \times 10^3/\text{mm}^3$. O mesmo ocorreu para número total de plaquetas no PRP (NPla-PRP) com média de $1443,7 \pm 422,14$ e no PPP (NPla-PPP) com média de $6,7 \pm 4,35$ indicando semelhante volume plaquetário médio no sangue coletado de todos os animais e no

PRP e PPP obtidos. O percentual de aumento de plaquetas no PRP foi de 439,65% comparado ao do ST.

Tabela 2 - Média e desvio padrão do NPla-ST ($\times 10^3/\text{mm}^3$), NPla-PRP ($\times 10^3/\text{mm}^3$) e NPla-PPP ($\times 10^3/\text{mm}^3$) e o percentual de aumento de plaquetas no PRP em relação ao sangue total (%). Comparação entre períodos One-way ANOVA

Período em dias	NPla-ST ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	NPla-PRP ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	NPla-PPP ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Percentual de aumento PRP (%)
30	293,1 $\pm$ 44,07	1552,3 $\pm$ 463,44	8,4 $\pm$ 4,48	428,8 $\pm$ 122,26
60	251,7 $\pm$ 38,95	1253,8 $\pm$ 349,75	6,1 $\pm$ 3,10	450,4 $\pm$ 122,14
180	281,4 $\pm$ 61,54	1525,1 $\pm$ 453,24	5,6 $\pm$ 5,47	439,8 $\pm$ 101,48
ANOVA "p"	0,11973	0,78539	0,30293	0,44784

18 animais/período

5.3 AVALIAÇÃO MICROTOMOGRÁFICA

5.3.1 Padrão das imagens obtidas ao MicroCT nos diferentes períodos e grupos experimentais

No grupo AUT (Figura 9) aos 30 dias, as imagens microtomográficas mostram na zona do reparo presença de grandes partículas de enxerto autólogo (Figura 9 A e D), apresentando radiopacidade intermediária, entremeadas por finas trabéculas ósseas (seta amarela) de radiopacidade similar à do enxerto, sendo mais evidentes nos tratados com PRP. A presença de partículas de enxerto tende a diminuir no período de 60 dias e praticamente desaparecem aos 180 dias, sendo este processo mais acentuado nos animais tratados com PRP. Por outro lado, as trabéculas ósseas se tornam mais espessas e escassas. Aos 180 dias foram observadas grandes áreas radiolúcidas no interior do seio maxilar correspondentes a tecido mole.

Como já salientado no capítulo anterior devido a similaridade densitométrica entre o enxerto autólogo e o tecido ósseo não foi possível realizar as quantificações utilizando o software CTAn.

Figura 9 - Cortes sagitais dos seios maxilares preenchidos com enxerto autólogo e sangue (A, B, C) e enxerto autólogo e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Observar aos 30 dias grandes partículas de osso autólogo (seta vermelha), e espaços entre elas preenchidos por finas trabéculas ósseas (seta amarela), sendo mais evidente no grupo tratado com PRP. Aos 60 e 180 dias ocorre gradual redução das partículas de osso autólogo (seta vermelha) com formação de trabéculas ósseas (seta amarela) mais espessas, porém menos frequentes

No grupo Bio-Oss (Figura 10) o padrão evolutivo das imagens ao MicroCT não diferiu quanto ao tratamento. Assim, em ambos os grupos o seio maxilar mostrou-se preenchido por grande quantidade de material com radiopacidade levemente superior a do tecido ósseo remanescente e com pouco espaço radiolúcido entre eles. O material radiopaco mostrou tamanho menor em relação às partículas do enxerto AUT e HA/TCPp. Os espaços radiolúcidos diminuem entre 30 e 60 dias indicando um aumento na formação óssea. Aos 180 dias, houve um aumento da radiopacidade e do tamanho das partículas, provavelmente devido ao maior grau de mineralização do tecido ósseo neoformado em relação aos períodos anteriores. Neste período, as áreas radiolúcidas entre as partículas aumentaram provavelmente em decorrência da remodelação óssea e formação de medula óssea.

Figura 10 - Cortes sagital do seio maxilar preenchido com Bio-Oss® e sangue (A, B, C) e Bio-Oss® e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Observar presença de biomaterial de radiopacidade levemente superior a do tecido ósseo remanescente. Presença de pouco espaço radiolúcido entre as partículas de material

No grupo HA/TCPp (Figura 11), como no grupo Bio-Oss, o padrão evolutivo da imagens microtomográficas não diferiu quanto ao tratamento. Em ambos, as partículas de biomaterial apresentaram radiopacidade elevada, sendo facilmente distinguidas do tecido ósseo. Aos 30 dias, pequenas áreas de formação óssea, com radiopacidade intermediária, estavam presentes na superfície das partículas de cerâmica. O conjunto biomaterial-tecido ósseo estava circundado por áreas radiolúcidas referentes ao tecido mole. Entre 30 e 180 dias, as áreas radiopacas referentes ao tecido ósseo aumentaram gradualmente ocupando os espaços radiolúcidos entre as partículas.

Figura 11 - Cortes sagital do seio maxilar preenchido com HA/TCPp e sangue (A, B, C) e HA/TCPp e PRP (D, E, F) obtidos no programa DataViewer. Pode-se observar que as partículas de biomaterial (seta vermelha) em todos os períodos apresentam radiopacidade elevada. Aos 30 dias, pequenas áreas de formação óssea (seta amarela) pode ser observada ao redor das partículas de biocerâmica. Nos períodos de 60 e 180 dias ocorre um aumento significativo na formação óssea (seta amarela)

5.3.2 Volume total do seio maxilar preenchido com os diferentes biomateriais e enxerto

A análise da Figura 12, dos resultados estatísticos nas Tabelas 3 e 4 e do gráfico na Figura 13 mostrou que o volume do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais apresentou interação período x material, porém não ocorreram diferenças significantes entre período x tratamento. Aos 30 dias o volume do seio maxilar foi similar entre os diferentes grupos, sendo em média de $141,8 \text{ mm}^3$. Entre 30 e 180 dias o volume do seio maxilar, manteve-se constante nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp, enquanto que, no grupo AUT o volume reduziu drasticamente passando de $118,9 \text{ mm}^3$ aos 60 dias para $92,5 \text{ mm}^3$ aos 180 dias.

Figura 12 - Imagens do volume do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

Tabela 3 - Comparação entre o volume do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	0,732	2	0,484428
Material	35,052	2	0,000000
Tratamento	6,013	1	0,016626
Período x Material	8,334	4	0,000014
Período x Tratamento	0,414	2	0,662625
Material x Tratamento	1,098	2	0,339111
Período x Material x Tratamento	0,837	4	0,505971

Tabela 4 - Média e desvio-padrão do volume do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm ³	Bio-Oss mm ³	HA/TCPp mm ³
30	138,7 ± 14,68 ^{a,c}	142,4 ± 17,72 ^{a,b,c}	144,3 ± 17,19 ^{a,b,c}
60	118,9 ± 23,36 ^{c,d}	146,4 ± 26,99 ^{a,b,c}	171,8 ± 16,75 ^b
180	92,5 ± 32,06 ^d	152,7 ± 28,10 ^{a,b}	171,7 ± 13,43 ^b

Letras diferentes p<0,05.

Figura 13 - Gráfico da média e desvio padrão do volume do seio maxilar preenchido (mm³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.3.3 Altura da área reconstruída com os diferentes biomateriais e enxerto

A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 5 e 6 e do gráfico da Figura 14 mostra que a altura do seio maxilar preenchido apresentou interação quando comparados período x material. Aos 30 dias, a altura do seio maxilar foi similar entre os diferentes grupos, sendo em média de 4,99 mm. Entre 30 e 180 dias a altura do seio maxilar, manteve-se constante nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp, enquanto que, no grupo AUT reduziu drasticamente entre 60 e 180 dias passando para 3,63 mm aos 180 dias (perda de aproximada de 1 mm em altura).

Tabela 5 - Comparação entre a altura do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	7,718	2	0,000919
Material	31,149	2	0,000000
Tratamento	0,871	1	0,353856
Período x Material	4,119	4	0,004625
Período x Tratamento	2,451	2	0,093379
Material x Tratamento	1,274	2	0,286066
Período x Material x Tratamento	0,350	4	0,843296

Tabela 6 - Média e desvio-padrão da altura do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm	Bio-Oss mm	HA/TCPp mm
30	4,6 ± 0,56 ^{a,b}	5,0 ± 0,61 ^{a,c}	5,3 ± 0,72 ^{a,c}
60	5,0 ± 0,57 ^{a,c}	6,0 ± 1,02 ^c	6,0 ± 0,37 ^c
180	3,6 ± 1,13 ^b	5,6 ± 0,58 ^{a,c}	6,0 ± 0,62 ^c

Letras diferentes p<0,05.

Figura 14 - Gráfico da média e desvio padrão da altura do seio maxilar preenchido (mm) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.4 RESULTADOS HISTOLÓGICOS

5.4.1 Período de 30 dias

No grupo AUT em ambos os tratamentos, SG (Figura 15 A-C) e PRP (Figura 15 D-F), o seio maxilar apresentou contorno irregular devido à variedade de formas e tamanho das partículas do enxerto. As partículas de osso autógeno estavam circundadas por tecido ósseo neoformado imaturo composto por finas trabéculas, cujos espaços estavam preenchidos em sua grande maioria por medula óssea vermelha e em menor quantidade por tecido conjuntivo. Na superfície do osso neoformado e das partículas de enxerto alguns osteoclastos estavam presentes.

No grupo Bio-Oss em ambos os tratamentos, sangue (Figura 16 A-C) e PRP (Figura 16 D-F), o seio maxilar apresentou contorno mais uniforme em relação ao grupo AUT devido ao menor tamanho e regularidade das partículas. As partículas do Bio-Oss® apresentaram em sua superfície células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho com grande quantidade de núcleos e com extensões citoplasmáticas em contato com a superfície do biomaterial. Como observado no grupo AUT a formação

óssea ocorreu na superfície do biomaterial, porém os espaços entre eles estavam preenchidos por tecido conjuntivo fibroso rico em células e vasos sanguíneos.

No grupo HA/TCPp em ambos os tratamentos, sangue (Figura 17 A-C) e PRP (Figura 17 D-F), o seio maxilar apresentou contorno mais uniforme em relação ao grupo AUT devido ao formato mais arredondado das partículas. Embora as partículas de HA/TCPp fossem maiores e menos numerosas em relação ao Bio-Oss[®], elas apresentavam maior área de superfície devido a presença em sua estrutura de inúmeras concavidades e poros, os quais não foram observados nas partículas do Bio-Oss[®]. Aqui também, células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho estavam presentes na superfície das partículas de HA/TCPp, com maior frequência, mas menor tamanho do que no grupo Bio-Oss. A formação óssea ocorreu tanto na superfície como nos pequenos poros e concavidades das partículas. Os espaços entre as partículas e osso neoformado estavam preenchidos por um tecido conjuntivo mais frouxo e vascularizado quando comparado ao presente no grupo Bio-Oss.

Nos grupos HA/TCPp e Bio-Oss, estruturas lamelares estavam mais presentes nos grupos tratados com PRP, sugerindo maior maturidade do tecido ósseo.

Figura 15 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal (seta preta) objetiva de 2x. B-C e E-F). Detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envoltas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por tecido medular (TM) e tecido conjuntivo (TC). Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 16 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 17 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 30 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC), tecido medular (TM) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE

5.4.2 Período de 60 dias

No grupo AUT em ambos os tratamentos, SG (Figura 18 A-C) e PRP (Figura 18 D-F), o seio maxilar apresentou uma menor quantidade de partículas de osso autógeno do que no período anterior, evidenciando a ocorrência de sua reabsorção precoce. As partículas de enxerto estavam circundadas por tecido ósseo neoformado composto por trabéculas de espessura fina a moderada, cujos espaços estavam preenchidos em sua grande maioria por medula óssea vermelha e pequena quantidade de tecido conjuntivo denso. Apenas dois seios maxilares apresentaram uma quantidade um pouco maior de tecido conjuntivo fibroso. Na superfície do osso novo e das partículas de enxerto alguns osteoclastos estavam presentes.

No grupo Bio-Oss em ambos os tratamentos, SG (Figura 19 A-C) e PRP (Figura 19 D-F), o seio maxilar exibia grande quantidade de partículas de biomaterial associadas ao tecido conjuntivo e a extensas áreas com direta aposição de novo tecido ósseo. Além disso, as partículas de biomaterial apresentavam em sua superfície células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho. Neste período os espaços entre as partículas apresentavam-se ocupados por grande quantidade de tecido ósseo e medula óssea em substituição ao tecido conjuntivo observado no período anterior.

No grupo HA/TCPp em ambos os tratamentos, SG (Figura 20 A-C) e PRP (Figura 20 D-F), o seio maxilar exibia grande quantidade de partículas do biomaterial, similar ao observado no período anterior. Grande parte da superfície e das concavidades e poros das partículas estavam circundados e/ou preenchidos por tecido ósseo neoformado, aumentando o seu volume e preenchendo grande parte dos espaços anteriormente ocupados pelo tecido conjuntivo. A medula óssea gradativamente também foi invadindo os espaços entre as partículas partindo da região do osso nasal em direção à membrana sinusal.

Figura 18 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envolvidas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por medula óssea amarela (TM). Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 19 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos na sua maior parte por tecido medular (TM), em menor parte por tecido conjuntivo (TC) e células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 20 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 60 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchido por tecido conjuntivo (TC) e tecido medular (TM). Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE

5.4.3 Período de 180 dias

No grupo AUT em ambos os tratamentos, SG (Figura 21 A-C) e PRP (Figura 21 D-F), o seio maxilar apresentou pequenas e raras partículas de osso autógeno, denotando a ocorrência de uma grande reabsorção osteoclástica de suas partículas no período, principalmente no grupo tratado com PRP. As pequenas partículas remanescentes de enxerto estavam circundadas por tecido ósseo neoformado apresentando sinais de processo de reabsorção/remodelação, em menor intensidade ao observado no período de 60 dias. Ao término de 180 dias, o seio maxilar do grupo AUT estava caracterizado pela presença de finas trabéculas ósseas no seu interior dispersas entre grande quantidade de medula óssea amarela e aparente redução do volume total elevado cirurgicamente.

No grupo Bio-Oss em ambos os tratamentos, SG (Figura 22 A-C) e PRP (Figura 22 D-F), a quantidade de biomaterial e de tecido ósseo neoformado mostrou-se similar em relação ao período de 60 dias, enquanto que a medula óssea passou a preencher quase todos os espaços anteriormente ocupados por tecido conjuntivo. O tecido ósseo neoformado mostrou-se mais maduro ou lamelar em relação ao observado no período de 60 dias. Algumas áreas de reabsorção osteoclástica tanto no biomaterial quanto no tecido ósseo neoformado, estavam presentes indicando que, o Bio-Oss[®] é lentamente reabsorvido durante o processo de remodelação óssea.

Os grupos HA/TCPp/SG (Figura 23 A-C) e o HA/TCPp/PRP (Figura 23 D-F), assim como no período anterior, apresentaram grande quantidade de biomaterial, superior ao do grupo Bio-Oss neste mesmo período. Este fato evidencia que a sua reabsorção ocorre muito lentamente. O padrão de formação óssea continuou o mesmo dos períodos anteriores, com formação óssea ao redor das partículas e no interior das concavidades e poros. A qualidade e a quantidade de tecido ósseo formado mostrou-se similar ao observado no grupo Bio-Oss, o mesmo ocorrendo com a medula óssea que passou a ocupar grande parte dos espaços anteriormente preenchidos por tecido conjuntivo. Osteoclastos estavam presentes na superfície do tecido ósseo neoformado e nas partículas de biomaterial, indicando que, toda região do seio elevado encontrava-se ainda em processo de remodelação óssea.

Figura 21 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo AUT tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno irregular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de osso autógeno (A) envoltas por tecido ósseo (TO) e os espaços entre eles preenchido por grande quantidade de medula óssea amarela (TM). Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 22 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo Bio-Oss tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envolvidas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos medula óssea (TM). Células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Objetivas de 10x e 40x. HE

Figura 23 - Fotomicrografia do seio maxilar de coelhos do grupo HA/TCPp tratados com SG e PRP no período de 180 dias: A e D) aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade o contorno regular da membrana sinusal. Objetiva de 2x. B-C e E-F) detalhes da figura anterior mostrando as partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO), os espaços entre eles preenchidos por tecido medular (TM). Células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Objetivas de 10x e 40x. HE

5.5 RESULTADOS HISTOMORFOMÉTRICOS

5.5.1 Densidade de volume de enxerto/biomaterial

A análise dos resultados estatísticos nas Tabelas 7, 8 e 9 e do gráfico na Figura 24 mostrou que a densidade de volume ou percentual de volume ocupado pelo material enxertado no seio maxilar preenchido apresentou interação quando comparados período x material e período x tratamento. Aos 30 dias, a densidade de volume de HA/TCPp e de Bio-Oss® foi similar, sendo me média de 44,5%, enquanto que o do osso autógeno foi de apenas 12,6%. Entre 30 e 180 dias, o percentual de volume ocupado pelo AUT, Bio-Oss® e HA/TCPp reduziu, respectivamente, 0,73, 0,3 e 0,17 vezes. Aos 180 dias o percentual do biomaterial no grupo HA/TCPp foi 1,24 e 11,13 vezes maior comparado ao Bio-Oss® e AUT, respectivamente. Aos 30 dias, o percentual do enxerto/biomaterial foi similar comparando apenas o tratamento (sangue x PRP), sendo em média de 33,92%. A seguir os percentuais de enxerto/biomaterial já aos 60 dias nos grupos tratados com PRP (23,61%) foram similares aos tratados com sangue (23,41%) aos 180 dias, mostrando que a redução/reabsorção do enxerto/biomaterial foi mais rápida no grupo tratado com PRP.

Tabela 7 - Comparação entre o percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	810,24	2	0,000000
Material	8599,51	2	0,000000
Tratamento	154,93	1	0,007649
Período x Material	72,61	4	0,010949
Período x Tratamento	86,86	2	0,018452
Material x Tratamento	14,58	2	0,495552
Período x Material x Tratamento	40,64	4	0,107332

Tabela 8 - Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período X material)		
	AUT %	Bio-Oss %	HA/TCPp %
30	12,6 ± 8,06 ^a	43,5 ± 3,91 ^{b,d}	45,6 ± 6,45 ^d
60	10,2 ± 5,29 ^a	32,2 ± 4,76 ^{c,f}	37,0 ± 4,76 ^c
180	3,4 ± 3,39 ^e	30,5 ± 2,86 ^f	37,8 ± 2,74 ^{b,c}

Letras diferentes p<0,05.

Tabela 9 - Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo enxerto/biomaterial no seio maxilar tratado com SG ou PRP nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e tratamento

Período em dias	TUKEY (período X tratamento)	
	SG %	PRP %
30	35,5 ± 14,43 ^a	32,3 ± 18,78 ^{a,b}
60	29,3 ± 12,96 ^b	23,6 ± 12,35 ^c
180	23,4 ± 15,99 ^c	24,4 ± 15,22 ^c

Letras diferentes p<0,05.

Figura 24 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de material no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.2 Volume total de enxerto/biomaterial

Quando calculamos o volume total de enxerto/biomaterial a partir do percentual obtido pela morfometria e o volume total do seio elevado pela microtomografia verificamos através da análise dos resultados estatísticos (Tabelas 10 e 11) e do gráfico (Figura 25) que o volume total do enxerto/biomaterial apresentou interação quando comparado período x material. Aos 30 dias, o volume do material foi similar entre os grupos Bio-Oss e HA/TCP (média de 63,85 mm³) e menor no AUT (17,86 mm³). O volume do enxerto AUT reduz drasticamente 0,82 vezes entre 30 e 180 dias, passando a ocupar 3,16 mm³ do seio maxilar elevado. Já, o Bio-Oss[®] reduziu apenas 0,25 vezes entre 30 e 60 dias e o do HA/TCPp se manteve constante durante todo o período experimental, indicando menor reabsorção da HA/TCPp em relação ao Bio-Oss[®].

Tabela 10 - Comparação entre o volume de enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	11,359	2	0,000052
Material	309,064	2	0,000000
Tratamento	12,192	1	0,000824
Período x Material	3,195	4	0,017915
Período x Tratamento	2,974	2	0,057395
Material x Tratamento	0,362	2	0,697644
Período x Material x Tratamento	0,758	4	0,555709

Tabela 11 - Média e desvio-padrão do volume de enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm ³	Bio-Oss mm ³	HA/TCPp mm ³
30	17,9 ± 12,61 ^a	62,1 ± 10,11 ^b	65,6 ± 11,41 ^b
60	12,3 ± 7,18 ^{a,d}	46,9 ± 9,79 ^c	63,6 ± 10,58 ^b
180	3,2 ± 4,14 ^d	46,5 ± 9,95 ^c	64,8 ± 4,97 ^b

Letras diferentes p<0,05.

Figura 25 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de material no seio maxilar preenchido (mm^3) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.3 Densidade de volume de tecido conjuntivo

A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 12 e 13 e do gráfico da Figura 26 mostrou que densidade de volume ou percentual de volume ocupado por tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido apresentou interação quando comparados apenas período x material. Aos 30 dias o percentual de tecido conjuntivo foi maior no grupo Bio-Oss (30,8%) seguido pelo HA/TCPp (23,5%) e AUT (14,2%). Entre 30 e 180 dias o percentual de tecido conjuntivo reduz acentuadamente 1,80, 3,04 e 1,83 vezes, respectivamente, no grupo AUT, Bio-Oss e HA/TCPp, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre os grupos no período de 180 dias.

Tabela 12 - Comparação entre o percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	60,028	2	0,000000
Material	35,516	2	0,000000
Tratamento	2,723	1	0,103248
Período x Material	6,390	4	0,000186
Período x Tratamento	1,520	2	0,225698
Material x Tratamento	0,055	2	0,946318
Período x Material x Tratamento	0,707	4	0,589616

Tabela 13 - Média e desvio-padrão do percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT %	Bio-Oss %	HA/TCPp %
30	14,2 ± 6,06 ^{a,f}	30,8 ± 5,40 ^c	23,5 ± 6,69 ^b
60	7,7 ± 5,11 ^d	17,7 ± 5,37 ^{a,b,e}	15,2 ± 2,52 ^{a,f}
180	7,9 ± 1,98 ^d	10,1 ± 2,24 ^{d,f}	12,8 ± 3,06 ^{d,e,f}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 26 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.4 Volume total de tecido conjuntivo

A análise dos resultados estatísticos nas Tabelas 14 e 15 e do gráfico da Figura 27 mostra que o volume de tecido conjuntivo apresentou interação quando comparado período x material. Aos 30 dias o volume de tecido conjuntivo foi menor no grupo AUT ($19,76 \text{ mm}^3$) seguido pelo HA/TCPp ($33,67 \text{ mm}^3$) e Bio-Oss ($44,01 \text{ mm}^3$). Aos 60 dias o volume do tecido conjuntivo reduz drasticamente em todos os grupos sendo o menor valor verificado no grupo AUT enquanto que, no grupo Bio-Oss e HA/TCPp os valores foram similares. Aos 180 dias o volume de tecido conjuntivo mantém-se similar ao observado aos 60 dias.

Tabela 14 - Comparação entre o volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	49,0489	2	0,000000
Material	51,6725	2	0,000000
Tratamento	0,2962	1	0,587942
Período x Material	4,7630	4	0,001822
Período x Tratamento	0,9950	2	0,374739
Material x Tratamento	0,0944	2	0,910021
Período x Material x Tratamento	1,4541	4	0,225190

Tabela 15 - Média e desvio-padrão do volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm^3	Bio-Oss mm^3	HA/TCPp mm^3
30	$19,8 \pm 8,26^{a,e}$	$44,0 \pm 10,43^b$	$33,7 \pm 9,22^c$
60	$8,6 \pm 5,49^d$	$25,5 \pm 7,21^{a,c,e}$	$26,1 \pm 5,10^{a,c}$
180	$7,3 \pm 3,63^d$	$15,6 \pm 4,77^{d,e}$	$22,1 \pm 5,89^{a,e}$

Letras diferentes $p < 0,05$.

Figura 27 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (mm^3) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.5 Densidade de volume de tecido ósseo

A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 16 e 17 e do gráfico da Figura 28 mostra que densidade de volume ou percentual de volume ocupado por tecido ósseo no seio maxilar preenchido apresentou interação entre período, material e tratamento. Aos 30 dias, o percentual de formação óssea nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp tratados com SG e PRP foram similares, sendo em média de 21,28%, enquanto que, no grupo AUT tratados com SG e PRP foi significativamente 1,5 vezes maior (média de 32,22%). Aos 180 dias, o volume de tecido ósseo reduz acentuadamente no grupo AUT, enquanto que, nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp os valores aumentam, embora não significativamente com o período de 30 dias. Aos 180 dias, o percentual de formação óssea foi similar em todos os grupos (média de 26,4%), exceto no grupo AUT tratado com sangue cujo percentual foi 0,29 vezes menor em relação aos demais.

Tabela 16 - Comparação entre o percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	10,245	2	0,000122
Material	10,040	2	0,000143
Tratamento	0,106	1	0,745917
Período x Material	16,029	4	0,000000
Período x Tratamento	3,250	2	0,044546
Material x Tratamento	0,165	2	0,848431
Período x Material x Tratamento	2,864	4	0,029191

Tabela 17 - Média e desvio-padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento

Período em dias	TUKEY (período x material x tratamento)					
	AUT SG %	AUT PRP %	Bio-Oss SG %	Bio-Oss PRP %	HA/TCPp SG %	HA/TCPp PRP %
30	30,0 ± 2,8 ^{a,b}	34,4 ± 6,3 ^{a,d}	22,5 ± 4,6 ^{b,c,e}	21,2 ± 6,8 ^{b,c,e}	22,0 ± 4,5 ^{b,c,e}	19,5 ± 3,8 ^c
60	36,8 ± 6,2 ^a	29,6 ± 5,4 ^{a,d,e}	26,0 ± 0,9 ^{b,c,d}	26,6 ± 1,6 ^{b,c,d}	27,7 ± 1,1 ^{b,c,d}	27,3 ± 2,34 ^{b,c,d}
180	18,8 ± 4,7 ^c	24,1 ± 2,7 ^{b,c,e}	27,0 ± 2,3 ^{b,c,d}	28,6 ± 2,7 ^{a,e,d}	25,2 ± 2,1 ^{b,c,e}	27,1 ± 1,9 ^{b,c,d}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 28 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.6 Volume de tecido ósseo

Ao transformarmos os dados percentuais em volumétricos verificou-se que estatisticamente o volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido apresentou interação apenas entre período x material, devido a redução do volume total do seio no grupo AUT. Aos 30 dias o volume do tecido ósseo neoformado foi maior no grupo AUT em relação aos demais grupos Bio-Oss e HA/TCPp. Entre 30 e 180 dias, no grupo AUT o volume de tecido ósseo reduz drasticamente 0,57 vezes, enquanto nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp aumenta em média 1,43 vezes, passando a ocupar um volume médio de 43,65 mm³ (Tabelas 18 e 19 e Figura 29).

Tabela 18 - Comparação entre o volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	7,841	2	0,000830
Material	4,934	2	0,009815
Tratamento	2,189	1	0,143377
Período x Material	24,157	4	0,000000
Período x Tratamento	2,147	2	0,124308
Material x Tratamento	0,562	2	0,572441
Período x Material x Tratamento	2,165	4	0,081506

Tabela 19 - Média e desvio-padrão do volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm ³	Bio-Oss mm ³	HA/TCPp mm ³
30	44,8 ± 9,14 ^a	30,8 ± 7,72 ^b	29,9 ± 6,33 ^b
60	40,0 ± 12,52 ^{a,b}	38,5 ± 6,91 ^{a,b}	47,2 ± 5,34 ^a
180	19,0 ± 5,72 ^c	42,5 ± 8,87 ^a	44,8 ± 4,06 ^a

Letras diferentes p<0,05.

Figura 29 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (mm^3) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.7 Densidade de volume de medula óssea

A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 20, 21 e 22 e do gráfico da Figura 30 mostra que o percentual de volume ocupado por medula óssea no seio maxilar preenchido apresentou interação quando comparados período x material e período x tratamento. Aos 30 dias, o percentual de medula óssea foi significativamente maior no grupo AUT (40,8%) em relação aos demais grupos Bio-Oss (3,3%) e HA/TCPp (9,3%). Entre 30 e 180 dias, o percentual de medula óssea nos grupos AUT, Bio-Oss, HA/TCPp aumentou em 0,65 vezes, 8,5 vezes e 1,4 vezes, respectivamente passando a ocupar 67,19%, 31,30% e 22,38% do seio maxilar elevado.

Tabela 20 - Comparação entre o percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	89,067	2	0,000000
Material	268,789	2	0,000000
Tratamento	0,249	1	0,619297
Período x Material	6,723	4	0,000118
Período x Tratamento	4,735	2	0,011691
Material x Tratamento	0,482	2	0,619520
Período x Material x Tratamento	1,208	4	0,314859

Tabela 21 - Média e desvio-padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT %	Bio-Oss %	HA/TCPp %
30	40,8 ± 9,93 ^a	3,3 ± 3,03 ^b	9,3 ± 7,18 ^b
60	48,8 ± 10,37 ^a	23,2 ± 5,27 ^{c,d}	20,2 ± 5,08 ^c
180	67,2 ± 7,63 ^e	31,3 ± 4,78 ^d	22,4 ± 4,09 ^{c,d}

Letras diferentes p<0,05.

Tabela 22 - Média e desvio-padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar tratado com SG ou PRP nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e tratamento

Período em dias	TUKEY (período x tratamento)	
	SG %	PRP %
30	18,3 ± 17,94 ^a	17,3 ± 18,93 ^a
60	27,5 ± 12,80 ^b	34,0 ± 16,40 ^{b,c}
180	42,0 ± 22,34 ^d	38,6 ± 19,00 ^{c,d}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 30 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.5.8 Volume de medula óssea

Ao transformarmos os dados percentuais em volumétricos verificou-se que estatisticamente o volume de medula óssea no seio maxilar preenchido apresentou interação apenas entre período x material, devido à redução do volume total do seio no grupo AUT (Tabelas 23 e 24 e Figura 31). Aos 30 dias, o volume de medula óssea no grupo AUT foi significativamente maior em relação aos demais grupos, seguido pelo HA/TCPp e com menor valor observado no grupo Bio-Oss. Entre 30 e 180 dias o volume de medula óssea se manteve constante no grupo AUT e aumentou gradativamente nos grupos Bio-Oss ($42,88 \text{ mm}^3$) e HA/TCPp ($24,77 \text{ mm}^3$), porém com menores valores ao observado no grupo AUT.

Tabela 23 - Comparação entre o volume de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	28,9673	2	0,000000
Material	52,7709	2	0,000000
Tratamento	1,4795	1	0,227820
Período x Material	5,4214	4	0,000714
Período x Tratamento	2,6888	2	0,074783
Material x Tratamento	0,9061	2	0,408670
Período x Material x Tratamento	1,1821	4	0,325974

Tabela 24 - Média e desvio-padrão do volume de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material

Período em dias	TUKEY (período x material)		
	AUT mm ³	Bio-Oss mm ³	HA/TCPp mm ³
30	55,0 ± 13,23 ^{a,c}	4,8 ± 4,51 ^b	13,8 ± 11,12 ^b
60	57,8 ± 16,63 ^c	34,7 ± 11,87 ^d	34,6 ± 9,09 ^d
180	63,0 ± 24,50 ^c	47,7 ± 10,98 ^{a,c,d}	38,6 ± 8,23 ^{a,d}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 31 - Gráfico da média e desvio padrão do volume de medula óssea no seio maxilar preenchido (mm³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

5.6 RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE NÚMERO DE OSTEOCLASTOS/CGM

Os dados das Tabelas 25 e 26 e da Figura 32 mostram interação entre período, material e tratamento em relação ao número de osteoclastos/CGM presente na superfície do enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido. Aos 30 dias, o número de osteoclastos/CGM foi 4,36 vezes maior nos grupos tratados com HA/TCPp e Bio-Oss em relação ao AUT. Com relação ao grupo AUT observou-se a presença de um menor número de osteoclastos/CGM na superfície do enxerto no grupo tratado com PRP ($0,13/\text{mm}^2$ no AUT/PRP x $0,84/\text{mm}^2$ no AUT/SG). Entre 30 e 60 dias, o número de osteoclastos/CGM na superfície do enxerto/biomaterial diminuiu 0,76 vezes nos grupos Bio-Oss/PRP e HA/TCPp/PRP, enquanto se mantém estável no AUT/SG, AUT/PRP, Bio-Oss/SG e HA/TCPp/SG.

Tabela 25 - Comparação entre o número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas na superfície do enxerto/biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	27,4911	2	0,000000
Material	43,1299	2	0,000000
Tratamento	1,8001	1	0,183922
Período x Material	3,8018	4	0,007346
Período x Tratamento	0,4411	2	0,645068
Material x Tratamento	0,2959	2	0,744750
Período x Material x Tratamento	2,5173	4	0,048665

Tabela 26 - Média e desvio-padrão do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas na superfície do enxerto/biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento

Período em dias	TUKEY (período x material x tratamento)					
	AUT SG Nm/mm ²	AUT PRP Nm/mm ²	Bio-Oss SG Nm/mm ²	Bio-OssPRP Nm/mm ²	HA/TCPp SG Nm/mm ²	HA/TCPp PRP Nm/mm ²
30	2,35 ± 2,12 ^{a,c}	0,13 ± 0,14 ^a	4,28 ± 1,44 ^{b,c,e}	5,08 ± 1,61 ^{b,c,d}	5,46 ± 1,79 ^{b,c}	6,84 ± 3,04 ^b
60	0,15 ± 0,09 ^a	0,25 ± 0,13 ^a	1,95 ± 1,13 ^{a,d,e}	1,18 ± 0,45 ^{a,e}	2,68 ± 1,39 ^{a,c}	1,69 ± 0,84 ^{a,d,e}
180	0,03 ± 0,03 ^a	0,01 ± 0,02 ^a	1,30 ± 0,23 ^{a,e}	0,94 ± 0,33 ^{a,e}	4,96 ± 2,64 ^{b,c,d}	3,17 ± 2,96 ^{a,c}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 32 - Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas sobre o enxerto/biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

Os dados referentes ao número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado podem ser evidenciados nas Tabelas 27 e 28 e Figura 33. Observou-se interação entre período, material e tratamento. Aos 30 dias o número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado foi 3,17 vezes maior no grupo AUT em relação aos grupos Bio-Oss e HA/TCPp. Com relação ao tratamento, o número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado, no grupo AUT foi 1,2 vezes maior no tratado com PRP comparado ao tratado com sangue. Entre 30 e 180 dias o número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado, reduz drasticamente nos grupos AUT, enquanto que, mantêm-se constante nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp.

Tabela 27 - Comparação entre o número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a três critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	40,5821	2	0,000000
Material	29,8263	2	0,000000
Tratamento	0,3071	1	0,581209
Período x Material	17,1768	4	0,000000
Período x Tratamento	1,5270	2	0,224144
Material x Tratamento	2,4320	2	0,095046
Período x Material x Tratamento	4,5847	4	0,002355

Tabela 28 - Média e desvio-padrão do número de osteoclastos no tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais associados ou não ao PRP nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para a interação período, material e tratamento

Período em dias	TUKEY (período x material x tratamento)					
	AUT SG Nm/mm ²	AUT PRP Nm/mm ²	Bio-Oss SG Nm/mm ²	Bio-Oss PRP Nm/mm ²	HA/TCPp SG Nm/mm ²	HA/TCPpPRP Nm/mm ²
30	1,61 ± 0,50 ^b	2,47 ± 0,72 ^c	0,96 ± 0,66 ^{a,b}	0,47 ± 0,35 ^{a,d}	0,55 ± 0,40 ^{a,d}	0,59 ± 0,21 ^{a,d}
60	1,12 ± 0,35 ^{b,d}	0,86 ± 0,25 ^{a,b}	0,40 ± 0,22 ^{a,d}	0,53 ± 0,19 ^{a,d}	0,74 ± 0,11 ^{a,d}	0,41 ± 0,03 ^{a,d}
180	0,27 ± 0,20 ^a	0,22 ± 0,08 ^a	0,32 ± 0,20 ^a	0,30 ± 0,17 ^a	0,52 ± 0,37 ^{a,d}	0,29 ± 0,08 ^a

Letras diferentes p<0,05.

Figura 33 - Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos no tecido ósseo do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Com o intuito de proporcionar um melhor entendimento dos resultados obtidos e um maior discernimento sobre as variáveis envolvidas neste estudo, no presente capítulo far-se-á primeiramente uma breve análise do modelo experimental e da metodologia usada no desenvolvimento do trabalho, para depois discutir os resultados obtidos aqui em relação aos dados existentes na literatura.

6.1 METODOLOGIA UTILIZADA

Devido às limitações e dificuldades apresentadas por estudos em humanos, o modelo de levantamento do seio maxilar em coelhos foi o escolhido para realização da presente pesquisa. Cumpre salientar que esse modelo experimental já é bem consagrado na literatura para avaliação de enxertos ou materiais ósseo substitutos no ganho ósseo vertical (ASAI; SHIMIZU; Ooya, 2002; OHYA et al., 2005; SUN et al., 2008), pelo fato desse animal apresentar ventilação do seio maxilar similar a do ser humano, com um óstio bem definido abrindo-se na cavidade nasal (KUMLIEN; SCHIRATZKI, 1985; SCHARF et al., 1995; WHEELER et al., 1997; LAMBERT et al., 2013). Mas, as condições anatômicas, cirúrgicas e de reparo são um pouco diferentes em relação aos humanos. Assim, nos coelhos a osteotomia é realizada no teto do seio maxilar e não no seu assoalho como em humanos, consequentemente o enxerto é colocado sobre a membrana sinusal (STUBINGER; DARD, 2013). Outro fato relevante na utilização deste modelo é a possibilidade de avaliar histologicamente todo o seio maxilar elevado e não uma pequena porção central obtida por biópsia como em humanos, além da possibilidade se necessário, de uma análise temporal dos eventos celulares e teciduais, proporcionando um melhor entendimento do processo de reparo e do comportamento do biomaterial/enxerto. Por outro lado, o coelho em relação a animais de maior porte como porcos, cabras e macacos apresenta a vantagem de ter um tamanho menor, portanto mais adequado a um melhor manejo, facilidade de anestesia e boa recuperação pós-operatória (WATANABE; NIIMI; UEDA, 1999; ASAI; SHIMIZU; Ooya, 2002). Nesse sentido, os coelhos utilizados no presente estudo

apresentaram excelente pós-operatório sem intercorrências significativas, e ganho significativo de massa corporal durante todo período experimental.

Na literatura o levantamento de seio maxilar é considerado um bom modelo para avaliação do comportamento de biomateriais ósseo substitutos, pois é um local fechado e protegido, com pouca interferência externa (SAUERBIER et al., 2011), além de possuir um forte potencial local de regeneração óssea, e que pode ser maximizado com a utilização de biomateriais (LIM et al., 2015).

Como já comentado nos capítulos iniciais deste trabalho, o osso autógeno é considerado o melhor material de preenchimento ou padrão ouro para o levantamento de seio maxilar (DEL FABBRO et al., 2004), mas que apresenta vários inconvenientes na sua utilização, tais como: quantidade limitada, custo elevado e alta morbidade e risco de infecções na área doadora. No entanto, a desvantagem mais relevante apontada em muitos estudos é a grande perda precoce de volume ósseo nas áreas tratadas, com o tempo, principalmente quando originário da crista ilíaca (TATUM, 1986; WATANABE; NIIMI; UEDA, 1999; THORWARTH et al., 2005). Atualmente vários biomateriais ósseo-substitutos têm sido desenvolvidos na tentativa de suprir as limitações do enxerto autógeno.

Nesse sentido, um dos biomateriais mais utilizados com grande sucesso em cirurgias ósseas, como alternativa ao osso autógeno, é o osso inorgânico ou anorgânico comercialmente conhecido com o nome de Bio-Oss® (OLIVEIRA et al., 2015). O Bio-Oss® é uma hidroxiapatita natural porosa obtida por desproteínização de osso esponjoso bovino a temperatura de 300°C, com arquitetura do osso que lhe deu origem, ou seja, estrutura trabecular e muitos espaços intertrabeculares (poros) e alta capacidade osteocondutora (MOON et al., 2015b).

Deste modo, na presente pesquisa decidiu-se utilizar o osso autógeno e o Bio-Oss® como parâmetro de comparação com a biocerâmica bifásica HA/TCPp 70/30 porosa testada aqui. Cumpre salientar que muitos estudos têm utilizado o enxerto autógeno (SCHLEGEL et al., 2003; SICCA et al., 2008), o Bio-Oss® (CORDARO et al., 2008; MOON et al., 2015a, 2015b), ou ambos (DE SOUZA NUNES et al., 2010; LAMBERT et al., 2011) para comparações com diversos biomateriais.

Por outro lado, o PRP tem sido rotineiramente associado a enxertos em cirurgias de levantamento de seio maxilar (BUTTERFIELD et al., 2005; OHYA et al., 2005; TRINDADE-SUEDAM et al., 2010), apesar dos seus efeitos ainda serem controversos. Alguns pesquisadores relatam benefícios no reparo ósseo com o seu uso (KIM; PARK; CHOUNG, 2001; AGHALOO; MOY; FREY MILLER, 2004; ROUSSY; BERTRAND DUCHESNE; GAGNON, 2007; KASTEN et al., 2008; JUNGBLUTH et al., 2010; KANTHAN et al., 2011), enquanto que outros não (FROUM et al., 2002; FURST et al., 2003; WILTFANG et al., 2004; PLACHOKOVA et al., 2006, 2007). Para Weibrich et al. (2004) o PRP, sob condições ideais, parece ser capaz de ativar os processos de regeneração óssea, mas estas condições ainda não são completamente conhecidas.

Essa grande heterogeneidade nos resultados encontrados na literatura poderia estar ligada a diferentes variáveis associadas ao PRP. Assim, uma das variáveis seria a utilização de diferentes protocolos para obtenção dos PRPs, implicando em diferenças qualitativas e quantitativas no produto final obtido (DOHAN EHRENFEST; RASMUSSEN; ALBREKTSSON, 2009). Optou-se aqui por seguir o protocolo utilizado por Suaid et al. (2008). Esta escolha foi feita após a realização de um breve estudo piloto onde se avaliou dentre diversos protocolos (SONNLEITNER; HUEMER; SULLIVAN, 2000; ARGUELLES et al., 2008; SUAID et al., 2008; NAGATA et al., 2009a; FRANCO et al., 2012; JIANG et al., 2012), aquele que apresentasse o PRP com maior concentração de plaquetas, com valor entre 1000 a 1845 $\times 10^3/\text{mm}^3$ (SHIU et al., 2014). A quantificação final do total de plaquetas aplicado aqui é um fator importante para controle do PRP, apesar de em muitos trabalhos os pesquisadores não se preocuparem em fazê-la (NATHER et al., 2012; OZDEMIR et al., 2012).

Cumprе salientar, que a concentração plaquetária pode variar muito devido aos valores normais diferentes entre espécies animais e as formas de preparo do PRP (ROUKIS; ZGONIS; TIERNAN, 2006; VAN DEN DOLDER et al., 2006). Segundo Shiu et al. (2014) a concentração plaquetária requerida para um efeito positivo na regeneração óssea abrange um intervalo muito limitado que vai de 1000 a 1845 $\times 10^3/\text{mm}^3$. O número total de plaquetas no PRP aqui obtido foi ao redor de 5 vezes maior que no sangue total. Este valor está de acordo com o definido na literatura como típico PRP, ou seja, número de plaquetas 5 vezes acima do nível

fisiológico sanguíneo (MARX, 2001). Na literatura vários trabalhos mostram valores similares de concentração de plaquetas associados a efeitos positivos na regeneração óssea (KIM et al., 2002; WEIBRICH et al., 2002; NAGATA et al., 2009b).

Um segundo fator que pode ter sido o responsável pela variabilidade nos resultados dos estudos é a forma de ativação do PRP (WALKOWIAK et al., 2000; LOZADA et al., 2001). Nesse sentido, enquanto alguns não ativam as plaquetas, outros as ativam usando trombina autóloga, cloreto de cálcio e métodos físicos ou até mesmo biomateriais (KON et al., 2011). A concentração de trombina e cálcio para ativação plaquetária pode afetar a liberação de fatores de crescimento, a divisão celular (LACOSTE; MARTINEAU; GAGNON, 2003; ROUSSY; BERTRAND DUCHESNE; GAGNON, 2007) e a propriedade adesiva do PRP (LUENGO GIMENO et al., 2006). No entanto, a forma com que esses ativadores afetam as propriedades do PRP não é conhecida (SHIU et al., 2014). Além disso, a quantidade de PRP aplicada, o número de administrações e tempo de manipulação são fatores que podem influenciar os resultados (ROFFI et al., 2013). No atual estudo utilizou-se uma solução de cloreto de cálcio 10% na proporção de 1:8 para ativação plaquetária, de conformidade com os diversos estudos que utilizaram com sucesso esta mesma solução (SUAID et al., 2008; PENTEADO et al., 2013; LEE et al., 2015).

Outro ponto polêmico em relação ao PRP diz respeito à identificação de materiais de enxerto que respondem melhor à associação com o PRP. Uma revisão sistemática sobre o assunto realizada por Roffi et al. (2013) sugere que o PRP não deve ser indicado para uso com β -TCP e que a sua associação com o enxerto autógeno ainda apresenta muitas controvérsias, enquanto que o biomaterial, que apresentou melhores resultados com essa associação foi a HA. No entanto, ainda são controversos os resultados da associação de outros biomateriais com HA e PRP (ROFFI et al., 2013).

Previamente ao início do presente estudo, foi desenvolvido um experimento piloto para definição da melhor forma de acesso ao seio maxilar, sem que houvesse danos à membrana sinusal e complicações pós-operatórias. Deste modo, o protocolo baseado nos trabalhos de Asai, Shimizu e Ooya (2002) e Xu et al. (2003) foi o escolhido, devido a técnica cirúrgica simples e sem complicações pós-operatórias. No entanto, o formato da incisão foi modificado de uma incisão

perpendicular para uma incisão em meia lua, para facilitar o acesso ao osso nasal. Além disso, foi utilizado broca trefina para acesso ao seio maxilar ao invés de broca esférica como na técnica de Xu et al. (2003). No momento do preenchimento do seio maxilar foi também levado em conta as variações morfológicas individuais apresentadas pelo seio maxilar nos coelhos, de mais arredondado para mais alongado. Mas segundo Moon et al. (2015a), independente da técnica cirúrgica escolhida é imprescindível em todos os casos que se tome o máximo de cuidado para que não ocorra lesão na membrana sinusal evitando o extravasamento de material de enxerto e ocorrência de infecções.

Ao contrário dos trabalhos desenvolvidos em humanos onde o período para análise histológica é o da colocação do implante quando a biópsia é coletada, na atual pesquisa os períodos experimentais de 30, 60 e 180 dias após as cirurgias foram utilizados, permitindo uma avaliação temporal da evolução do reparo ósseo. Além do que, levando em consideração o maior metabolismo apresentado pelo coelho, o período final de 180 dias nesse caso, pode representar uma avaliação em longo prazo em seres humanos (LAMBERT et al., 2013).

6.2 REPARO ÓSSEO E VOLUME SINUSAL NOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS

Os resultados histomorfométricos e microtomográficos obtidos no presente trabalho possibilitaram um melhor entendimento do comportamento do enxerto autógeno, Bio-Oss® e HA/TCPp associados ou não ao PRP em levantamento de seio maxilar de coelhos, complementando os dados de diversos estudos já realizados utilizando o mesmo modelo experimental (BUTTERFIELD et al., 2005; SICCA et al., 2008; DE SOUZA NUNES et al., 2010; LAMBERT et al., 2011).

Vale lembrar que o volume de cada material mais sangue ou PRP utilizado no levantamento de cada seio maxilar, foi de 200 mm³. No entanto, na análise microtomográfica, o volume total do seio elevado aos 30 dias foi similar em todos os grupos, sendo em média de 142 mm³, valor 29% menor que o volume originalmente colocado. Essa redução observada provavelmente possa ser decorrente da contração do coágulo/PRP associada à pressão sinusal, e em menor grau da retração provocada pela fixação histológica. Entre 30 e 180 dias, o volume elevado

no grupo autógeno reduziu acentuadamente passando para $92,5 \text{ mm}^3$ aos 180 dias, enquanto que, nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp os volumes se mantiveram estáveis. Também a altura do seio elevado teve comportamento semelhante, valendo ao final de 180 dias, 3,6 mm, 5,6 mm e 6,0 mm, respectivamente, para os grupos autógeno, Bio-Oss e HATCPp.

Essas alterações lineares e volumétricas observadas são facilmente entendidas quando as imagens microtomográficas/histológicas são associadas aos dados morfométricos da evolução de volume cada estrutura presente no seio maxilar elevado.

Assim, no caso do enxerto autógeno a redução do volume do seio elevado foi devida a rápida e gradual reabsorção do enxerto logo após a sua implantação, além da prevalência da reabsorção sobre a neoformação durante a fase de remodelação óssea já a partir dos 60 dias. Em números, o volume do enxerto e de tecido ósseo aos 30 dias, que era, respectivamente, $17,9 \text{ mm}^3$ e $44,8 \text{ mm}^3$, passou para $3,2 \text{ mm}^3$ e 19 mm^3 , aos 180 dias. Morfologicamente nesse período final de tratamento, a região elevada dos seios maxilares já exibia trabéculas ósseas finas associadas a pequenos fragmentos de enxerto e grande quantidade de medula óssea amarela (63 mm^3) e tecido conjuntivo ($7,3 \text{ mm}^3$) ocupando os espaços intertrabeculares, quadro que estruturalmente inviabilizaria a instalação/estabilização de implantes metálicos. Vale ressaltar que a grande reabsorção do enxerto autógeno após o levantamento de seio maxilar de coelhos com enxerto autógeno e a tendência ao final do tratamento de predominância de medula óssea, já havia sido descrita por outros pesquisadores (SICCA et al., 2008; TRINDADE-SUEDAM et al., 2010; LAMBERT et al., 2011). Corroborando com essas informações, anteriormente a esses trabalhos acima citados, já havia sido demonstrado em coelhos, que o levantamento de seio maxilar com osso autógeno oferece excelente regeneração óssea, mas, ao longo do tempo, o osso neoformado e o próprio enxerto autógeno não suportam adequadamente a pressão intrasinusal positiva relacionada à respiração nasal, o que leva a reabsorção óssea e a reexpansão da cavidade sinusal (HATANO; SHIMIZU; OOYA, 2004; OHYA et al., 2005; SUN et al., 2008). Alguns autores mostraram que essa re-pneumatização do seio poderia ser evitada pela utilização de partículas de osso desproteínizado em combinação com o sangue (XU et al., 2004, 2005).

Por outro lado, a origem embriológica da região doadora do enxerto autógeno parece estar relacionada ao grau de reabsorção do mesmo (ZINS; WHITAKER, 1983). No presente estudo foi utilizado enxerto autógeno córtico-medular obtido da calvária dos coelhos, visto que diversos trabalhos enfatizavam a instabilidade do enxerto autógeno obtido da crista ilíaca comparado ao obtido da calvária (DONOVAN et al., 1993; JOHANSSON et al., 2001; SMOLKA et al., 2006; CRESPI et al., 2007). Dentre esses, vale ressaltar o estudo histomorfométrico desenvolvido por Crespi et al. (2007), onde biópsias obtidas após 5 meses da elevação do seio maxilar com osso autógeno, mostraram volume ósseo total (enxerto + osso neoformado) 57% maior nos seios elevados com enxertos obtidos de calvária comparados com os obtidos da crista ilíaca. Essa maior qualidade na regeneração óssea associada ao enxerto autógeno obtido da calvária em relação ao da crista ilíaca também já havia sido observada em reconstrução de rebordo alveolar (SMOLKA et al., 2006).

Embora na atual pesquisa o enxerto autógeno utilizado tenha sido obtido de calvária, os resultados aqui obtidos, mostraram que ao longo do tempo ele também apresentou alta taxa de reabsorção, juntamente com o osso neoformado. Já, nos grupos Bio-Oss e HA/TCPp, os biomateriais favoreceram a manutenção do volume elevado do seio maxilar devido as suas características de baixa e lenta reabsorção pelos osteoclastos/células gigantes multinucleadas. Deste modo, a permanência dos biomateriais por um maior tempo permitiu que a formação óssea ocorresse entre as partículas e se mantivesse ao longo do tempo mesmo sob a ação de forças intrasinais. Resultados semelhantes foram observados por Lambert et al. (2011) utilizando Bio-Oss®.

Por outro lado, sabe-se que a estabilidade volumétrica do seio maxilar elevado representa um importante fator de sucesso para a instalação de implantes, não só pela quantidade suficiente de osso neoformado bem como pela sua qualidade (KIRMEIER et al., 2008). No caso das cerâmicas bifásicas a estabilidade do volume ósseo neoformado pode ser influenciada pela concentração de seus componentes (OHE et al., 2015). Assim, Kuhl et al. (2015) em estudo realizado em humanos utilizando a cerâmica Straumann® BoneCeramic™, uma cerâmica bifásica HA/TCP (60:40), observou uma redução significativa de 15% no volume do seio maxilar elevado entre o período de duas semanas à seis meses, resultados similares

aos encontrados por outros (OHE et al., 2015). No entanto, Lambert et al. (2013) não observaram variações no volume do seio maxilar elevado de coelhos tratados com Straumann® BoneCeramic™, nos períodos avaliados de 1 semana, 5 semanas e 6 meses corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. Lim et al. (2015) utilizando a biocerâmica HA/TCP na proporção de 70:30 também não encontraram variação no volume do seio maxilar elevado entre os períodos avaliados de 15 a 60 dias. Chama atenção, o fato de o volume elevado obtido por esses pesquisadores aos 60 dias de 188,12 mm³ foi similar ao volume de 171,78 mm³ observado no mesmo período do atual estudo.

A manutenção do volume sinusal elevado se deve em grande parte a pouca reabsorção do biomaterial e a ocupação dos espaços entre as partículas por tecido ósseo neoformado. Nesse sentido, ao final do período analisado o volume do HA/TCPp se manteve constante e o do Bio-Oss® reduziu apenas 25%, enquanto que a formação óssea aumentou substancialmente, passando a ocupar, para ambos biomateriais, em média 44 mm³ do volume do seio elevado.

O Bio-Oss® considerado por muitos como o melhor dentre os biomateriais utilizados no levantamento de seio maxilar é um excelente material osteocondutor, lentamente reabsorvido e que mantém o volume ósseo neoformado estável, mesmo no longo prazo (PIATTELLI et al., 1999; SARTORI et al., 2003; SCARANO et al., 2004; TRAINI et al., 2007; TRAINI et al., 2008). Na presente pesquisa aos 180 dias, o percentual de volume ocupado pelo Bio-Oss® no seio maxilar dos coelhos foi de 30,5%, valor similar ao encontrado em biópsias de seios maxilares elevados em humanos, coletadas após 160 dias (ZITZMANN et al., 2001; SCHMITT et al., 2014), demonstrando uma similaridade de resultados entre espécies. Quanto a reabsorção do biomaterial, já foi observada a presença de partículas de Bio-Oss® intimamente aderidas ao tecido ósseo, em biópsias humanas coletadas após 9 anos da elevação sinusal (TRAINI et al., 2007), comprovando que a sua substituição por tecido ósseo é muito lenta.

Diferentemente da vasta literatura referente ao comportamento biológico e clínico do Bio-Oss® e similares, as cerâmicas bifásicas são ainda pouco difundidas e utilizadas na clínica odontológica e os poucos estudos existentes avaliam formulações com diferentes concentrações de HA e TCP (FRENKEN et al., 2010; LIM et al., 2015; MANGANO et al., 2015), sendo difícil estabelecer uma

previsibilidade do seu comportamento no levantamento de seio maxilar em humanos. Porém, alguns estudos em coelhos e humanos no levantamento de seio maxilar, mostraram que a formulação da cerâmica nas proporções 30:70, 60:40 e 70:30 parece não ter influenciado nos valores de tecido ósseo formado, biomaterial remanescente e formação da medula óssea em cada caso (FRENKEN et al., 2010; LIM et al., 2015; MANGANO et al., 2015).

No atual trabalho foi observado que o biomaterial HA/TCPp 70:30 foi lentamente absorvido, mesmo com a presença de grande quantidade de células gigantes multinucleadas durante todo o período experimental, sendo o mesmo observado por Lambert et al. (2013) utilizando a biocerâmica bifásica Straumann® BoneCeramic™ com proporção HA/TCP de 60:40, sugerindo um processo incompleto de absorção por essas células com dissolução muito lenta das partículas de cerâmica (ZERBO et al., 2005). Convém lembrar, que estas células também estavam presentes na superfície das partículas de Bio-Oss®.

Devido à lenta reabsorção e às características osteocondutivas do Bio-Oss® e do HA/TCPp, a formação óssea ocorreu nos espaços entre as suas partículas e também nos poros e concavidades presentes nas partículas do HA/TCPp. O preenchimento dos espaços por tecido ósseo ocorreu até o período de 60 dias, mantendo-se o volume constante até os 180 dias. Comparativamente, o estudo de Lim et al. (2015) com seio maxilar de coelhos elevados com HA/TCP (70:30 e 30:70), mostrou no período de 60 dias um percentual de novo osso e biomaterial de, respectivamente, 24% e 40%, muito próximo aos valores de, respectivamente, 27,5% e 37% encontrados no presente estudo. Já, no trabalho de Lambert et al. (2013) com a biocerâmica bifásica Straumann® BoneCeramic™ (60:40), o percentual de osso neoformado aos 35 dias e 180 dias foi de, respectivamente, 12,9% e 21,5%, valores inferiores ao obtidos aqui no grupo HA/TCPp, nos períodos de 30 e 180 dias, que foram, respectivamente, de 20,73% e 26,14%. O percentual de biomaterial remanescente de 24,2% aos 35 dias e de 21,5% aos 180 dias também foi menor comparados aos valores de 45,63% aos 30 dias e 37,85% aos 180 dias obtidos no presente estudo.

O número de osteoclastos/células gigantes multinucleadas se manteve estável durante todos os períodos experimentais aqui estudados, mostrando que o tecido ósseo neoformado e depositado entre as partículas do biomaterial já passava

por um processo de remodelação, levando ao final do período estudado a formação de osso lamelar/maduro e de medula óssea. Cordaro et al. (2008) e de Lange et al. (2014) obtiveram resultados similares quanto a formação óssea, aos obtidos aqui, analisando biópsias humanas pós-colocação de implantes obtidas de regiões submetidas a levantamento do seio maxilar com Bio-Oss® e HA/TCP Straumann® BoneCeramic™ (60:40).

A associação do PRP ao material de preenchimento comparado ao sangue, só mostrou efeito no grupo AUT, onde a sua presença modificou temporalmente o processo de reabsorção das partículas de enxerto autógeno e a formação/remodelação óssea. Assim, o volume de osso autógeno aos 30 dias foi de 10,9 mm³ e 24,9 mm³, respectivamente, nos seios maxilares tratados com PRP e não tratados com PRP, sugerindo que o PRP acelerou a reabsorção do material enxertado. Por outro lado, o pico de volume de tecido ósseo neoformado nos seios tratados com enxerto autógeno + PRP, de 47,2 mm³ foi observado aos 30 dias, enquanto que, nos tratados com enxerto autógeno associado com sangue, o pico de 48,2 mm³ foi atingido somente aos 60 dias, evidenciando um potencial acelerador do PRP na formação óssea. Após os períodos de pico, em ambos os grupos, foi observado um decréscimo na quantidade de tecido ósseo, que estaria relacionado à dinâmica do reparo/remodelação óssea com a substituição do tecido ósseo primário por lamelar levando a compactação das trabéculas ósseas, que tornam mais finas, e a diminuição do volume de tecido ósseo sob a ação das forças sinusais que atuam externamente a zona do enxerto.

O grau de reabsorção/remodelação óssea no grupo tratado com osso autógeno associado ou não ao PRP pode ser verificado pelo número de osteoclastos presentes no local. Nos seios maxilares tratados com enxerto associado ao PRP, o número de osteoclastos na superfície das partículas do enxerto foi menor aos 30 dias (0,13/mm²), o que associado ao já pequeno volume do enxerto nesse período, sugere que o pico de osteoclastos e de reabsorção do enxerto, tenha ocorrido em um período anterior. Já, o número de osteoclastos na superfície do osso neoformado, no mesmo período, foi de 2,47/mm², indicando a ocorrência de intensa remodelação do osso neoformado que passa a exibir característica de osso lamelar. Já nos seios tratados com enxerto associado ao sangue, nesse mesmo período, o número de osteoclastos na superfície do enxerto foi de 2,35/mm² e na superfície do

osso novo, foi de apenas 1,61 osteoclastos/mm², sugerindo maior reabsorção das partículas de enxerto em relação ao osso neoformado, que se apresentava nesse caso mais imaturo em relação ao tratado com PRP. Aos 60 dias, nos seios tratados com enxerto associado ao PRP, o número de osteoclastos presentes tanto na superfície do enxerto, como na do osso novo havia reduzido drasticamente, acompanhando a redução de volume de osso neoformado, enquanto que, nos tratados com enxerto associado ao sangue, o número de osteoclastos foi semelhante ao encontrado aos 30 dias nos tratados com PRP, associado ao pico de osso novo.

Comparativamente, os estudos de Nagata et al. (2009b,2010a) também observaram maior formação óssea em defeitos cranianos tratados com osso autógeno associado ao PRP aos 30 dias do que aos 90 dias. Esse comportamento pode estar relacionado ao fato tecido ósseo já ter alcançado no período mais tardio, certo grau de maturação (SIMONPIERI et al., 2012).

Contrapondo aos resultados aqui obtidos, a literatura mostra vários estudos onde a associação do PRP ao enxerto autógeno não promoveu nenhuma alteração no processo de formação óssea (SHANAMAN; FILSTEIN; DANESH-MEYER, 2001; FROUM et al., 2002; AGHALOO; MOY; FREYMILLER, 2002; JAKSE et al., 2003; BUTTERFIELD et al., 2005; HATAKEYAMA et al., 2008), ou mesmo certo atraso na formação óssea (CHOI et al., 2004). No entanto, alguns estudos realizados em humanos apresentaram bons resultados com a utilização do PRP associado ao enxerto autógeno (KHAIRY et al., 2013; MAGESH; KUMARAVELU; MAHESHWARI, 2013). Assim, Khairy et al. (2013) realizaram cirurgias de levantamento de seio maxilar em pacientes com necessidade de colocação de implantes, utilizando enxerto autógeno associado ou não ao PRP, não constatando alterações após 90 dias, porém observando significativo aumento de densidade óssea, após 180 dias no grupo tratado com PRP.

Levando em consideração o padrão apresentado aqui pelo enxerto autógeno associado ou não ao PRP pode-se inferir que o PRP acelerou o reparo ósseo, com pico de formação óssea ocorrendo aos 30 dias após cirurgia. Portanto, sugere-se que a instalação de implantes em pacientes, poderia ser adiantada para um momento correspondente ao nosso período de 30 dias, para coincidir com a fase de

maior formação óssea, na expectativa que a instalação precoce do implante favoreça a manutenção do tecido ósseo diminuindo a reabsorção.

A associação do PRP aos materiais Bio-Oss® e HA/TCPp não promoveu diferenças no levantamento de seio maxilar em relação a associação com sangue, apresentando resultados similares tanto na manutenção do volume do seio aumentado quanto na quantidade do tecido ósseo formado em todos os períodos avaliados. Neste mesmo sentido, diversos estudos também não encontraram diferenças estatisticamente significantes durante o reparo ósseo quando o PRP foi adicionado tanto ao Bio-Oss® (FURST et al., 2003; DENICOLO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015), quanto a cerâmica bifásica HA/TCP (PLACHOKOVA et al., 2006, 2007; FARATZIS et al., 2012). Segundo Denicolo et al. (2013), os grupos tratados com os biomateriais associados com sangue podem ter apresentado resultados similares aos grupos com PRP porque o sangue também apresenta plaquetas, que apesar da sua menor concentração, liberam fatores de crescimento.

No entanto, na presente pesquisa uma análise morfológica mais detalhada dos seios elevados dos grupos Bio-Oss/PRP e HA/TCPp/PRP mostrou características mais avançadas de reparo ósseo, com presença de um tecido ósseo mais maduro comparado aos grupos associados com sangue. Resultados similares foram observados em humanos após 6 ou 8 meses de elevação sinusal com osso inorgânico bovino associado ao PRP (YILMAZ et al., 2013; TASCHIERI et al., 2015). Além disso, Torres et al. (2009) em estudo clínico randomizado *split-mouth* com 87 pacientes mostrou que o PRP associado ao Bio-Oss® promovia um maior ganho de tecido ósseo neoformado após 6 meses de elevação sinusal; os pesquisadores sugeriram que o PRP promove este maior ganho ósseo, aumentando as propriedades osteocondutivas do biomaterial.

Por outro lado, quando avaliado no reparo de defeito ósseo crítico em calvária de ratos, o Bio-Oss® associado ao PRP apresentou maior formação óssea somente no período de 30 dias, aos 60 dias a quantidade de osso neoformado foi similar nos grupos Bio-Oss+PRP e Bio-Oss (OLIVEIRA et al., 2015).

Em relação à utilização do HA/TCPp associado com PRP no levantamento de seio maxilar tanto em animais, como em humanos, a literatura é quase inexistente. No entanto, já existe um maior número de estudos avaliando essa associação em outros modelos experimentais. Assim, o uso de HA/TCPp associado

ao PRP no tratamento de defeitos cranianos críticos em ratos, no período de 1 a 4 semanas (PLACHOKOVA et al., 2006, 2007) e em coelhos, no período de 2 a 6 semanas (FARATZIS et al., 2012) não encontraram benefícios nessa associação. No entanto, a utilização do PRP com uma cerâmica de HA/TCPp 60:40 (BCP) em defeitos ósseos críticos na região proximal de tibia e distal de fêmur de ovelhas, mostrou um aumento significativo de volume ósseo com o PRP (MALHOTRA et al., 2014).

Apesar dos resultados aqui obtidos sugerirem uma ação positiva do PRP, a diversidade do design experimental dos estudos em animais, bem como os resultados obtidos clinicamente em humanos, não permitem ainda concluir que o PRP favoreça o ganho e/ou a maturidade óssea quando associado ao enxerto/biomaterial. Além disso, os vários efeitos do PRP estão profundamente interligados à natureza do enxerto/biomaterial utilizado (SIMONPIERI et al., 2012). Assim como, a superfície do material de tratamento poderia alterar a forma de ativação e concentração das plaquetas.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Em vista dos resultados aqui obtidos foi possível constatar e/ou concluir que:

- a) todos os três materiais aqui avaliados promoveram a formação óssea e medular ao longo dos períodos avaliados;
- b) a cerâmica HA/TCPp promoveu um reparo ósseo similar ao obtido com o Bio-Oss[®], com formação de uma quantidade significativa de tecido ósseo em todos períodos avaliados; enquanto o grupo AUT apresentou maior quantidade óssea nos períodos iniciais reduzindo acentuadamente aos 180 dias; ou seja, em relação aos objetivos da cirurgia de levantamento de seio maxilar, os resultados a longo prazo obtidos com ambos biomateriais foram mais favoráveis do que com enxerto autólogo;
- c) o ganho ósseo obtido com o uso de HA/TCPp ou Bio-Oss[®] foi mantido ao longo do tempo, enquanto com o enxerto autólogo houve uma redução significativa ao final de 180 dias, mostrando que o tratamento com os biomateriais são mais favoráveis na manutenção do volume ósseo do seio elevado;
- d) o quadro histológico do osso neoformado no grupo AUT ao final de 180 dias, com trabéculas ósseas extremamente finas e com predominância de medula óssea amarela mostra que o enxerto autólogo não foi capaz de manter a estrutura óssea mais favorável obtida nos períodos anteriores;
- e) o PRP adiantou o processo de formação/maturação óssea no grupo AUT nos períodos iniciais;
- f) o PRP não apresentou influência nos grupos HA/TCPp e Bio-Oss, no entanto, a presença de maior quantidade de estruturas ósseas lamelares, mostrou que, morfologicamente os grupos tratados com PRP apresentaram características mais avançadas de reparo ósseo comparado aos tratados com sangue.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- Aaboe M, Schou S, Hjorting-Hansen E, Helbo M, Vikjaer D. Osseointegration of subperiosteal implants using bovine bone substitute and various membranes. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(1):51-8.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002;60(10):1176-81.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(1):59-65.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Dennis Bray, Roberts K, et al. Comunicação, citoesqueleto, ciclo, morte e divisão celular. In: Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Dennis Bray, Roberts K, et al. *Biologia molecular da célula*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 871-1116.
- Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(4):529-35.
- Aoki H. Medical application of hidroxyapatite. Tokyo: St. Louis; 1994.
- Arguelles D, Carmona JU, Climent F, Munoz E, Prades M. Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in five horses. *Vet Rec*. 2008;162(7):208-11.
- Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol*. 2001;72(2):152-9.
- Asai S, Shimizu Y, Ooya K. Maxillary sinus augmentation model in rabbits: effect of occluded nasal ostium on new bone formation. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(4):405-9.
- Bae JH, Kim YK, Myung SK. Effects of platelet-rich plasma on sinus bone graft: meta-analysis. *J Periodontol*. 2011;82(5):660-7.
- Boccaccini AR, Blaker JJ. Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds. *Expert Rev Med Devices*. 2005;2(3):303-17.
- Boronat-Lopez A, Carrillo C, Penarrocha M, Penarrocha-Diago M. Immediately restored dental implants for partial-arch applications: a study of 12 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(1):195-9.
- Boyapati L, Wang HL. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. *Implant Dent*. 2006;15(2):160-70.

- Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(12):1693-707.
- Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Regeneração óssea guiada na implantodontia. São Paulo: Quintessence; 1996. 270p.
- Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(3):370-6.
- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res*. 2002;37(4):300-6.
- Carinci F, Farina A, Zanetti U, Vinci R, Negrini S, Calura G, et al. Alveolar ridge augmentation: a comparative longitudinal study between calvaria and iliac crest bone grafts. *J Oral Implantol*. 2005;31(1):39-45.
- Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(2):137-43.
- Centrella M, McCarthy TL, Canalis E. Platelet-derived growth factor enhances deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in osteoblast-enriched cultures from fetal rat parietal bone. *Endocrinology*. 1989;125(1):13-9.
- Cestari TM, Carboni NM, Assis GF, Garlet GP, Taga R. Differences in the repair process of bone defect filled with HA/TCP (70:30) biphasic ceramic. Influence of the porosity and particle size [trabalho apresentado]. 6º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Gramado, RS; 2010.
- Chanavaz M. Maxillary sinus: anatomy, physiology, surgery, and bone grafting related to implantology--eleven years of surgical experience (1979-1990). *J Oral Implantol*. 1990;16(3):199-209.
- Chaves MD, de Souza Nunes LS, de Oliveira RV, Holgado LA, Filho HN, Matsumoto MA, et al. Bovine hydroxyapatite (Bio-Oss®) induces osteocalcin, RANK-L and osteoprotegerin expression in sinus lift of rabbits. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012;40(8):e315-20.
- Choi BH, Im CJ, Huh JY, Suh JJ, Lee SH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33(1):56-9.
- Consolo U, Zaffe D, Bertoldi C, Ceccherelli G. Platelet-rich plasma activity on maxillary sinus floor augmentation by autologous bone. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(2):252-62.

- Cordaro L, Bosshardt DD, Palattella P, Rao W, Serino G, Chiapasco M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(8):796-803.
- Corinaldesi G, Piersanti L, Piattelli A, Iezzi G, Pieri F, Marchetti C. Augmentation of the floor of the maxillary sinus with recombinant human bone morphogenetic protein-7: a pilot radiological and histological study in humans. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2013;51(3):247-52.
- Crespi R, Vinci R, Cappare P, Gherlone E, Romanos GE. Calvarial versus iliac crest for autologous bone graft material for a sinus lift procedure: a histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22(4):527-32.
- Daculsi G, Laboux O, Malard O, Weiss P. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. *J Mater Sci Mater Med*. 2003;14(3):195-200.
- Dallari D, Fini M, Stagni C, Torricelli P, Nicoli Aldini N, Giavaresi G, et al. In vivo study on the healing of bone defects treated with bone marrow stromal cells, platelet-rich plasma, and freeze-dried bone allografts, alone and in combination. *J Orthop Res*. 2006;24(5):877-88.
- De Groot K. *Ceramic of Calcium Phosphates: Preparation and Properties*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1983.
- de Lange GL, Overman JR, Farre-Guasch E, Korstjens CM, Hartman B, Langenbach GE, et al. A histomorphometric and micro-computed tomography study of bone regeneration in the maxillary sinus comparing biphasic calcium phosphate and deproteinized cancellous bovine bone in a human split-mouth model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014;117(1):8-22.
- De Souza Nunes LS, De Oliveira RV, Holgado LA, Nary Filho H, Ribeiro DA, Matsumoto MA. Immunoexpression of Cbfa-1/Runx2 and VEGF in sinus lift procedures using bone substitutes in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(6):584-90.
- Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, Weinstein R. Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004;24(6):565-77.
- Del Fabbro M, Corbella S, Ceresoli V, Ceci C, Taschieri S. Plasma rich in growth factors improves patients' postoperative quality of life in maxillary sinus floor augmentation: preliminary results of a randomized clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. In press 2013.
- Denicolo PJ, Guyton MK, Cuenin M, Hokett S, Sharawy M, Borke JL, et al. Histologic evaluation of osseous regeneration following combination therapy with platelet-rich plasma and BioOss in a calvarial critical size defect model. *J Oral Implantol*. In press 2013.

- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009;27(3):158-67.
- Donovan MG, Dickerson NC, Hellstein JW, Hanson LJ. Autologous calvarial and iliac onlay bone grafts in miniature swine. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51(8):898-903.
- Efeoglu C, Akcay YD, Erturk S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(11):1403-7.
- Faratzis G, Leventis M, Chrysomali E, Khaldi L, Eleftheriadis A, Eleftheriadis I, et al. Effect of autologous platelet-rich plasma in combination with a biphasic synthetic graft material on bone healing in critical-size cranial defects. *J Craniofac Surg.* 2012;23(5):1318-23.
- Fennis JP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a histological and histomorphometric study on the use of autogenous scaffolds, particulate cortico-cancellous bone grafts and platelet rich plasma in goats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(1):48-55.
- Fennis JP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Reconstruction of the mandible with an autogenous irradiated cortical scaffold, autogenous corticocancellous bone-graft and autogenous platelet-rich-plasma: an animal experiment. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(2):158-66.
- Fernandes G, Laranjeiras MCM. Calcium phosphate biomaterials from marine algae hydrothermal synthesis and characterization. *Química Nova.* 2000;23(4):441-6.
- Franco D, Franco T, Schettino AM, Filho JM, Vendramin FS. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use. *Aesthetic Plast Surg.* 2012;36(5):1254-9.
- Frenken JW, Bouwman WF, Bravenboer N, Zijdeveld SA, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(2):201-8.
- Froum SJ, Wallace SS, Tarnow DP, Cho SC. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2002;22(1):45-53.
- Fugazzotto PA, Vlassis J. Long-term success of sinus augmentation using various surgical approaches and grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13(1):52-8.
- Furst G, Gruber R, Tangl S, Zechner W, Haas R, Mailath G, et al. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(4):500-8.

- Galindo-Moreno P, Avila G, Fernandez-Barbero JE, Aguilar M, Sanchez-Fernandez E, Cutando A, et al. Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(3):376-82.
- Grageda E, Lozada JL, Boyne PJ, Caplanis N, McMillan PJ. Bone formation in the maxillary sinus by using platelet-rich plasma: an experimental study in sheep. *J Oral Implantol.* 2005;31(1):2-17.
- Graves DT, Cochran DL. Periodontal regeneration with polypeptide growth factors. *Curr Opin Periodontol.* 1994; (2):178-86.
- Graziani F, Ducci F, Tonelli M, El Askary AS, Monier M, Gabriele M. Maxillary sinus augmentation with platelet-rich plasma and fibrinogen cryoprecipitate: a tomographic pilot study. *Implant Dent.* 2005;14(1):63-9.
- Gross UM, Muller-Mai CM, Voigt C. The interface of calcium-phosphate and glass-ceramic in bone, a structural analysis. *Biomaterials.* 1990;11:83-5.
- Hatakeyama M, Beletti ME, Zanetta-Barbosa D, Dechichi P. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet-rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(1):e13-8.
- Hatano N, Shimizu Y, Ooya K. A clinical long-term radiographic evaluation of graft height changes after maxillary sinus floor augmentation with a 2:1 autogenous bone/xenograft mixture and simultaneous placement of dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(3):339-45.
- Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev.* 1999;79(4):1283-316.
- Hieu PD, Chung JH, Yim SB, Hong KS. A radiographical study on the changes in height of grafting materials after sinus lift: a comparison between two types of xenogenic materials. *J Periodontal Implant Sci.* 2010;40(1):25-32.
- Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol.* 2002;28(6):290-4.
- Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Inchingolo AD, Dipalma G, et al. Regenerative surgery performed with platelet-rich plasma used in sinus lift elevation before dental implant surgery: an useful aid in healing and regeneration of bone tissue. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012;16(9):1222-6.
- Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(5):578-83.
- Jensen T, Schou S, Stavropoulos A, Terheyden H, Holmstrup P. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft in animals: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41(1):114-20.

Jiang ZQ, Liu HY, Zhang LP, Wu ZQ, Shang DZ. Repair of calvarial defects in rabbits with platelet-rich plasma as the scaffold for carrying bone marrow stromal cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;113(3):327-33.

Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Hirsch JM. A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dentomaxillofac Radiol*. 2001;30(3):157-61.

Joshi A. An investigation of post-operative morbidity following chin graft surgery. *Br Dent J*. 2004;196(4):215-8; discussion 1.

Jung RE, Schmoekel HG, Zwahlen R, Kokovic V, Hammerle CH, Weber FE. Platelet-rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(6):676-82.

Jungbluth P, Wild M, Grassmann JP, Ar E, Sager M, Herten M, et al. Platelet-rich plasma on calcium phosphate granules promotes metaphyseal bone healing in mini-pigs. *J Orthop Res*. 2010;28(11):1448-55.

Kanno T, Takahashi T, Tsujisawa T, Ariyoshi W, Nishihara T. Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(3):362-9.

Kanthan SR, Kavitha G, Addi S, Choon DS, Kamarul T. Platelet-rich plasma (PRP) enhances bone healing in non-united critical-sized defects: a preliminary study involving rabbit models. *Injury*. 2011;42(8):782-9.

Kassolis JD, Reynolds MA. Evaluation of the adjunctive benefits of platelet-rich plasma in subantral sinus augmentation. *J Craniofac Surg*. 2005;16(2):280-7.

Kasten P, Vogel J, Geiger F, Niemeyer P, Luginbuhl R, Szalay K. The effect of platelet-rich plasma on healing in critical-size long-bone defects. *Biomaterials*. 2008;29(29):3983-92.

Khairy NM, Shendy EE, Askar NA, El-Rouby DH. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(2):249-55.

Kim ES, Park EJ, Choung PH. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *J Prosthet Dent*. 2001;86(4):428-33.

Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002;60(9):1018-25.

Kirmeier R, Payer M, Wehrschoetz M, Jakse N, Platzer S, Lorenzoni M. Evaluation of three-dimensional changes after sinus floor augmentation with different grafting materials. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(4):366-72.

Klijn RJ, Meijer GJ, Bronkhorst EM, Jansen JA. Sinus floor augmentation surgery using autologous bone grafts from various donor sites: a meta-analysis of the total bone volume. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010;16(3):295-303.

Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Thorwarth M, Wiltfang J, Schlegel KA. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. *Clin Oral Implants Res*. 2006a;17(3):312-20.

Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Zimmermann R, Thorwarth M, Pongsiri S, et al. Lack of beneficial effects of platelet-rich plasma on sinus augmentation using a fluorohydroxyapatite or autogenous bone: an explorative study. *J Clin Periodontol*. 2006b;33(7):500-9.

Kohri M, Miki K, Waite DE, Nakajima H, Okabe T. In vitro stability of biphasic calcium phosphate ceramics. *Biomaterials*. 1993;14(4):299-304.

Kon E, Filardo G, Di Martino A, Marcacci M. Platelet-rich plasma (PRP) to treat sports injuries: evidence to support its use. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011;19(4):516-27.

Kuhl S, Brochhausen C, Gotz H, Filippi A, Payer M, d'Hoedt B, et al. The influence of bone substitute materials on the bone volume after maxillary sinus augmentation: a microcomputerized tomography study. *Clin Oral Investig*. 2013;17(2):543-51.

Kuhl S, Payer M, Kirmeier R, Wildburger A, Acham S, Jakse N. The influence of particulated autogenous bone on the early volume stability of maxillary sinus grafts with biphasic calcium phosphate: a randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015;17(1):173-8.

Kumar NK, Shaik M, Nadella KR, Chintapalli BM. Comparative study of alveolar bone height and implant survival rate between autogenous bone mixed with platelet rich plasma versus venous blood for maxillary sinus lift augmentation procedure. *J Maxillofac Oral Surg*. 2015;14(2):417-22.

Kumlien J, Schiratzki H. The vascular arrangement of the sinus mucosa. A study in rabbits. *Acta Otolaryngol*. 1985;99(1-2):122-32.

Kurashina K, Kurita H, Kotani A, Takeuchi H, Hirano M. In vivo study of a calcium phosphate cement consisting of alpha-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide. *Biomaterials*. 1997;18(2):147-51.

Kurkcu M, Benlidayi ME, Cam B, Sertdemir Y. Anorganic bovine-derived hydroxyapatite vs beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation: a comparative histomorphometric study. *J Oral Implantol*. 2012;38 Spec No:519-26.

Lacoste E, Martineau I, Gagnon G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *J Periodontol*. 2003;74(10):1498-507.

- Lambert F, Leonard A, Drion P, Sourice S, Layrolle P, Rompen E. Influence of space-filling materials in subantral bone augmentation: blood clot vs. autogenous bone chips vs. bovine hydroxyapatite. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(5):538-45.
- Lambert F, Leonard A, Drion P, Sourice S, Pilet P, Rompen E. The effect of collagenated space filling materials in sinus bone augmentation: a study in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(5):505-11.
- Lee JH, Nam J, Kim HJ, Yoo JJ. Comparison of three different methods for effective introduction of platelet-rich plasma on PLGA woven mesh. *Biomed Mater.* 2015;10(2):025002.
- Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Aleksic Z, Kenney EB. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *J Clin Periodontol.* 2003;30(8):746-51.
- Lim HC, Zhang ML, Lee JS, Jung UW, Choi SH. Effect of different hydroxyapatite: beta-tricalcium phosphate ratios on the osteoconductivity of biphasic calcium phosphate in the rabbit sinus model. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(1):65-72.
- Lozada JL, Caplanis N, Proussaefs P, Willardsen J, Kammeyer G. Platelet-rich plasma application in sinus graft surgery: part I--background and processing techniques. *J Oral Implantol.* 2001;27(1):38-42.
- Lozano M, Estebanell E, Cid J, Diaz-Ricart M, Mazzara R, Ordinas A, et al. Platelet concentrates prepared and stored under currently optimal conditions: minor impact on platelet adhesive and cohesive functions after storage. *Transfusion.* 1999;39(9):951-9.
- Luengo Gimeno F, Gatto S, Ferro J, Croxatto JO, Gallo JE. Preparation of platelet-rich plasma as a tissue adhesive for experimental transplantation in rabbits. *Thromb J.* 2006;4:18-24.
- Luna LG. Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3. ed. New York: McGraw Hill; 1968.
- Magesh DP, Kumaravelu C, Maheshwari GU. Efficacy of PRP in the Reconstruction of mandibular segmental defects using iliac bone grafts. *J Maxillofac Oral Surg.* 2013;12(2):160-7.
- Maiorana C, Sommariva L, Brivio P, Sigurta D, Santoro F. Maxillary sinus augmentation with anorganic bovine bone (Bio-Oss) and autologous platelet-rich plasma: preliminary clinical and histologic evaluations. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23(3):227-35.
- Malhotra A, Pelletier M, Oliver R, Christou C, Walsh WR. Platelet-rich plasma and bone defect healing. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(19-20):2614-33.

- Mangano C, Sinjari B, Shibli JA, Mangano F, Hamisch S, Piattelli A, et al. A Human Clinical, Histological, Histomorphometrical, and Radiographical Study on Biphasic HA-Beta-TCP 30/70 in Maxillary Sinus Augmentation. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015;17(3):610-8.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638-46.
- Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.
- Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(4):489-96.
- Mazor Z, Peleg M, Garg AK, Luboshitz J. Platelet-rich plasma for bone graft enhancement in sinus floor augmentation with simultaneous implant placement: patient series study. *Implant Dent*. 2004;13(1):65-72.
- Mendonca-Caridad JJ, Nunez M, Juiz-Lopez P, Pita-Fernandez S, Seoane J. Sinus floor elevation using a composite graft: clinical outcome of immediate implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013;28(1):252-60.
- Messora MR, Nagata MJ, Mariano RC, Dornelles RC, Bomfim SR, Fucini SE, et al. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Periodontol Res*. 2008;43(2):217-23.
- Monov G, Fuerst G, Tepper G, Watzak G, Zechner W, Watzek G. The effect of platelet-rich plasma upon implant stability measured by resonance frequency analysis in the lower anterior mandibles. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(4):461-5.
- Moon JW, Sohn DS, Heo JU, Kim JS. Comparison of two kinds of bovine bone in maxillary sinus augmentation: a histomorphometric study. *Implant Dent*. 2015a;24(1):19-24.
- Moon KN, Kim SG, Oh JS, Kim CS, Lim SC, Jeong MA. Evaluation of bone formation after grafting with deproteinized bovine bone and mineralized allogenic bone. *Implant Dent*. 2015b;24(1):101-5.
- Nagata M, Messoria M, Okamoto R, Campos N, Pola N, Esper L, et al. Influence of the proportion of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: an immunohistochemical analysis in rat calvaria. *Bone*. 2009a;45(2):339-45.
- Nagata MJ, Melo LG, Messoria MR, Bomfim SR, Fucini SE, Garcia VG, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-size defects. *J Clin Periodontol*. 2009b;36(9):775-83.

- Nagata MJ, Messoria M, Pola N, Campos N, Vieira R, Esper LA, et al. Influence of the ratio of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Orthop Res*. 2010a;28(4):468-73.
- Nagata MJ, Messoria MR, Furlaneto FA, Fucini SE, Bosco AF, Garcia VG, et al. Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits. *Eur J Dent*. 2010b;4(4):395-402.
- Nather A, Wong KL, David V, Pereira BP. Allografts with autogenous platelet-rich plasma for tibial defect reconstruction: a rabbit study. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2012;20(3):375-80.
- Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol*. 1992;63(9):729-35.
- Nikolidakis D, van den Dolder J, Wolke JG, Stoelinga PJ, Jansen JA. The effect of platelet-rich plasma on the bone healing around calcium phosphate-coated and non-coated oral implants in trabecular bone. *Tissue Eng*. 2006;12(9):2555-63.
- Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20 Suppl 4:124-33.
- Nordstrom EG, Karlsson KH. Carbonate-doped hidroxyapatite. *J Mater Med*. 1990;1(3):182-4.
- Ohe JY, Kim GT, Lee JW, Al Nawas B, Jung J, Kwon YD. Volume stability of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate biphasic bone graft material in maxillary sinus floor elevation: a radiographic study using 3D cone beam computed tomography. *Clin Oral Implants Res*. In press 2015.
- Ohya M, Yamada Y, Ozawa R, Ito K, Takahashi M, Ueda M. Sinus floor elevation applied tissue-engineered bone. Comparative study between mesenchymal stem cells/platelet-rich plasma (PRP) and autogenous bone with PRP complexes in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(5):622-9.
- Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Y, Suzuki H, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol*. 2003;74(6):849-57.
- Oliveira MR, deC Silva A, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR Jr., Mariano RC. Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(5):649-55.

Oppenheimer AJ, Tong L, Buchman SR. Craniofacial bone grafting: Wolff's law revisited. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr.* 2008;1(1):49-61.

Ostman A, Thyberg J, Westermarck B, Heldin CH. PDGF-AA and PDGF-BB biosynthesis: proprotein processing in the Golgi complex and lysosomal degradation of PDGF-BB retained intracellularly. *J Cell Biol.* 1992;118(3):509-19.

Ozdemir B, Kurtis B, Tuter G, Senguven B, Tokman B, Pinar-Ozdemir S, et al. Double-application of platelet-rich plasma on bone healing in rabbits. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17(1):e171-7.

Pejrone G, Lorenzetti M, Mozzati M, Valente G, Schierano GM. Sinus floor augmentation with autogenous iliac bone block grafts: a histological and histomorphometrical report on the two-step surgical technique. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(4):383-8.

Penteado LA, Colombo CE, Penteado RA, Assis AO, Gurgel BC. Evaluation of bioactive glass and platelet-rich plasma for bone healing in rabbit calvarial defects. *J Oral Sci.* 2013;55(3):225-32.

Pettinicchio M, Traini T, Murmura G, Caputi S, Degidi M, Mangano C, et al. Histologic and histomorphometric results of three bone graft substitutes after sinus augmentation in humans. *Clin Oral Investig.* 2012;16(1):45-53.

Philippart P, Brasseur M, Hoyaux D, Pochet R. Human recombinant tissue factor, platelet-rich plasma, and tetracycline induce a high-quality human bone graft: a 5-year survey. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(3):411-6.

Philippart P, Daubie V, Pochet R. Sinus grafting using recombinant human tissue factor, platelet-rich plasma gel, autologous bone, and anorganic bovine bone mineral xenograft: histologic analysis and case reports. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(2):274-81.

Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(6):835-40.

Plachokova AS, van den Dolder J, Stoelinga PJ, Jansen JA. The bone regenerative effect of platelet-rich plasma in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(3):305-11.

Plachokova AS, van den Dolder J, Stoelinga PJ, Jansen JA. Early effect of platelet-rich plasma on bone healing in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(2):244-51.

Proussaefs P, Lozada J, Kleinman A, Rohrer MD. The use of ramus autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation and implant placement: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002;17(2):238-48.

Raghoobar GM, Louwerse C, Kalk WW, Vissink A. Morbidity of chin bone harvesting. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(5):503-7.

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

Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clin Oral Implants Res.* 2005;16(3):349-56.

Rickert D, Sauerbier S, Nagursky H, Menne D, Vissink A, Raghoobar GM. Maxillary sinus floor elevation with bovine bone mineral combined with either autogenous bone or autogenous stem cells: a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(3):251-8.

Rodriguez A, Anastasov GE, Lee H, Buchbinder D, Wettan H. Maxillary sinus augmentation with deproteinized bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61(2):157-63.

Roffi A, Filardo G, Kon E, Marcacci M. Does PRP enhance bone integration with grafts, graft substitutes, or implants? A systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 2013;14:330-40.

Roldan JC, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger DC, Acil Y, et al. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone.* 2004;34(1):80-90.

Roldan JC, Knueppel H, Schmidt C, Jepsen S, Zimmermann C, Terheyden H. Single-stage sinus augmentation with cancellous iliac bone and anorganic bovine bone in the presence of platelet-rich plasma in the miniature pig. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(4):373-8.

Rosen MD, Sarnat BG. Change of volume of the maxillary sinus of the dog after extraction of adjacent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1955;8(4):420-9.

Roukis TS, Zgonis T, Tiernan B. Autologous platelet-rich plasma for wound and osseous healing: a review of the literature and commercially available products. *Adv Ther.* 2006;23(2):218-37.

Roussy Y, Bertrand Duchesne MP, Gagnon G. Activation of human platelet-rich plasmas: effect on growth factors release, cell division and in vivo bone formation. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(5):639-48.

Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(3):369-72.

Sauerbier S, Rickert D, Gutwald R, Nagursky H, Oshima T, Xavier SP, et al. Bone marrow concentrate and bovine bone mineral for sinus floor augmentation: a controlled, randomized, single-blinded clinical and histological trial--per-protocol analysis. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(17-18):2187-97.

Scarano A, Pecora G, Piattelli M, Piattelli A. Osseointegration in a sinus augmented with bovine porous bone mineral: histological results in an implant retrieved 4 years after insertion. A case report. *J Periodontol*. 2004;75(8):1161-6.

Schaaf H, Streckbein P, Lendeckel S, Heidinger K, Gortz B, Bein G, et al. Topical use of platelet-rich plasma to influence bone volume in maxillary augmentation: a prospective randomized trial. *Vox Sang*. 2008a;94(1):64-9.

Schaaf H, Streckbein P, Lendeckel S, Heidinger KS, Rehmann P, Boedeker RH, et al. Sinus lift augmentation using autogenous bone grafts and platelet-rich plasma: radiographic results. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008b;106(5):673-8.

Scharf KE, Lawson W, Shapiro JM, Gannon PJ. Pressure measurements in the normal and occluded rabbit maxillary sinus. *Laryngoscope*. 1995;105(6):570-4.

Schimming R, Schmelzeisen R. Tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(6):724-9.

Schlegel KA, Fichtner G, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J. Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(1):53-8.

Schlegel KA, Zimmermann R, Thorwarth M, Neukam FW, Klongnoi B, Nkenke E, et al. Sinus floor elevation using autogenous bone or bone substitute combined with platelet-rich plasma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104(3):e15-25.

Schmitt CM, Doering H, Schmidt T, Lutz R, Neukam FW, Schlegel KA. Histological results after maxillary sinus augmentation with Straumann(R) BoneCeramic, Bio-Oss(R), Puros(R), and autologous bone. A randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(5):576-85.

Schmitt CM, Moest T, Lutz R, Neukam FW, Schlegel KA. Anorganic bovine bone (ABB) vs. autologous bone (AB) plus ABB in maxillary sinus grafting. A prospective non-randomized clinical and histomorphometrical trial. *Clin Oral Implants Res*. In press 2014.

Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001;21(4):345-55.

- Shiu HT, Goss B, Lutton C, Crawford R, Xiao Y. Formation of blood clot on biomaterial implants influences bone healing. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(6):697-712.
- Sicca CM, Corotti MV, Sgarbosa SH, Cestari TM, Cavalcanti MG, Ferreira PM, et al. Comparative histomorphometric and tomographic analysis of maxillary sinus floor augmentation in rabbits using autografts and xenografts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;86(1):188-96.
- Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13(7):1231-56.
- Smolka W, Eggensperger N, Carollo V, Ozdoba C, Iizuka T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(2):149-55.
- Sonnleitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15(6):879-82.
- Steigmann M, Garg AK. A comparative study of bilateral sinus lifts performed with platelet-rich plasma alone versus alloplastic graft material reconstituted with blood. *Implant Dent*. 2005;14(3):261-6.
- Stenport VF, Ortorp A, Thor A. Onlay and inlay bone grafts with platelet-rich plasma: histologic evaluations from human biopsies. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69(4):1079-85.
- Stubinger S, Dard M. The rabbit as experimental model for research in implant dentistry and related tissue regeneration. *J Invest Surg*. 2013;26(5):266-82.
- Suaid FF, Carvalho MD, Santamaria MP, Casati MZ, Nociti FH Jr., Sallum AW, et al. Platelet-rich plasma and connective tissue grafts in the treatment of gingival recessions: a histometric study in dogs. *J Periodontol*. 2008;79(5):888-95.
- Sumner DR, Turner TM, Purchio AF, Gombotz WR, Urban RM, Galante JO. Enhancement of bone ingrowth by transforming growth factor-beta. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77(8):1135-47.
- Sun XJ, Zhang ZY, Wang SY, Gittens SA, Jiang XQ, Chou LL. Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone complex with OsteoBone and bMSCs in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(8):804-13.
- Taschieri S, Testori T, Corbella S, Weinstein R, Francetti L, Di Giancamillo A, et al. Platelet-rich plasma and deproteinized bovine bone matrix in maxillary sinus lift surgery: a split-mouth histomorphometric evaluation. *Implant Dent*. In press 2015.

Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am*. 1986;30(2):207-29.

Thor A, Wannfors K, Sennerby L, Rasmusson L. Reconstruction of the severely resorbed maxilla with autogenous bone, platelet-rich plasma, and implants: 1-year results of a controlled prospective 5-year study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005;7(4):209-20.

Thor A, Franke-Stenport V, Johansson CB, Rasmusson L. Early bone formation in human bone grafts treated with platelet-rich plasma: preliminary histomorphometric results. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2007;36(12):1164-71.

Thorwarth M, Srouf S, Felszeghy E, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Schlegel KA. Stability of autogenous bone grafts after sinus lift procedures: a comparative study between anterior and posterior aspects of the iliac crest and an intraoral donor site. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100(3):278-84.

Tong DC, Rioux K, Drangsholt M, Beirne OR. A review of survival rates for implants placed in grafted maxillary sinuses using meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(2):175-82.

Torres J, Tamimi F, Martinez PP, Alkhraisat MH, Linares R, Hernandez G, et al. Effect of platelet-rich plasma on sinus lifting: a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2009;36(8):677-87.

Traini T, Valentini P, Iezzi G, Piattelli A. A histologic and histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone retrieved 9 years after a sinus augmentation procedure. *J Periodontol*. 2007;78(5):955-61.

Traini T, Degidi M, Sammons R, Stanley P, Piattelli A. Histologic and elemental microanalytical study of anorganic bovine bone substitution following sinus floor augmentation in humans. *J Periodontol*. 2008;79(7):1232-40.

Trindade-Suedam IK, de Moraes JA, Faeda RS, Leite FR, Tosoni GM, Neto CB, et al. Bioglass associated with leukocyte-poor platelet-rich plasma in the rabbit maxillary sinus: histomorphometric, densitometric, and fractal analysis. *J Oral Implantol*. 2010;36(5):333-43.

Ueda M, Tohnai I, Nakai H. Tissue engineering research in oral implant surgery. *Artif Organs*. 2001;25(3):164-71.

Urist MR. Bone morphogenetic protein. In: Habal NB, Reddi AH. Bone grafts and bone substitutes. Philadelphia: Saunders; 1992. p. 70-83.

Valentini P, Abensur DJ. Maxillary sinus grafting with anorganic bovine bone: a clinical report of long-term results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(4):556-60.

- van den Dolder J, Mooren R, Vloon AP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng*. 2006;12(11):3067-73.
- Wagner W, Wiltfang J, Pistner H, Yildirim M, Ploder B, Chapman M, et al. Bone formation with a biphasic calcium phosphate combined with fibrin sealant in maxillary sinus floor elevation for delayed dental implant. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23(9):1112-7.
- Walkowiak B, Kralisz U, Michalec L, Majewska E, Koziolkiewicz W, Ligocka A, et al. Comparison of platelet aggregability and P-selectin surface expression on platelets isolated by different methods. *Thromb Res*. 2000;99(5):495-502.
- Wallace SS, Froum SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003;8(1):328-43.
- Watanabe K, Niimi A, Ueda M. Autogenous bone grafts in the rabbit maxillary sinus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(1):26-32.
- Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol*. 1969;26:235-302.
- Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg*. 2002;30(2):97-102.
- Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*. 2004;34(4):665-71.
- Wheeler DL, Stokes KE, Park HM, Hollinger JO. Evaluation of particulate Bioglass in a rabbit radius ostectomy model. *J Biomed Mater Res*. 1997;35(2):249-54.
- Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(2):213-8.
- Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Zimmermann R, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(2):187-93.
- Xu H, Shimizu Y, Asai S, Ooya K. Experimental sinus grafting with the use of deproteinized bone particles of different sizes. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(5):548-55.

Xu H, Shimizu Y, Asai S, Ooya K. Grafting of deproteinized bone particles inhibits bone resorption after maxillary sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(1):126-33.

Xu H, Shimizu Y, Onodera K, Ooya K. Long-term outcome of augmentation of the maxillary sinus using deproteinised bone particles experimental study in rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2005;43(1):40-5.

Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;16(1):23-33.

Yilmaz S, Karaca EO, Ipci SD, Cakar G, Kuru BE, Kullu S, et al. Radiographic and histologic evaluation of platelet-rich plasma and bovine-derived xenograft combination in bilateral sinus augmentation procedure. *Platelets*. 2013;24(4):308-15.

Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma*. 1989;3(3):192-5.

Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials*. 2005;26(12):1445-51.

Zhang CQ, Yuan T, Zeng BF. Experimental study of the effect of platelet-rich plasma on osteogenesis in rabbit. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(12):1853-5.

Zhang YD, Wang G, Sun Y, Zhang CQ. Combination of platelet-rich plasma with degradable bioactive borate glass for segmental bone defect repair. *Acta Orthop Belg*. 2011;77(1):110-5.

Zins JE, Whitaker LA. Membranous versus endochondral bone: implications for craniofacial reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 1983;72(6):778-85.

Zitzmann NU, Scharer P, Marinello CP, Schupbach P, Berglundh T. Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001;21(3):288-95.

ANEXO

ANEXO A - Aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da FOB-USP

<p>Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru</p> <hr/> <p>Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais</p>
<p>CEEPA-Proc. Nº 039/2011</p> <p>Bauru, 20 de dezembro de 2011.</p>		
<p>Senhor Professor,</p> <p>O projeto de pesquisa encaminhado a esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, denominado Análise tomográfica e histomorfométrica comparativa de levantamento de seio maxilar em coelhos tratados com enxerto ósseo autólogo e HA/TCP poroso associado ou não ao PRP, de autoria de Caroline Andrade Rocha, foi enviado ao relator para avaliação e considerado APROVADO em reunião desta Comissão realizada no dia 20 de dezembro de 2011.</p> <p>Solicitamos que ao final da pesquisa seja enviado, para avaliação desta Comissão, um Relatório com os resultados obtidos para análise ética e emissão de parecer final, o qual poderá ser utilizado para fins de publicação científica.</p> <p>Atenciosamente,</p>		
<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="margin-left: 10px;"><p>Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet</p><p>Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais</p></div></div>		
<p>Prof. Dr. Rumio Taga Docente do Departamento de Ciências Biológicas</p>		
<p>Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-101 – C.P. 73 e-mail: mferrari@fob.usp.br – Fone/FAX (0xx14) 3235-8356 http://www.fob.usp.br</p>

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 039/2011

Bauru, 23 de janeiro de 2014.

Senhor Professor,

Em atenção à solicitação de Vossa Senhoria para alterações no projeto de pesquisa intitulado **"Avaliação comparativa da neoformação óssea após enxertia de HA/TCPp, Bio-Oss e osso autógeno associados ou não ao PRP em cirurgias de levantamento de seio maxilar de coelhos"**, de autoria de Caroline Andrade Rocha, sob sua orientação, a saber:

- acréscimo de 18 animais (coelhos) para comporem três novos grupos de tratamento e,
- alteração do título para *"Avaliação comparativa da neoformação óssea após enxertia de HA/TCPp, Bio-Oss e osso autógeno associados ou não ao PRP em cirurgias de levantamento de seio maxilar de coelhos"*

informamos que, após análise de um relator, referidas solicitações foram consideradas APROVADA *ad referendum* desta Comissão, na data de 28 de janeiro de 2014, por não haver impedimentos éticos.

Solicitamos que qualquer alteração na pesquisa seja comunicada a esta Comissão, e que, ao final seja enviado um Relatório com os resultados obtidos, para análise ética e emissão de parecer final, o qual poderá ser utilizado para fins de publicação científica.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet

Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Rumio Taga

Docente do Departamento de Ciências Biológicas