

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 09/09/2021.



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”



Faculdade de Odontologia de Araraquara

Mauricio Andrés Tinajero Aroni

**Avaliação pré-clínica dos efeitos do osso bovino desproteínizado revestido
com estrôncio sobre o reparo ósseo**

Araraquara

2019



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”



Faculdade de Odontologia de Araraquara

Mauricio Andrés Tinajero Aroni

**Avaliação pré-clínica dos efeitos do osso bovino desproteínizado revestido
com estrôncio sobre o reparo ósseo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Implantodontia – Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para a obtenção do título de Doutor em Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

**Araraquara
2019**

Tinajero Aroni, Mauricio Andrés

Avaliação pré-clínica dos efeitos do osso bovino desproteínizado revestido com estrôncio sobre o reparo ósseo / Mauricio Andrés Tinajero Aroni. -- Araraquara: [s.n.], 2019.

115 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa.Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

1. Estrôncio 2. Regeneração óssea 3. Substitutos Ósseos. I. Título.

Mauricio Andrés Tinajero Aroni

**Avaliação pré-clínica dos efeitos do osso bovino desproteínizado revestido
com estrôncio sobre o reparo ósseo**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de doutor

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

2º Examinador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira

3º Examinador: Prof. Dr. João Antônio de Chaves Souza

4º Examinador: Prof. Dr. Guilherme Pimentel Lopez de Oliveira

5º Examinador: Prof^a. Dr^a. Sabrina Operman

Araraquara, 9 de Setembro de 2019.

DADOS CURRICULARES

Mauricio Andrés Tinajero Aroni

Nascimento 14 de Fevereiro de 1990 – Quito-Ecuador

Filiação Mauricio Fausto Tinajero Camacho

Monica Cristina Aroni

2008 - 2013 Curso de Graduação em Odontologia – Universidade San Francisco de Quito USFQ

2014 - 2016 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Periodontia – Nível Mestrado - Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2014 - 2016 Curso de Especialização em Implantodontia – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2015 - 2017 Curso de Especialização em Periodontia – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2016 - 2019 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Implantodontia – Nível Doutorado - Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de sua Diretora, Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato, e do Vice-Diretor, Prof. Dr. Edson Alves de Campos, responsável pela minha formação e pela estrutura oferecida para a realização dessa pesquisa.

O Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, e a todos os docentes do Curso de Pós-Graduação do Programa de Periodontia, sempre dispostos a ensinar, pela disponibilidade e dedicação ao programa e aos seus alunos.

À CAPES, o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)

Aos funcionários da Disciplina de Periodontia, Isabela, Claudinha e Suleima, sempre dispostos a ajudar, pelo carinho e apoio aos alunos.

Aos funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia pelo apoio na execução desse trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pela paciência e dedicação aos alunos.

Aos funcionários da Biblioteca pela disposição de sempre.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram e tornaram possível a realização deste trabalho.

Tinajero Aroni MA. Avaliação pré-clínica dos efeitos do osso bovino desproteínizado revestido com estrôncio sobre o reparo ósseo [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2019.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de diferentes substitutos sobre o reparo ósseo de defeitos críticos de calvárias de ratos com ou sem osteoporose. Para tanto, foram divididos em três estudos. O estudo 1 avaliou o efeito de diferentes biomateriais sobre o reparo de defeitos críticos de calota (DCC) de 40 ratos saudáveis que foram aleatoriamente divididos em 5 grupos com 8 animais, de acordo com o tipo de biomaterial utilizado para preencher os DCC: Grupo COA (coágulo); Grupo AUT (osso autógeno); Grupo OBD (osso bovino desproteínizado); Grupo HA/ TCP (cerâmica bifásica composta de hidroxiapatita e β -fosfato tricálcio); Grupo TCP (β -fosfato tricálcio). Foram executadas análise microtomográfica para avaliação do comprimento linear remanescente (DLL) do DCC e o volume dos tecidos mineralizados (MT) dentro do defeito nos períodos de 3, 7, 15 e 30 dias após cirurgia. Adicionalmente, foi executado análise histométrica para avaliar a composição do tecido ósseo reparado (% Osso e % Biomaterial) no período de 30 dias. O grupo COA apresentou o menor DLL e MT dentro do DCC e maior % osso do que os outros grupos. O grupo OBD apresentou maior volume de tecidos mineralizados e maior % biomaterial do que o grupo os grupos AUT e TCP. Os grupos OBD e AUT apresentaram maior % osso que o grupo TCP. O estudo 2 avaliou o efeito do enxerto com OBD carregado de estrôncio (Sr) na cicatrização óssea em DCC em 42 ratos saudáveis. Foram feitos 2 defeitos/rato, e um destes aleatoriamente foi enxertado com (a) OBD, (b) OBD carregado com 19,6 $\mu\text{g/g}$ de Sr (OBD / Sr1), ou (c) OBD carregado com 98,1 $\mu\text{g/g}$ de Sr (OBD / Sr2), e outro defeito foi deixado vazio como controle negativo. Grupos de sete animais de cada um dos grupos foram eutanasiados 15 e 60 dias pós-operatórios. A cicatrização óssea no DCC foi avaliada por micro-CT e histologia / histomorfometria e imuno-histoquímica. Os sítios enxertados com OBD Sr2 mostraram um comprimento de defeito residual radiográfico significativamente menor comparado com OBD Sr1, OBD e com controles vazios aos 60 dias. Além disso, a quantidade de formação óssea nova no OBD/Sr1 e OBD/Sr2 foram significativamente maiores em comparação com os sítios enxertados com OBD aos 60 dias. Os grupos OBD/Sr1 e OBD/Sr2 apresentaram ligeira ausência de inflamação em comparação com os defeitos enxertados com OBD, especialmente aos 60 dias. Maior expressão de osteocalcina foi observada em sítios enxertados com OBD/Sr1 e OBD/Sr2 em comparação com OBD. O estudo 3 avaliou o efeito do OBD carregado de estrôncio sobre o reparo ósseo em DCC de ratas ovariectomizadas. Cinquenta e seis ratas adultas foram alocadas aleatoriamente em quatro grupos com 14 animais cada, de acordo com o tipo de biomaterial utilizado para preencher os defeitos de 5mm \varnothing : OBD /controle: O DCC foi preenchido com OBD em animais submetidos à simulação da ovariectomia; OBD / Ovx: O DCC foi preenchido com OBD em animais submetidos à ovariectomia; OBD-Sr1 / Ovx: o DCC foi preenchido com OBD revestido com estrôncio em baixa concentração (140 μM) em animais submetidos à ovariectomia; OBD-Sr2 / Ovx: O DCC foi preenchido com OBD revestido com estrôncio em alta concentração (700 μM) submetido à ovariectomia. As análises de comprimento radiográfico remanescente do defeito (R-RDL) e preenchimento com tecido mineralizado (R-MTF) foi avaliado pela Micro CT, e a composição do tecido reparado (osso e

biomaterial) foi avaliada pela análise histométrica após 15 e 60 dias do sacrifício. Os animais do OBD-Sr1/Ovx e OBD-Sr2/Ovx apresentaram maior R-MTF que os animais do OBD/controle e OBD/Ovx. Além disso, o grupo OBD-Sr2/Ovx apresentou maior R-MTF que o OBD-Sr1/Ovx. O OBD/controle, OBD-Sr/Ovx e OBD-Sr2/Ovx apresentaram mais osso que o grupo OBD/Ovx. De acordo com esses estudos, pode-se concluir que o OBD possui melhor qualidade de reparo ósseo quando comparado com outros biomateriais, como TCP e HA/TCP, porém é inferior ao enxerto autógeno. Quando o OBD está associado ao Sr, suas propriedades biológicas são melhoradas, de modo a aumentar a formação óssea, além disso, em altas concentrações de Sr produz maior volume de tecido ósseo reparado em ratas com indução de osteoporose.

Palavras-Chave: Estrôncio. Regeneração óssea. Substitutos ósseos.

Tinajero Aroni MA. Preclinical evaluation of the effects of deproteinized bovine bone coated with strontium on bone repair [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2019.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the use of different substitutes on bone repair of critical calvarial defects (CCD) of rats with or without osteoporosis.. Study 1 evaluated the effect of different biomaterials on the repair of CCD of 40 healthy rats that were randomly divided into 5 groups with 8 animals, according to the type of biomaterial used to fill the CCDs: Group COA (clot); AUT group (autogenous bone); DBB group (deproteinized bovine bone); HA / TCP group (biphasic ceramic composed of hydroxyapatite and β -phosphate tricalcium); TCP group (β -tricalcium phosphate). Microtomographic analysis was performed to evaluate the remaining linear length (DLL) of the CCD and the volume of the mineralized tissues (TM) within the CCD at 3, 7, 15 and 30 days after surgery. In addition, histometric analysis was performed to evaluate the composition of the bone tissue repaired (% Bone and % Biomaterial) in the period of 30 days. The COA group presented the lowest DLL and MT within the CCD and higher bone% than the other groups. The DBB group had a higher volume of mineralized tissues and a higher biomaterial percentage than the AUT and TCP groups. The DBB and AUT groups had a higher percentage of bone than the TCP group. Study 2 evaluated the effect of strontium-loaded DBB (Sr) graft on bone healing in CCD in 42 healthy rats. Two defects / mouse were made, and one of these was randomly grafted with (a) DBB, (b) DBB loaded with 19.6 $\mu\text{g} / \text{g}$ Sr (DBB / Sr1), or (c) DBB loaded with 98.1 $\mu\text{g} / \text{g}$ of Sr (DBB / Sr2), and another defect was left empty as a negative control. Groups of seven animals from each of the groups were euthanized 15 and 60 postoperative days. Bone healing in DSC was assessed by micro-CT and histology / histomorphometry and immunohistochemistry. The sites grafted with DBB / Sr2 showed a significantly lower radiographic residual defect length compared to DBB / Sr1, DBB and with empty controls at 60 days. In addition, the amount of new bone formation in DBB / Sr1 and DBB / Sr2 were significantly higher in comparison to sites grafted with DBB at 60 days. A higher number of DBB / Sr1 and DBB / Sr2 showed slight absence of inflammation compared to DBB grafted sites, especially at 60 days. Higher osteocalcin expression was observed at sites grafted with DBB / Sr1 and DBB / Sr2 compared to DBB. Study 3 evaluated the effect of strontium loaded DBB on bone repair in CCD of ovariectomized rats. Fifty-six adult rats were randomly assigned to four groups with 14 animals each, according to the type of biomaterial used to fill the 5mm \varnothing CCD: DBB / control: The CCD was filled with OBP in animals submitted to ovariectomy simulation; OBP / Ovx: The CCD was filled with OBP in animals submitted to ovariectomy; DBB-Sr1 / Ovx: CCD was filled with DBB coated with low strontium (140 μM) in animals submitted to ovariectomy; DBB-Sr2 / Ovx: CCD was filled with DBB coated with high concentration strontium (700 μM) subjected to ovariectomy. Remaining defect radiographic length (R-RDL) and mineralized tissue filling (R-MTF) analyzes were evaluated by Micro CT, and the composition of the repaired tissue (bone and biomaterial) was assessed by histometric analysis after 15 and 60 days of the sacrifice. The DBB-Sr1 / Ovx and DBB-Sr2 / Ovx animals presented higher R-MTF than the DBB / control and DBB / Ovx animals. In addition, the DBB-Sr2 / Ovx group had higher R-MTF than DBB-Sr1 / Ovx. The DBB / control, DBB-Sr / Ovx and DBB-Sr2 / Ovx had more bone than the DBB / Ovx group. According to these studies, it can be concluded that DBB has a better amount of bone repair when compared to other biomaterials, such as TCP and

HA / TCP, but it is inferior to the autogenous graft. When DBB is associated with Sr its biological properties are improved in order to increase bone formation, moreover when in high Sr concentrations it produces a larger volume of bone tissue repaired in osteoporotic induction rats.

Keywords: Strontium. Bone regeneration. Bone substitutes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	21
2.1 PROPOSIÇÃO GERAL	21
2.2 PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS	21
3 CAPITULO 1	22
4 CAPÍTULO 2	43
5 CAPÍTULO 3	53
6 DISCUSSÃO GERAL	80
7 CONCLUSÕES.....	88
REFERÊNCIAS*	89
ANEXO A.....	106
APÊNDICE A	107

1 INTRODUÇÃO

O osso é um tecido conjuntivo mineralizado, com alta capacidade de regeneração após ressecções cirúrgicas ¹. No entanto, a regeneração satisfatória torna-se mais difícil quanto maior o defeito ósseo, e devido a isso, por vezes se faz necessário a utilização de substitutos ósseos para que ocorra regeneração adequada desses defeitos críticos que ultrapassam o potencial corporal de total regeneração². De acordo com as estatísticas atuais, 2,2 milhões de procedimentos de enxerto ósseo são realizados em todo o mundo por ano, com um crescimento anual de 13% em número de procedimentos cirúrgicos feitos para reparar defeitos ósseos em ortopedia, odontologia e neurocirurgia ³.

Com isso, a busca pela regeneração óssea tem sido alvo de muitas pesquisas ⁴⁻⁶. Situações clínicas diversas na área da periodontia e implantodontia requerem o reparo associado a defeitos ósseos, bem como o aumento da disponibilidade óssea para inserção de implantes dentários na posição adequada⁷.

Algumas abordagens tem sido descritas como alternativas para contornar a falta de disponibilidade óssea para instalação de implantes como a osteodistração⁸, utilização de implantes curtos⁹, elevação de seio maxilar¹⁰, enxerto em bloco e a lateralização do nervo alveolar inferior¹¹. Entretanto, apesar de relatos de bons resultados clínicos obtidos com essas técnicas, a utilização de biomateriais substitutos ósseos consiste no tratamento mais indicado e documentado para aumento de disponibilidade óssea, devido sua biocompatibilidade e fácil obtenção¹²⁻¹⁴.

Dentre os biomateriais propostos para o aumento da disponibilidade óssea, o osso autógeno tem sido caracterizado como o biomaterial “padrão ouro” por

apresentar propriedades osteogênicas de osteoindução, osteocondução e osteoestimulação e ainda por causarem menor rejeição imunológica, uma vez que a composição, os fatores de crescimento, células e matriz extracelular são compatíveis com o local de implantação¹⁴. Entretanto, a sua técnica tem várias limitações e complicações, como a morbidade do leito doador¹², limitação de quantidade de enxerto que pode ser obtido¹⁴, reabsorção acelerada¹⁵ e o maior tempo necessário para execução do procedimento cirúrgico¹². Essas limitações propulsionaram a busca por outros tipos de substitutos ósseos, como biomateriais homogêneos, heterogêneos ou sintéticos que permitam um adequado processo de formação do tecido ósseo com redução da morbidade ao hospedeiro ¹⁶.

Uma das alternativas para a substituição do osso autógeno é a utilização do osso bovino desproteínizado (OBD)¹⁷ considerado um biomaterial heterógeno, biocompatível que não induz resposta imune local ou sistêmica¹⁸. Dentro do processo de fabricação ocorre uma esterilização física e química que elimina todas as proteínas presentes no tecido ósseo¹⁹. Apresenta cristalinidade e composição química semelhantes ao osso mineral poroso e natural, apresentando granulometria que varia de 250 µm a 1.000 µm²⁰. Devido aos bons resultados tem sido indicado no aumento da disponibilidade óssea em diversas condições clínicas tais como elevação de seio maxilar ^{12, 15} e preservação de alvéolos pós-extração¹³. Além disso, estudos de acompanhamento longitudinal tem verificado altas taxas de sobrevivência e sucesso em implantes instalados em áreas enxertadas com o OBD^{15, 21}. No entanto tem a ausência de propriedades osteogênicas e osteoindutoras com atraso na cicatrização das áreas tratadas somente com DBB²². Visando melhorar o potencial biológico do OBD para promover regeneração óssea, novas alternativas tem sido propostas tais como a associação do OBD com fatores

de crescimento, derivados de matriz de esmalte²³⁻²⁶, com autoenxertos e fatores de crescimento¹⁷. No entanto, essas associações apresentam limitações quanto à morbidade da área doadora e à relação custo-efetividade²⁷.

Estes substitutos ósseos podem ser criados a partir de biomateriais como hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico (TCP), vidro bioativo, cerâmica e polímeros²⁸. Atualmente, a HA, tem se destacado como um substituto ósseo com capacidade de mimetizar o componente inorgânico do tecido. É considerado um dos biomateriais com maior biocompatibilidade, devido à similaridade química da HA sintetizada com a matriz inorgânica dos tecidos ósseos, o que favorece o crescimento ósseo na área enxertada. Com isso, apesar da HA não demonstrar osteoindução, ela certamente possui habilidades osteocondutoras, uma vez que têm notável capacidade de se ligar diretamente ao osso²⁹. Embora o HA sofra osteointegração e seja bioativo e osteocondutor, a fragilidade inerente e a baixa tenacidade à fratura limitam seu uso sob condições de suporte de carga, uma vez implantadas no corpo, o HA leva muito tempo para ser reabsorvida³⁰.

Dentre as cerâmicas à base de fosfato de cálcio disponíveis, as cerâmicas sintéticas de β -fosfato tricálcico (TCP) são biomateriais osteocondutores com capacidade de reabsorção, apresentando resultados clínicos e histológicos muito satisfatórios em comparação com outras cerâmicas, tanto em animais quanto em humanos³¹⁻³⁴. Quando usado para técnica de elevação do seio maxilar, apresentou resultados clínicos semelhante a DBB^{35, 36} e ao enxerto autógeno³¹. Em contraste com outros substitutos ósseos osteocondutores, o OBD tem sido relacionado com maiores taxas de reabsorção, o que poderia indicar que este substituto ósseo pode induzir uma maior quantidade de osso novo na área enxertada³². No entanto, compostos puros de TCP não apresentam um equilíbrio entre a taxa de reabsorção

e a formação óssea. Assim, o TCP tem sido associado a HA com o objetivo de manter uma estrutura na área implantada por mais tempo devido à incapacidade de HA ser reabsorvido. O TCP é absorvido mais rapidamente, permitindo a criação de espaços a serem preenchidos por células osteoprogenitoras e acelerando o processo de regeneração óssea³⁷⁻⁴⁰. No entanto, a baixa taxa de reabsorção de hidroxiapatita presente em ambos os biomateriais implica em sua incompleta substituição pelo tecido ósseo, e os remanescentes desses substitutos ósseos foram observados no local do receptor até a colocação do implante^{41, 42}. Além disso, estes restantes partículas não participam do processo direto de osseointegração dos implantes devido a falta de vitalidade desse tecido⁴³.

Outra abordagem que tem sido avaliada é o revestimento de biomateriais osteocondutores por sais metálicos que induzem a osteogênese⁴⁴. Dentre estas substâncias, destaca-se a utilização do estrôncio (Sr) que tem sido amplamente utilizado na forma de ranelato para tratamento de pacientes com osteoporose^{45, 46}, osteoartrites⁴⁷ e a artrite reumatoide⁴⁸ apresentando resultados positivos. Esta droga ganhou relevância devido a sua capacidade de modular a atividade de osteoblastos e osteoclastos^{22, 49}, Reduz a reabsorção óssea inibindo a atividade dos osteoclastos, estimula a atividade de osteoblastos melhorando a formação óssea⁵⁰⁻⁵². Estudos pré-clínicos demonstraram que os diferentes substitutos ósseos revestidos com Sr como HA⁵³, cimentos de cálcio⁵⁴, biovidro⁵⁵, fosfato de cálcio⁵⁶, o sulfato de cálcio⁵⁷, melhoram a formação óssea. De uma forma geral, a utilização do revestimento com o Sr induziu maior formação de osso novo in vivo^{56, 58-60} e maior potencial de osteogênese in vitro^{58, 61}.

Park et al.⁶² (2010) investigaram as características da superfície e biocompatibilidade in vitro de titânio (Ti) incorporado com ions de Sr e íons de

fosfato (P) produzidos por tratamento hidrotérmico para aplicações futuras em superfícies de implantes. As características da superfície foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura, difração de raios-X, espectroscopia de fotoelétrons de raios-X, ângulo de contato e energia de superfície, espectroscopia de emissão atômica com plasma e perfilometria. Foram avaliadas na superfície do Ti a fixação de células pré-osteoblásticas, a viabilidade e morfologia celular, e a expressão do gene em células osteoblásticas. A incorporação de Sr aumentou significativamente a adesão celular e viabilidade comparada com a outra superfície. Os resultados demonstram que a incorporação de Sr na superfície de óxido de Ti melhoram o potencial osteoindutor da superfície do implante, aumentando o depósito, viabilidade e diferenciação de células osteoblásticas⁶².

Zreiqat et al.⁵⁸ (2010) avaliaram a osteocondutividade de dois scaffolds (cálcio-silício com estrôncio e beta-tricálcio fosfato) em tíbias de ratos com osteoartrite. A osteocondutividade dos scaffolds foi avaliada aos 3 e 6 semanas após a implantação no defeito ósseo na tíbia de ratas. A análise histológica revelou um rápido crescimento de osso novo no interior dos scaffolds com estrôncio, em relação ao fosfato de beta-tricálcio (TCP-b), sem sinais de rejeição, necrose ou infecção.

A hidroxiapatita revestida de estrôncio (SrHA) têm apresentado bons resultados devido a propriedade do Sr em promover a formação óssea ao mesmo tempo em que reduz a reabsorção óssea. Boyd et al.⁶³ (2015) compararam a hidroxiapatita não revestida e revestida com estrôncio a 5% e 13% (SrHA) depositada sobre superfícies de titânio policristalino utilizando o método de deposição por descarga elétrica. Os resultados demonstraram que o Sr poderia ser incorporado com êxito no reticulado da HA para formar revestimentos SrHA. Portanto, este estudo demonstrou que a pulverização catiônica oferece um meio que

possibilita o controle das propriedades do Sr-substituído HA, tais como a cristalinidade, estequiometria, pureza de fase e topografia da superfície⁶³.

Newman et al.⁶⁴ (2014) apresentaram um implante de vidro bioativo revestido com estrôncio (SrBG), que foi idealizado para aumentar a formação óssea peri-implantar. Após a instalação do implante no fêmur e na tíbia de 27 coelhos foram realizadas análises histológicas nos períodos de 6, 12 e 24 semanas. O biomaterial foi dissolvido ao longo de um período de 6 semanas, estimulando maior formação óssea em comparação com os implantes revestidos com HA. Além disso, a fixação mecânica foi superior e evidente no grupo SrBG depois de 24 semanas de implantação. Propõe-se que este revestimento tem o potencial para melhorar a fixação dos implantes em vários tipos de cirurgia reconstrutivas ortopédicas⁶⁴.

Valiense et al.⁵⁹ (2016) estudaram a resposta in vivo e in vitro do estrôncio incorporado na nanoestrutura HA/alginato de sódio (SrCHA) para elevação de seio maxilar em coelhos usando como controle a nanoestrutura de HA/alginato de sódio (CHA) sem estrôncio. Doze coelhos machos e fêmeas foram submetidos a procedimentos de elevação de seio maxilar bilateral e foram divididos em dois grupos (CHA e SrCHA) com dois períodos experimentais (4 e 12 semanas). Após 12 semanas a formação óssea foi observada nos dois grupos, sendo que em menor quantidade no grupo SrCHA do que no CHA, indicando uma maior reabsorção do SrCHA em comparação ao CHA. Os autores concluíram que embora os dois biomateriais sejam biocompatíveis e osteocondutores, o SrCHA apresenta um processo de reabsorção mais cedo que o CHA⁵⁹.

Kang et al.⁶⁵ (2015) investigaram o sinergismo entre polifosfato de cálcio dopado com estrôncio (SCPP) e osso autólogo com células mononucleares da medula (BM-MNCs) no tratamento da osteonecrose da cabeça femoral. Após a

indução de osteonecrose em 58 coelhos, estes foram divididos em 3 grupos: grupo 1 - SCPP, grupo 2 - BM-MNCs e grupo 3 - polifosfato de cálcio. O polifosfato de cálcio dopado com estrôncio (SCPP) e osso autólogo com células mononucleares da medula (BM-MNCs) promoveram uma melhora na angiogênese que permitiu a remodelação de novo osso trabecular⁶⁵.

Zhao et al.⁶¹ (2015) avaliaram o reparo ósseo em defeitos críticos de calvaria em ratos, usando scaffolds de vidro bioativo recobertos por estrôncio em comparação com scaffolds de vidro bioativo por um período de 8 semanas onde a análise do micro CT mostrou maior porcentagem de preenchimento e maior fechamento do defeito no grupo com estrôncio quando comparado ao grupo de scaffolds de vidro bioativo⁶¹.

Henriques Lourenço et al.⁶⁶ (2017) investigaram a resposta in vivo a um sistema híbrido rico em Sr injetável, composto de microesferas de HA dopadas com Sr. incorporado num hidrogel de alginato RG reticulado com Sr, em comparação com um sistema semelhante Sr livre (material híbrido Ca), utilizando um modelo de defeito de tamanho crítico femoral metafisário de rato. Resultados de micro-CT mostram uma tendência para maior formação de osso novo no grupo híbrido Sr e maiores diferenças histológicas foram observadas entre os grupos. Maior degradação do material com aumento de fibras colágenas e formação óssea no centro do defeito após 60 dias foi observada em oposição à formação óssea restrita à periferia do defeito no grupo controle⁶⁶.

Cheng et al.⁶⁷ (2018) avaliaram um scaffold contendo estrôncio (CPB / PCL/Sr) baseado em osso suíno calcinado superficialmente (CPB) que foi obtido diretamente por revestimento sequencial de SrCl₂ e policaprolactona (PCL). A caracterização básica revelou que o revestimento PCL poderia melhorar

simultaneamente as propriedades mecânicas e, mais importante, restringir a liberação de Sr. Além disso, os comportamentos in vitro de células tronco mesenquiais humanas em CPB, CPB/PCL, e CPB/PCL/Sr foram estudados em detalhe. Os resultados abrangentes de proliferação, expressão gênica osteogênica, demonstraram que o revestimento de PCL diminuiu levemente o potencial de reparo ósseo da CPB. Em contraste, a CPB / PCL / Sr melhorou a diferenciação osteogênica das células do que a CPB. O teste in vivo confirmou uma melhor formação óssea nova de CPB / PCL / Sr do que a CPB e a CPB / LCP. Estes resultados verificaram a superioridade da incorporação de estrôncio para melhorar a capacidade de formação óssea da CPB, oferecendo uma alternativa promissora para o reparo de defeitos ósseos⁶⁷.

Alguns fatores são relevantes e devem ser levados em consideração para a reparação óssea, tais como idade, gênero, condição sistêmica e presença de doenças concomitantes do hospedeiro. A população está envelhecendo, e com isso, a prevalência de doenças crônicas como obesidade, diabetes, osteoporose está aumentando. Portanto, o número de pacientes com comprometimento sistêmico submetidos a procedimentos odontológicos que necessitam de enxertos ósseos seguros e com alta previsibilidade terá expressivo aumento nos próximos anos².

A osteoporose é uma doença de grande prevalência que está associada à redução da densidade mineral óssea, alterações da microestrutura óssea e redução da massa óssea⁶⁸. A principal etiologia da osteoporose é a redução dos níveis de estrogênio durante a fase da menopausa, o que induz um desequilíbrio entre osteoblastos e osteoclastos, resultando em perda óssea⁶⁹. Embora a osteoporose não tenha sido confirmada como um fator de risco para perda de implantes dentários⁷⁰, observou-se que a estabilidade primária de implantes em pacientes com

osteoporose é menor do que em indivíduos saudáveis⁷¹. Embora muita atenção tenha sido focada na prevenção de fraturas e no desenvolvimento de abordagens terapêuticas para o aumento da densidade óssea e da massa óssea, menos atenção tem sido direcionada para a avaliação da regeneração óssea em situações de osteoporose, especialmente em áreas enxertadas⁷². O tratamento a base de estrôncio induz uma diminuição na reabsorção óssea, bem como nos seus marcadores bioquímicos, ao mesmo tempo em que mantém estáveis os marcadores responsáveis pela formação óssea em estudos com animais⁷³ e clínicos⁷⁴. Adicionalmente, foi verificado em estudos in vitro que o Ranelato de estrôncio reduz a reabsorção óssea por inativação da função e diminuição no número de osteoclastos e aumenta a formação óssea por ativação e aumento de osteoblastos^{75, 76}.

O uso sistêmico do estrôncio melhorou o processo de osseointegração em animais controle⁷⁷ e osteoporóticos^{78, 79}. Atualmente nosso grupo de estudo tem avaliado o efeito sistêmico da aplicação do estrôncio sobre a integração de biomateriais de origem xenogena e aloplástica, porém a ideia de se incorporar o estrôncio diretamente no biomaterial surgiu da demonstração em estudos de que a aplicação local de fármacos potencializa a ação esperada do mesmo com reduzida possibilidade de ocorrência de efeitos colaterais devido a sua aplicação sistêmica⁸⁰.

Sabe-se que há poucos trabalhos que avaliaram o uso do Sr para melhorar as propriedades biológicas do DBB in vivo, no contexto de doença sistêmicas, como a osteoporose. Com isso, este trabalho busca preencher esta lacuna de conhecimento, comparando o uso do DBB com outros materiais osteocondutores sintéticos, bem como efeito do DBB revestido com Sr em duas concentrações previamente estabelecidas em animais saudáveis e com indução de osteoporose,

uma das principais doenças sistêmicas que alteram o metabolismo do tecido ósseo^{79, 81}, de alta prevalência da população de uma forma geral^{82, 83} e que apresentam pobres resultados com relação ao reparo ósseo associado a utilização de biomateriais^{84, 85}.

7 CONCLUSÕES

- O OBD promoveu melhor padrão de aumento de disponibilidade óssea e qualidade do osso reparado em comparação ao TCP e HA/TCP, com formação óssea e um maior remanescente de partículas do que o grupo AUT que se mostrou biologicamente superior ao OBD.
- O enxerto de OBD revestido com Sr aumenta a formação óssea em defeitos críticos de calota de ratos, quando comparado com o enxerto de OBD. Sítios enxertados com OBD revestidos com Sr (98,1 µg/g) por adsorção demonstrou comprimento de defeito residual estatisticamente significativamente menor e maiores quantidades de osso neoformado após 60 dias de cicatrização, em comparação com os sítios enxertados com OBD.
- A aplicação local de OBD carregada com Sr regula positivamente a formação óssea, especialmente em ratos Ovx, além disso, o OBD carregado com alta concentração de Sr (700 µM) produziu maior volume de tecidos reparados que foi associado a maior formação óssea nos animais Ovx.
- No entanto, mais estudos in vivo com diferentes concentrações de Sr são recomendados para definir a dose ideal para o desenvolvimento de um agente terapêutico eficaz e seguro possibilitando uma formação óssea mais rápida.

REFERÊNCIAS*

1. Davies J, Hosseini MM. Histodynamics of endosseous wound healing. *Bone engineering*. 2000; 1: 1.
2. Martin V, Bettencourt A. Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018; 82: 363-71.
3. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005; 36 Suppl 3: S20-7.
4. Castagna L, Polido WD, Soares LG, Tinoco EM. Tomographic evaluation of iliac crest bone grafting and the use of immediate temporary implants to the atrophic maxilla. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013; 42(9): 1067-72.
5. Laino L, Iezzi G, Piattelli A, Lo Muzio L, Cicciu M. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with sandwich technique: bone block from the chin area versus corticocancellous bone block allograft--clinical and histological prospective randomized controlled study. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 982104.
6. Nogami S, Yamauchi K, Shiiba S, Kataoka Y, Hirayama B, Takahashi T. Evaluation of the treatment modalities for neurosensory disturbances of the inferior alveolar nerve following retromolar bone harvesting for bone augmentation. *Pain Med*. 2015; 16(3): 501-12.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

7. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol.* 2001; 72(2): 152-9.
8. Bianchi A, Felice P, Lizio G, Marchetti C. Alveolar distraction osteogenesis versus inlay bone grafting in posterior mandibular atrophy: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(3): 282-92.
9. Esposito M, Barausse C, Pistilli R, Sammartino G, Grandi G, Felice P. Short implants versus bone augmentation for placing longer implants in atrophic maxillae: One-year post-loading results of a pilot randomised controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2015; 8(3): 257-68.
10. Kuchler U, Chappuis V, Bornstein MM, Siewczyk M, Gruber R, Maestre L, et al. Development of Implant Stability Quotient values of implants placed with simultaneous sinus floor elevation - results of a prospective study with 109 implants. *Clin Oral Implants Res.* 2017; 28(1): 109-15.
11. Hashemi HM. Neurosensory function following mandibular nerve lateralization for placement of implants. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 39(5): 452-6.
12. Merli M, Moscatelli M, Mariotti G, Rotundo R, Nieri M. Autogenous bone versus deproteinised bovine bone matrix in 1-stage lateral sinus floor elevation in the severely atrophied maxilla: a randomised controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2013; 6(1): 27-37.
13. Kotsakis GA, Salama M, Chrepa V, Hinrichs JE, Gaillard P. A randomized, blinded, controlled clinical study of particulate anorganic bovine bone mineral and calcium phosphosilicate putty bone substitutes for socket preservation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014; 29(1): 141-51.

14. Spin-Neto R, Stavropoulos A, Coletti FL, Pereira LA, Marcantonio E, Jr., Wenzel A. Remodeling of cortical and corticocancellous fresh-frozen allogeneic block bone grafts--a radiographic and histomorphometric comparison to autologous bone grafts. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26(7): 747-52.
15. Lutz R, Berger-Fink S, Stockmann P, Neukam FW, Schlegel KA. Sinus floor augmentation with autogenous bone vs. a bovine-derived xenograft - a 5-year retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26(6): 644-8.
16. Esposito M, Grusovin MG, Rees J, Karasoulos D, Felice P, Alissa R, et al. Effectiveness of sinus lift procedures for dental implant rehabilitation: a Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol.* 2010; 3(1): 7-26.
17. Silva GAB, Bertassoli BM, Sousa CA, Albergaria JD, de Paula RS, Jorge EC. Effects of strontium ranelate treatment on osteoblasts cultivated onto scaffolds of trabeculae bovine bone. *J Bone Miner Metab.* 2018; 36(1): 73-86.
18. Su-Gwan K, Hak-Kyun K, Sung-Chul L. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2001; 29(5): 282-8.
19. Mellonig JT. Human histologic evaluation of a bovine-derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20(1): 19-29.
20. Froum SJ, Wallace SS, Cho SC, Elian N, Tarnow DP. Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008; 28(3): 273-81.

21. Hurzeler MB, Kirsch A, Ackermann KL, Quinones CR. Reconstruction of the severely resorbed maxilla with dental implants in the augmented maxillary sinus: a 5-year clinical investigation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996; 11(4): 466-75.
22. Elgali I, Turri A, Xia W, Norlindh B, Johansson A, Dahlin C, et al. Guided bone regeneration using resorbable membrane and different bone substitutes: early histological and molecular events. *Acta Biomater*. 2016; 29: 409-23.
23. Torres J, Tamimi F, Martinez PP, Alkhraisat MH, Linares R, Hernandez G, et al. Effect of platelet-rich plasma on sinus lifting: a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2009; 36(8): 677-87.
24. Shahriari S, Houshmand B, Razavian H, Khazaei S, Abbas FM. Effect of the combination of enamel matrix derivatives and deproteinized bovine bone materials on bone formation in rabbits' calvarial defects. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012; 9(4): 422-6.
25. Jensen T, Schou S, Gundersen HJ, Forman JL, Terheyden H, Holmstrup P. Bone-to-implant contact after maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss and autogenous bone in different ratios in mini pigs. *Clin Oral Implants Res*. 2013; 24(6): 635-44.
26. Huh JB, Yang JJ, Choi KH, Bae JH, Lee JY, Kim SE, et al. Effect of rhBMP-2 immobilized anorganic bovine bone matrix on bone regeneration. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(7): 16034-52.
27. Fernandez RF, Bucchi C, Navarro P, Beltran V, Borie E. Bone grafts utilized in dentistry: an analysis of patients' preferences. *BMC Med Ethics*. 2015; 16(1): 71.
28. Kumar P, Vinitha B, Fathima G. Bone grafts in dentistry. *J Pharm Bioallied Sci*. 2013; 5(Suppl 1): S125-7.

29. Burg KJ, Porter S, Kellam JF. Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2000; 21(23): 2347-59.
30. Ratnayake JTB, Mucalo M, Dias GJ. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2017; 105(5): 1285-99.
31. Zijdeveld SA, Zerbo IR, van den Bergh JP, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a beta-tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005; 20(3): 432-40.
32. de Freitas Silva L, de Carvalho Reis ENR, Barbara TA, Bonardi JP, Garcia IRJ, de Carvalho PSP, et al. Assessment of bone repair in critical-size defect in the calvarium of rats after the implantation of tricalcium phosphate beta (beta-TCP). *Acta Histochem*. 2017; 119(6): 624-31.
33. Lindhe J, Araujo MG, Bufler M, Liljenberg B. Biphasic alloplastic graft used to preserve the dimension of the edentulous ridge: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2013; 24(10): 1158-63.
34. Kato E, Lemler J, Sakurai K, Yamada M. Biodegradation property of beta-tricalcium phosphate-collagen composite in accordance with bone formation: a comparative study with Bio-Oss Collagen(R) in a rat critical-size defect model. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014; 16(2): 202-11.
35. Martinez A, Franco J, Saiz E, Guitian F. Maxillary sinus floor augmentation on humans: Packing simulations and 8 months histomorphometric comparative study of anorganic bone matrix and beta-tricalcium phosphate particles as grafting materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2010; 30(5): 763-9.
36. Trombelli L, Franceschetti G, Stacchi C, Minenna L, Riccardi O, Di Raimondo R, et al. Minimally invasive transcrestal sinus floor elevation with deproteinized

- bovine bone or beta-tricalcium phosphate: a multicenter, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2014; 41(3): 311-9.
37. Macedo RM, Lacerda SA, Thomazini JA, Brentegani LG. Bone integration behavior of hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate graft implanted in dental alveoli: a histomorphometric and scanning electron microscopy study. *Implant Dent*. 2014; 23(6): 710-5.
 38. Frenken JW, Bouwman WF, Bravenboer N, Zijdeveld SA, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period. *Clin Oral Implants Res*. 2010; 21(2): 201-8.
 39. Yang C, Unursaikhan O, Lee JS, Jung UW, Kim CS, Choi SH. Osteoconductivity and biodegradation of synthetic bone substitutes with different tricalcium phosphate contents in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2014; 102(1): 80-8.
 40. Mate-Sanchez de Val JE, Mazon P, Guirado JLC, Ruiz RA, Ramirez Fernandez MP, Negri B, et al. Comparison of three hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate/collagen ceramic scaffolds: an in vivo study. *J Biomed Mater Res A*. 2014; 102(4): 1037-46.
 41. Wang F, Zhou W, Monje A, Huang W, Wang Y, Wu Y. Influence of Healing Period Upon Bone Turn Over on Maxillary Sinus Floor Augmentation Grafted Solely with Deproteinized Bovine Bone Mineral: A Prospective Human Histological and Clinical Trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19(2): 341-50.
 42. Uzeda MJ, de Brito Resende RF, Sartoretto SC, Alves A, Granjeiro JM, Calasans-Maia MD. Randomized clinical trial for the biological evaluation of

- two nanostructured biphasic calcium phosphate biomaterials as a bone substitute. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19(5): 802-11.
43. Carmagnola D, Abati S, Celestino S, Chiapasco M, Bosshardt D, Lang NP. Oral implants placed in bone defects treated with Bio-Oss, Ostim-Paste or PerioGlas: an experimental study in the rabbit tibiae. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19(12): 1246-53.
 44. Shepherd JH, Shepherd DV, Best SM. Substituted hydroxyapatites for bone repair. *J Mater Sci Mater Med*. 2012; 23(10): 2335-47.
 45. Kaufman JM, Audran M, Bianchi G, Braga V, Diaz-Curiel M, Francis RM, et al. Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of osteoporosis in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(2): 592-601.
 46. Chavassieux P, Meunier PJ, Roux JP, Portero-Muzy N, Pierre M, Chapurlat R. Bone histomorphometry of transiliac paired bone biopsies after 6 or 12 months of treatment with oral strontium ranelate in 387 osteoporotic women: randomized comparison to alendronate. *J Bone Miner Res*. 2014; 29(3): 618-28.
 47. Bruyere O, Reginster JY, Bellamy N, Chapurlat R, Richette P, Cooper C, et al. Clinically meaningful effect of strontium ranelate on symptoms in knee osteoarthritis: a responder analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014; 53(8): 1457-64.
 48. Liu AL, Shen PW, Chen PJ. Strontium ranelate in fracture healing and joint pain improvement in a rheumatoid arthritis patient. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2013; 10(3): 206-9.
 49. Joshi A. An investigation of post-operative morbidity following chin graft surgery. *Br Dent J*. 2004; 196(4): 215-8; discussion 1.

50. Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F, Jurdic P. Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone*. 2008; 42(1): 129-38.
51. Hurtel-Lemaire AS, Mentaverri R, Caudrillier A, Cournarie F, Wattel A, Kamel S, et al. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. *J Biol Chem*. 2009; 284(1): 575-84.
52. Caudrillier A, Hurtel-Lemaire AS, Wattel A, Cournarie F, Godin C, Petit L, et al. Strontium ranelate decreases receptor activator of nuclear factor-KappaB ligand-induced osteoclastic differentiation in vitro: involvement of the calcium-sensing receptor. *Mol Pharmacol*. 2010; 78(4): 569-76.
53. Boanini E, Torricelli P, Gazzano M, Della Bella E, Fini M, Bigi A. Combined effect of strontium and zoledronate on hydroxyapatite structure and bone cell responses. *Biomaterials*. 2014; 35(21): 5619-26.
54. Liang W, Li L, Cui X, Tang Z, Wei X, Pan H, et al. Enhanced proliferation and differentiation effects of a CGRP- and Sr-enriched calcium phosphate cement on bone mesenchymal stem cells. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2016; 14(4): e431-e40.
55. Basu B, Sabareeswaran A, Shenoy SJ. Biocompatibility property of 100% strontium-substituted SiO_2 - Al_2O_3 - P_2O_5 - CaO - CaF_2 glass ceramics over 26 weeks implantation in rabbit model: histology and micro-Computed Tomography analysis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015; 103(6): 1168-79.
56. Thormann U, Ray S, Sommer U, Elkhassawna T, Rehling T, Hundgeburth M, et al. Bone formation induced by strontium modified calcium phosphate cement in critical-size metaphyseal fracture defects in ovariectomized rats. *Biomaterials*. 2013; 34(34): 8589-98.

57. Chen Y, Zhou Y, Yang S, Li JJ, Li X, Ma Y, et al. Novel bone substitute composed of chitosan and strontium-doped alpha-calcium sulfate hemihydrate: Fabrication, characterisation and evaluation of biocompatibility. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016; 66: 84-91.
58. Zreiqat H, Ramaswamy Y, Wu C, Paschalidis A, Lu Z, James B, et al. The incorporation of strontium and zinc into a calcium-silicon ceramic for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2010; 31(12): 3175-84.
59. Valiense H, Barreto M, Resende RF, Alves AT, Rossi AM, Mavropoulos E, et al. In vitro and in vivo evaluation of strontium-containing nanostructured carbonated hydroxyapatite/sodium alginate for sinus lift in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016; 104(2): 274-82.
60. Zhao Y, Guo D, Hou S, Zhong H, Yan J, Zhang C, et al. Porous allograft bone scaffolds: doping with strontium. *PLoS One*. 2013; 8(7): e69339.
61. Zhao S, Zhang J, Zhu M, Zhang Y, Liu Z, Tao C, et al. Three-dimensional printed strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for repairing rat critical-sized calvarial defects. *Acta Biomater*. 2015; 12: 270-80.
62. Park JW, Kim YJ, Jang JH. Enhanced osteoblast response to hydrophilic strontium and/or phosphate ions-incorporated titanium oxide surfaces. *Clin Oral Implants Res*. 2010; 21(4): 398-408.
63. Boyd AR, Rutledge L, Randolph LD, Mutreja I, Meenan BJ. The deposition of strontium-substituted hydroxyapatite coatings. *J Mater Sci Mater Med*. 2015; 26(2): 65.
64. Newman SD, Lottibakhshaiesh N, O'Donnell M, Walboomers XF, Horwood N, Jansen JA, et al. Enhanced osseous implant fixation with strontium-substituted bioactive glass coating. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20(13-14): 1850-7.

65. Kang P, Xie X, Tan Z, Yang J, Shen B, Zhou Z, et al. Repairing defect and preventing collapse of femoral head in a steroid-induced osteonecrotic of femoral head animal model using strontium-doped calcium polyphosphate combined BM-MNCs. *J Mater Sci Mater Med*. 2015; 26(2): 80.
66. Henriques Lourenco A, Neves N, Ribeiro-Machado C, Sousa SR, Lamghari M, Barrias CC, et al. Injectable hybrid system for strontium local delivery promotes bone regeneration in a rat critical-sized defect model. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 5098.
67. Cheng D, Liang Q, Li Y, Fan J, Wang G, Pan H, et al. Strontium incorporation improves the bone-forming ability of scaffolds derived from porcine bone. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018; 162: 279-87.
68. Guo JB, Zhu Y, Chen BL, Xie B, Zhang WY, Yang YJ, et al. Surgical versus non-surgical treatment for vertebral compression fracture with osteopenia: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015; 10(5): e0127145.
69. Rabenda V, Reginster JY. Positive impact of compliance to strontium ranelate on the risk of nonvertebral osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2010; 21(12): 1993-2002.
70. Manor Y, Simon R, Haim D, Garfunkel A, Moses O. Dental implants in medically complex patients-a retrospective study. *Clin Oral Investig*. 2017; 21(2): 701-8.
71. Merheb J, Temmerman A, Rasmusson L, Kubler A, Thor A, Quirynen M. Influence of skeletal and local bone density on dental implant stability in patients with osteoporosis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016; 18(2): 253-60.
72. Duraõ SF, Gomes PS, Colaco BJ, Silva JC, Fonseca HM, Duarte JR, et al. The biomaterial-mediated healing of critical size bone defects in the ovariectomized rat. *Osteoporos Int*. 2014; 25(5): 1535-45.

73. Marie PJ, Hott M, Modrowski D, De Pollak C, Guillemain J, Deloffre P, et al. An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats. *J Bone Miner Res.* 1993; 8(5): 607-15.
74. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *New England J Med.* 2004; 350(5): 459-68.
75. Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone.* 1996; 18(6): 517-23.
76. Takahashi N, Sasaki T, Tsouderos Y, Suda T. S 12911-2 inhibits osteoclastic bone resorption in vitro. *J Bone Miner Res.* 2003; 18(6): 1082-7.
77. Maimoun L, Brennan TC, Badoud I, Dubois-Ferriere V, Rizzoli R, Ammann P. Strontium ranelate improves implant osseointegration. *Bone.* 2010; 46(5): 1436-41.
78. Li Y, Feng G, Gao Y, Luo E, Liu X, Hu J. Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats. *J Orthop Res.* 2010; 28(5): 578-82.
79. Li Y, Li X, Song G, Chen K, Yin G, Hu J. Effects of strontium ranelate on osseointegration of titanium implant in osteoporotic rats. *Clin Oral Implants Res.* 2012; 23(9): 1038-44.
80. Huang J-G, Pang L, Chen Z-R, Tan X-P. Dual-delivery of vancomycin and icariin from an injectable calcium phosphate cement-release system for controlling infection and improving bone healing. *Mol Med Reports.* 2013; 8(4): 1221-7.

81. Schlegel KA, Prechtl C, Most T, Seidl C, Lutz R, von Wilmsky C. Osseointegration of SLActive implants in diabetic pigs. *Clin Oral Implants Res.* 2013; 24(2): 128-34.
82. Organization WH. WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. 2011. World Health Organization. 2013.
83. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2· 7 million participants. *Lancet.* 2011; 378(9785): 31-40.
84. Luize DS, Bosco AF, Bonfante S, de Almeida JM. Influence of ovariectomy on healing of autogenous bone block grafts in the mandible: a histomorphometric study in an aged rat model. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008; 23(2): 207-14.
85. da Cunha MR, Gushiken VO, Mardegan Issa JP, Iatecola A, Pettian M, Santos AR, Jr. Osteoconductive capacity of hydroxyapatite implanted into the skull of diabetics. *J Craniofac Surg.* 2011; 22(6): 2048-52.
86. Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(2): 137-43.
87. Arruda T, Sukekava F, de Souza AB, Rasmusson L, Araujo MG. Early healing in alveolar sockets grafted with titanium granules. An experimental study in a dog model. *J Biomed Mater Res A.* 2013; 101(7): 1971-6.
88. Araujo MG, Lindhe J. Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: a 6-month study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(5): 433-40.

89. Spin-Neto R, Stavropoulos A, Coletti FL, Faeda RS, Pereira LA, Marcantonio E, Jr. Graft incorporation and implant osseointegration following the use of autologous and fresh-frozen allogeneic block bone grafts for lateral ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(2): 226-33.
90. Sawada K, Nakahara K, Haga-Tsujimura M, Iizuka T, Fujioka-Kobayashi M, Igarashi K, et al. Comparison of three block bone substitutes for bone regeneration: long-term observation in the beagle dog. *Odontology.* 2018; 106(4): 398-407.
91. Jensen SS, Brogini N, Hjorting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17(3): 237-43.
92. Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T. Deproteinized bovine bone versus beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation surgery: a comparative histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008; 23(5): 935-42.
93. 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.* 2016; 18(5): 926-36.
94. Starch-Jensen T, Aludden H, Hallman M, Dahlin C, Christensen AE, Mordenfeld A. A systematic review and meta-analysis of long-term studies (five or more years) assessing maxillary sinus floor augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018; 47(1): 103-16.
95. Yang F, Yang D, Tu J, Zheng Q, Cai L, Wang L. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone

- formation by activating Wnt/catenin signaling. *Stem Cells*. 2011; 29(6): 981-91.
96. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986; (205): 299-308.
97. Saidak Z, Marie PJ. Strontium signaling: molecular mechanisms and therapeutic implications in osteoporosis. *Pharmacol Ther*. 2012; 136(2): 216-26.
98. Lin K, Xia L, Li H, Jiang X, Pan H, Xu Y, et al. Enhanced osteoporotic bone regeneration by strontium-substituted calcium silicate bioactive ceramics. *Biomaterials*. 2013; 34(38): 10028-42.
99. Hao J, Acharya A, Chen K, Chou J, Kasugai S, Lang NP. Novel bioresorbable strontium hydroxyapatite membrane for guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res*. 2015; 26(1): 1-7.
100. Gallacher SJ, Dixon T. Impact of treatments for postmenopausal osteoporosis (bisphosphonates, parathyroid hormone, strontium ranelate, and denosumab) on bone quality: a systematic review. *Calcif Tissue Int*. 2010; 87(6): 469-84.
101. Boanini E, Torricelli P, Fini M, Bigi A. Osteopenic bone cell response to strontium-substituted hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med*. 2011; 22(9): 2079-88.
102. Suleimenova D, Hashimi SM, Li M, Ivanovski S, Mattheos N. Gene expression profiles in guided bone regeneration using combinations of different biomaterials: a pilot animal study. *Clin Oral Implants Res*. 2017; 28(6): 713-20.

103. Gentleman E, Fredholm YC, Jell G, Lotfibakhshaiesh N, O'Donnell MD, Hill RG, et al. The effects of strontium-substituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro. *Biomaterials*. 2010; 31(14): 3949-56.
104. Marie PJ, Felsenberg D, Brandi ML. How strontium ranelate, via opposite effects on bone resorption and formation, prevents osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2011; 22(6): 1659-67.
105. Peng S, Zhou G, Luk KD, Cheung KM, Li Z, Lam WM, et al. Strontium promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through the Ras/MAPK signaling pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2009; 23(1-3): 165-74.
106. Romer P, Desaga B, Proff P, Faltermeier A, Reicheneder C. Strontium promotes cell proliferation and suppresses IL-6 expression in human PDL cells. *Ann Anat*. 2012; 194(2): 208-11.
107. Li X, Zhou ZY, Zhang YY, Yang HL. IL-6 Contributes to the Defective osteogenesis of bone marrow stromal cells from the vertebral body of the glucocorticoid-induced osteoporotic mouse. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0154677.
108. (EMA). EMA (2005) Initial marketing authorization document Scientific Discussion. 2005, <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation/pre-authorisation-guidance>, acessado em 05/08/2019
109. Stavropoulos A, Wikesjo UM. Influence of defect dimensions on periodontal wound healing/regeneration in intrabony defects following implantation of a bovine bone biomaterial and provisions for guided tissue regeneration: an experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(6): 534-43.
110. Stavropoulos A, Kostopoulos L, Nyengaard JR, Karring T. Fate of bone formed by guided tissue regeneration with or without grafting of Bio-Oss or

- Biogran. An experimental study in the rat. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(1): 30-9.
111. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(3): 369-72.
112. Schlegel AK, Donath K. BIO-OSS--a resorbable bone substitute? J long-term effects med implants. 1998; 8(3-4): 201-9.
113. Yamada M, Egusa H. Current bone substitutes for implant dentistry. *J Prosthodont Res.* 2018; 62(2): 152-61.
114. Morohashi T, Sano T, Harai K, Yamada S. Effects of strontium on calcium metabolism in rats. II. Strontium prevents the increased rate of bone turnover in ovariectomized rats. *Jpn J Pharmacol.* 1995; 68(2): 153-9.
115. Verberckmoes SC, De Broe ME, D'Haese PC. Dose-dependent effects of strontium on osteoblast function and mineralization. *Kidney Int.* 2003; 64(2): 534-43.
116. Tovar N, Jimbo R, Gangolli R, Perez L, Manne L, Yoo D, et al. Evaluation of bone response to various anorganic bovine bone xenografts: an experimental calvaria defect study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014; 43(2): 251-60.
117. Carmo A, Sartoretto SC, Alves A, Granjeiro JM, Miguel FB, Calasans-Maia J, et al. Alveolar bone repair with strontium- containing nanostructured carbonated hydroxyapatite. *J Appl Oral Sci.* 2018; 26: e20170084.

118. Komm BS, Morgenstern D, L AY, Jenkins SN. The safety and tolerability profile of therapies for the prevention and treatment of osteoporosis in postmenopausal women. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2015; 8(6): 769-84.
119. Schrooten I, Behets GJ, Cabrera WE, Vercauteren SR, Lamberts LV, Verberckmoes SC, et al. Dose-dependent effects of strontium on bone of chronic renal failure rats. *Kidney Int*. 2003; 63(3): 927-35.
120. Li J, Yang L, Guo X, Cui W, Yang S, Wang J, et al. Osteogenesis effects of strontium-substituted hydroxyapatite coatings on true bone ceramic surfaces in vitro and in vivo. *Biomed Mater*. 2017; 13(1): 015018.