UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

PAULA SANCHES DOS SANTOS

**Avaliação microtomográfica e histomorfométrica comparativa de
levantamento de seio maxilar em coelhos utilizando diferentes
cerâmicas a base de fosfato de cálcio**

BAURU
2016

PAULA SANCHES DOS SANTOS

**Avaliação microtomográfica e histomorfométrica
comparativa de levantamento de seio maxilar em coelhos
utilizando diferentes cerâmicas a base de fosfato de cálcio**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Ciências Odontológicas
Aplicadas na área de concentração de Estomatologia e
Biologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Rumio Taga

BAURU
2016

Santos, Paula Sanches

Sa59a Avaliação microtomográfica e histomorfométrica comparativa de levantamento de seio maxilar em coelhos utilizando diferentes cerâmicas a base de fosfato de cálcio/ Paula Sanches dos Santos – Bauru, 2016.

159 p. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Rumio Taga

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

Assinatura:

Data:

Projeto de pesquisa aprovado pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, em 12 de Agosto de 2013.

Comissão de Ética no Ensino e
Pesquisa em Animais (CEEPA) da
FOB-USP

Processo nº: 028/2013

Data:12/08/2013

DADOS CURRICULARES

PAULA SANCHES DOS SANTOS

Nascimento

08 de Agosto de 1990
Cafelândia – SP

Filiação

Edson Martins dos Santos
Maria Aparecida Molina Sanches dos Santos

2009 – 2012

Curso de Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura pela Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Campus UNESP Bauru.

2009 – 2012

Bolsista de Iniciação Científica no Departamento de Ciências Biológicas, Disciplina de Histologia da FOB – USP, sob a supervisão do Prof. Dr. Rumio Taga. Bolsista ITI-A-A CNPq (Processo nº 182446/2009-3 – Período: 2009 a 2011) e IC FAPESP (Processo nº: 2011/11157-2 – Período: 2011 a 2012).

2013 – 2016

Curso de Pós-Graduação, nível de Mestrado em Ciências Odontológicas Aplicadas na área de concentração de Estomatologia e Biologia Oral, na Faculdade de Odontologia de Bauru, FOB – USP.

Associações

CRBio-01 – Conselho Regional de Biologia-1ª Região.

Dedicatória

Dedico essa Dissertação...

Ao meu Deus,

Aos meus pais Edson e Cidinha,

Ao meu irmão Filipe.

Agradecimentos

A Deus, meu Pai Eterno e Soberano, que me deu a vida e o privilégio de ser sua filha, por meio de Jesus Cristo. Sem Ele nada disso seria possível. Antes de estar em meus planos, essa conquista já estava em Seus planos e tudo preparou para que eu chegasse até aqui. Sempre ao meu lado esteve, me orientando, me sustentando, me levantando e incondicionalmente me amando. Obrigada Senhor por cada forma de me mostrar seu carinho e amor e pelas pessoas que colocou em meu caminho. Sou eternamente grata e quero sempre viver para te honrar. “Pois dele, por ele e para ele são todas as coisas. A ele seja a glória para sempre! Amém.” Bíblia Sagrada (NVI), Romanos 11:36.

*Fico sem palavras para agradecer ao meu pai **Edson M. dos Santos**, à minha mãe **Maria A. M. S. dos Santos (Cidinha)** e ao meu irmão **Filipe S. dos Santos. Pai e Mãe**, muito obrigada por todos os esforços já feitos por mim. Obrigada pela companhia de sempre e por se fazerem tão presente em minha vida, inclusive nesse trabalho, vibrando com minhas vitórias e participando das minhas aflições. Obrigada por todos os mimos e carinhos e também pelas chineladas de quando criança e pelas broncas e repreensões que me fizeram crescer e enfrentar a vida de uma maneira mais correta. Agradeço pelo amor e paciência, pelos ensinamentos, conselhos, orações e palavras de apoio. Agradeço pela educação e princípios que deram a mim e ao Filipe nos ensinando a amar a Deus sobre todas as coisas. Também pelos investimentos e sacrifícios realizados para que eu e o Filipe sempre tivéssemos da melhor educação escolar. Vocês têm sido até hoje os meus melhores e principais companheiros na minha viagem da vida. Quero agradecer também ao **Filipe**, meu primeiro amigo e companheiro das brincadeiras e das artes de criança. Obrigada pela companhia, preocupação, paciência e orações de sempre. E mesmo agora morando longe, continua se fazendo presente e tendo um papel*

fundamental na minha vida. Você sempre será meu exemplo de dedicação e determinação aos estudos. Sou eternamente grata a vocês, pai, mãe e Fi, pois são vocês que nunca medem esforços para me ajudarem e me verem feliz. Amo vocês demais. Sem vocês essa conquista seria muito mais difícil e penosa. Essa vitória é nossa!!!

Aos meus avós maternos, Vô Sebastião e Vó Aparecida que muito me amam, me incentivam, se preocupam com meus projetos e planos futuros, participam ativamente de toda a minha vida, além dos mimos e puxões de orelha e de me fazer muito feliz pela sua presença em minha vida até hoje, vibrando com cada conquista na minha vida. Sou muito grata a Deus por esse grande privilégio de tê-los ativos por longo tempo em vida, por me relacionar e conviver com eles frequentemente e intimamente. Muito me divirto e aprendo com suas experiências e palavras. Eu amo vocês!

À “Tia Cida” que tanto amo. Para mim é como uma avó que me adotou, assim como fez com toda a minha família materna, por quase cinquenta anos de trabalho na casa de meus avós, convivência e carinho que se estendeu a toda a sua linda família Lima. Suas preocupações, carinhos, paparicos e caprichos culinários deixam minha vida mais leve e alegre. Muito obrigada pelo amor e carinho.

Aos meus avós paternos, Vô Cypriano (in memoriam) e Vó Maria Tereza (in memoriam), que muito me dedicaram carinho e amor na minha infância e de meu irmão e que certamente se ainda estivessem nesta terra estariam muito felizes e orgulhosos por essa nossa conquista.

Estendo meus agradecimentos aos meus tios e seus respectivos familiares, Antônio (Toninho), Genoveva (Veva), Dolores (Doia), Maria do Carmo (Camo), Sebastião (Tão), e a toda Família Molina e Sanches (e agregados) pela amizade, encontros e alegrias. À Família Martins dos Santos, em especial meu Tio Edmyr, Tio Edevaldo e seus respectivos

famíliares. Agradeço a todos pela torcida, orações e convivência que tornam a minha vida mais colorida e alegre.

Aos meus irmãos em Cristo, representados principalmente pela Igreja Batista do Jardim Bela Vista de Bauru, dirigida atualmente pelo Pastor William T. Quintela. Agradeço muito a todos pelas orações, acompanhamento nas lutas e vitórias, sempre me dando palavras de ânimo, incentivo e repreensão quando preciso, além de nossos momentos de edificação e também de descontração. Aos amigos mais chegados que irmãos, como a Bruna A. Barreiros, a Débora S. Santos, a Flávia C. Marchesano, a Amanda Meira e João Marcelo (e Pedrinho), Fernanda e Roberto Miranda (e Ana Laura e Daniel) e demais integrantes do Grupo de Oração. Agradeço a Deus pela vida de cada um de vocês, por ter podido participar e aprender com as histórias de cada um, por todas as alegrias e lutas que passamos juntos e por cada conversa que tivemos. Também por acompanharem minha vida acadêmica com sugestões, opiniões, orações, sempre dispostos a me ouvir, me compreender e me alegrar. Todos vocês são muito importante para mim!

Ao meu orientador Prof. Dr. Rumio Taga, pessoa de grande admiração e respeito, com quem tive a honra de conviver e aprender. Desde 2009 me acolheu com muita prontidão e alegria no Laboratório de Histologia da FOB-USP, como aluna de Iniciação do CNPq e posteriormente da FAPESP e me permitiu até hoje grande crescimento acadêmico e pessoal, bem como essa conquista do mestrado. Sem contar os inúmeros conhecimentos que adquiri no decorrer desse tempo com a sua orientação e aulas ministradas. Muito obrigada, Mestre!

À Dra. Tania Mary Cestari, minha “co-orientadora”, que desde o início da minha chegada ao laboratório me deu todo o suporte necessário e me ensinou a fazer ciência. Sempre muito prestativa, se desdobrando ao máximo para atender a todos e solucionar nossas dúvidas. Obrigada pelos ensinamentos diários que me permitiram grande crescimento acadêmico e

peçoal. Agradeço pelo carinho, atenção, paciência e pela amizade que se desenvolveu ao longo desse período. Estendo aqui meu agradecimento também à sua família.

*Aos demais professores do Laboratório de Histologia da FOB-USP. Ao **Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis**, além de ótimo profissional, uma ótima pessoa, com seu jeito descontraído, sincero e humilde, trazendo alegria aos nossos dias, sempre disposto ajudar no que fosse necessário. Ao **Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet** pelos conhecimentos proporcionados e exemplo de grande pesquisador que é. À **Profa. Dra. Camila O. Rodini Pegoraro**, com suas palavras de incentivo e conversas a respeito da vida profissional e pelas aulas ministradas.*

*Aos demais integrantes da equipe do Laboratório da Disciplina de Histologia da FOB-USP. À **Daniela S. Pereira**, pela amizade sincera, por todas as nossas conversas e pela preocupação em me ajudar sempre. Obrigada por sua alegria, sensibilidade e por sua companhia nas atividades acadêmicas e também esportivas. À **Andréia E. Vieira Ribeiro**, agradeço pelas ajudas prestadas, conselhos, orações, amizade e ótima companhia que é para mim; pelas trocas de experiências e pelos ensinamentos que recebi. Estendo meu agradecimento também ao seu esposo, **Francis Ribeiro**. Agradeço à **Bruna B. Bighetti** pela sua amizade e carinho, por ter sido uma companheira de vários momentos no início de minha iniciação científica e mestrado, com quem muito aprendi. À **Caroline A. Rocha**, por sua amizade e colaboração nos trabalhos que realizamos juntas, por sua ótima companhia e por muitas vezes me ajudar e compartilhar suas experiências. Ao **Ricardo V. N. Arantes**, meu veterano e amigo, sempre muito alegre e descontraído. Obrigada por sua ajuda nos experimentos desde minha iniciação, pelas viagens para o escaneamento das amostras em Araraquara, por nossas conversas científicas e acerca do futuro profissional e por sempre estar disposto a me auxiliar no que fosse necessário. Ao **Ever E. L. Mena**, obrigada pela companhia nas disciplinas e trabalhos, pelas conversas, incentivo e*

ajudas a mim prestadas. Ao **Renato Martins**, agradeço pelos auxílios técnicos prestados com muita prontidão e alegria, pela companhia agradável e pelos trabalhos e experiências compartilhadas. Com certeza a presença de cada um de vocês no meu dia a dia deixou tudo com mais cor e vida, incluindo os demais alunos e pesquisadores do laboratório, que também agradeço pelos momentos de convivência: **Nathália Lopes, Rafael Ortiz, Angélica Fonseca, Cláudia Bigueti, Eliana Lippe, Carolina Francisconi, Élcia M. V. Silveira, Carlos Eduardo Repeke (Cadu), Franco Cavalla, Bruno Viscelli, Adriane Togashi, Ana Cláudia Araújo-Pires, Priscila Colavite, Gabriela Gennaro, Suellen Paini, Tamiris Vallin, Rodrigo de Almeida, Luan Damasceno e Ana Carolina Bighetti**. Às técnicas em Histologia, **Danielle Ceolin e Patrícia Germino (Pat)**, por todos os auxílios técnicos prestados, pela forma com que me acolheram no laboratório desde o início de minha iniciação científica, pelos ensinamentos, alegrias partilhadas, conversas e pela amizade e carinho que se desenvolveram ao longo desse tempo. À secretária **Maria Teresa A. F. M. Silva (Tê)**, agradeço pelas ajudas prestadas com tanto esmero, por seu carinho demonstrado diariamente, pelas conversas, risadas e amizade. À **Aldivina Mendes da Silva (D. Divina)** pelos deliciosos cafezinhos, pela atenção e conversas sempre muito agradáveis. À **D. Roseli**, à **D. Cleusa** e à **D. Maria**, que se preocupavam em deixar tudo limpinho para que pudéssemos desenvolver nossas atividades em um ambiente agradável.

Aos **Professores da FOB-USP e HRAC-USP** que ministraram disciplinas a mim durante o curso e contribuíram de alguma forma para o meu crescimento.

Aos demais **Alunos de Pós-Graduação da Biologia Oral** que partilharam comigo de aulas, estudos e trabalhos.

Às **Disciplinas da FOB-USP** que gentilmente abriram suas portas quando precisei de algum serviço ou equipamento, como a **Anatomia** (equipamento usado para obtenção das imagens histológicas desta pesquisa),

a *Microbiologia e Imunologia* (esterilização dos materiais cirúrgicos) e a *Radiologia*.

Às Secretárias da Biologia Oral, *Vera Rufino e Dalva Ribeiro de Oliveira*, que sempre me auxiliaram nas dúvidas e procedimentos a serem tomados, com muita atenção, dedicação e carinho.

Aos funcionários da *Pós-Graduação e Biblioteca*.

Aos funcionários do *Biotério Central da FOB-USP* (Erasmus, Elías, Luís Carlos e Richard).

Aos *Membros da Banca*, pela disponibilidade e pelas sugestões e críticas que certamente contribuirão com esse trabalho.

À *Faculdade de Odontologia da UNESP de Araraquara*, pelo uso do microtomógrafo, em especial à funcionária: Luana Elis Sabino.

Ao *Grupo Semente da FOB-USP* pelas orações, amizades e pelos momentos de edificação e alegria.

A toda equipe do *Laboratório de Anatomia Patológica e Citologia do Hospital Estadual de Bauru (LAPEC-HÉB)*, onde trabalhei por 4 meses no ano de 2015, período curto, mas de muito crescimento e amizade fazendo-me perceber que é possível conciliar o trabalho sério e intenso com muito companheirismo e alegria.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, participaram e me auxiliaram nesta caminhada.

...Muito obrigada!

“É melhor ter companhia do que estar sozinho, porque maior é a recompensa do trabalho de duas pessoas. Se um cair, o amigo pode ajudá-lo a levantar-se. [...] Um cordão de três dobras não se rompe com facilidade.” *Bíblia Sagrada (NVI), Eclesiastes 4:9,10a e 12b*.

Agradecimentos Institucionais

À Universidade de São Paulo (USP).

À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB - USP).

À Disciplina de Histologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.

À Empresa BAUMER - Divisão Geníus pelo fornecimento dos biomateriais Gen-Ox®inorg, GenDerm® e GenPhos XP® utilizados nesta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos de Mestrado.

Epígrafe

*“O conselho da sabedoria é: procure obter sabedoria; use tudo que você possui para adquirir entendimento.” **Bíblia Sagrada (NVI), Provérbios 4:7***

*“Tudo o que fizerem, seja em palavra seja em ação, façam-no em nome do Senhor Jesus, dando por meio dele graças a Deus Pai.” **Bíblia Sagrada (NVI), Colossenses 3:17***

RESUMO

A técnica de levantamento de seio maxilar (LSM) visa aumentar a altura óssea junto à superfície sinusal de maxila posterior atrofica utilizando diferentes materiais de preenchimento, para possibilitar a instalação de implantes dentários. Esses materiais de preenchimento podem variar quanto à origem e às propriedades físico-químicas, resultando em diferentes respostas biológicas. O objetivo do atual trabalho foi avaliar a eficiência do Gen-Ox®inorg e GenPhos XP® na técnica de elevação do seio maxilar em comparação ao Bio-Oss®. Em 24 coelhos foi realizado o levantamento bilateral dos seios maxilares (SMs) utilizando 200 mm³ de material de preenchimento por seio, conforme os grupos experimentais Bio-Oss (6SMs/período), Gen-Ox (5SMs/período) e GenPhos (5SMs/período), e a janela óssea de acesso foi recoberta com uma membrana reabsorvível. Os animais de cada grupo foram eutanasiados aos 15, 30 e 60 dias e a região dos SMs foi coletada e fixada em formalina a 10% tamponada. As peças foram submetidas à análise microtomográfica para determinação do volume total do SM elevado e em seguida ao processamento histológico, sendo cortes coronais dos SMs obtidos e avaliados morfometricamente pelo método de volumetria de pontos. Todos os três materiais apresentaram excelente biocompatibilidade e promoveram a manutenção do volume do seio preenchido ao longo do tempo, sendo em média de 214,1 mm³. Em todos os grupos a formação óssea ocorreu em íntimo contato com as partículas de material. Ao término de 60 dias, o tecido ósseo formado mostrava-se maduro e preenchia parcialmente os espaços entre as partículas. A forma e tamanho das partículas de Gen-Ox gerou maior espaço entre as partículas que pode ter levado a formação de maior volume de tecido ósseo e de tecido conjuntivo (53,0 ± 10,1 mm³ e 74,1 ± 21,5 mm³) comparado ao Bio-Oss (43,7 ± 11,6 mm³ e 61,2 ± 23,3 mm³) e GenPhos (47,5 ± 10,4 mm³ e 58,5 ± 25,7 mm³). Baseado na estabilidade do volume sinusal elevado, na capacidade osteocondutora e na formação e maturidade óssea ao longo do tempo promovidos pelo Gen-Ox®inorg e GenPhos®, comparável ao do Bio-Oss®, conclui-se que esses dois biomateriais significam uma alternativa segura na técnica de LSM.

Palavras-chave: Levantamento do Assoalho do Seio Maxilar. Cerâmica. Densidade Óssea. Materiais Biocompatíveis. Coelhos. Microtomografia por Raio-X.

ABSTRACT

Comparative microtomographic and histomorphometric evaluation of maxillary sinus augmentation using different calcium phosphate-based ceramics

Maxillary sinus augmentation (MSA) for implant placement using bone graft or bone substitutes is a common procedure to increase the bone volume in the atrophic posterior part of the maxilla. Various bone substitutes have been used in sinus floor elevation procedures. Nonetheless, the biological performance of bone substitutes may vary according to origin, physical and chemical properties. The goal of this study was to evaluate the efficiency of both Gen-Ox®inorg and GenPhos XP® in maxillary sinus augmentation technique compared to Bio-Oss®. In 24 rabbits, it was conducted a bilateral lifting of the maxillary sinuses (MSs) using 200 mm³ of filling material for sinus in accordance with the experimental groups Bio-Oss (6SMs/period), Gen-Ox (5MSs/period) and GenPhos (5MSs/period). The sinus access window was covered with a resorbable membrane. The animals of each group were euthanized at 15, 30 and 60 days and the MSs were collected and fixed in 10% buffered formalin. The samples were submitted to microtomographic analysis to calculate the MS augmentation volume. Histological coronal sections of MS augmentation were used for morphological analysis and determination of volume density of each structure by point counting volumetry method. All three materials had excellent biocompatibility and promoted maintenance of the MS augmentation volume over time, averaging 214.1 mm³. In all groups the bone formation occurred in close contact with the material particles. At the end of 60 days, the bone tissue formed was mature and it partially filled the spaces between the particles. The shape and size of Gen-Ox particles generated greater space between the particles that may have led to a higher formation of bone volume and connective tissue (53.0 ± 10.1 mm³ and 74.1 ± 21.5 mm³) than Bio-Oss (43.7 ± 11.6 mm³ and 61.2 ± 23.3 mm³) and GenPhos (47.5 ± 10.4 mm³ and 58.5 ± 25.7 mm³). Based on the stability of the MS volume, the osteoconductive capacity and the bone formation and maturation over time promoted by Gen-Ox®inorg and GenPhos®, and comparable to Bio-Oss®, it is concluded that these two biomaterials may be a safe alternative in MSA technique.

Key-words: Sinus Floor Augmentation. Ceramics. Bone Density. Biocompatible Materials. Rabbits. X-Ray Microtomography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Delineamento experimental: 24 coelhos submetidos à técnica de levantamento de seio maxilar (no quadro, adaptação do desenho esquemático de Xu <i>et al.</i> (2003)) e divididos em grupos experimentais especificados na figura.	60
Figura 2	Anestesia Geral (via intramuscular). Relaxante muscular (Anasedan-cloridrato de xilazina) e anestésico geral (Dopalen-cloridrato de ketamina).....	61
Figura 3	Procedimentos cirúrgicos. A) Incisão em meia lua de 5 cm no tegumento da região nasal e periósteo deslocado. B) Broca trefina de 4mm de diâmetro, sob irrigação de solução salina estéril abundante. C) Janelas realizadas com acesso aos seios maxilares superiores e elevação da membrana sinusal com uma cureta de dentina. D) Materiais ósseo substitutos quantificados (0,2mL para cada seio maxilar). E) Preenchimento de uma das cavidades. F) Ambas cavidades de um coelho preenchidas de acordo com o tratamento. G) Colocação da membrana de osso cortical bovino reabsorvível sobre as janelas para prevenir a invasão de outro tecido. H) sutura externa realizada com fio de seda 4-0.	62
Figura 4	Medicação pós-operatória.....	62
Figura 5	Software DataViewer utilizado para as análises bidimensionais mostrando o alinhamento coronal, sagital e transaxial.	64
Figura 6	Imagens do software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da altura do seio maxilar levantado.	65
Figura 7	Imagens do software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da profundidade do seio maxilar levantado.	66
Figura 8	Seleção da área para avaliação (ROI) do volume do seio maxilar (área vermelha); e tabela de dados fornecidos pelo software CTAn, mostrando a realização da análise 3D para a obtenção do volume total do seio maxilar levantado (destacado em amarelo).....	67
Figura 9	Cortes no plano sagital do seio maxilar preenchido com diferentes biomateriais obtidos no programa Dataviewer. Observe que os seios maxilares apresentam similar quantidade de área preenchida pelos diferentes biomateriais em todos os períodos experimentais. Note que as partículas de Gen-Ox apresentam radiodensidade superior ao do Bio-Oss, porém o tamanho e o formato irregular das partículas são similares. Já as partículas de GenPhos exibem radiodensidade similar ao do Gen-Ox porém seu tamanho é maior e o formato mais uniforme. Aos 15 dias, observe que os espaços entre as partículas mostram-se radiolúcidos, indicando ausência de tecido ósseo mineralizado. Aos 60 dias,	

	notar nos detalhes circundados em azul a presença de áreas com radiodensidade (seta vermelha) similar ao do tecido ósseo do animal (seta verde) ocupando os espaços entre as partículas (seta amarela).	75
Figura 10	Cortes no plano coronal do volume do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes períodos experimentais obtidos no programa Dataviewer.	77
Figura 11	Gráfico da média e desvio padrão do volume do seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.	80
Figura 12	Gráfico da média e desvio padrão da altura do seio maxilar preenchido (mm) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.	80
Figura 13	Gráfico da média e desvio padrão da profundidade do seio maxilar preenchido (mm) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.	81
Figura 14	Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 15 dias. A ₁ e B ₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A ₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo primário (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. B ₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado e presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Obj. 20x. A ₃ e B ₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) e a alteração do epitélio da membrana sinusal (setas azuis) próximo às arestas do biomaterial. Notar nas demais áreas o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE.	83
Figura 15	Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 15 dias. A ₁ e B ₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A ₂ e B ₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado, CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial e tecido ósseo primário (TO) margeando as partículas, contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. A ₃ e B ₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B), tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo neoformado (TO) próximos à membrana sinusal (setas azuis). Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE.	85

-
-
- Figura 16** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 15 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado, bem como a presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo primário (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (seta verde) e por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado, CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) e suas arestas próximas à membrana sinusal, que altera a estrutura do epitélio da membrana (seta azul). Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE. 87
- Figura 17** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂ , A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado ou por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Nota-se ainda na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta). Obj. 20x. B₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) próximos à membrana sinusal com epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE. 91
- Figura 18** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂ , A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado ou por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. Nota-se na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta). B₃) Detalhe de uma partícula de biomaterial (B) envolta por tecido ósseo neoformado (TO) próximo à membrana sinusal com epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE. 93
-
-

-
-
- Figura 19** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) e A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (seta verde) e por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado. Presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B), além da presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE.95
- Figura 20** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 60 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar com a dos períodos anteriores. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO), com os espaços restantes entre as partículas preenchidos por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores. Nota-se na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta) bem como de osteoclastos na superfície do tecido ósseo (cabeça de seta vermelha). Obj. 20x. B₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado ou tecido ósseo neoformado (TO) próximas à membrana sinusal (seta azul). Obj. 20x. HE.99
- Figura 21** Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 60 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar com a dos períodos anteriores. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO), com os espaços preenchidos por com os espaços restantes entre as partículas preenchidos por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores. Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) próximas à membrana sinusal (seta azul). Obj. 20x. HE.101
-
-

Figura 22	Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 60 dias. A ₁ e B ₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar como os demais grupos. Obj. 2x. A ₂ , A ₃ e B ₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO) e por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores, além da presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. B ₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) próximas à membrana sinusal (seta azul). Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. HE. ...	103
Figura 23	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.	106
Figura 24	Gráfico da média e desvio padrão do volume de biomaterial no seio maxilar preenchido (mm ³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.....	107
Figura 25	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.....	109
Figura 26	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. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.....	111
Figura 27	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.....	112
Figura 28	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. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.	114
Figura 29	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.....	115

Figura 30	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. (Símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.....	116
Figura 31	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes $p < 0,05$ e símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.....	118
Figura 32	Gráfico da média e desvio padrão do percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.....	119
Figura 33	Gráfico da média e desvio padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes $p < 0,05$ e símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.....	121
Figura 34	Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.....	122
Figura 35	Fotomicrografia dos seios maxilares preenchidos com os diferentes biomateriais aos 15 dias. A) No Grupo Bio-Oss, o SM preenchido apresentava grande quantidade de partículas (B) de formato irregular e tamanho variando de 0,25 mm a 1 mm, o que facilitou a acomodação das partículas, gerando estreitos espaços entre elas que estavam ocupados por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO). Obj. 4x. B) No Grupo Gen-Ox, embora o formato das partículas fosse irregular, não apresentava partículas menores que 0,5 mm (somente de 0,5mm a 1 mm) gerando um espaço maior entre as partículas em comparação ao Bio-Oss. Obj. 4x. C) No Grupo GenPhos as partículas apresentavam-se mais volumosas e com formato mais arredondado, proporcionando uma maior acomodação entre as partículas (B) e gerando um espaço menor entre elas se comparado ao Gen-Ox, porém maior em relação ao Bio-Oss. Obj. 4x.	129

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.....	73
Tabela 2	Comparação entre o VOLUME do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	79
Tabela 3 -	Comparação entre a ALTURA do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	79
Tabela 4 -	Comparação entre a PROFUNDIDADE do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	79
Tabela 5	Comparação entre o percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	105
Tabela 6	Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período.....	105
Tabela 7	Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para material.....	106
Tabela 8	Comparação entre o volume de biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	107
Tabela 9	Média e desvio-padrão do volume de biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para a interação período e material.....	107

Tabela 10	Comparação entre o percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	108
Tabela 11	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 período.....	108
Tabela 12	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 material	109
Tabela 13	Comparação entre o volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	110
Tabela 14	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 período.....	110
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 material	110
Tabela 16	Comparação entre o percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	111
Tabela 17	Média e desvio-padrão do percentual de volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período	112
Tabela 18 -	Comparação entre o volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	113
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 período.....	113
Tabela 20 -	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 material	113

Tabela 21	Comparação entre o percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	114
Tabela 22	Média e desvio-padrão do percentual de volume de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período	115
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 dois critérios	116
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 período.....	116
Tabela 25	Comparação entre o percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	117
Tabela 26	Média e desvio-padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período.....	117
Tabela 27	Média e desvio-padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para material	118
Tabela 28	Comparação entre o percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	119
Tabela 29	Média e desvio-padrão do percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período.....	119
Tabela 30	Comparação entre o número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios	120

Tabela 31	Média e desvio-padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período.....	120
Tabela 32	Média e desvio-padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para material	121
Tabela 33	Comparação entre o número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios.....	122
Tabela 34	Média e desvio-padrão do número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β-TCP	<i>Beta-tricalcium phosphate</i> (fosfato beta-tricálcio)
μA	Microampère
μm	Micrômetro
®	Marca registrada
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
Aai	Fração de área ocupada por determinado constituinte
ABB	<i>Anorganic bovine bone</i> (osso inorgânico bovino)
ANOVA	Análise de variância
BCP	<i>Biphasic calcium phosphate</i> (fosfato de cálcio bifásico)
BCP-S	<i>Biphasic calcium phosphate spherical</i> (fosfato de cálcio bifásico esférico)
Bio-Oss®	Matriz óssea inorgânica bovina da <i>Geistlich Pharma AG</i> (Wolhusen, Suíça)
BMP-2	<i>Bone morphogenetic protein 2</i> (Proteína morfogenética óssea 2)
Bonefill®	Matriz óssea inorgânica bovina da <i>Bionnovation</i> (Bauru, SP, Brasil)
BSA	<i>Bovine serum albumin</i> (albumina de soro bovino)
BV	<i>Bone volume</i> (volume ósseo)
BV/TV	<i>Bone volume/Total volume</i>
CEEPA	Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da FOB-USP
Cerabone®	Matriz óssea inorgânica bovina da <i>Botiss Dental</i> (Berlin, Alemanha)
Cerasorb®	Fosfato beta-tricálcio da <i>Curasan AG</i> (Kleinostheim, Alemanha)
CGM	Célula gigante multinucleada tipo corpo estranho
cm	Centímetro

CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
Df	<i>Degrees of freedom</i> (graus de liberdade)
EB	<i>Equine bone</i> (osso equino)
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> (ácido etilenodiamino tetra-acético)
F	Valor-F estatístico; razão F
Fig	Figura
g	Grama
Gen-Derm®	Membrana de osso cortical bovino reabsorvível da <i>Baumer S.A.</i> (Mogi Mirim, SP, Brasil)
Gen-Ox®inorg	Matriz óssea inorgânica bovina da <i>Baumer S.A.</i> (Mogi Mirim, SP, Brasil)
GenPhos XP®	cerâmica de fosfato de cálcio bifásica porosa da <i>Baumer S.A.</i> (Mogi Mirim, SP, Brasil)
HA	Hidroxiapatita
HA-C	Hidroxiapatita de formato irregular obtida por secagem convencional
HA-S	Hidroxiapatita esférica
HE	Hematoxilina e eosina
i	Cada constituinte
kg	Quilograma
kV	Quilovolt
L-SBC	<i>large-size bone ceramic</i>
LSM	Levantamento de seio maxilar
MCf	Massa corporal final
MCi	Massa corporal inicial
mg	Miligrama
Micro-CT	<i>Microcomputed tomography</i> (tomografia microcomputadorizada ou microtomografia computadorizada)
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm²	Milímetro quadrado

mm³	Milímetro cúbico
MS	<i>Maxillary sinus</i>
MSA	<i>Maxillary sinus augmentation</i>
MSDBA	<i>Mineralized solvent-dehydrated bone allograft</i> (osso alógeno desidratado mineralizado)
N	Número
Newbone®	Cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (HA:β-TCP=20:80) da Genoss (Suwon, Coréia do Sul)
Obj.	Objetiva de aumento
°C	<i>Graus Celsius</i>
Oc	Osteoclasto
Osteon® I	Cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (HA:β-TCP=70:30) da Genoss (Suwon, Coréia do Sul)
Osteon® II	Cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (HA:β-TCP=30:70) da Genoss (Suwon, Coréia do Sul)
P	Loja cirúrgica inteira
p	Valor-p estatístico; nível descritivo
pi	Número de pontos sobre um determinado constituinte
Ppi	Fração de pontos pertencente a determinado constituinte
PRP	Plasma rico em plaquetas
PVP-I	Tópico: solução aquosa de polivinilpirrolidona
ROI	<i>Region of interest</i> (região de interesse)
Scaffold	Estrutura de andaime, arcabouço
SM	Seio maxilar
SSA	<i>Specific surface area</i> (superfície de área específica)
S-SBC	<i>small-size bone ceramic</i>
Straumann® Bone Ceramic	Cerâmica de fosfato de cálcio bifásica (HA:β-TCP=60:40) do <i>Instituto Straumann AG</i> (Basel, Suíça)
TC	Tecido conjuntivo
TCP	<i>Tricalcium phosphate</i> (fosfato tricálcio)

TM	Tecido medular
TO	Tecido ósseo
Tutoplast® (bovino)	Matriz óssea bovina da <i>RTI Surgical Inc.</i> (Alachua, FL, USA)
TV	<i>Total volume</i> (volume total)
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> (fator de crescimento endotelial vascular)
VT	Volume total
Vti	Volume total absoluto de um determinado constituinte
Vvi	Densidade de volume pertencente a um determinado constituinte
Zimmer Puros®	Osso medular mineralizado alógeno da <i>Zimmer Dental</i> (Freiburg, Alemanha)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
2	REVISÃO DE LITERATURA	35
3	PROPOSIÇÃO	53
4	MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1	Biomateriais.....	59
4.2	Obtenção dos animais e delineamento experimental.....	59
4.3	Intervenções cirúrgicas.....	61
4.4	Medicação pós-operatória	62
4.5	Obtenção das peças.....	63
4.6	Microtomografia computadorizada	63
4.6.1	Obtenção das imagens e reconstrução digital.....	63
4.6.2	Análises bidimensionais e tridimensionais de cada seio maxilar.....	63
4.6.2.1	<i>Alinhamento e avaliação da altura e espessura do seio maxilar levantado (2D)</i>	<i>63</i>
4.6.2.2	<i>Análise volumétrica do volume total do seio maxilar levantado (3D).....</i>	<i>66</i>
4.7	Processamento histológico das amostras e coloração em HE.....	67
4.8	Análise histológica descritiva.....	68
4.9	Análise histomorfométrica	68
4.9.1	<i>Casualização dos campos histológicos</i>	<i>68</i>
4.9.2	<i>Avaliação da densidade de volume das estruturas presentes no seio maxilar</i>	<i>69</i>
4.9.3	<i>Avaliação do volume total de cada estrutura</i>	<i>69</i>
4.9.4	<i>Determinação do número de osteoclastos ou células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho por mm² de corte histológico do tecido</i>	<i>69</i>
4.10	Análise estatística.....	70

5	RESULTADOS.....	71
5.1	MASSA CORPORAL.....	73
5.2	AVALIAÇÃO DA MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA.....	73
5.2.1	Padrão das imagens obtidas ao micro-CT nos diferentes períodos e grupos experimentais	73
5.2.2	Volume total do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais	77
5.3	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DESCRITIVA	81
5.3.1	Período de 15 dias	81
5.3.2	Período de 30 dias	89
5.3.3	Período de 60 dias	97
5.4	AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA.....	105
5.4.1	Densidade de volume de biomaterial	105
5.4.2	Volume total de biomaterial	106
5.4.3	Densidade de volume de tecido conjuntivo	108
5.4.4	Volume total de tecido conjuntivo	109
5.4.5	Densidade de volume de tecido ósseo.....	111
5.4.6	Volume total de tecido ósseo	112
5.4.7	Densidade de volume de medula óssea.....	114
5.4.8	Volume total de medula óssea	115
5.5	AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DA DENSIDADE DE VOLUME E DO NÚMERO DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM ²	117
5.5.1	DENSIDADE DE VOLUME DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM ² :.....	117
5.5.2	NÚMERO DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM ² :.....	120
6	DISCUSSÃO	123
7	CONCLUSÕES	137
	REFERÊNCIAS.....	141
	ANEXO.....	157

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a colocação de implantes dentários de titânio é uma prática comum na reabilitação estética e funcional de pacientes edêntulos (Wallace e Froum, 2003). Entretanto, um desafio enfrentado no seu uso é quando o paciente apresenta uma deficiência na altura do rebordo alveolar, impossibilitando a sua colocação imediata (Del Fabbro *et al.*, 2008). É o que acontece mais comumente na região posterior da maxila onde a perda precoce dos dentes ocasiona a ocorrência dessa deficiência por atrofia do processo alveolar associada à pneumatização do seio maxilar; nesses casos um tratamento cirúrgico prévio na região é necessário para permitir a colocação dos implantes (Farhat *et al.*, 2008; Esposito *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012). Nesse sentido, uma técnica cirúrgica eficaz e amplamente utilizada é a do levantamento do assoalho do seio maxilar (LSM)(Del Fabbro *et al.*, 2008). Esta técnica se baseia na elevação da membrana sinusal, criando um espaço para preenchimento com um material de enxerto (Nkenke e Stelzle, 2009), objetivando aumentar a altura óssea pela deposição de novo osso na superfície óssea sinusal, possibilitando desse modo a instalação de implantes (Esposito *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012).

Diversos materiais de enxerto têm sido utilizados nesse preenchimento (Del Fabbro *et al.*, 2008), podendo ser classificados de acordo com a sua origem em: 1) autógeno quando o osso é removido de uma área extra ou intraoral do próprio paciente; 2) alógeno quando o osso é obtido de outro indivíduo de mesma espécie; 3) xenógeno quando material de enxerto é obtido de outra espécie; e 4) aloplástico quando o material é produzido sinteticamente (Jensen e Terheyden, 2009).

Dentre esses materiais, o osso autógeno é considerado o “padrão ouro” para o LSM (Klijn *et al.*, 2010; Schmitt *et al.*, 2013; Lutz *et al.*, 2015), pois apresenta concomitantemente propriedades osteogênica, osteoindutora e osteocondutora (Galindo-Moreno *et al.*, 2008). No entanto, a sua obtenção de sítio intraoral normalmente fornece quantidade insuficiente e o processo para sua obtenção de sítio extraoral em volume suficiente envolve diversos problemas, tais como: necessidade de internação hospitalar e risco de infecção e morbidade, além da possibilidade de sua reabsorção acelerada no sítio receptor, entre outros (Jensen,

Schou, Svendsen, *et al.*, 2012; Esposito *et al.*, 2014). Assim, cada vez mais, materiais ósseo-substitutos vêm sendo analisados como alternativa ao enxerto autógeno em procedimentos de LSM.

Dentre os materiais ósseo-substitutos não autógeno, o mais estudado e bem documentado na literatura é o Bio-Oss®, um osso xenógeno inorgânico de origem bovina, que devido ao grande sucesso na sua utilização pode ser considerado referência entre os materiais ósseo-substitutos não autógeno (Vandeweghe *et al.*, 2013; Calasans-Maia *et al.*, 2015). O Bio-Oss® possui excelente propriedade osteocondutora permitindo a deposição óssea diretamente em sua superfície (Yildirim *et al.*, 2000; Ayna *et al.*, 2015). Outro osso inorgânico de origem bovina com propriedades físico-químicas semelhantes às do Bio-Oss® é o Gen-Ox®inorg, de fabricação brasileira (Accorsi-Mendonca *et al.*, 2008). Esse material também apresenta ótima capacidade osteocondutora (Cestari *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2011), porém o seu uso em pesquisas é ainda pouco citado na literatura.

Outro material de destaque nessa área é a cerâmica bifásica de fosfato de cálcio (BCP, do inglês *biphasic calcium phosphate*), composta das fases HA + β -TCP. A BCP possui excelente bioatividade e osteocondutividade (Daculsi *et al.*, 2003; Legeros, 2008), e apresenta uma característica peculiar de ter uma parte mais solúvel, a fase β -TCP, promovendo a atividade osteogênica e formação óssea em sua superfície, e uma parte mais estável, a fase HA, realizando a manutenção do espaço do reparo e do volume total ganho no longo prazo (Dorozhkin, 2013). Essa característica da BCP é influenciada por diferenças nas proporções entre as fases HA/ β -TCP, porém uma relação ótima entre ambas ainda não está estabelecida na literatura (Lim, Kim, *et al.*, 2015). Em recente trabalho de nossa equipe (submetido à publicação) foi verificado que uma nova BCP porosa (GenPhos XP®) na proporção 70% hidroxiapatita (HA) e 30% beta fosfato tricálcio (β -TCP) quando implantada em lojas criadas cirurgicamente no músculo da coxa de camundongos leva a formações ósseas pontuais na superfície de suas partículas, indicando que essa cerâmica possui capacidade osteoindutora. Nesse mesmo trabalho, defeitos de tamanho crítico na mandíbula de coelhos, preenchidos com GenPhos XP® ou osso autógeno, mostraram que o GenPhos XP® exibe também alta capacidade osteocondutora, promovendo a formação óssea similar ao do osso autógeno e a manutenção do volume do tecido reparado. Estas formações ósseas ocorreram no interior dos poros

e concavidades das partículas da cerâmica ressaltando a importância da presença destes. Segundo Hannink e Arts (2011), Zhang *et al.* (2015) e Perez e Mestres (2016), as concavidade e poros aumentam a área de superfície, facilitando entre outros eventos a vascularização, adsorção de proteínas e a adesão das células osteogênicas e, conseqüentemente, a dissolução da cerâmica e a formação óssea.

Deste modo, fica claro pelo apresentado que a escolha do material ósseo-substituto representa uma etapa importante para que o procedimento de LSM tenha sucesso. Muitos materiais ósseo-substitutos vêm sendo desenvolvidos como alternativa no procedimento de LSM. No entanto, a forma de obtenção e processamento do material influencia diretamente nas suas características físico-químicas, que podem interferir positivamente ou negativamente na sua resposta biológica no leito receptor do paciente. Assim, para verificação da real efetividade de um novo biomaterial na técnica de LSM existe a necessidade de estudos pré-clínicos utilizando modelos já preconizados na literatura e similares aos utilizados na clínica médica/odontológica, bem como da utilização de métodos de avaliação abrangentes e eficientes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

No presente capítulo será apresentada uma revisão dos artigos existentes na literatura sobre o levantamento de seio maxilar (LSM) utilizando-se de diferentes biomateriais ósseo-substitutos, com ênfase nos materiais aqui pesquisados.

Após a descoberta pioneira do processo biológico da osseointegração por Per-Ingvar Brånemark (Brånemark *et al.*, 1969), a utilização de implantes metálicos de titânio na odontologia tornou-se um procedimento de rotina para a reabilitação estética e funcional de pacientes edêntulos (Wallace e Froum, 2003; Nkenke e Stelzle, 2009).

No entanto, a perda precoce da dentição natural na região posterior da maxila resulta em uma rápida redução na altura e largura óssea do rebordo alveolar devido à ausência de estímulo funcional, e concomitantemente a um aumento na atividade osteoclástica na membrana sinusal, levando a pneumatização do seio maxilar e ao agravamento da atrofia óssea (Galindo-Moreno *et al.*, 2007; Sharan e Madjar, 2008; Lee *et al.*, 2012; Mohan *et al.*, 2015). Nestes casos torna-se necessário um pré-tratamento cirúrgico na região para viabilizar a colocação dos implantes dentários (Farhat *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2012).

Atualmente técnica cirúrgica indicada é a de levantamento do assoalho do seio maxilar por ser confiável e previsível, possuir alta taxa de sucesso e baixa taxa de complicações cirúrgicas (Pjetursson *et al.*, 2008; Vandeweghe *et al.*, 2013) e promover um significativo aumento ósseo vertical da maxila atrófica possibilitando a colocação de implantes (Nkenke e Stelzle, 2009; Esposito *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012). Segundo Wallace e Froum (2003), a cirurgia de levantamento de seio maxilar (LSM) possui três objetivos: 1º) a formação de tecido ósseo vital no seio pneumatizado, 2º) a integração dos implantes neste tecido e 3º) sobrevivência em longo prazo desses implantes quando colocados sob carga funcional.

Nessa técnica cirúrgica a membrana sinusal é acessada e levantada, criando um espaço que será preenchido por um material de enxerto, responsável pela neoformação óssea (Nkenke e Stelzle, 2009). Atualmente existe uma grande

variedade de materiais de preenchimento utilizados na cirurgia de LSM e vários outros estão sendo pesquisados.

O osso autógeno é aquele considerado o “padrão ouro” ou o melhor material de enxerto em relação à formação óssea no local de interesse (Klijn *et al.*, 2010; Schmitt *et al.*, 2013; Lutz *et al.*, 2015), por apresentar propriedade osteogênica, osteoindutora e osteocondutora (Galindo-Moreno *et al.*, 2008). No entanto, a sua obtenção em área intraoral é limitada pela quantidade e em área extraoral pelo aumento da complexidade cirúrgica, levando a necessidade de internação hospitalar, anestesia geral, maior risco de infecção e aumento da morbidade (Esposito *et al.*, 2014; Nkenke e Neukam, 2014). Além do fato que, vários pesquisadores apontam que o osso autógeno pode sofrer rápida reabsorção durante e após o reparo, podendo levar a redução significativa na altura e volume da área enxertada ao longo do tempo (Jensen, Schou, Svendsen, *et al.*, 2012; Calasans-Maia *et al.*, 2015). Deste modo, atualmente, vários pesquisadores discutem sobre a possibilidade de sua substituição por outros biomateriais ósseo-substitutos (Nkenke e Stelzle, 2009; Esposito *et al.*, 2014; Lutz *et al.*, 2015); outros questionam se ele ainda pode ser considerado como “padrão-ouro” para essa finalidade (Del Fabbro *et al.*, 2008; Rickert *et al.*, 2012; Al-Nawas e Schiegnitz, 2014); e outros afirmam que ele já não deve ser considerado como “padrão ouro” para LSM (Nkenke e Neukam, 2014).

Nos últimos anos muitas pesquisas têm procurado avaliar o desempenho de diferentes biomateriais de preenchimento para estimular o ganho ósseo na técnica cirúrgica de LSM, objetivando encontrar um substituto ideal ao osso autógeno (Galindo-Moreno *et al.*, 2008; Lambert, Leonard, Lecloux, *et al.*, 2013; Schmitt *et al.*, 2013; Al-Nawas e Schiegnitz, 2014; Alayan *et al.*, 2015), busca que ainda continua.

Os materiais ósseo-substitutos não autógenos podem ser basicamente divididos em três grupos de acordo com sua origem: 1º) alógenos, 2º) xenógenos e 3º) aloplásticos.

Os alógenos são materiais obtidos de indivíduos da mesma espécie do receptor, porém de genótipo diferente (Jensen e Terheyden, 2009). Assim, o osso é coletado de cadáver e submetido a vários tratamentos com o intuito de diminuir sua antigenicidade e preservar suas propriedades indutoras (Garbin Júnior, 2008). É

tratado com medicamentos (como antibióticos), solventes e por criodesinfecção em câmara fria à -80°C, podendo ainda ser submetido à liofilização, desmineralização ou irradiação (Salai *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 2007; Holtzclaw *et al.*, 2008). Esses enxertos são fornecidos por bancos de tecidos especialmente licenciados (Esposito *et al.*, 2010; Esposito *et al.*, 2014). Tem-se discutido a segurança na sua utilização quanto ao risco de transmissão de doenças como hepatite e *HIV*, assim como risco de contaminação bacteriana (Grover *et al.*, 2011; Aponte-Tinao *et al.*, 2015).

Os enxertos xenógenos são materiais obtidos de outras espécies animais diferentes à do receptor (Jensen e Terheyden, 2009); sendo predominantes os de origem bovina, suína e equina (Esposito *et al.*, 2014). Dentre os materiais de enxerto xenógenos, a matriz óssea inorgânica de origem bovina, também designada de osso inorgânico bovino tem sido um dos mais utilizados e eficazes para o LSM em humanos (Yildirim *et al.*, 2000; Jensen, Schou, *et al.*, 2012b; Lee *et al.*, 2012; Lutz *et al.*, 2015).

Os materiais ósseo-substitutos aloplásticos são aqueles produzidos sinteticamente (Esposito *et al.*, 2014), em forma de: polímeros, cerâmicas, metálicos e compósitos (Jensen e Terheyden, 2009; Matassi *et al.*, 2011). Neste grupo as cerâmicas a base de fosfato de cálcio, como a hidroxiapatita e o fosfato β -tricálcio, são as mais utilizadas (Wagner *et al.*, 2012), destacando-se nas cirurgias ortopédicas, craniofaciais e ortognáticas (Vallet-Regi, 2001; Zimmermann e Moghaddam, 2011; Campana *et al.*, 2014).

Todos os materiais ósseo-substitutos não autógenos podem apresentar formas variadas (partículas a grandes blocos), podendo ser misturados ao osso autógeno ou a fatores de crescimento e células (Klijn *et al.*, 2010). Dependendo de suas características químicas podem ser estáveis ao longo do tempo ou serem altamente reabsorvíveis (Esposito *et al.*, 2014). Um material de preenchimento ideal para LSM deve ter propriedades osteoindutora e osteocondutora e promover estabilidade da região (Lutz *et al.*, 2015). Segundo Del Fabbro *et al.* (2008), apesar do “padrão ouro” dos materiais de preenchimento ser o osso autógeno devido às suas propriedades de osteoindução e osteocondução, materiais ósseo-substitutos alternativos apenas osteocondutores podem fornecer um suporte para o crescimento ósseo ideal, e de acordo com Alayan *et al.* (2015) especialmente se esse material for

de lenta reabsorção, podendo fornecer uma melhor manutenção do espaço para a neoformação óssea.

Atualmente, o material ósseo-substituto mais utilizado (Jensen *et al.*, 2009; Sbordone *et al.*, 2011; Mordenfeld *et al.*, 2015) e estudado clínica e histologicamente para LSM (Jensen, Schou, *et al.*, 2012b; a; Manfro *et al.*, 2014; Moon *et al.*, 2015), é a matriz óssea inorgânica de origem bovina denominada Bio-Oss® (Geistlich Farmacêutica, Wolhusen, Suíça); podendo ser considerado referência entre os materiais não autógenos (Vandeweghe *et al.*, 2013; Calasans-Maia *et al.*, 2015) e padrão-ouro como osso bovino inorgânico para a técnica cirúrgica de LSM (Manfro *et al.*, 2014). Muitos estudos utilizando o Bio-Oss® na técnica cirúrgica de LSM em seres humanos têm apresentado resultados favoráveis mesmo no longo prazo (Yildirim *et al.*, 2000; Traini *et al.*, 2007; Mordenfeld *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012; Ayna *et al.*, 2015; Lutz *et al.*, 2015; Schmitt *et al.*, 2015). O Bio-Oss® é o material ósseo substituto mais usado e melhor documentado em implantodontia reconstrutiva, portanto, atualmente muitas pesquisas vêm utilizando-o como grupo controle ou material ósseo substituto controle (Cordaro *et al.*, 2008; Jensen *et al.*, 2009; Jun *et al.*, 2014; Calasans-Maia *et al.*, 2015; Mordenfeld *et al.*, 2015).

O Bio-Oss® é composto de apatita carbonatada, não antigênico e considerado livre de proteínas (Schmitt *et al.*, 2013; Berberi *et al.*, 2014), apesar de alguns estudos ainda indicarem presença de resíduos de proteínas na sua estrutura influenciada diretamente pelo processamento e temperatura utilizado na sua produção (Kim, Y. *et al.*, 2013). Esse material é produzido com osso esponjoso bovino por processo de desproteinização a altas temperaturas (ao redor de 300°C) e de procedimentos químicos de limpeza, resultando em uma matriz óssea mineral ou inorgânica de hidroxiapatita natural, porosa e não antigênica (Accorsi-Mendonca *et al.*, 2008; Calasans-Maia *et al.*, 2009), biocompatível, osteocondutora (Iezzi *et al.*, 2012; Kolerman *et al.*, 2012) e de lenta reabsorção (Yildirim *et al.*, 2000; Mordenfeld *et al.*, 2015). Sua estrutura é química e fisicamente comparável à do osso esponjoso humano, e sua natureza porosa aumenta consideravelmente a sua área de superfície (Iezzi *et al.*, 2012), o que favorece a neoformação óssea e vascular no local do preenchimento (Lee *et al.*, 2012; Jun *et al.*, 2014; Ayna *et al.*, 2015). No local do reparo o Bio-Oss® promove uma alta liberação de cálcio e fósforo (Hoexter, 2002; Desterro *et al.*, 2014) essenciais para a neoformação óssea. É considerado

um material com excelente propriedade osteocondutora sendo o tecido ósseo neoformado depositado diretamente na superfície de suas partículas (Yildirim *et al.*, 2000; Traini *et al.*, 2007; Ayna *et al.*, 2015).

Nesse contexto, para avaliar a influência das propriedades físico-químicas dos biomateriais na sua taxa de reabsorção, Riachi *et al.* (2012) realizaram um estudo em 22 pacientes utilizando a técnica de LSM e colocação de implantes de titânio após 8 meses, comparando o Bio-Oss® e Cerabone®, dois biomateriais de osso inorgânico bovino com diferentes propriedades. O Cerabone®, diferentemente do Bio-Oss®, é produzido a uma temperatura superior a 1200°C, promovendo sinterização da parte inorgânica do osso. O tamanho das partículas, a taxa de liberação de cálcio, e o tipo e tamanho da estrutura do cristal de cada material foi avaliado, mostrando que o tamanho médio das partículas de Bio-Oss® era menor (1 mm) comparado às de Cerabone® (2,7mm) e a taxa de liberação de cálcio maior no Bio-Oss® do que no Cerabone®. A avaliação radiográfica ao longo de 4 anos mostrou que o Bio-Oss® apresentou uma perda volumétrica significativamente maior em relação ao seu tamanho inicial em comparação ao Cerabone®. Os autores concluem que as propriedades físico-químicas dos biomateriais influenciam significativamente na sua taxa de reabsorção em cirurgia de LSM.

Para determinar uma possível reabsorção do Bio-Oss® no longo prazo, Mordenfeld *et al.* (2010) avaliaram em 20 pacientes submetidos ao LSM com a mistura de Bio-Oss® (80%) e osso autógeno (20%) após 6 meses, e em 11 desses pacientes, também após 11 anos, a área ocupada pelo biomaterial. A análise histomorfométrica das biópsias mostrou que a altura do SM levantado e área ocupada pelas partículas do Bio-Oss não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre 6 meses e 11 anos. Após 11 anos, o SM levantado estava preenchido por 44,7% de osso lamelar, 38,0% de medula óssea e 17,3% de partículas de Bio-Oss® bem integradas ao osso. Os autores salientam que o material praticamente não é reabsorvido após 11 anos de LSM em humanos.

Schmitt *et al.* (2015) compararam o uso do Bio-Oss® e do osso autógeno + Bio-Oss® (na proporção 1:1) em LSM realizados em 19 pacientes, com o intuito de verificar a sobrevivência de implantes após 5 anos. Os locais onde implantes foram instalados apresentavam estabilidade primária suficiente e ao final do estudo não

houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à sobrevivência dos implantes. Os resultados radiográficos e histomorfométricos obtidos a partir das biópsias coletadas após 167 dias pós-cirurgia mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de material ósseo-substituto remanescente e de osso neoformado entre os grupos. Partindo da premissa de que o Bio-Oss® é um material não reabsorvível, a hipótese dos autores é que ele leva a estabilidade óssea ao longo do tempo e um sucesso do implante no longo prazo. A vantagem do uso isolado do Bio-Oss® é que evita a morbidade na área doadora em decorrência da obtenção do osso autógeno.

Em relação a pesquisas envolvendo animais, Jensen, Schou, Svendsen, *et al.* (2012) avaliaram comparativamente em 40 minipigs, com a técnica de LSM, o Bio-Oss® e o osso autógeno (obtidos de mandíbula ou crista ilíaca) nas proporções de: 0:100 (A); 75:25 (B); 50:50 (C); 25:75 (D) e 100:0 (E). A aplicação dos enxertos foi feita de maneira randomizada em concomitância com a colocação do implante. Após 12 semanas, a maior redução de volume do enxerto autógeno foi no grupo A, seguido do grupo B, C, D e E, respectivamente. Segundo o estudo, o volume ósseo é melhor preservado com a adição de Bio-Oss® e a redução volumétrica é influenciada significativamente pela proporção Bio-Oss®:osso autógeno. Os autores salientam que mais estudos são necessários para avaliação da quantidade de formação óssea e do contato osso-implante antes da definição da proporção ótima entre Bio-Oss® e osso autógeno para o LSM.

Um osso inorgânico bovino similar ao Bio-Oss® e de menor custo, e mais facilmente encontrado no mercado brasileiro, é o denominado Gen-Ox®inorg (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil) (Manfro *et al.*, 2014). Atualmente, ainda existem poucas pesquisas citadas na literatura com o uso desse material. Estudos físico-químicos apontam que o Gen-Ox®inorg possui características semelhantes ao Bio-Oss®, mas apresenta maior cristalinidade e ausência de resíduos orgânicos, devido provavelmente à alta temperatura de desproteinização (entre 950 e 1000°C) usada na sua produção (Accorsi-Mendonça *et al.*, 2008; Cestari *et al.*, 2009). Esse biomaterial também possui uma alta capacidade de osteocondução e biocompatibilidade e é composto predominantemente de hidroxiapatita (Garcia, 2007; Accorsi-Mendonça *et al.*, 2008; Cestari *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2011).

Vale ressaltar o estudo de Accorsi-Mendonca *et al.* (2008) que comparou o Bio-Oss® e o Gen-Ox®inorg quanto a caracterização das suas propriedades físicas e químicas. A partir das análises de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho, difração de raio-X, termogravimetria e de degradação observou-se que ambos os materiais apresentavam grânulos porosos, compostos de hidroxiapatita cristalina sem a presença aparente de outras fases. No teste de degradação, o Bio-Oss® apresentou maior dissolução em comparação com o Gen-Ox®inorg, possivelmente devido a sua baixa cristalinidade e a presença de resíduos orgânicos. Os autores observaram que a temperatura do processamento na produção do material pode influenciar nas suas propriedades físico-químicas, resultando em materiais com diferentes níveis de reabsorção.

Desterro *et al.* (2014) por sua vez, avaliou as propriedades físico-químicas dos ossos inorgânicos de origem bovina: Bio-Oss®, Gen-Ox®inorg e Bonefill®. As análises mostraram que o Bio-Oss® possui uma estrutura micro e nano porosa composta de cristais de hidroxiapatita (HA) de 15 nm, o Gen-Ox®inorg possui uma estrutura microporosa composta de cristais de HA de 39 nm, porém para o Bonefill® não foi possível calcular o tamanho dos cristais devido ao material ser altamente amorfo. O Bio-Oss® apresentou picos relacionados à HA carbonatada, enquanto que o Gen-Ox®inorg apresentou picos relacionados apenas a HA e o Bonefill® indicou baixa cristalinidade e presença de material orgânico residual. A taxa de liberação de cálcio do Bio-Oss® e do Bonefill® foi maior comparado ao Gen-Ox®inorg, já a superfície de área do Bio-Oss® foi maior que a do Gen-Ox®inorg, não sendo possível determinar no Bonefill®. Concluem que apesar de todos os materiais serem de origem bovina, os diferentes processos de fabricação resultam em materiais com diferentes propriedades físico-químicas, que podem influenciar na sua resposta biológica e clínica.

Com relação à aplicação do Gen-Ox®inorg no tratamento de defeitos ósseos o trabalho de Cestari *et al.* (2009) mostrou que a sua utilização em forma de bloco em defeitos de tamanho crítico no crânio de *Cavia porcellus* promoveu um aumento ósseo vertical 3,8 vezes maior comparado à espessura do bloco ósseo removido cirurgicamente. Histomorfometricamente, o bloco do Gen-Ox®inorg exibiu completa osseointegração com as bordas do defeito e o volume de novo tecido ósseo foi 148,5% maior em comparação ao bloco ósseo removido cirurgicamente, enquanto

que, nos defeitos preenchidos apenas com coágulo a formação óssea ocupou apenas 21,9% do defeito. Os autores chegaram à conclusão de que a propriedade osteocondutora e a macro e microestrutura tridimensional porosa do Gen-Ox®inorg favorecem a formação e o crescimento ósseo, sendo uma opção no tratamento de defeito de tamanho crítico e no ganho ósseo vertical na região craniomaxilofacial.

O estudo de Rocha *et al.* (2011) avaliou o Gen-Ox®inorg na presença ou não de plasma rico em plaquetas (PRP) na calvária de 12 coelhos, com um grupo controle preenchido apenas com coágulo sanguíneo. Após um período curto de 4 semanas, os defeitos do grupo controle estavam preenchidos por tecido fibroso e pouca neoformação óssea apenas na periferia do defeito. Os defeitos dos grupos Gen-Ox®inorg, com ou sem PRP, apresentavam pouca quantidade de neoformação óssea na periferia do defeito, porém a região central de alguns defeitos apresentava formação óssea. Não houve diferenças significantes com relação à quantidade de novo osso formado, número de células gigantes e partículas do biomaterial nos defeitos entre os grupos experimentais com ou sem PRP. Concluíram que Gen-Ox®inorg com ou sem PRP é biocompatível e osteocondutivo, e mantém o volume ósseo ganho.

Uma outra alternativa como material ósseo substituto para o LSM são as cerâmicas sintéticas de fosfato de cálcio. As mais utilizadas em cirurgia reconstrutiva são hidroxiapatita (HA) e beta fosfato tricálcio (β -TCP), ambas biocompatíveis, bioativas e osteocondutoras (Legeros, 2008; Zimmermann e Moghaddam, 2011; Yip *et al.*, 2015). Essas biocerâmicas permitem a adesão, proliferação e migração das células essenciais para a nova formação óssea diretamente na superfície das suas partículas (Legeros, 2008; Zimmermann e Moghaddam, 2011). É sabido que a estrutura tridimensional do biomaterial influencia em seu desempenho (Esposito *et al.*, 2014). Assim, segundo Legeros (2008) uma das vantagens das cerâmicas sintéticas é a possibilidade de adição em sua estrutura de macro e microporos interligados semelhantes às do osso humano, durante a sua fabricação. Contudo, existem algumas limitações para o uso isolado como substitutos ósseos, tanto da HA, quanto do β -TCP (Yip *et al.*, 2015). Assim, a HA é relativamente estável, possui alta resistência mecânica e é mais difícil de ser dissolvida ou reabsorvida por osteoclastos (Campana *et al.*, 2014; Yip *et al.*, 2015), permanecendo presente por longo período de tempo *in vivo*, o que limita a taxa e a quantidade de formação

óssea (Campana *et al.*, 2014; Yip *et al.*, 2015). Por outro lado, o β -TCP é mais rapidamente reabsorvido e mecanicamente menos estável que a HA (Zimmermann e Moghaddam, 2011), podendo ser degradado antes de ocorrer uma adequada formação óssea, comprometendo a sua função de *scaffold* osteocondutivo na zona do reparo (Yip *et al.*, 2015).

Visando contornar essas deficiências de ambos, os pesquisadores produziram uma cerâmica bifásica de fosfato de cálcio (BCP, do inglês *biphasic calcium phosphate*) combinando a HA e β -TCP em uma proporção pré-definida, que mostrou promover melhor estabilidade, degradabilidade e precocidade na formação óssea, comparativamente a ambas cerâmicas isoladamente (Ng *et al.*, 2008; Castellani *et al.*, 2009; Lambert, Leonard, Lecloux, *et al.*, 2013; Yip *et al.*, 2015). O conceito da combinação HA e β -TCP para produção de um composto bifásico foi desenvolvido por pesquisadores dos Estados Unidos e França na década de 1980, com o objetivo de conseguir um ótimo equilíbrio entre os dois materiais, tornando o novo material solúvel, mas com uma dissolução gradual (Yip *et al.*, 2015).

Similarmente ao osso natural, a BCP tem demonstrado ser bioativa e promover uma forte e direta adesão do osso neoformado à sua superfície (Daculsi *et al.*, 2003; Legeros, 2008). Após a implantação da cerâmica bifásica, a interface BCP/osso apresenta uma resistência única, devido aos eventos que ali ocorrem de forma dinâmica, tais como: liberação de íons cálcio e fosfato da BCP para o microambiente local e outros eventos físico-químicos, como interações entre proteínas e cristal, colonização celular e tecidual e remodelação óssea (Daculsi *et al.*, 2003).

A BCP é utilizada e pesquisada como material ósseo-substituto em diferentes proporções variando de 10–90% de HA para 90–10% de TCP, no tratamento de defeitos ósseos em seres humanos (Friedmann *et al.*, 2009; Frenken *et al.*, 2010; Cha *et al.*, 2011; Kim, D. M. *et al.*, 2013; Mangano *et al.*, 2013; Annibali *et al.*, 2015; Mordenfeld *et al.*, 2015) e em animais (Jensen *et al.*, 2009; Lambert, Leonard, Lecloux, *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014; Dahlin *et al.*, 2015; Lim, Kim, *et al.*, 2015; Lim, Zhang, *et al.*, 2015; Yip *et al.*, 2015). Porém, a relação ótima entre HA e β -TCP ainda não está estabelecida (Lim, Kim, *et al.*, 2015).

A seguir alguns estudos recentes quanto à utilização da BCP no procedimento de LSM em humanos e no tratamento de defeitos ósseos em animais serão apresentados. Alguns dos materiais avaliados já estão comercialmente disponíveis e serão indicados pelos seus nomes comerciais, quando citados.

Cordaro *et al.* (2008) avaliaram a BCP sintética na proporção HA/ β -TCP de 60:40 (Straumann® Bone Ceramic) comparativamente ao Bio-Oss® como grupo controle, em 37 pacientes em LSM. A análise histomorfométrica das biópsias coletadas após 180-240 dias do procedimento, mostrou que não houve diferença significativa quanto ao percentual de tecido ósseo mineralizado entre os grupos. Porém, a avaliação do contato direto entre o tecido ósseo recém formado e as partículas de biomaterial foi significativamente maior no grupo Bio-Oss®, enquanto que a quantidade de material remanescente na cerâmica Straumann® foi significativamente menor que no Bio-Oss®. Segundo o estudo, ambos biomateriais são apropriados para o LSM e posterior colocação de implantes dentários, porém ressaltam que a maior quantidade de tecido mole e as características diferentes de reabsorção no caso da BCP (Straumann®) requerem futuras investigações. Comparativamente, Frenken *et al.* (2010), avaliaram a qualidade e quantidade de formação óssea em LSM unilateral de seis pacientes utilizando a BCP 60:40 (Straumann®) e também apontam que a BCP 60:40 (Straumann®) é adequada para o aumento vertical da maxila atrófica pelo procedimento de LSM. As análises histológica e morfométrica das biópsias após 6 meses do procedimento, mostraram que o osso neoformado apresentava estrutura trabecular e estava em íntimo contato com as partículas de Straumann®, confirmando a propriedade osteocondutora da biocerâmica.

Schmitt *et al.* (2013) avaliaram clínica e histologicamente o LSM em 30 pacientes consecutivos utilizando a BCP 60:40 (Straumann®), o Bio-Oss®, o osso medular mineralizado alógeno (Zimmer Puros®) e o osso autógeno. A análise comparativa das biópsias obtidas após 5 meses de reparo revelaram que o percentual de volume ósseo neoformado foi maior no osso autógeno, seguido do Puros®, Straumann® e Bio-Oss®, nessa ordem. Além disso, diferenças significantes quanto ao material remanescente foram maiores para o Bio-Oss® (média 21,3%) comparativamente ao Straumann® (15,8%). Os autores concluíram que todos os materiais podem ser utilizados na técnica de LSM, porém salientam que o osso

autógeno, por prover maior taxa de neoformação óssea, deve continuar sendo considerado como padrão ouro em LSM.

Annibali *et al.* (2015) por sua vez, avaliaram o potencial de regeneração óssea de uma cerâmica BCP de proporção 30:70 em comparação a outros materiais ósseo-substitutos: osso inorgânico bovino (ABB), enxerto alógeno (MSDBA) e osso equino (EB) em LSM de apenas quatro pacientes (duas amostras por material), no período de 6 meses após cirurgia. Na análise histológica, observou-se que a BCP 30:70 apresentou o mesmo padrão de formação óssea que os demais biomateriais, com grande número de partículas em íntimo contato com o osso neoformado. Histomorfometricamente verificou-se que a porcentagem de tecido ósseo neoformado foi maior para BCP (30,2%) seguidos pelo EB (21,9%), ABB (20,1%) e MSDBA (16,4%). Baseado nesses resultados, os autores sugerem que a BCP 30:70 pode ser usada com sucesso para o procedimento de LSM, porém salientam a necessidade de novos estudos no longo prazo para a compreensão do processo de sua reabsorção.

Com relação a estudos envolvendo animais para o tratamento de defeitos ósseos, Jensen *et al.* (2009) avaliaram comparativamente em defeitos ósseos na mandíbula de 24 minipigs, BCPs com diferentes proporções HA e β -TCP: BCP 20:80, BCP 60:40 (Straumann® Bone Ceramic) e BCP 80:20, além de outros tratamentos, como osso autógeno (controle positivo), Bio-Oss® (substituto ósseo controle) e coágulo (controle negativo). Os animais foram divididos nos períodos experimentais de 4, 13, 26 e 52 semanas. Neste estudo o osso autógeno apresentou maior formação óssea nas fases iniciais de reparo comparativamente ao osso inorgânico bovino, BCP 80:20 e Straumann®, além de maior porcentagem de superfície de material envolta por tecido ósseo durante todo o período estudado. Alta taxa de reabsorção foi observada no osso autógeno e na BCP 20:80, e baixa taxa na BCP 80:20 e Straumann®, enquanto no Bio-Oss® não foi observada evidências quantitativas de degradação. Entre as três BCPs, a quantidade de formação óssea e a degradação do biomaterial mostrou ser inversamente proporcional a razão HA: β -TCP.

Em 2013, Lambert, Leonard, Lecloux, *et al.* realizaram um estudo de LSM em coelhos utilizando BCP 60:40 (Straumann®), Bio-Oss® e o β -TCP puro (Cerasorb®)

avaliando comparativamente a formação óssea, taxa de reabsorção, osteocondutividade e mudanças de volume nos biomateriais nos períodos experimentais de 1 e 5 semanas e 6 meses. As análises microtomográficas e histológicas mostraram que os três biomateriais promoveram a osteogênese, porém o comportamento biológico e a arquitetura do osso neoformado não foram similares. Após 6 meses a taxa de reabsorção dos materiais apresentou diferenças significantes entre os grupos, sendo maior no Cerasorb®; o osso neoformado estava em íntimo contato com as partículas de Bio-Oss® e a medula óssea e adipócitos eram mais evidentes do que no período anterior; e as partículas de Straumann® muitas vezes estavam circundadas por tecido mole. Dentro de cada grupo não houve diferenças estatísticas quanto ao volume do seio levantado ao longo dos períodos. Os autores concluíram que apesar de apresentarem diferenças nos graus de degradação e no comportamento biológico, todos os biomateriais promoveram a osteogênese podendo ser utilizados na regeneração óssea intraoral conforme a necessidade clínica que exija maior ou menor grau de biodegradabilidade.

No ano de 2015, Lim, Zhang, *et al.* compararam a estabilidade de volume e a capacidade de formação óssea de duas BCPs com proporção HA/ β -TCP de 70:30 (Osteon® I) e 30:70 (Osteon® II), no LSM em 8 coelhos nos períodos de 2 e 8 semanas pós cirurgia. As análises histomorfométrica e microtomográfica mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa no volume do seio levantado entre grupos ($94,35 \pm 20,74 \text{ mm}^3$ para Osteon® I e $93,03 \pm 36,12 \text{ mm}^3$ para Osteon® II). A Osteon® II foi significativamente mais reabsorvida e possuía maior número de células gigantes multinucleadas, comparado ao grupo da Osteon® I, em ambos os períodos. Com relação à taxa de contato entre tecido ósseo e o material, não houve diferença significativa entre os dois grupos. Segundo os autores a estabilidade de volume e a capacidade osteocondutora da Osteon® II são comparáveis às da Osteon® I, podendo ambas ser utilizadas no LSM.

No mesmo ano, Lim, Kim, *et al.* (2015) avaliaram o potencial osteocondutor e o padrão de reparo ósseo de BCPs com proporções HA/ β -TCP variadas: grupos BCP 70:30 (Osteon® I), BCP 30:70 (Osteon® II), BCP 20:80 (Newbone®) e controle (sem preenchimento), em calvária de 10 coelhos, nos períodos de 2 e 8 semanas. Os resultados histológicos e morfométricos mostraram que ocorreu a manutenção do

espaço preenchido em todos os grupos das BCPs. A quantidade de osso neoformado aumentou entre 2 e 8 semanas, porém não diferiu significativamente entre os grupos. A reabsorção da Newbone® foi significativamente maior que a da Osteon® I e Osteon® II nas 2 primeiras semanas, porém com 8 semanas não houve diferença significativa entre Osteon® II e Newbone®. Os autores concluem que a capacidade de manutenção de espaço e de osteocondução das três BCPs são comparáveis, mas com diferentes padrões de formação óssea e de reabsorção, sugerindo que tal fato ocorra devido a diferenças nas propriedades físico-químicas resultantes dos diferentes métodos de processamento para sua produção.

Uma questão importante que deve ser considerada na escolha do material ósseo-substituto é a respeito da presença de poros e concavidades na estrutura das suas partículas. É sabido que o potencial osteocondutor do biomaterial depende dessa característica e que deve ser próximo ao do osso esponjoso natural, sendo essencial para a vascularização, difusão de nutrientes e células, bem como para o crescimento de tecidos no seu interior (Legeros, 2008; Zimmermann e Moghaddam, 2011; Denry e Kuhn, 2016). Deste modo, a morfologia, distribuição e tamanho dos poros no biomaterial são importantes para a formação do novo tecido (Perez e Mestres, 2016). Um estudo *in vitro* realizado por Bianchi *et al.* (2014) demonstrou que a frente de mineralização da cerâmica de fosfato de cálcio inicia preferencialmente dentro das concavidades e não nas superfícies planas da cerâmica. De acordo com estudos feitos por Ripamonti (2004; 2009) e Ripamonti *et al.* (2011), os microporos e concavidades criam um microambiente protegido favorável ao processo de osteocondução e osteoindução. Assim, o aumento das microporosidades gera uma maior interação com as proteínas séricas, o que faz melhorar as suas propriedades osteoindutiva e osteocondutiva (Perez e Mestres, 2016). A presença das microporosidades aumenta consideravelmente a área de superfície do material, facilitando a adsorção de proteínas endógenas e acelerando a dissolução/precipitação de fosfato de cálcio na interface do material (Habibovic *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2015).

Para avaliar a capacidade de adsorção de proteínas pelo biomaterial, Wang *et al.* (2013) compararam três tipos de partículas de cerâmicas de fosfato de cálcio com diferente composição de fase ou microestrutura, em um dispositivo autossuficiente com condições que simulavam o meio fisiológico. A partir de vários testes, foi

observado que a hidroxiapatita de formato irregular obtida por secagem convencional e sinterização (HA-C) apresentava poucos microporos e menor superfície de área específica (SSA) do que a hidroxiapatita esférica ou a fosfato de cálcio bifásica esférica, obtidas por secagem por pulverização e sinterização (HA-S e BCP-S, respectivamente). As partículas esféricas de HA-S e BCP-S, com presença abundante de microporos e alta SSA, mostrou maior adsorção de proteínas séricas (incluindo fibronectina e vitronectina) em comparação com a HA-C. Em uma solução contendo proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) e albumina de soro bovino (BSA), a adsorção de BMP-2 nas três cerâmicas aumentou com o aumento de BMP-2 na concentração inicial BSA/BMP-2. As cerâmicas HA-S e BCP-S apresentaram maior quantidade de BMP-2 adsorvida/grama de material comparado a HA-C. Os autores concluíram que a composição de fase e a estrutura microporosa da cerâmica de fosfato de cálcio afetam a sua capacidade de adsorção de proteínas ósseas e de osteoindução. Assim, como visto acima as microporosidades do *scaffold* tem um papel importante na adsorção de substâncias, já os macroporos permitem a penetração de células para o interior do *scaffold*, e consequentemente a formação do novo tecido determinando a extensão da regeneração (Perez e Mestres, 2016). Os poros também influenciam na velocidade de degradação da cerâmica, assim materiais com alta porosidade são mais rapidamente degradados do que materiais com baixa porosidade (Zimmermann e Moghaddam, 2011).

O estudo de novos biomateriais, fatores de crescimento e células-tronco em grande parte envolve a utilização de coelhos como modelo experimental (Peric *et al.*, 2015). Os coelhos são comumente utilizados também para avaliação de reparo ósseo (Peric *et al.*, 2015), pesquisas de implantes dentários (Coelho *et al.*, 2009) e de estratégias cirúrgicas para aplicação craniofacial, como a técnica de LSM (Muschler *et al.*, 2010) devido à similaridade do seio maxilar do coelho com o seio maxilar humano (Lim, Zhang, *et al.*, 2015). As vantagens de seu uso incluem: baixo custo, tamanho e facilidade na manipulação (Pearce *et al.*, 2007), maturação do tecido ósseo em curto período de tempo (Pearce *et al.*, 2007), densidade óssea similar à dos seres humanos (Wang *et al.*, 1998) e considerável quantidade de dados previamente existentes na literatura (Coelho *et al.*, 2009). Além disso, outra vantagem é permitir a obtenção de toda a região de interesse, o que facilita a sua avaliação por meio de diversas técnicas e processamentos. Uma das técnicas

recentes de avaliação que pode ser utilizada nesse caso é a microtomografia computadorizada (*micro-CT*), que é uma técnica de avaliação não invasiva (Peyrin *et al.*, 2014), que vem sendo cada vez mais utilizada em estudos pré-clínicos, pois permite a obtenção de imagens tridimensionais de alta resolução de toda área do reparo. Essa técnica permite avaliar a microestrutura do biomaterial e do tecido ósseo neoformado e quantificar o volume parcial e total da região de interesse (Chappard *et al.*, 2010; Lambert, Leonard, Drion, *et al.*, 2013). Além disso, a associação dos resultados obtidos no micro-CT com os resultados das imagens histológicas permite correlacionar alterações volumétricas no seio maxilar levantado com os eventos biológicos que ocorrem frente aos diferentes biomateriais. Nesse contexto, (Pearce *et al.*, 2007) apontam que em pesquisas para implantação de materiais no tecido ósseo, pelo menos quatro coelhos devem ser usados para cada tratamento em cada período.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Em vista das informações apresentadas nos capítulos anteriores propomos a avaliar comparativamente as cerâmicas: a) matriz óssea bovina inorgânica desproteinizada a 300°C (Bio-Oss®), b) matriz óssea bovina inorgânica desproteinizada entre 950 e 1000°C (Gen-Ox®inorg) e c) cerâmica bifásica HA/ β -TCP porosa na proporção 70:30 (GenPhos XP®) em cirurgia de levantamento do seio maxilar em coelhos, em relação a capacidade de formação óssea, a qualidade de osso neoformado e a manutenção de volume ósseo ganho.

Pretende-se alcançar esses objetivos utilizando-se dos seguintes métodos:

1. Microtomografia computadorizada para determinação do volume, altura e profundidade do espaço do seio maxilar criado após o seu levantamento frente aos diferentes biomateriais e períodos experimentais.
 2. Análise morfológica para verificação da resposta tecidual frente aos diferentes materiais utilizados no levantamento de seio maxilar, quanto a presença/intensidade de formação de tecido de granulação e sua substituição por tecido conjuntivo, ósseo e medula óssea e sinais de reabsorção/degradação do material ao longo dos períodos pós-cirúrgicos.
 3. Análise morfométrica pela técnica da volumetria de pontos para obtenção da densidade de volume das estruturas presentes no seio maxilar levantado (biomaterial, tecido ósseo, tecido conjuntivo e medula óssea, e infiltrado inflamatório se presente) a fim de quantificar e verificar possíveis diferenças no processo de reparo quanto ao tipo de biomaterial utilizado.
 4. Análise temporal das modificações volumétricas das diferentes estruturas presentes no seio maxilar levantado associando os dados morfométricos de densidade de volume com os dados microtomográficos de volume total do seio levantado.
-
-

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Biomateriais

Para o presente estudo foram utilizados os seguintes biomateriais:

- Matriz óssea inorgânica bovina (desproteinizada a 300°C) – Bio-Oss® (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suíça, Lote 00120681, com granulação de 0,25-1,0 mm);
- Matriz óssea inorgânica bovina sinterizada (desproteinizada entre 950 e 1000°C) – Gen-Ox®inorg (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil, registro ANVISA nº **103.455.00086**, com granulação 0,5-1,0 mm).
- Cerâmica bifásica de hidroxiapatita e fosfato tricálcio porosa na proporção 70:30 – GenPhos XP® (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil, Lote 4061690, com granulação 0,5-0,75 mm);
- Membrana de osso cortical bovino reabsorvível – Gen-Derm® (Baumer S.A., Mogi Mirim, SP, Brasil, com registro ANVISA nº **103.455.00007**).

4.2 Obtenção dos animais e delineamento experimental

Após aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da FOB-USP (CEEPA – Proc. Nº 028/2013), a parte experimental cirúrgica foi desenvolvida, seguindo as normas do CONCEA. Foram utilizados 24 coelhos adultos (*Oryctolagus cuniculus*), linhagem *New Zealand White*, machos, obtidos do Setor de Cunicultura da Fazenda Lageado localizado na 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, sendo acomodados individualmente em gaiolas de aço e alimentados antes e durante o experimento com ração sólida e água a vontade, exceto nas 6 horas pré-operatórias. As cirurgias

foram realizadas quando os animais estavam com cerca de 140 dias de idade e massa corporal de 3,5 a 4,5 kg. Foram utilizados somente coelhos machos para evitar a influência das variações hormonais no processo de reparo.

Os animais foram divididos em períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias, sendo utilizados 8 coelhos/período (16 seios maxilares/período). Para cada período, 6 seios maxilares (SMs) foram preenchidos com 0,2mL de Bio-Oss® (Grupo Bio-Oss), outros 5 SMs com 0,2mL de Gen-Ox®inorg (Grupo Gen-Ox) e os 5 SMs restantes com 0,2mL de GenPhos XP® (Grupo GenPhos).

Figura 1. Delineamento experimental: 24 coelhos submetidos à técnica de levantamento de seio maxilar (no quadro, adaptação do desenho esquemático de Xu *et al.* (2003)) e divididos em grupos experimentais especificados na figura.

4.3 Intervenções cirúrgicas

A técnica e sequência da intervenção cirúrgica foram realizadas conforme indicado por Sicca *et al.* (2008). As cirurgias foram realizadas com os animais sob anestesia geral obtida pela aplicação intramuscular de cloridrato de xilazina (Anasedan-Ceva Saúde Animal Ltda.) na dose de 10mg/kg, seguida após 10 minutos por injeção pela mesma via de cloridrato de ketamina (Dopalen-Ceva Saúde Animal Ltda.) na dose de 50mg/kg (Fig. 2), conforme especificações do *The Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC- *Rabbit Formulary*, 2010). Após a tricotomia da região da face e antissepsia com solução aquosa de polivinilpirrolidona (PVP-I tópico), uma incisão em meia lua de 5 cm foi realizada no tegumento da região nasal (Fig. 3A). O periósteo foi descolado e com uma broca trefina de 4mm de diâmetro, sob irrigação abundante de solução salina estéril, foi realizada uma janela (Fig. 3B) cerca de 2 cm abaixo da sutura naso-incisal e 0,5 cm para lateral de cada lado do animal. Esta janela, de cada lado, foi então removida para acesso aos SMS superiores direito e esquerdo e a membrana sinusal foi delicadamente elevada com a utilização de uma cureta de dentina (Fig. 3C) para prevenir perfuração e para possibilitar o preenchimento com os materiais conforme cada grupo de tratamento (Fig.3D-F).

Após o preenchimento da cavidade foi colocada sobre a janela uma membrana de osso cortical bovino reabsorvível (Gen-Derm®) para prevenir a invasão do local por outro tecido (Fig. 3G). A sutura no local foi realizada com fio de seda 4-0 (Fig. 3H).

Figura 2. Anestesia Geral (via intramuscular). Relaxante muscular (Anasedan-cloridrato de xilazina) e anestésico geral (Dopalen-cloridrato de ketamina).

Figura 3. Procedimentos cirúrgicos. A) Incisão em meia lua de 5 cm no tegumento da região nasal e periosteio deslocado. B) Broca trefina de 4mm de diâmetro, sob irrigação de solução salina estéril abundante. C) Janelas realizadas com acesso aos seios maxilares superiores e elevação da membrana sinusal com uma cureta de dentina. D) Materiais ósseo substitutos quantificados (0,2mL para cada seio maxilar). E) Preenchimento de uma das cavidades. F) Ambas cavidades de um coelho preenchidas de acordo com o tratamento. G) Colocação da membrana de osso cortical bovino reabsorvível sobre as janelas para prevenir a invasão de outro tecido. H) sutura externa realizada com fio de seda 4-0.

4.4 Medicação pós-operatória

Após a cirurgia aplicou-se, por via subcutânea, 10mg/kg do antibiótico enrofloxacino 2,5% (Flotril® 2,5%; Intervet - Schering-Plough, Rio de Janeiro, Brasil) durante 7 dias e 0,1mL/kg de anti-inflamatório cetoprofeno (Ketofen 1%®, Merial, Brasil) durante 3 dias (Fig. 4). Durante o período pós-operatório a ferida cirúrgica foi tratada com Rifocina® spray e após esse período os pontos foram removidos.

Figura 4. Medicação pós-operatória.

4.5 Obtenção das peças

Após os períodos de 15, 30 e 60 dias (oito animais/período), os animais foram submetidos à eutanásia pelo método de sobredose de anestésico geral. Um bloco da região nasal de cada animal, contendo os dois SMS preenchidos, foi cuidadosamente coletado e fixado em solução de formalina a 10% em tampão fosfato pH 7,2 por uma semana.

4.6 Microtomografia computadorizada

4.6.1 Obtenção das imagens e reconstrução digital

As peças foram submetidas a uma varredura de feixe de raios-X em um tomógrafo microcomputadorizado (*micro-CT*) 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. Utilizou-se 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.

4.6.2 Análises bidimensionais e tridimensionais de cada seio maxilar

4.6.2.1 Alinhamento e avaliação da altura e espessura do seio maxilar levantado (2D)

As nomenclaturas, símbolos e unidades foram utilizados conforme recomendado pelo *Histomorphometry Nomenclature Committee of the American Society for Bone and Mineral Research* (Dempster *et al.*, 2013). 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 SM (Fig.5). A espessura de cada corte obtido foi de 0,035 mm. A partir deste corte, foram realizadas 5 medidas de altura, obtendo-se a média a seguir (Fig. 6), e 3

medidas de profundidade (Fig.7), seguida da obtenção da média. Por meio deste mesmo programa foram obtidas imagens individuais nos planos sagital, coronal e transaxial e imagens alinhadas no plano coronal foram salvas em arquivo separado para posterior avaliação do volume total do SM no software CTAn.

Figura 5 - Software DataViewer utilizado para as análises bidimensionais mostrando o alinhamento coronal, sagital e transaxial.

Figura 6 - Imagens do software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da altura do seio maxilar levantado.

Figura 7 - Imagens do software DataViewer mostrando como foi realizada a medição da profundidade do seio maxilar levantado.

4.6.2.2 *Análise volumétrica do volume total do seio maxilar levantado (3D)*

A mensuração do volume total do SM levantado foi obtida utilizando as imagens no plano coronal e o software CTA_n 1.10.1.0 (SkyScan, Belgium), seguindo a seleção de uma área de interesse (*ROI*), a qual foi delimitada manualmente, posicionada entre o início do SM preenchido até o seu final (com intervalo de 10 cortes entre cada delimitação). Assim, o volume total (TV, do inglês *total volume*) de interesse foi definido para cada amostra, incluindo todos os tecidos da área, conforme ilustrado na Figura 8.

Figura 8 - Seleção da área para avaliação (ROI) do volume do seio maxilar (área vermelha); e tabela de dados fornecidos pelo software CTAn, mostrando a realização da análise 3D para a obtenção do volume total do seio maxilar levantado (destacado em amarelo).

4.7 Processamento histológico das amostras e coloração em HE.

Após a obtenção das microtomografias, as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas e em seguida submetidas a processo de desmineralização em solução de EDTA (solução contendo 4,13% de Tritriplex III Merck® e 0,44 de hidróxido de sódio) a temperatura ambiente, sendo essa solução trocada toda semana, durante aproximadamente 80 dias. Após a desmineralização, as peças foram processadas histologicamente para inclusão em Histosec-Merck® e cortes coronais alternados de 5 µm de espessura (espaçamento de 100 µm) foram obtidos e corados pela Hematoxilina-Eosina (Luna, 1968).

4.8 Análise histológica descritiva

Os cortes histológicos foram examinados em um microscópio binocular Axioskop2 (Carl Zeiss). Na análise os seguintes eventos foram considerados: 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 partículas de biomaterial e células reabsortivas na sua superfície; e f) grau de maturidade do tecido ósseo formado.

As fotomicrografias foram obtidas no microscópio OlympusBX-50 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) com câmera fotográfica acoplada (Olympus DP-71) e software Image-Pro Plus® 6.0 (Media Cybernetics; Bethesda, MD, USA) do Laboratório de Anatomia do Departamento de Ciências Biológicas da FOB-USP.

4.9 Análise histomorfométrica

4.9.1 Casualização dos campos histológicos

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

Desta forma, o ponto central nesses métodos está na casualização das amostras, ou seja, a escolha de amostras do tecido a serem confrontadas com o sistema-teste, deve ser realizada por um método que elimine a ocorrência de vício. Para tanto, de cada peça histológica foram obtidas 3 lâminas contendo 3 cortes semi-seriados cada uma. Para padronização, das 3 lâminas obtidas, foram selecionadas 2 lâminas para serem utilizadas e de cada uma destas lâminas, selecionado 1 corte histológico (da primeira lâmina, o primeiro corte e da terceira lâmina, o terceiro corte). Para a escolha dos campos histológicos por corte, foi utilizado um esquema de casualização sistemática segundo as indicações de Weibel (1969). Cumpre salientar que nesse esquema os campos histológicos foram escolhidos em intervalos regulares e alternados, de maneira que todas as regiões do corte histológico estivessem representadas.

4.9.2 Avaliação da densidade de volume das estruturas presentes no seio maxilar

A densidade de volume (V_{vi}) é definida como a fração ou porcentagem de volume total do seio ocupada por um determinado constituinte do todo (partículas de biomaterial, infiltrado inflamatório, tecido conjuntivo, tecido ósseo e medula óssea). A densidade de volume foi avaliada pela técnica de volumetria relativa de contagem de pontos (Weibel, 1969), com uma objetiva de 20x e um retículo de integração II Zeiss colocado em uma ocular Kpl 8x, composta de 10 linhas paralelas e 100 pontos numa área quadrangular. A imagem do retículo foi superposta a campos histológicos por toda área dos cortes do SM preenchido e os seguintes dados foram anotados: o número de pontos (p_i) que caíram sobre cada constituinte (i) e sobre toda área da loja cirúrgica inteira (P). A densidade de volume (V_{vi}) de cada tipo de estrutura foi calculada pela relação: $V_{vi} = A_{ai} = P_{pi} = p_i/P$ (Weibel, 1969).

4.9.3 Avaliação do volume total de cada estrutura

Levando em consideração que o tecido ósseo neoformado possui uma densidade radiográfica muito próxima ou similar aos dos biomateriais e especialmente ao do Bio-Oss, não foi possível realizar uma quantificação volumétrica direta das estruturas mineralizadas (biomaterial e tecido ósseo) com precisão, pelo micro-CT. Portanto, os dados quantitativos de volume total de cada estrutura (i) foram obtidos indiretamente utilizando-se nos cálculos, o volume total (TV) de cada SM obtido no micro-CT e a densidade de volume (V_{vi}) de cada estrutura (i) obtido pela morfometria. O volume total absoluto (V_{ti}) de cada estrutura (i) no interior do SM foi calculado pela seguinte relação: $V_{ti} = (TV \times V_{vi})/100$.

4.9.4 Determinação do número de osteoclastos ou células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho por mm^2 de corte histológico do tecido

No atual trabalho foi considerado como osteoclastos (Oc) apenas as células gigantes multinucleadas contendo mais de dois núcleos presentes na superfície óssea. As células gigantes multinucleadas presentes na superfície do biomaterial foram consideradas como células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (CGM),

uma vez que não foi empregada nenhuma técnica imunoistoquímica para identificação de osteoclastos. O número de imagens de secções de Oc/mm² ou CGM/mm² de corte de tecido, respectivamente, na superfície do tecido ósseo neoformado e dos biomateriais foi determinado utilizando uma objetiva de 20x e uma grade quadrangular acoplada a ocular perfazendo uma área de 0,25 mm². Nos campos selecionados por amostragem sistemática (Weibel, 1969) foram contados o número de imagens de secções de Oc ou CGM, somente aquelas contendo 2 ou mais núcleos (ou seja, secções próximas do centro celular). Conhecendo-se a área total analisada em cada amostra ($A=0,25\text{mm}^2 \times N$ campos) e o número de imagens de Oc ou CGM contados nessa área, o número de Oc ou CGM por mm² de corte histológico do seio preenchido foi calculado por uma simples regra de três.

4.10 Análise estatística

Os dados quantitativos obtidos foram primeiramente submetidos ao teste de homogeneidade das variâncias para cada variável de Hartley, Cochran e Bartlett. Em seguida, os dados foram comparados entre grupos e períodos experimentais, pela análise de variância (ANOVA) a dois critérios (material implantado e período de tratamento). Para as variáveis que apresentaram diferenças, ou seja, $p<0,05$, 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 mostrou que a massa corporal inicial (MCi) obtida no dia da cirurgia foi similar nos animais em todos os períodos experimentais, sendo em média $3,7 \pm 0,21\text{kg}$. A massa corporal dos animais manteve-se estável aos 15 dias ($\text{MCi} = \text{MCf}$), enquanto que nos períodos de 30 e 60 dias houve ganho significativo de massa corporal ($\text{MCf} > \text{MCi}$) de aproximadamente 100g.

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	MCi (kg)	MCf (kg)	Teste “t” pareado “p”
15 dias	$3,7 \pm 0,19^a$	$3,7 \pm 0,20^{a,b}$	1,000000
30 dias	$3,8 \pm 0,21^a$	$3,9 \pm 0,21^b$	0,020938
60 dias	$3,7 \pm 0,23^a$	$3,8 \pm 0,10^b$	0,038334
Anova “p”	0,595138	0,114768	

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

5.2 AVALIAÇÃO DA MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA

5.2.1 Padrão das imagens obtidas ao micro-CT nos diferentes períodos e grupos experimentais

As imagens microtomográficas mostraram que o volume do seio levantado foi similar em todos os grupos de tratamento e se manteve constante durante todos os períodos experimentais (compare as imagens da Fig. 9). As partículas de Gen-Ox e GenPhos apresentavam radiodensidade superior ao do tecido ósseo natural da

região, sendo evidentes nas microtomografias. Enquanto que as partículas do Bio-Oss mostrou-se menos radiodensas em relação aos do Gen-Ox e GenPhos e próxima ao do tecido ósseo do animal dificultando/impedindo a quantificação volumétrica do tecido ósseo neoformado e do próprio biomaterial.

Ampliando as imagens foram observadas pequenas áreas de baixa radiodensidade nos espaços radiolúcidos entre as partículas, indicativo de formação óssea. Com o passar do tempo essas áreas aumentaram e tornaram-se mais radiodensas (observe no período de 60 dias a Fig. 9D, H e L).

Figura 9 -Cortes no plano sagital do seio maxilar preenchido com diferentes biomateriais obtidos no programa Dataviewer. Observe que os seios maxilares apresentam similar quantidade de área preenchida pelos diferentes biomateriais em todos os períodos experimentais. Note que as partículas de Gen-Ox apresentam radiodensidade superior ao do Bio-Oss, porém o tamanho e o formato irregular das partículas são similares. Já as partículas de GenPhos exibem radiodensidade similar ao do Gen-Ox porém seu tamanho é maior e o formato mais uniforme. Aos 15 dias, observe que os espaços entre as partículas mostram-se radiolúcidos, indicando ausência de tecido ósseo mineralizado. Aos 60 dias, notar nos detalhes circundados em azul a presença de áreas com radiodensidade (seta vermelha) similar ao do tecido ósseo do animal (seta verde) ocupando os espaços entre as partículas (seta amarela).

5.2.2 Volume total do seio maxilar preenchido com os diferentes materiais

A análise da Figura 10 e dos resultados estatísticos apresentados nas tabelas 2, 3 e 4, além dos gráficos das Figuras 11, 12 e 13, mostrou que o volume, altura e profundidade dos SMs preenchidos com os diferentes materiais foram similares entre os grupos aos 15 dias, sendo em média $229,1 \text{ mm}^3$, $6,5 \text{ mm}^3$ e $10,3 \text{ mm}^3$, respectivamente. Embora entre 15 e 60 dias não se tenha observado diferenças estatísticas entre os grupos e períodos, graficamente notou-se uma tendência de diminuição do volume total e da profundidade dos SMs preenchidos com Bio-Oss, de, respectivamente, $38,0 \text{ mm}^3$ (17,3%) e $1,0 \text{ mm}^3$ (10%).

Figura 10 - Cortes no plano coronal do volume do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes períodos experimentais obtidos no programa Dataviewer.

Tabela 2 - Comparação entre o **VOLUME** do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	2,383	2	0,105548
Material	3,150	2	0,053915
Período x Material	1,070	4	0,384335

Tabela 3 - Comparação entre a **ALTURA** do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	0,275	2	0,760856
Material	0,214	2	0,808310
Período x Material	0,806	4	0,528941

Tabela 4 - Comparação entre a **PROFUNDIDADE** do seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	2,511	2	0,094193
Material	1,320	2	0,278718
Período x Material	2,224	4	0,084139

Figura 11 -Gráfico da média e desvio padrão do volume do seio maxilar preenchido (mm³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.

Figura 12 -Gráfico da média e desvio padrão da altura do seio maxilar preenchido (mm) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais.

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

5.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DESCRITIVA

A evolução histológica do reparo nos SMs nos períodos de 15, 30 e 60 dias após preenchimento com os biomateriais encontra-se apresentada nas fotomicrografias das figuras 14 a 22.

5.3.1 Período de 15 dias

No Grupo Bio-Oss (Fig. 14), a área dos SMs levantados apresentava contorno uniforme e integridade na membrana sinusal, que era composta por epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas, característicos dessa região (Fig. 14A₁ e B₁). Em alguns pontos da membrana sinusal onde ocorreu o contato com áreas pontiagudas do biomaterial observou-se a transformação ou metaplasia do epitélio, que passou de prismático pseudoestratificado para pavimentoso como pode ser observado na figura 14 A₃ e B₃. Na área enxertada, grande quantidade de partículas de biomaterial estava presente e circundada por tecido conjuntivo ricamente vascularizado ou por tecido ósseo imaturo que apresentava na sua

superfície grande quantidade de osteoblastos com citoplasma volumoso, núcleo eucromático e nucléolos evidentes, indicativo de intensa atividade. Em algumas regiões da superfície das partículas observou-se a presença de células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (CGM) (Fig. 14A₂ e B₂).

No Grupo Gen-Ox (Fig. 15), assim como no grupo Bio-Oss, a região do SM levantado apresentou contorno uniforme, com integridade na membrana sinusal, podendo ser observado o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas, característicos dessa região (Fig. 15A₁ e B₁). Também foi observado em alguns pontos da membrana sinusal que estavam em contato com áreas pontiagudas do biomaterial a presença de epitélio pavimentoso como pode ser observado na figura 15 A₃. Na área enxertada, grande quantidade de partículas de biomaterial estava presente e o espaço entre elas estava preenchido por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado. Na superfície das partículas do Gen-Ox observou-se a formação de uma fina camada de tecido ósseo primário recoberto por vários osteoblastos ativos, além de algumas CGMs na superfície do biomaterial (Fig. 15A₂-A₃ e B₂-B₃).

No Grupo GenPhos (Fig. 16), assim como observado nos demais grupos, a região do SM levantado apresentou contorno uniforme e integridade da membrana sinusal (Fig. 16A₁ e B₁). A presença de epitélio pavimentoso também foi observada em alguns pontos da membrana sinusal que estavam em contato com áreas pontiagudas do biomaterial (Fig. 16 B₃). A área enxertada apresentava grande quantidade de partículas de biomaterial. Embora este material apresentasse partículas maiores e menos numerosas que os demais grupos (compare Fig. 16 com Figs. 14 e 15), foi possível observar que suas partículas apresentavam maior área de superfície por causa da presença em sua estrutura de inúmeras concavidades e poros em todos os períodos avaliados, ausentes nas partículas do Bio-Oss e Gen-Ox. Neste período, as partículas de biomaterial estavam envoltas por grande quantidade de tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos e CGMs em sua superfície (Fig. 16A₂-A₃). A formação óssea ocorreu tanto na superfície como também no interior dos poros e concavidades do biomaterial. A superfície do tecido ósseo estava recoberta por vários osteoblastos ativos (Fig. 16B₂-B₃).

15 dias – Bio-Oss

Figura 14 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 15 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envolvidas por tecido ósseo primário (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. B₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado e presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Obj. 20x. A₃ e B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) e a alteração do epitélio da membrana sinusal (setas azuis) próximo às arestas do biomaterial. Notar nas demais áreas o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE.

15 dias – Gen-Ox

Figura 15 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 15 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂ e B₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado, CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial e tecido ósseo primário (TO) margeando as partículas, contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. A₃ e B₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B), tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo neoformado (TO) próximos à membrana sinusal (setas azuis). Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE.

15 dias – GenPhos

Figura 16 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 15 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado, bem como a presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo primário (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (seta verde) e por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado, CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) e suas arestas próximas à membrana sinusal, que altera a estrutura do epitélio da membrana (seta azul). Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas. Obj. 20x. HE.

5.3.2 Período de 30 dias

No Grupo Bio-Oss (Fig. 17), assim como observado no período anterior, toda a região dos SMs levantados continuou mantendo um aspecto uniforme e íntegro (Fig. 17A₁ e B₁) contendo no seu interior grande quantidade de partículas de biomaterial. Os espaços entre as partículas de biomaterial estavam preenchidos por tecido conjuntivo rico em células e vasos sanguíneos, além de fina camada de tecido ósseo ao redor das partículas, com osteoblastos ativos em sua superfície. Em alguns casos, a formação do tecido ósseo encontrava-se mais adiantada, com espessamento das trabéculas ósseas e com inicial organização em lamelas (Fig. 17B₂-B₃). Algumas CGMs estavam presentes na superfície das partículas (Fig. 17A₂-A₃ e B₂-B₃).

No Grupo Gen-Ox (Fig. 18), assim como observado no período anterior, toda a região dos SMs levantados continuou mantendo o aspecto uniforme e íntegro (Fig. 18A₁ e B₁) contendo no seu interior grande quantidade de partículas de biomaterial. Neste período, tanto nas regiões mais centrais (Fig. 18A₂ e B₂), como próximas a membrana sinusal (Fig. 18A₃ e B₃), os espaços entre as partículas estavam preenchidos em grande parte por tecido ósseo contendo em sua superfície inúmeros osteoblastos ativos e em menor quantidade por tecido conjuntivo frouxo rico em células e vasos sanguíneos. Grande parte da superfície das partículas estava recoberta por tecido ósseo, mas era observada também a presença de CGMs (Fig. 18A₂-A₃ e B₂-B₃).

No Grupo GenPhos (Fig. 19), assim como observado nos demais grupos, a região dos SMs levantados estava preenchida por grande quantidade de partículas de biomaterial (Fig. 19A₁ e B₁). Comparativamente ao período anterior, houve um espessamento do tecido ósseo ao redor das partículas de biomaterial, com presença de osteoblastos ativos em sua superfície. A formação óssea ocorreu também no interior dos poros e concavidades do biomaterial. Os espaços entre as partículas de biomaterial estavam preenchidos por tecido conjuntivo rico em células e vasos sanguíneos, além da presença de CGMs em sua superfície (Fig. 19A₂-A₃ e B₂-B₃).

30 dias – Bio-Oss

Figura 17 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado ou por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Nota-se ainda na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta). Obj. 20x. B₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) próximos à membrana sinusal com epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE.

30 dias – Gen-Ox

Figura 18 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado ou por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (setas verdes). Obj. 20x. Nota-se na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta). B₃) Detalhe de uma partícula de biomaterial (B) envolta por tecido ósseo neoformado (TO) próximo à membrana sinusal com epitélio prismático pseudoestratificado ciliado e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE.

30 dias – GenPhos

Figura 19 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 30 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade e o contorno regular da membrana sinusal. Obj. 2x. A₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por tecido conjuntivo (TC) e A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido ósseo (TO) contendo vários osteoblastos ativos em sua superfície (seta verde) e por tecido conjuntivo (TC) ricamente celularizado e vascularizado. Presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo primário (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B), além da presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Notar o epitélio prismático pseudoestratificado ciliado da membrana sinusal e glândulas (seta azul). Obj. 20x. HE.

5.3.3 Período de 60 dias

No Grupo Bio-Oss (Fig. 20), o contorno uniforme e a integridade da membrana sinusal foram mantidos também neste período em todos os SMs levantados (Fig. 20A₁ e B₁). Neste período a quantidade de biomaterial mostrou-se similar ao observado nos períodos anteriores, porém os espaços entre as partículas estavam preenchidos em grande parte por uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo, sendo evidente o processo de remodelação óssea pela presença de áreas de reabsorção por osteoclastos (Fig. A₃ e B₂). Os restantes dos espaços entre partículas de biomaterial estavam preenchidos por medula óssea em substituição a grande quantidade de tecido conjuntivo observado nos períodos anteriores. Pequenas áreas de absorção do biomaterial com presença de CGMs foram observadas na superfície do biomaterial (Fig. 20A₂-A₃ e B₂-B₃).

No Grupo Gen-Ox (Fig. 21), a região do SMs preenchidos apresentou características morfológicas similares ao observado no Grupo Bio-Oss, ou seja, manutenção do contorno uniforme e a integridade da membrana sinusal. As partículas do Gen-Ox, embora apresentando CGMs na sua superfície, aparentemente não mostravam sinais de absorção, e ocupavam grande parte da área enxertada, como observado nos períodos anteriores. Semelhantemente ao Grupo Bio-Oss, os espaços entre as partículas estavam preenchidos em grande parte por uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo, sendo evidente o processo de remodelação óssea pela presença de áreas de reabsorção por osteoclastos. Neste período a maturidade tecidual também foi observada com a substituição de grande parte do tecido conjuntivo por medula óssea (Fig. 21A₂-A₃ e B₂-B₃).

No Grupo GenPhos (Fig. 22), assim como observado nos demais grupos, o contorno e a integridade da membrana sinusal foram mantidos. As partículas do biomaterial apresentavam em sua superfície CGMs, porém sem sinais de grande absorção das partículas (Fig. 22A₁ e B₁). Os espaços entre as partículas estavam preenchidos por tecido ósseo em remodelação e a maturidade tecidual foi observada pela substituição do tecido conjuntivo por medula óssea. Uma característica peculiar do GenPhos é a presença de poros e concavidades, que neste período estavam preenchidos principalmente por tecido ósseo aumentando a sua integração com o biomaterial (Fig. 22A₂-A₃ e B₂-B₃).

60 dias – Bio-Oss

Figura 20 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Bio-Oss no período de 60 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar com a dos períodos anteriores. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO), com os espaços restantes entre as partículas preenchidos por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores. Nota-se na superfície do biomaterial (B) a presença de CGM (cabeça de seta preta) bem como de osteoclastos na superfície do tecido ósseo (cabeça de seta vermelha). Obj. 20x. B₃) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por tecido conjuntivo (TC) ricamente vascularizado ou tecido ósseo neoformado (TO) próximas à membrana sinusal (seta azul). Obj. 20x. HE.

60 dias – Gen-Ox

Figura 21 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo Gen-Ox no período de 60 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar com a dos períodos anteriores. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe das partículas de biomaterial (B) envoltas por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO), com os espaços preenchidos por com os espaços restantes entre as partículas preenchidos por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores. Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) próximas à membrana sinusal (seta azul). Obj. 20x. HE.

60 dias – GenPhos

Figura 22 - Fotomicrografia de dois seios maxilares elevados do Grupo GenPhos no período de 60 dias. A₁ e B₁) Aspecto panorâmico do seio maxilar elevado mostrando a integridade da membrana sinusal e a similaridade da área do seio maxilar como os demais grupos. Obj. 2x. A₂, A₃ e B₂) Detalhe mostrando os espaços entre as partículas do biomaterial (B) preenchidos por grande quantidade de uma mistura de tecido ósseo maduro/lamelar com tecido ósseo imaturo (TO) e por tecido medular (TM) em substituição ao tecido conjuntivo (TC) presente em menor quantidade do que o observado nos períodos anteriores, além da presença de CGM (cabeça de seta preta) na superfície do biomaterial. Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. B₃) Detalhe do tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO) envolvendo as partículas de biomaterial (B) próximas à membrana sinusal (seta azul). Formação óssea no interior das concavidades e poros do biomaterial (*). Obj. 20x. HE.

5.4 AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA

5.4.1 Densidade de volume de biomaterial

Os resultados de densidade de volume de biomaterial encontram-se apresentados graficamente na Figura 23. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 5, 6 e 7 e da Figura 23 mostrou que a densidade de volume ou percentual de volume ocupado pelo material enxertado no SM apresentou diferenças estatisticamente significantes quanto ao período experimental e material utilizado, porém, não houve interação entre os dois fatores. Com relação ao período, em todos os grupos o percentual do biomaterial reduziu em média 0,12 vezes entre 15 dias e 60 dias. Porém, comparando apenas os materiais verificou-se um menor percentual do Gen-Ox em comparação ao Bio-Oss e GenPhos, sendo mais evidente aos 15 dias.

Tabela 5 - Comparação entre o percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	8,676	2	0,000764
Material	5,494	2	0,007906
Período x Material	2,594	4	0,051266

Tabela 6 - Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
42,1 ± 3,25*	39,8 ± 4,52*, [#]	37,0 ± 3,55 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Tabela 7 - Média e desvio-padrão do percentual de volume ocupado pelo biomaterial no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (%)	Gen-Ox (%)	GenPhos (%)
39,9 ± 4,73 ^{A,B}	37,5 ± 3,13 ^A	41,4 ± 4,03 ^B

Letras diferentes p<0,05.

Figura 23 -Gráfico da média e desvio padrão do percentual de biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.4.2 Volume total de biomaterial

Os resultados de volume total de biomaterial calculado a partir do percentual obtido pela morfometria e do volume total do seio elevado pela microtomografia, encontram-se na Figura 24. Verificou-se pela análise dos resultados estatísticos (Tabelas 8 e 9) e do gráfico (Figura 24) que o volume total do biomaterial apresentou interação quando comparado período x material. Neste caso, observou-se que o Gen-Ox manteve o volume ao longo do período experimental, enquanto que, o volume total do Bio-Oss e o GenPhos reduziram, respectivamente, 34,3% e 22,4% entre 15 dias e 60 dias.

Tabela 8 - Comparação entre o volume de biomaterial no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	12,333	2	0,000071
Material	3,317	2	0,046733
Período x Material	3,228	4	0,022143

Tabela 9 - Média e desvio-padrão do volume de 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)		
	Bio-Oss mm ³	Gen-Ox mm ³	GenPhos mm ³
15	97,60 ± 9,43 ^A	85,8 ± 7,40 ^{A,B}	104,3 ± 10,95 ^A
30	75,9 ± 8,96 ^B	83,3 ± 12,86 ^{A,B}	82,8 ± 6,66 ^{A,B}
60	64,1 ± 13,63 ^B	85,9 ± 10,23 ^{A,B}	80,9 ± 18,25 ^{A,B}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 24 -Gráfico da média e desvio padrão do volume de biomaterial no seio maxilar preenchido (mm³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.4.3 Densidade de volume de tecido conjuntivo

Os resultados de densidade de volume de tecido conjuntivo estão apresentados na Figura 25. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 10, 11 e 12 e do gráfico da Figura 25 mostrou que a densidade de volume ou percentual de volume ocupado por tecido conjuntivo no SM preenchido apresentou diferenças estatisticamente significantes quanto ao período experimental e material utilizado, porém, não houve interação entre os dois fatores. Com relação ao período, o percentual de tecido conjuntivo reduziu em média 0,46 vezes entre 15 e 60 dias. Comparando apenas os materiais verificou-se que em todos os períodos houve uma tendência de menor percentual de tecido conjuntivo no Grupo GenPhos (média de 26,4%) em comparação aos Grupos Bio-Oss (média de 30,0%) e Gen-Ox (média de 32,5%).

Tabela 10 - Comparação entre o percentual de volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	75,442	2	0,000000
Material	8,656	2	0,000774
Período x Material	1,735	4	0,161956

Tabela 11 - 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 período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
37,9 ± 3,10*	30,7 ± 6,04 [#]	20,3 ± 4,80 ^{&}

Símbolos diferentes p<0,05.

Tabela 12 -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 material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (%)	Gen-Ox (%)	GenPhos (%)
30,0 ± 8,15 ^A	32,5 ± 8,42 ^A	26,4 ± 8,94 ^B

Letras diferentes p<0,05.

Figura 25 -Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.4.4 Volume total de tecido conjuntivo

Os resultados de volume total de tecido conjuntivo estão apresentados na Figura 26. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 13, 14 e 15 e do gráfico da Figura 26 mostrou que o volume total de tecido conjuntivo apresentou diferenças estatisticamente significantes quanto ao período experimental e material utilizado, porém, não houve interação entre os dois fatores. Com relação ao período, o volume total de tecido conjuntivo reduziu em média 50,6% entre 15 e 60 dias. Comparando apenas os materiais verificou-se um maior volume de tecido conjuntivo no Grupo Gen-Ox (média de 74,1 mm³) em comparação aos Grupos Bio-Oss (média de 61,2 mm³) e GenPhos (média de 58,5 mm³).

Tabela 13 - Comparação entre o volume de tecido conjuntivo no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	37,9034	2	0,000000
Material	5,2106	2	0,009873
Período x Material	1,8831	4	0,132817

Tabela 14 - 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 período

TUKEY (Período)		
15 dias (mm ³)	30 dias (mm ³)	60 dias (mm ³)
86,9 ± 13,55*	63,3 ± 18,28 [#]	42,9 ± 15,87 ^{&}

Símbolos diferentes p<0,05.

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 material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (mm ³)	Gen-Ox (mm ³)	GenPhos (mm ³)
61,2 ± 23,28 ^A	74,1 ± 21,49 ^B	58,5 ± 25,70 ^A

Letras diferentes p<0,05.

Figura 26 -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. (Letras diferentes $p < 0,05$ e símbolos diferentes $p < 0,05$). $N = 8$ animais/período.

5.4.5 Densidade de volume de tecido ósseo

Os resultados de densidade de volume de tecido ósseo encontram-se na Figura 27. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 16 e 17 e do gráfico da Figura 27 mostrou que a densidade de volume ou percentual de volume ocupado por tecido ósseo no SM preenchido apresentou diferenças estatisticamente significantes somente quanto ao período experimental e que não houve interação entre os fatores período e material. Com relação ao período, o percentual de tecido ósseo aumentou em média 0,36 vezes entre 15 (média de 18,7%) e 30 dias (média de 23,3%) e manteve-se constante aos 60 dias (média de 25,5%).

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

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	25,127	2	0,000000
Material	0,867	2	0,428266
Período x Material	2,482	4	0,059513

Tabela 17 - Média e desvio-padrão do percentual de volume de tecido ósseo no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
18,7 ± 2,96*	23,3 ± 2,98 [#]	25,5 ± 2,51 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Figura 27 - Gráfico da média e desvio padrão do percentual de tecido ósseo no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.4.6 Volume total de tecido ósseo

Os resultados de volume total de tecido ósseo estão apresentados na Figura 28. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 18, 19 e 20 e do gráfico da Figura 28 mostrou que o volume total de tecido ósseo apresentou diferenças estatisticamente significantes quanto ao período experimental e material utilizado, porém, não houve interação entre os dois fatores. Com relação ao período, o volume total de tecido ósseo aumentou em média 22,9% entre 15 e 60 dias. Comparando apenas os materiais verificou-se que ao longo do tempo o volume total de tecido ósseo no Grupo Gen-Ox (média de 53,0 mm³) foi significativamente maior em relação ao Bio-Oss (média de 43,7 mm³).

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

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	3,365	2	0,044854
Material	3,298	2	0,047516
Período x Material	0,657	4	0,625697

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 período

TUKEY (Período)		
15 dias (mm ³)	30 dias (mm ³)	60 dias (mm ³)
42,8 ± 8,54*	47,9 ± 11,84* [·] #	52,6 ± 11,57 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Tabela 20 - 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 material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (mm ³)	Gen-Ox (mm ³)	GenPhos (mm ³)
43,7 ± 11,64 ^A	53,0 ± 10,10 ^B	47,5 ± 10,41 ^{A,B}

Letras diferentes p<0,05.

Figura 28 -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. (Letras diferentes $p < 0,05$ e símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.

5.4.7 Densidade de volume de medula óssea

Os resultados de densidade de volume de medula óssea estão apresentados na Figura 29. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 21 e 22 e do gráfico da Figura 29 mostrou que a densidade de volume ou percentual de volume ocupado por medula óssea no SM preenchido apresentou diferenças estatisticamente significantes somente quanto ao período experimental e também não houve interação entre os fatores período e material. Com relação ao período, o percentual de medula óssea aumentou significativamente em média 32,20 vezes entre 15 e 60 dias.

Tabela 21 - Comparação entre o percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	66,0686	2	0,000000
Material	2,2591	2	0,117947
Período x Material	1,3381	4	0,273111

Tabela 22 - Média e desvio-padrão do percentual de volume de medula óssea no seio maxilar preenchido com os diferentes materiais nos períodos experimentais avaliados. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
0,5 ± 1,01*	5,4 ± 5,49 [#]	16,6 ± 4,69 ^{&}

Símbolos diferentes p<0,05.

Figura 29 -Gráfico da média e desvio padrão do percentual de medula óssea no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.4.8 Volume total de medula óssea

Os resultados de volume total da medula óssea encontram-se na Figura 30. A análise dos resultados estatísticos das Tabelas 23 e 24 e do gráfico da Figura 30 mostrou que o volume total de medula óssea no SM preenchido apresentou diferenças estatisticamente significantes somente quanto ao período experimental, não apresentando interação entre período x material (tabela 23 e 24 e gráfico da Figura 30). Com relação ao período, o volume total de medula óssea ocupava em média apenas 1,2 mm³ do SM preenchido aos 15 dias, aumentando gradualmente até os 60 dias 27,25 vezes.

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 dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	P
Período	53,7995	2	0,000000
Material	2,2861	2	0,115121
Período x Material	1,5801	4	0,198840

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 período

TUKEY (Período)		
15 dias (mm ³)	30 dias (mm ³)	60 dias (mm ³)
1,2 ± 1,98*	11,3 ± 11,93 [#]	33,9 ± 11,66 ^{&}

Símbolos diferentes p<0,05.

Figura 30 -Gráfico da média e desvio padrão do volume de medula óssea no seio maxilar preenchido (mm³) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.5 AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DA DENSIDADE DE VOLUME E DO NÚMERO DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM²

5.5.1 DENSIDADE DE VOLUME DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM²:

Densidade de volume de CGMs presentes na superfície do biomaterial

Os resultados de densidade de volume de CGMs estão colocados na Figura 31. Os dados das Tabelas 25, 26 e 27 e da Figura 31 mostraram que não houve interação entre período e material em relação à densidade de volume, ou percentual de CGMs no biomaterial no SM levantado, porém houve diferença estatisticamente significativa quanto ao período experimental e material utilizado. Com relação ao período, o percentual de CGMs presente na superfície do biomaterial diminuiu 0,50 vezes entre 15 e 60 dias. No que diz respeito ao material, a densidade de volume ou percentual de CGMs presentes na superfície do biomaterial foi 0,43 vezes maior no Grupo GenPhos comparativamente ao Gen-Ox e 0,28 vezes maior comparativamente ao Bio-Oss, ao longo dos períodos experimentais.

Tabela 25 - Comparação entre o percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	P
Período	4,5426	2	0,016847
Material	5,7885	2	0,006290
Período x Material	0,7990	4	0,533209

Tabela 26 - Média e desvio-padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
0,6 ± 0,23 ^{*,#}	0,6 ± 0,40 [*]	0,3 ± 0,24 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Tabela 27 - Média e desvio-padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (%)	Gen-Ox (%)	GenPhos (%)
$0,5 \pm 0,28^{A,B}$	$0,4 \pm 0,22^A$	$0,7 \pm 0,37^B$

Letras diferentes $p < 0,05$.

Figura 31 -Gráfico da média e desvio padrão do percentual de CGM presentes na superfície do biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes $p < 0,05$ e símbolos diferentes $p < 0,05$). N = 8 animais/período.

Densidade de volume de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado

Os resultados obtidos de densidade de volume de osteoclastos estão apresentados na Figura 32. Os dados das Tabelas 28 e 29 e da Figura 32 mostraram que não houve interação entre período e material em relação à densidade de volume, ou percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado no SM preenchido. Observou-se apenas diferença estatisticamente significativa quanto ao período experimental. Entre 15 e 30 dias ocorreu uma redução de 0,43 vezes na densidade de volume ou percentual de

osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado, que se manteve constante aos 60 dias.

Tabela 28 - Comparação entre o percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	4,3888	2	0,019093
Material	0,5634	2	0,573807
Período x Material	1,0270	4	0,405485

Tabela 29 - Média e desvio-padrão do percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)
0,07 ± 0,047*	0,04 ± 0,027 [#]	0,04 ± 0,027 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Figura 32 -Gráfico da média e desvio padrão do percentual de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

5.5.2 NÚMERO DE OSTEOCLASTOS OU CGMs POR MM²:**Número de CGMs presentes na superfície do biomaterial**

Os resultados de número de CGM/mm² encontram-se apresentados na Figura 33. Os dados das Tabelas 30, 31 e 32 e da Figura 33 mostraram que não houve interação entre período e material em relação ao número de CGMs presentes na superfície do biomaterial no SM preenchido, porém houve diferença estatisticamente significativa quanto ao período experimental e material utilizado. Com relação ao período, o número de CGMs na superfície do biomaterial foi de 10,9 CGM/mm² aos 15 dias e diminuiu gradativamente 0,49 vezes entre 15 e 60 dias. Quanto ao material, o número de CGMs presentes na superfície do biomaterial foi significativamente maior no Grupo GenPhos (10,4 CGM/mm²), seguido pelo Gen-Ox (8,4 CGM/mm²) e Bio-Oss (6,1 CGM/mm²).

Tabela 30 - Comparação entre o número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	27,6816	2	0,000000
Material	18,0863	2	0,000003
Período x Material	0,4348	4	0,782632

Tabela 31 - Média e desvio-padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (CGM/mm²)	30 dias (CGM/mm²)	60 dias (CGM/mm²)
10,9 ± 2,71*	8,1 ± 3,13 [#]	5,5 ± 2,09 ^{&}

Símbolos diferentes p<0,05.

Tabela 32 - Média e desvio-padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para material

TUKEY (Material)		
Bio-Oss (CGM/mm ²)	Gen-Ox (CGM/mm ²)	GenPhos (CGM/mm ²)
6,1 ± 2,61 ^A	8,4 ± 2,79 ^B	10,4 ± 3,51 ^C

Letras diferentes p<0,05.

Figura 33 -Gráfico da média e desvio padrão do número de CGMs presentes na superfície do biomaterial no seio maxilar preenchido (%) dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Letras diferentes p<0,05 e símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

Número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado

Os resultados obtidos de número de Oc/mm² estão apresentados na Figura 34. Os dados das Tabelas 33 e 34 e da Figura 34 mostraram que não houve interação entre período e material em relação ao número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado no SM preenchido, porém houve diferença estatisticamente significativa quanto ao período experimental. Em todos os grupos experimentais o número de osteoclastos na superfície do tecido ósseo reduziu gradativamente 0,55 vezes entre 15 e 30 dias. Entre 30 e 60 dias o número de osteoclastos na superfície do tecido ósseo não apresentou diferença

estatisticamente significativa embora apresentasse uma tendência de redução numérica e gráfica.

Tabela 33 - Comparação entre o número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais pela ANOVA a dois critérios

Variáveis	ANOVA		
	F	Df	p
Período	12,8796	2	0,000051
Material	0,1920	2	0,826074
Período x Material	0,6624	4	0,621873

Tabela 34 - Média e desvio-padrão do número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado dos animais tratados com os diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais. Teste de Tukey aplicado para período

TUKEY (Período)		
15 dias (Oc/mm ²)	30 dias (Oc/mm ²)	60 dias (Oc/mm ²)
1,8 ± 0,80*	1,1 ± 0,42 [#]	0,8 ± 0,38 [#]

Símbolos diferentes p<0,05.

Figura 34 -Gráfico da média e desvio padrão do número de osteoclastos presentes na superfície do tecido ósseo neoformado do seio maxilar preenchido dos animais nos diferentes grupos e períodos experimentais. (Símbolos diferentes p<0,05). N = 8 animais/período.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Entre os materiais ósseo-substitutos utilizados com sucesso em procedimentos de LSM, o mais consagrado e citado na literatura é o osso inorgânico bovino desproteínizado designado comercialmente por Bio-Oss®, que no presente trabalho foi considerado como grupo padrão/controle. No Brasil, dois materiais ósseo-substitutos, um o osso inorgânico bovino desproteínizado a temperatura de 950 a 1000°C, o Gen-Ox®inorg, e o outro, a cerâmica bifásica porosa HA/ β -TCP (70:30), GenPhos XP®, têm sido comercializados para tratamento de defeitos ósseos, porém não existem ainda relatos na literatura sobre seu comportamento biológico na técnica de LSM. O estudo microtomográfico e histomorfométrico comparativo desses dois biomateriais em relação ao Bio-Oss® desenvolvido na presente pesquisa utilizando o modelo de LSM em coelhos mostrou que a manutenção do volume dos SMs levantados foi estatisticamente similar entre os materiais e períodos avaliados, porém o volume de tecido ósseo neoformado foi favorável nos seios preenchidos com Gen-Ox®inorg comparativamente ao Bio-Oss®.

O volume de material inicialmente implantado de cada material nos SMs dos coelhos foi aqui padronizado em 200 mm³. Aos 15 dias, 30 dias e 60 dias o volume do SM elevado médio obtido nas imagens microtomográficas foi de, respectivamente, 229,1 mm³, 205,2 mm³ e 208,3 mm³, indicando que o volume implantado se manteve estável com o transcorrer dos períodos. Embora não se tenha observado diferenças estatisticamente significantes entre grupos e períodos, a análise gráfica mostrou uma diminuição do volume total e da profundidade dos SMs preenchidos com Bio-Oss de 17,3% e 10%, respectivamente, indicando uma tendência de pequena e gradual perda de volume desse material ao longo do tempo.

Neste sentido, Lambert, Leonard, Lecloux *et al.* (2013), comparando no mesmo modelo experimental em coelhos, o Bio-Oss®, BCP 60:40 (Straumann®) e o β -TCP por microtomografia computadorizada verificaram que após 6 meses, o volume dos SMs elevados preenchidos com o Bio-Oss® e BCP 60:40 (Straumann®) se manteve estável, enquanto que nos seios preenchidos apenas com β -TCP ocorreu uma acentuada redução do volume dos SMs elevados (valores não inclusos

no artigo), atribuído à rápida reabsorção do material aliado às forças sinusais que promoveram a re-expansão do seio. Em outra pesquisa foi verificado que a manutenção do volume do seio elevado também ocorreu com a utilização de BCPs exibindo HA/ β -TCP 30:70 e 70:30 (Lim, Zhang, *et al.*, 2015).

Todos esses dados acima apresentados apontam para uma favorável manutenção do volume do seio elevado com a utilização de cerâmicas de lenta reabsorção. A esse respeito convém ressaltar que a regeneração óssea pode ser obtida em LSM mesmo com a utilização de coágulo sanguíneo como preenchimento, porém esse tecido ósseo regenerado não se mantém, sendo progressivamente reabsorvido concomitantemente a re-expansão do seio por causa da pressão aérea intra-sinusal positiva (Lambert *et al.*, 2011). O mesmo acontece com o uso de enxerto autógeno, onde as partículas enxertadas passam por remodelação e, posteriormente são substituídas por finas trabéculas ósseas, e a constante remodelação óssea frente às forças sinusais leva a um significativo e relativamente rápido decréscimo do volume ósseo ganho (Lambert *et al.*, 2011; Rocha, 2015). Nesse contexto, os materiais ósseo-substitutos não reabsorvíveis ou de lenta reabsorção parecem resistir à re-expansão da cavidade do seio e fornecer uma estabilidade tridimensional óssea de longo prazo (Xu *et al.*, 2004). Além disso, tem sido demonstrado que quando a re-expansão ocorre abaixo do ápice de um implante dentário, a membrana sinusal fica em estreito contato com o implante (Garey *et al.*, 1991; Haas *et al.*, 1998), não ocorrendo a interação do osso com toda a superfície do implante. Portanto, a estabilidade tridimensional de longo prazo do volume ósseo regenerado parece ser de grande importância, pois evita que a re-expansão diminua o contato osso-implante (Lambert *et al.*, 2011).

Em humanos, a tomografia computadorizada vem sendo considerada um método confiável para quantificar o volume do seio maxilar elevado, possibilitando também a realização de medidas lineares como da altura dos SMs elevados, informação esta de grande importância para a instalação de implantes.

No atual trabalho, também foram realizadas medidas lineares de altura dos SMs elevados em cortes sagitais obtidos de imagens microtomográficas. Foram observadas diferenças quanto aos valores mesmo dentro do grupo, influenciados pela variação anatômica dos SMs, mas sem interferir no volume total do SM

elevado. Assim, nos animais cujos seios maxilares eram longos, altos e finos, a altura dos SMS preenchidos foram maiores, chegando a 7,4 mm aos 60 dias, enquanto que nos animais de SMS mais curtos, baixos e largos, as medidas de altura dos SMS elevados apresentavam valores menores chegando a 4,9 mm aos 60 dias. Vale ressaltar que os seios maxilares podem adaptar consideravelmente em forma e volume devido à pneumatização (Kirmeier *et al.*, 2008). Estudos prévios já apontavam para ocorrência dessas variações anatômicas (Rocha, 2015), portanto na atual pesquisa foi inicialmente realizada uma distribuição homogênea dos animais nos grupos experimentais quanto ao peso e anatomia do focinho e quanto ao volume padronizado de material a ser utilizado no LSM (200mm³) para evitar a perfuração da membrana sinusal e a completa obliteração da cavidade sinusal. Embora as medidas lineares dos SMS elevados tenham variado mesmo intragrupo, não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos e períodos experimentais.

A perfuração da membrana sinusal é a complicação mais comum na técnica de LSM, com uma taxa de relatos em humanos de 7 a 44% (Van Den Bergh *et al.*, 2000; Kasabah *et al.*, 2003; Shlomi *et al.*, 2004; Esposito *et al.*, 2010; Nicolae *et al.*, 2012; Nolan *et al.*, 2014), decorrente de erro do operador, variações anatômicas (presença de septos, pouca espessura da membrana e patologia do seio) e preenchimento excessivo em altura do material (Van Den Bergh *et al.*, 2000; Schwartz-Arad *et al.*, 2004; Nicolae *et al.*, 2012). No presente trabalho, durante as avaliações morfológicas dos cortes histológicos verificou-se em todos os grupos e períodos, uma membrana sinusal íntegra com contorno uniforme e exibindo constituintes característicos da região, indicando que a integridade da membrana para confinar as partículas do enxerto e prevenir a infecção foi satisfatória. No entanto, em alguns pontos da membrana que estavam em contato com áreas pontiagudas das partículas de biomaterial, pontuais alteração do epitélio sinusal foram observadas sem a ocorrência de processo inflamatório.

A determinação do volume total ou absoluto de tecido ósseo formado no seio elevado a partir de cortes histológicos constitui-se em um desafio, pois envolveria a obtenção de cortes histológicos seriados de cada seio, a determinação da área de cada corte e a reconstrução tridimensional de todo o seio com a obtenção do seu volume total, seguida da avaliação da densidade de volume do tecido ósseo e o

cálculo do seu volume total ou absoluto. Deste modo, nesse caso a microtomografia computadorizada tem sido utilizada com sucesso para visualizar e avaliar a distribuição volumétrica de osso neoformado e materiais ósseo-substitutos em amostras ósseas obtidas após o LSM (Kuhl *et al.*, 2010). Como uma técnica não invasiva, o micro-CT também pode ser adequado para avaliar a distribuição volumétrica do osso e do material de preenchimento, permitindo avaliar as alterações volumétricas de osso e material ósseo-substituto ao longo do tempo (Kuhl *et al.*, 2013). No presente trabalho, a quantificação do volume de formação óssea (BV) e dos materiais Gen-Ox e GenPhos foram passíveis de serem realizadas no programa CTAn, com dados relativos (BV/TV) ou densidade de volume próximos aos obtidos nas análises histomorfométricas. Porém, no Grupo Bio-Oss houve dificuldade nessa avaliação devido ao valor da densidade radiográfica desse material ser muito próxima a do osso, o que impedia a distinção perfeita da interface osso-material. Assim, optou-se por outro caminho para a obtenção do volume de formação óssea e de biomaterial em cada caso, caminho que consistiu em transformar os dados relativos de densidade de volume ou fração de volume ocupada pelo tecido ósseo ou pelo biomaterial obtidos nas imagens histológicas em dados absolutos de volume ósseo (BV) ou de biomaterial como percentual do volume total do SM preenchido (VT) obtido pelo micro-CT e compará-los com os achados morfológicos.

Com relação ao material de preenchimento, apesar de termos implantado a mesma quantidade inicial de material e o volume total do SM elevado não ter apresentado diferenças entre grupos e períodos, os dados percentuais apontaram para um menor percentual de volume do Gen-Ox ($38,3 \pm 2,3\%$) comparativamente ao Bio-Oss ($44,6 \pm 2,1\%$) e GenPhos ($42,9 \pm 1,0\%$) aos 15 dias. Essa variabilidade ocorreu possivelmente devido à conformação espacial individual de cada material, como mostra a figura 35. Com relação ao período, na avaliação dos dados volumétricos verificou-se que o volume do Gen-Ox manteve-se constante durante os 60 dias, enquanto que o do Bio-Oss e GenPhos reduziram 34,3% e 22,4%, respectivamente, entre 15 e 60 dias, indicando que estes materiais sofreram degradação ao longo do tempo.

Figura 35: Fotomicrografia dos seios maxilares preenchidos com os diferentes biomateriais aos 15 dias. A) No Grupo Bio-Oss, o SM preenchido apresentava grande quantidade de partículas (B) de formato irregular e tamanho variando de 0,25 mm a 1 mm, o que facilitou a acomodação das partículas, gerando estreitos espaços entre elas que estavam ocupados por tecido conjuntivo (TC) e tecido ósseo (TO). Obj. 4x. B) No Grupo Gen-Ox, embora o formato das partículas fosse irregular, não apresentava partículas menores que 0,5 mm (somente de 0,5mm a 1 mm) gerando um espaço maior entre as partículas em comparação ao Bio-Oss. Obj. 4x. C) No Grupo GenPhos as partículas apresentavam-se mais volumosas e com formato mais arredondado, proporcionando uma maior acomodação entre as partículas (B) e gerando um espaço menor entre elas se comparado ao Gen-Ox, porém maior em relação ao Bio-Oss. Obj. 4x.

As cerâmicas de fosfato de cálcio são degradadas *in vivo* via dissolução passiva e por processos celulares (Lu *et al.*, 2002; Sheikh *et al.*, 2015). Com relação à dissolução, estudo em humanos de Riachi *et al.* (2012) mostrou que a quantidade de cálcio liberado devido a dissolução foi muito maior no Bio-Oss®, uma cerâmica carbonatada com partículas de 1 mm, comparado ao Cerabone®, uma cerâmica sinterizada a 1200° C com partículas de 2,7 mm; e no acompanhamento radiográfico por um ano dos pacientes, o Bio-Oss® demonstrou maior perda volumétrica ($33,4 \pm 3,1\%$) com relação ao tamanho inicial do preenchimento comparado ao Cerabone® ($23,4 \pm 3,6\%$), fato que foi influenciado pelas propriedades físico-químicas do material utilizado no LSM.

Desterro *et al.* (2014) têm salientado a ocorrência de variabilidade dos materiais em suas características físico-químicas, até mesmo de mesma origem. No seu estudo, eles obtiveram uma relação cálcio-fósforo do Bio-Oss® de 1,65, próxima ao do tecido ósseo de 1,67, com tamanho dos cristalitos de 15 nm e a superfície de área de 86 m²/g, enquanto no Gen-Ox®inorg, a relação cálcio-fósforo foi de 1,58, o tamanho dos cristalitos de 39 nm e superfície de área de <10 m²/g, sendo essas diferenças em relação ao Bio-Oss devidas ao seu processo de sinterização por altas temperaturas (entre 950 e 1000°C) influenciando diretamente no seu grau de dissolução e bioreabsorção.

A maior perda de volume do GenPhos observada no presente estudo em relação ao Gen-Ox®inorg foi devido ao fato de existir na sua composição 30% de β -TCP. Vale ressaltar que cristalograficamente a razão de reabsorção da HA estequiométrica é extremamente baixa comparada com a do β -TCP, sendo que a velocidade de dissolução do β -TCP é 3 a 12 vezes mais rápida do que para HA estequiométrica (Lin *et al.*, 2001). Assim, um implante ósseo constituído de HA permanecerá por anos após a sua implantação, enquanto que o β -TCP, sendo reabsorvível, pode desaparecer parcialmente em semanas (Lavernia e Schoenung, 1991). Nesse sentido, vale salientar que a taxa de degradação das cerâmicas de fosfato de cálcio depende da sua estequiometria, porosidade, densidade e área de superfície específica (De Groot, 1993; Hing, 2005).

As cerâmicas de fosfato de cálcio também sofrem degradação com a participação de células, ou seja, por um processo de bioreabsorção. Localmente, os monócitos/macrófagos são as primeiras células a colonizar a superfície das partículas do biomaterial, desempenhando um papel crucial nesse processo (Rae, 1986). Na superfície das partículas os macrófagos são ativados para realizar a endocitose e a reabsorção, sendo a sua eficiência inversamente relacionada ao tamanho das partículas de biomaterial (Lu *et al.*, 2002; Hannink e Arts, 2011). Tais células podem se fundir, formando células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (CGM) com o intuito de melhor reabsorver o substrato subjacente. Segundo (Barbeck *et al.*, 2016), as CGMs devem ser consideradas como um "sincício funcional" de macrófagos, que reagem similarmente a seus precursores mononucleares frente a um determinado material.

No atual estudo aos 15 dias, o percentual de volume ocupado pelas CGMs na superfície do biomaterial foi similar entre os grupos, porém o seu número foi diferente entre os biomateriais, sendo maior no GenPhos (13,8 CGM/mm²), seguido pelo Gen-Ox (11,1 CGM/mm²) e Bio-Oss (8,3 CGM/mm²), indicando que o tamanho das CGMs variou entre os grupos, ou seja, eram maiores no Bio-Oss e menores no GenPhos. Aos 30 e 60 dias, enquanto o percentual de volume ocupado pelas CGMs na superfície do Bio-Oss e Gen-Ox diminuiu consideravelmente em relação ao GenPhos, o seu número/mm² reduziu proporcionalmente em todos os grupos. Esses dados indicaram que com o passar do tempo as CGMs mantiveram o seu tamanho na superfície do Bio-Oss e Gen-Ox, e aumentaram na superfície do GenPhos. Esta variabilidade fenotípica das CGMs também observada em outros estudos *in vitro* e *in vivo*, tem sido atribuída à composição físico-química da superfície do material, a qual influencia diretamente na adesão, ativação e perfis de citocinas/quimiocinas derivados de macrófagos ativados/CGMs (Anderson e Jones, 2007; Jones *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2008; Ghanaati *et al.*, 2010). Vale ressaltar que a presença das CGMs na superfície dos três biomateriais não estava associada a processos inflamatórios e que o tecido conjuntivo adjacente se mostrava ricamente vascularizado. Estudos recentes apontam que as CGMs presentes na superfície das cerâmicas de fosfatos de cálcio representam uma fonte de fatores de crescimento para o reparo tecidual, como o importante fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) envolvido no processo de vascularização e de formação óssea no local

(Ghanaati *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2012). Deste modo, atualmente as CGMs podem ser consideradas como um fenótipo de reparação tecidual, com liberação de citocinas relacionadas ao macrófago M2 e de fatores de crescimento (Vasconcelos *et al.*, 2015). No entanto, a diferenciação de monócitos em macrófagos M1 ou M2 e a fusão das células em CGMs em resposta a vários biomateriais permanecem muito mal compreendidos (Miron e Bosshardt, 2016); e o mesmo é válido para os fatores responsáveis por direcionar os diferentes fenótipos celulares para células mais especializadas na superfície dos diferentes biomateriais (Miron e Bosshardt, 2016).

Com relação ao processo de reparo, os eventos morfológicos observados foram similares nos 3 grupos. Inicialmente o coágulo sanguíneo ocupando os espaços entre as partículas foi sendo substituído por tecido conjuntivo ricamente celularizado e vascularizado e, concomitantemente, ocorreu gradual deposição de tecido ósseo por osteoblastos ativos na superfície das partículas. Assim, já aos 15 dias, ao redor de 37,9%, 18,7% e 0,5% dos SMs elevados estava ocupado, respectivamente, por tecido conjuntivo, tecido ósseo e medula óssea. A formação óssea ocorreu inicialmente na superfície das partículas que se encontravam próximas do osso das paredes superior e laterais remanescentes do SM e, posteriormente, em direção à porção mais central da região elevada. Ao longo dos períodos experimentais, o tecido conjuntivo foi gradativa e parcialmente substituído pelo tecido ósseo e medula óssea. Aos 60 dias, o percentual de volume ocupado pelo tecido conjuntivo, tecido ósseo e medula óssea do SM elevado foi de, respectivamente, 20,3%, 25,5% e 16,6%. Para comparação, outros trabalhos utilizando o mesmo modelo experimental e avaliação histológica e microtomográfica também verificaram que materiais de lenta reabsorção como o Bio-Oss e as BCPs, levam a manutenção do volume do SM elevado e temporalmente a um ganho significativo de volume ósseo, enquanto que materiais de rápida reabsorção, como o osso autógeno e coágulo sanguíneo, levam a gradual perda de volume do SM elevado (Lambert, Leonard, Lecloux, *et al.*, 2013; Lim, Zhang, *et al.*, 2015).

A dinâmica no processo de remodelação óssea verificada pela maturidade do tecido ósseo e a quantificação de osteoclastos na superfície do novo osso, foi similar nos três grupos experimentais ao longo dos períodos. Assim, temporalmente, tanto a densidade de volume, como o número de osteoclastos, foram significativamente maiores aos 15 dias, reduzindo 0,43 vezes e 0,55 vezes, respectivamente, aos 30

dias e mantendo-se estáveis até 60 dias. Estes dados indicaram que o período de maior remodelação óssea ocorreu nos períodos iniciais, concomitantemente ao período de maior formação óssea. A partir dos 30 dias, quando grande parte dos espaços entre as partículas estava preenchida por uma mistura de tecido ósseo imaturo e maduro e medula óssea, observou-se uma gradual redução na velocidade de formação e reabsorção óssea acompanhada por maior maturidade tecidual aos 60 dias. Esses eventos de reparo similares ao que ocorre em humanos tem levado este modelo de LSM em coelhos a ser considerado um dos padrões de avaliação em estudos pré-clínicos com animais. Segundo o estudo de Roberts *et al.* (1984), o metabolismo ósseo dos coelhos é 3 vezes mais rápido que em humanos. Entre a 6ª e 8ª semana de reparo no coelho, observou-se o período de pico de remodelação óssea com ocorrência de substituição de tecido ósseo imaturo ou primário por tecido ósseo maduro ou secundário ou lamelar, o que equivaleria, respectivamente, a 18ª e 24ª semana no ser humano (Roberts *et al.*, 1984; Martins, 2013). O período final de 8 semanas no coelho coincide com a fase final de reparo do defeito onde a adequada maturidade óssea é alcançada e o osso está estruturado e propício para a colocação de implantes dentários. Essa associação dos eventos é importante para relacionar o ocorrido no experimento animal com a realidade clínica em humanos. Nesse sentido, convém ressaltar que o mesmo padrão de osteocondutividade medido pelo volume ósseo, volume de enxerto, grau de maturidade óssea e número de osteoclastos, obtido no presente trabalho, foi verificado em estudos em humanos utilizando o Bio-Oss® e o BCP Straumann® (60:40) (De Lange *et al.*, 2014).

Embora a avaliação da evolução temporal do reparo ósseo tenha apontado para uma igualdade de comportamento entre os materiais, os dados histomorfométricos mostraram diferenças entre eles. Porém, como comentado anteriormente, a variabilidade na forma e o tamanho das partículas, levou a uma variação no volume total dos espaços entre as partículas, sendo maiores em média para o Gen-Ox (142,3 mm³) e menores para GenPhos (127,42 mm³) e Bio-Oss (119,2 mm³). Como esses materiais mantiveram o volume total do seio elevado durante todo o período experimental, as diferenças quanto ao volume dos espaços entre as partículas onde ocorreu o reparo ósseo podem ter influenciado no volume de tecido conjuntivo e ósseo formado. Assim, ao longo do tempo, o Gen-Ox promoveu um maior acúmulo de tecido ósseo e tecido conjuntivo, respectivamente,

de 53,0 mm³ e 74,1 mm³, em relação ao Bio-Oss e GenPhos, com média entre ambos, respectivamente, de 45,6 mm³ e 59,8 mm³. Considerando que a formação óssea requer grande suprimento vascular (Karageorgiou e Kaplan, 2005), a presença de maiores espaços entre as partículas pode ter permitido o maior aporte vascular, resultando em uma maior formação óssea.

Embora alguns estudos de LSM tenham mostrado que biomateriais com partículas menores (0,3 a 0,5 mm) promoveram uma maior formação óssea e espaços entre as partículas do que os com partículas de maior tamanho (0,85 a 1 mm) (Xu *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2011), no atual trabalho o formato e a variabilidade do tamanho das partículas dos materiais interferiram diretamente no espaço gerado entre as partículas e na quantidade de osso neoformado. A esse respeito, estudo de Rokn *et al.* (2011) mostrou que em calvária de coelhos preenchidas com BCPs (Straumann® Bone Ceramic) de diferentes tamanhos e Bio-Oss®, a quantidade de material remanescente foi maior com L-SBC (de maior tamanho 0,5 a 1 mm) seguido pelo Bio-Oss® (0,25 a 1 mm) e a S-SBC (de menor tamanho 0,4 a 0,7 mm). A S-SBC e L-SBC apresentavam formato similar das partículas, assim o maior espaço entre as partículas observadas no S-SBC foi atribuído ao tamanho de suas partículas. O maior espaço entre as partículas no Bio-Oss® em comparação à S-SBC foi decorrente principalmente do seu formato irregular comparado à forma arredondada da S-SBC. Apesar dos autores não verificarem diferenças significantes entre os grupos, os valores médios de formação óssea indicaram maior acúmulo ósseo para os defeitos preenchidos com Bio-Oss®, seguido pelo L-SBC e menor para o S-SBC atribuído a maior reação tipo corpo estranho neste último.

Em humanos a influência do tamanho das partículas do biomaterial na neoformação óssea é ainda assunto controverso, assim por exemplo, em dois estudos de biópsias coletadas após aproximadamente 6-9 meses de preenchimento dos SMs com Bio-Oss® com partículas pequenas (0,25-1 mm) e grandes (1-2 mm), um deles (Testori *et al.*, 2013) apontou para uma maior formação óssea nos preenchidos com partículas grandes comparadas com as de menor tamanho e o outro (Chackartchi *et al.*, 2011) não mostrou diferenças entre eles.

Em vista dos resultados aqui discutidos mostrando que os três biomateriais pesquisados exibiram desempenho equivalente de reparo ósseo, é possível sugerir que tanto o osso inorgânico Gen-Ox®inorg como o GenPhos XP®, ambas cerâmicas de lenta reabsorção, pode ser um substituto ideal ao Bio-Oss® em cirurgia de levantamento de seio maxilar visando possibilitar a colocação de implantes dentários, permitindo a diminuição dos custos do tratamento ao paciente, no entanto, novas pesquisas são necessárias para alicerçar essa substituição.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

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

- A. O volume total do SM elevado com o uso do Bio-Oss®, Gen-Ox®inorg e GenPhos XP® é mantido durante todo período estudado (média de 214,1 mm³);
 - B. O processo de reparo é similar entre as três cerâmicas, com formação óssea ocorrendo devido a excelente capacidade osteocondutora desses materiais;
 - C. A dinâmica no processo de remodelação e maturação óssea é similar entre as cerâmicas, sendo os períodos iniciais de 15 e 30 dias de maior formação e remodelação óssea, alcançando ao final de 60 dias uma adequada formação e maturidade óssea;
 - D. A variabilidade quanto a forma e o tamanho das partículas entre os materiais geram diferentes volumes de espaço necessário para a formação óssea, em ordem decrescente, com Gen-Ox®inorg, GenPhos XP® e Bio-Oss®. Assim, o acúmulo médio de tecido ósseo é maior com o Gen-Ox®inorg comparativamente ao Bio-Oss® e GenPhos XP® com relação aos tamanhos de partículas utilizados neste estudo;
 - E. As CGMs presentes na superfície do GenPhos XP® variam fenotípica e numericamente em comparação ao Bio-Oss® e Gen-Ox®inorg, indicando que as características físico-químicas da superfície do material influenciam na adesão, ativação e perfis de citocinas/quimiocinas derivados de macrófagos ativados/CGMs; e
 - F. No modelo experimental utilizado, a estabilidade do volume sinusal elevado, a capacidade osteocondutiva e a formação e maturidade óssea ao longo do tempo promovidos pelo Gen-Ox®inorg e GenPhos XP® é comparável ao do Bio-Oss®, podendo ser considerados como alternativas na técnica de LSM.
-
-

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

ACCORSI-MENDONCA, T. et al. Physicochemical characterization of two deproteinized bovine xenografts. **Braz Oral Res**, v. 22, n. 1, p. 5-10, Jan-Mar 2008. ISSN 1807-3107 (Electronic)

ALAYAN, J. et al. A histomorphometric assessment of collagen-stabilized anorganic bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation - a prospective clinical trial. **Clin Oral Implants Res**, Sep 16 2015. ISSN 1600-0501 (Electronic)

AL-NAWAS, B.; SCHIEGNITZ, E. Augmentation procedures using bone substitute materials or autogenous bone - a systematic review and meta-analysis. **Eur J Oral Implantol**, v. 7 Suppl 2, p. S219-34, Summer 2014. ISSN 1756-2406 (Print)

ANDERSON, J. M.; JONES, J. A. Phenotypic dichotomies in the foreign body reaction. **Biomaterials**, v. 28, n. 34, p. 5114-20, Dec 2007. ISSN 0142-9612 (Print)

ANDERSON, J. M.; RODRIGUEZ, A.; CHANG, D. T. Foreign body reaction to biomaterials. **Semin Immunol**, v. 20, n. 2, p. 86-100, Apr 2008. ISSN 1044-5323 (Print)

ANNIBALI, S. et al. Histological and Histomorphometric Human Results of HA-Beta-TCP 30/70 Compared to Three Different Biomaterials in Maxillary Sinus Augmentation at 6 Months: A Preliminary Report. **Biomed Res Int**, v. 2015, p. 156850, 2015. ISSN 2314-6141 (Electronic).

APONTE-TINAO, L. A. et al. What Are the Risk Factors and Management Options for Infection After Reconstruction With Massive Bone Allografts? **Clin Orthop Relat Res**, May 20 2015. ISSN 1528-1132 (Electronic)

AYNA, M.; ACIL, Y.; GULSES, A. Fate of a Bovine-Derived Xenograft in Maxillary Sinus Floor Elevation After 14 Years: Histologic and Radiologic Analysis. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 35, n. 4, p. 541-7, Jul-Aug 2015. ISSN 1945-3388 (Electronic)

BARBECK, M. et al. Heterogeneity of biomaterial-induced multinucleated giant cells: Possible importance for the regeneration process? **J Biomed Mater Res A**, v. 104, n. 2, p. 413-8, Feb 2016. ISSN 1552-4965 (Electronic)

* As referências estão de acordo com a norma: NBR 6023 – Informação e Documentação – Referências – Elaboração (ago./2002) da ABNT;

BERBERI, A. et al. Physicochemical characteristics of bone substitutes used in oral surgery in comparison to autogenous bone. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 320790, 2014. ISSN 2314-6141 (Electronic).

BIANCHI, M. et al. Substrate geometry directs the in vitro mineralization of calcium phosphate ceramics. **Acta Biomater**, v. 10, n. 2, p. 661-9, Feb 2014. ISSN 1878-7568 (Electronic)

BRANEMARK, P. I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v. 3, n. 2, p. 81-100, 1969. ISSN 0036-5556 (Print)

CALASANS-MAIA, M. D. et al. Comparative histological evaluation of tibial bone repair in rabbits treated with xenografts. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 340-343, 2009. ISSN 1413-7852.

CALASANS-MAIA, M. D. et al. Maxillary Sinus Augmentation with a New Xenograft: A Randomized Controlled Clinical Trial. **Clin Implant Dent Relat Res**, v. 17 Suppl 2, p. e586-93, Oct 2015. ISSN 1708-8208 (Electronic)

CAMPANA, V. et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. **J Mater Sci Mater Med**, v. 25, n. 10, p. 2445-61, Oct 2014. ISSN 1573-4838 (Electronic)

CASTELLANI, C. et al. Biphasic calcium phosphate ceramics in small bone defects: potential influence of carrier substances and bone marrow on bone regeneration. **Clin Oral Implants Res**, v. 20, n. 12, p. 1367-74, Dec 2009. ISSN 1600-0501 (Electronic)

CESTARI, T. M. et al. Bone repair and augmentation using block of sintered bovine-derived anorganic bone graft in cranial bone defect model. **Clin Oral Implants Res**, v. 20, n. 4, p. 340-50, Apr 2009. ISSN 1600-0501 (Electronic)

CHA, J. K. et al. Case series of maxillary sinus augmentation with biphasic calcium phosphate: a clinical and radiographic study. **J Periodontal Implant Sci**, v. 41, n. 2, p. 98-104, Apr 2011. ISSN 2093-2286 (Electronic)

CHACKARTCHI, T. et al. Sinus floor augmentation using large (1-2 mm) or small (0.25-1 mm) bovine bone mineral particles: a prospective, intra-individual controlled clinical, micro-computerized tomography and histomorphometric study. **Clin Oral Implants Res**, v. 22, n. 5, p. 473-80, May 2011. ISSN 1600-0501 (Electronic)

CHAPPARD, D. et al. Sinus lift augmentation and beta-TCP: a microCT and histologic analysis on human bone biopsies. **Micron**, v. 41, n. 4, p. 321-6, Jun 2010. ISSN 1878-4291 (Electronic)

COELHO, P. G. et al. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 88, n. 2, p. 579-96, Feb 2009. ISSN 1552-4981 (Electronic)

CORDARO, L. et al. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. **Clin Oral Implants Res**, v. 19, n. 8, p. 796-803, Aug 2008. ISSN 1600-0501 (Electronic)

DACULSI, G. et al. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. **J Mater Sci Mater Med**, v. 14, n. 3, p. 195-200, Mar 2003. ISSN 0957-4530 (Print)

DAHLIN, C. et al. Bone tissue modelling and remodelling following guided bone regeneration in combination with biphasic calcium phosphate materials presenting different microporosity. **Clin Oral Implants Res**, v. 26, n. 7, p. 814-22, Jul 2015. ISSN 1600-0501 (Electronic)

DE GROOT, K. Clinical applications of calcium phosphate biomaterials: a review. **Ceramics international**, v. 19, n. 5, p. 363-366, 1993. ISSN 0272-8842.

DE LANGE, G. L. 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**, v. 117, n. 1, p. 8-22, Jan 2014. ISSN 2212-4411 (Electronic).

DEL FABBRO, M.; ROSANO, G.; TASCHIERI, S. Implant survival rates after maxillary sinus augmentation. **Eur J Oral Sci**, v. 116, n. 6, p. 497-506, Dec 2008. ISSN 1600-0722 (Electronic)

DEMPSTER, D. W. et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. **J Bone Miner Res**, v. 28, n. 1, p. 2-17, Jan 2013. ISSN 1523-4681 (Electronic)

DENRY, I.; KUHN, L. T. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering. **Dent Mater**, v. 32, n. 1, p. 43-53, Jan 2016. ISSN 1879-0097 (Electronic)

DESTERRO, F. D. P. D. et al. Can Inorganic Bovine Bone Grafts Present Distinct Properties? **Brazilian dental journal**, v. 25, n. 4, p. 282-288, 2014. ISSN 0103-6440.

DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates in dentistry. **J Mater Sci Mater Med**, v. 24, n. 6, p. 1335-63, Jun 2013. ISSN 1573-4838 (Electronic)

ESPOSITO, M. et al. Effectiveness of sinus lift procedures for dental implant rehabilitation: a Cochrane systematic review. **Eur J Oral Implantol**, v. 3, n. 1, p. 7-26, Spring 2010. ISSN 1756-2406 (Print)

ESPOSITO, M.; FELICE, P.; WORTHINGTON, H. V. Interventions for replacing missing teeth: augmentation procedures of the maxillary sinus. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 5, p. CD008397, 2014. ISSN 1469-493X (Electronic)

FARHAT, F. F.; KINAIA, B.; GROSS, H. B. Sinus bone augmentation: a review of the common techniques. **Compend Contin Educ Dent**, v. 29, n. 7, p. 388-92, 394-7; quiz 398, Sep 2008. ISSN 1548-8578 (Print)

FRENKEN, J. W. et al. 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**, v. 21, n. 2, p. 201-8, Feb 2010. ISSN 1600-0501 (Electronic)

FRIEDMANN, A. et al. Ridge augmentation and maxillary sinus grafting with a biphasic calcium phosphate: histologic and histomorphometric observations. **Clin Oral Implants Res**, v. 20, n. 7, p. 708-14, Jul 2009. ISSN 1600-0501 (Electronic)

GALINDO-MORENO, P. et al. Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. **Clin Oral Implants Res**, v. 18, n. 3, p. 376-82, Jun 2007. ISSN 0905-7161 (Print)

GALINDO-MORENO, P. et al. Clinical and histologic comparison of two different composite grafts for sinus augmentation: a pilot clinical trial. **Clin Oral Implants Res**, v. 19, n. 8, p. 755-9, Aug 2008. ISSN 1600-0501 (Electronic)

GARBIN JÚNIOR, E. Á. Avaliação comparativa do processo de reparo do osso alógeno fresco congelado, em bloco, e do enxerto ósseo autógeno: análise histológica, histométrica e imunoistoquímica em coelhos. 2008.

GARCIA, R. D. **Estudo do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao implante de osso bovino inorgânico e de hidroxiapatita BTCP. Análise**

microdcópics em alvéolos dentários de ratos. 2007. Universidade de São Paulo. Faculdade de Odontologia de Bauru

GAREY, D. J. et al. The histologic evaluation of the implant interface with heterograft and allograft materials--an eight-month autopsy report, Part II. **J Oral Implantol**, v. 17, n. 4, p. 404-8, 1991. ISSN 0160-6972 (Print)

GHANAATI, S. et al. Influence of beta-tricalcium phosphate granule size and morphology on tissue reaction in vivo. **Acta Biomater**, v. 6, n. 12, p. 4476-87, Dec 2010. ISSN 1878-7568 (Electronic)

GROVER, V. et al. Bone allografts: a review of safety and efficacy. **Indian J Dent Res**, v. 22, n. 3, p. 496, May-Jun 2011. ISSN 1998-3603 (Electronic)

HAAS, R. et al. Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests. **Clin Oral Implants Res**, v. 9, n. 2, p. 117-22, Apr 1998. ISSN 0905-7161 (Print)

HABIBOVIC, P. et al. 3D microenvironment as essential element for osteoinduction by biomaterials. **Biomaterials**, v. 26, n. 17, p. 3565-75, Jun 2005. ISSN 0142-9612 (Print)

HANNINK, G.; ARTS, J. J. Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: what is optimal for bone regeneration? **Injury**, v. 42 Suppl 2, p. S22-5, Sep 2011. ISSN 1879-0267 (Electronic)

HING, K. A. Bioceramic bone graft substitutes: Influence of porosity and chemistry. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 2, n. 3, p. 184-199, 2005. ISSN 1546-542X.

HOEXTER, D. L. Bone regeneration graft materials. **J Oral Implantol**, v. 28, n. 6, p. 290-4, 2002. ISSN 0160-6972 (Print)

HOLTZCLAW, D. et al. The safety of bone allografts used in dentistry - A review. **Journal of the American Dental Association**, v. 139, n. 9, p. 1192-1199, Sep 2008. ISSN 0002-8177.

IACUC, I. A. C. A. U. C. Rabbit Formulary. University of California, San Francisco, 2010. Disponível em: < <http://www.iacuc.ucsf.edu/proc/awRbtFrm.asp> >.

IEZZI, G. et al. Comparative histological results of different biomaterials used in sinus augmentation procedures: a human study at 6 months. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n. 12, p. 1369-76, Dec 2012. ISSN 1600-0501 (Electronic)

JENSEN, S. S. et al. Comparative study of biphasic calcium phosphates with different HA/TCP ratios in mandibular bone defects. A long-term histomorphometric study in minipigs. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 90, n. 1, p. 171-81, Jul 2009. ISSN 1552-4981 (Electronic)

JENSEN, S. S.; TERHEYDEN, H. Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 24 Suppl, p. 218-36, 2009. ISSN 0882-2786 (Print)

JENSEN, T. et al. 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**, v. 41, n. 1, p. 114-20, Jan 2012a. ISSN 1399-0020 (Electronic)

_____. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft: a systematic review. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n. 3, p. 263-73, Mar 2012b. ISSN 1600-0501 (Electronic)

JENSEN, T. et al. Volumetric changes of the graft after maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss and autogenous bone in different ratios: a radiographic study in minipigs. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n. 8, p. 902-10, Aug 2012. ISSN 1600-0501 (Electronic)

JONES, J. A. et al. Proteomic analysis and quantification of cytokines and chemokines from biomaterial surface-adherent macrophages and foreign body giant cells. **J Biomed Mater Res A**, v. 83, n. 3, p. 585-96, Dec 1 2007. ISSN 1549-3296 (Print)

JUN, S. H. et al. A prospective study on the effectiveness of newly developed autogenous tooth bone graft material for sinus bone graft procedure. **J Adv Prosthodont**, v. 6, n. 6, p. 528-38, Dec 2014. ISSN 2005-7806 (Print)

KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v. 26, n. 27, p. 5474-91, Sep 2005. ISSN 0142-9612 (Print)

KASABAH, S. et al. Can we predict maxillary sinus mucosa perforation? **Acta Medica (Hradec Kralove)**, v. 46, n. 1, p. 19-23, 2003. ISSN 1211-4286 (Print)

KIM, D. M. et al. The clinical and histologic outcome of dental implant in large ridge defect regenerated with alloplast: a randomized controlled preclinical trial. **J Oral Implantol**, v. 39, n. 2, p. 148-53, Apr 2013. ISSN 0160-6972 (Print)

KIM, Y.; NOWZARI, H.; RICH, S. K. Risk of prion disease transmission through bovine-derived bone substitutes: a systematic review. **Clin Implant Dent Relat Res**, v. 15, n. 5, p. 645-53, Oct 2013. ISSN 1708-8208 (Electronic)

KIRMEIER, R. et al. Evaluation of three-dimensional changes after sinus floor augmentation with different grafting materials. **Clin Oral Implants Res**, v. 19, n. 4, p. 366-72, Apr 2008. ISSN 1600-0501 (Electronic)

KLIJN, R. J. et al. A meta-analysis of histomorphometric results and graft healing time of various biomaterials compared to autologous bone used as sinus floor augmentation material in humans. **Tissue Eng Part B Rev**, v. 16, n. 5, p. 493-507, Oct 2010. ISSN 1937-3376 (Electronic)

KOLERMAN, R. et al. Histomorphometric analysis of newly formed bone after bilateral maxillary sinus augmentation using two different osteoconductive materials and internal collagen membrane. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 32, n. 1, p. e21-8, Feb 2012. ISSN 1945-3388 (Electronic)

KUHL, S. et al. Three-dimensional analysis of bone formation after maxillary sinus augmentation by means of microcomputed tomography: a pilot study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 25, n. 5, p. 930-8, Sep-Oct 2010. ISSN 0882-2786 (Print)

KUHL, S. et al. The influence of bone substitute materials on the bone volume after maxillary sinus augmentation: a microcomputerized tomography study. **Clin Oral Investig**, v. 17, n. 2, p. 543-51, Mar 2013. ISSN 1436-3771 (Electronic)

LAMBERT, F. et al. Influence of space-filling materials in subantral bone augmentation: blood clot vs. autogenous bone chips vs. bovine hydroxyapatite. **Clin Oral Implants Res**, v. 22, n. 5, p. 538-45, May 2011. ISSN 1600-0501 (Electronic)

LAMBERT, F. et al. A comparison of three calcium phosphate-based space fillers in sinus elevation: a study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 28, n. 2, p. 393-402, Mar-Apr 2013. ISSN 1942-4434 (Electronic)

LAMBERT, F. et al. The effect of collagenated space filling materials in sinus bone augmentation: a study in rabbits. **Clin Oral Implants Res**, v. 24, n. 5, p. 505-11, May 2013. ISSN 1600-0501 (Electronic)

LAVERNIA, C.; SCHOENUNG, J. M. Calcium-Phosphate Ceramics as Bone Substitutes. **American Ceramic Society Bulletin**, v. 70, n. 1, p. 95-100, Jan 1991. ISSN 0002-7812.

LEE, D. Z.; CHEN, S. T.; DARBY, I. B. Maxillary sinus floor elevation and grafting with deproteinized bovine bone mineral: a clinical and histomorphometric study. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n. 8, p. 918-24, Aug 2012. ISSN 1600-0501 (Electronic)

LEGEROS, R. Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. **Chem Rev**, v. 108, n. 11, p. 4742-53, Nov 2008. ISSN 1520-6890 (Electronic)

LIM, H. C. et al. 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**, v. 30, n. 1, p. 65-72, Jan-Feb 2015. ISSN 1942-4434 (Electronic)

LIM, H. C. et al. In Vivo Comparative Investigation of Three Synthetic Graft Materials with Varying Compositions Processed Using Different Methods. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 30, n. 6, p. 1280-6, Nov-Dec 2015. ISSN 1942-4434 (Electronic)

LIN, J. H. et al. Surface reaction of stoichiometric and calcium-deficient hydroxyapatite in simulated body fluid. **J Mater Sci Mater Med**, v. 12, n. 8, p. 731-41, Aug 2001. ISSN 0957-4530 (Print)

LU, J. et al. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. **J Biomed Mater Res**, v. 63, n. 4, p. 408-12, 2002. ISSN 0021-9304 (Print)

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces In: (Ed.). **Institute of Pathology**. 38. New York: McGraw-Hill Book Company, 1968. p.36-38.

LUTZ, R. et al. Sinus floor augmentation with autogenous bone vs. a bovine-derived xenograft - a 5-year retrospective study. **Clin Oral Implants Res**, v. 26, n. 6, p. 644-8, Jun 2015. ISSN 1600-0501 (Electronic)

MANFRO, R. et al. Comparative, Histological and Histomorphometric Analysis of Three Anorganic Bovine Xenogenous Bone Substitutes: Bio-Oss, Bone-Fill and Gen-Ox Anorganic. **J Maxillofac Oral Surg**, v. 13, n. 4, p. 464-70, Dec 2014. ISSN 0972-8279 (Print)

MANGANO, C. et al. Maxillary sinus grafting with biphasic calcium phosphate ceramics: clinical and histologic evaluation in man. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 28, n. 1, p. 51-6, Jan-Feb 2013. ISSN 1942-4434 (Electronic)

MARTINS, R. **Implantes de zircônia reforçada com ítria (Y-TZP): avaliação histomorfométrica**. 2013. Universidade de São Paulo

MATASSI, F. et al. New biomaterials for bone regeneration. **Clin Cases Miner Bone Metab**, v. 8, n. 1, p. 21-4, Jan 2011. ISSN 1971-3266 (Electronic)

MIRON, R. J.; BOSSHARDT, D. D. OsteoMacs: Key players around bone biomaterials. **Biomaterials**, v. 82, p. 1-19, Mar 2016. ISSN 1878-5905 (Electronic)

MOHAN, N.; WOLF, J.; DYM, H. Maxillary sinus augmentation. **Dent Clin North Am**, v. 59, n. 2, p. 375-88, Apr 2015. ISSN 1558-0512 (Electronic)

MOON, J. W. et al. Comparison of two kinds of bovine bone in maxillary sinus augmentation: a histomorphometric study. **Implant Dent**, v. 24, n. 1, p. 19-24, Feb 2015. ISSN 1538-2982 (Electronic)

MORDENFELD, A. et al. Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone. **Clin Oral Implants Res**, v. 21, n. 9, p. 961-70, Sep 2010. ISSN 1600-0501 (Electronic)

MORDENFELD, A.; LINDGREN, C.; HALLMAN, M. Sinus Floor Augmentation Using Straumann(R) BoneCeramic and Bio-Oss(R) in a Split Mouth Design and Later Placement of Implants: A 5-Year Report from a Longitudinal Study. **Clin Implant Dent Relat Res**, Sep 10 2015. ISSN 1708-8208 (Electronic)

MUSCHLER, G. F. et al. The design and use of animal models for translational research in bone tissue engineering and regenerative medicine. **Tissue Eng Part B Rev**, v. 16, n. 1, p. 123-45, Feb 2010. ISSN 1937-3376 (Electronic)

NG, A. M. et al. Differential osteogenic activity of osteoprogenitor cells on HA and TCP/HA scaffold of tissue engineered bone. **J Biomed Mater Res A**, v. 85, n. 2, p. 301-12, May 2008. ISSN 1552-4965 (Electronic)

NGUYEN, H.; MORGAN, D. A.; FORWOOD, M. R. Sterilization of allograft bone: is 25 kGy the gold standard for gamma irradiation? **Cell Tissue Bank**, v. 8, n. 2, p. 81-91, 2007. ISSN 1389-9333 (Print)

NICOLAE, V. et al. COMPLICATIONS OF MAXILLARY SINUS AUGMENTATION. **Acta Medica Transilvanica**, v. 17, n. 2, p. 188-191, 2012. ISSN 14531968.

NKENKE, E.; NEUKAM, F. W. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. **Eur J Oral Implantol**, v. 7 Suppl 2, p. S203-17, Summer 2014. ISSN 1756-2406 (Print)

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**, v. 20 Suppl 4, p. 124-33, Sep 2009. ISSN 1600-0501 (Electronic)

NOLAN, P. J.; FREEMAN, K.; KRAUT, R. A. Correlation between Schneiderian membrane perforation and sinus lift graft outcome: a retrospective evaluation of 359 augmented sinus. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 72, n. 1, p. 47-52, Jan 2014. ISSN 1531-5053 (Electronic)

PEARCE, A. I. et al. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. **Eur Cell Mater**, v. 13, p. 1-10, 2007. ISSN 1473-2262 (Electronic)

PEREZ, R. A.; MESTRES, G. Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 61, p. 922-39, Apr 1 2016. ISSN 1873-0191 (Electronic)

PERIC, M. et al. The rational use of animal models in the evaluation of novel bone regenerative therapies. **Bone**, v. 70, p. 73-86, Jan 2015. ISSN 1873-2763 (Electronic)

PEYRIN, F. et al. Micro- and nano-CT for the study of bone ultrastructure. **Curr Osteoporos Rep**, v. 12, n. 4, p. 465-74, Dec 2014. ISSN 1544-2241 (Electronic)

PJETURSSON, B. E. et al. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 8 Suppl, p. 216-40, Sep 2008. ISSN 1600-051X (Electronic)

RAE, T. The Macrophage Response to Implant Materials - with Special Reference to Those Used in Orthopedics. **Crc Critical Reviews in Biocompatibility**, v. 2, n. 2, p. 97-126, 1986. ISSN 0748-5204.

RIACHI, F. et al. Influence of material properties on rate of resorption of two bone graft materials after sinus lift using radiographic assessment. **Int J Dent**, v. 2012, p. 737262, 2012. ISSN 1687-8736 (Electronic)

RICKERT, D. et al. Maxillary sinus lift with solely autogenous bone compared to a combination of autogenous bone and growth factors or (solely) bone substitutes. A

systematic review. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 41, n. 2, p. 160-7, Feb 2012. ISSN 1399-0020 (Electronic)

RIPAMONTI, U. Soluble, insoluble and geometric signals sculpt the architecture of mineralized tissues. **J Cell Mol Med**, v. 8, n. 2, p. 169-80, Apr-Jun 2004. ISSN 1582-1838 (Print)

_____. Biomimetism, biomimetic matrices and the induction of bone formation. **J Cell Mol Med**, v. 13, n. 9B, p. 2953-72, Sep 2009. ISSN 1582-4934 (Electronic)

RIPAMONTI, U. et al. Biomimetic matrices self-initiating the induction of bone formation. **J Craniofac Surg**, v. 22, n. 5, p. 1859-70, Sep 2011. ISSN 1536-3732 (Electronic)

ROBERTS, W. E. et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **Am J Orthod**, v. 86, n. 2, p. 95-111, Aug 1984. ISSN 0002-9416 (Print)

ROCHA, C. A. **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** 2015. 158 Universidade de São Paulo. Faculdade de Odontologia de Bauru

ROCHA, F. S. et al. Bovine anorganic bone graft associated with platelet-rich plasma: histologic analysis in rabbit calvaria. **J Oral Implantol**, v. 37, n. 5, p. 511-8, Oct 2011. ISSN 0160-6972 (Print)

ROKN, A. R. et al. Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. **Open Dent J**, v. 5, p. 96-104, 2011. ISSN 1874-2106 (Electronic).

SALAI, M. et al. The effects of prolonged cryopreservation on the biomechanical properties of bone allografts: a microbiological, histological and mechanical study. **Cell Tissue Bank**, v. 1, n. 1, p. 69-73, 2000. ISSN 1573-6814 (Electronic)

SBORDONE, L. et al. Apical and marginal bone alterations around implants in maxillary sinus augmentation grafted with autogenous bone or bovine bone material and simultaneous or delayed dental implant positioning. **Clin Oral Implants Res**, v. 22, n. 5, p. 485-91, May 2011. ISSN 1600-0501 (Electronic)

SCHMITT, C. M. et al. 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**, v. 24, n. 5, p. 576-85, May 2013. ISSN 1600-0501 (Electronic)

SCHMITT, C. M. et al. 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**, v. 26, n. 9, p. 1043-50, Sep 2015. ISSN 1600-0501 (Electronic)

SCHWARTZ-ARAD, D.; HERZBERG, R.; DOLEV, E. The prevalence of surgical complications of the sinus graft procedure and their impact on implant survival. **J Periodontol**, v. 75, n. 4, p. 511-6, Apr 2004. ISSN 0022-3492 (Print)

SHARAN, A.; MADJAR, D. Maxillary sinus pneumatization following extractions: a radiographic study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 23, n. 1, p. 48-56, Jan-Feb 2008. ISSN 0882-2786 (Print)

SHEIKH, Z. et al. Mechanisms of in Vivo Degradation and Resorption of Calcium Phosphate Based Biomaterials. **Materials**, v. 8, n. 11, p. 7913-7925, Nov 2015. ISSN 1996-1944.

SHLOMI, B. et al. The effect of sinus membrane perforation and repair with Lambone on the outcome of maxillary sinus floor augmentation: a radiographic assessment. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 19, n. 4, p. 559-62, Jul-Aug 2004. ISSN 0882-2786 (Print)

SICCA, C. M. 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**, v. 86, n. 1, p. 188-96, Jul 2008. ISSN 1552-4981 (Electronic)

TESTORI, T. et al. Effect of xenograft (ABBM) particle size on vital bone formation following maxillary sinus augmentation: a multicenter, randomized, controlled, clinical histomorphometric trial. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 33, n. 4, p. 467-75, Jul-Aug 2013. ISSN 1945-3388 (Electronic)

TRAINI, T. et al. A histologic and histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone retrieved 9 years after a sinus augmentation procedure. **J Periodontol**, v. 78, n. 5, p. 955-61, May 2007. ISSN 0022-3492 (Print)

VALLET-REGI, M. Ceramics for medical applications. **Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions**, n. 2, p. 97-108, 2001. ISSN 1472-7773.

VAN DEN BERGH, J. P. et al. Anatomical aspects of sinus floor elevations. **Clin Oral Implants Res**, v. 11, n. 3, p. 256-65, Jun 2000. ISSN 0905-7161 (Print)

VANDEWEGHE, S. et al. Comparison of histological and three-dimensional characteristics of porous titanium granules and deproteinized bovine particulate grafts used for sinus floor augmentation in humans: a pilot study. **Implant Dent**, v. 22, n. 4, p. 339-43, Aug 2013. ISSN 1538-2982 (Electronic)

VASCONCELOS, D. P. et al. Modulation of the inflammatory response to chitosan through M2 macrophage polarization using pro-resolution mediators. **Biomaterials**, v. 37, p. 116-23, Jan 2015. ISSN 1878-5905 (Electronic)

WAGNER, W. 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**, v. 23, n. 9, p. 1112-7, Sep 2012. ISSN 1600-0501 (Electronic)

WALLACE, S. S.; FROUM, S. J. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. **Ann Periodontol**, v. 8, n. 1, p. 328-43, Dec 2003. ISSN 1553-0841 (Print)

WANG, J. et al. Dynamic competitive adsorption of bone-related proteins on calcium phosphate ceramic particles with different phase composition and microstructure. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 101, n. 6, p. 1069-77, Aug 2013. ISSN 1552-4981 (Electronic)

WANG, X.; MABREY, J. D.; AGRAWAL, C. M. An interspecies comparison of bone fracture properties. **Biomed Mater Eng**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 1998. ISSN 0959-2989 (Print)

WEIBEL, E. R. Stereological principles for morphometry in electron microscopy cytology. **Int Rev Cytol**, v. 26, p. 235-302, 1969.

XU, H. et al. Experimental sinus grafting with the use of deproteinized bone particles of different sizes. **Clinical Oral Implants Research**, v. 14, n. 5, p. 548-555, Oct 2003. ISSN 0905-7161.

_____. Grafting of deproteinized bone particles inhibits bone resorption after maxillary sinus floor elevation. **Clin Oral Implants Res**, v. 15, n. 1, p. 126-33, Feb 2004. ISSN 0905-7161 (Print)

YANG, C. et al. Osteoconductivity and biodegradation of synthetic bone substitutes with different tricalcium phosphate contents in rabbits. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 102, n. 1, p. 80-8, Jan 2014. ISSN 1552-4981 (Electronic)

YANG, Y. Q. et al. The role of vascular endothelial growth factor in ossification. **Int J Oral Sci**, v. 4, n. 2, p. 64-8, Jun 2012. ISSN 1674-2818 (Print)

YILDIRIM, M. et al. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. **Clin Oral Implants Res**, v. 11, n. 3, p. 217-29, Jun 2000. ISSN 0905-7161 (Print)

YIP, I. et al. Defect healing with various bone substitutes. **Clin Oral Implants Res**, v. 26, n. 5, p. 606-14, May 2015. ISSN 1600-0501 (Electronic)

ZHANG, J. et al. Microporous calcium phosphate ceramics driving osteogenesis through surface architecture. **J Biomed Mater Res A**, v. 103, n. 3, p. 1188-99, Mar 2015. ISSN 1552-4965 (Electronic)

ZHOU, X. et al. Osteoconduction of different sizes of anorganic bone particles in a model of guided bone regeneration. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 49, n. 1, p. 37-41, Jan 2011. ISSN 1532-1940 (Electronic)

ZIMMERMANN, G.; MOGHADDAM, A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. **Injury**, v. 42 Suppl 2, p. S16-21, Sep 2011. ISSN 1879-0267 (Electronic)

ANEXO

ANEXO

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru****Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais** **CEEPA-Proc. Nº 028/2013**

Bauru, 12 de agosto de 2013.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa encaminhado a esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, denominado ***Levantamento de seio maxilar bilateral em coelhos utilizando diferentes biomateriais cerâmicos a base de fosfato de cálcio. Avaliação microtomográfica e histomorfométrica***, de autoria de Paula Sanches dos Santos, sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação e considerado APROVADO "ad referendum" desta Comissão, nesta data.

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 Rompermaier Garlet,
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, em exercício

Prof. Dr. Rumio Taga

Docente do Departamento de Ciências Biológicas