



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

EDUARDO DALLAZEN

**Avaliação comparativa entre Endobon® e enxerto
autógeno em seio maxilar humano:
análise histomorfométrica, imunohistoquímica e Micro-CT**

**Araçatuba
2022**

EDUARDO DALLAZEN

**Avaliação comparativa entre Endobon® e enxerto
autógeno em seio maxilar humano:
análise histomorfométrica, imunohistoquímica e Micro-CT**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial).

Orientador: Prof. Associado Eduardo Hochuli-Vieira

Coorientador: Dr. Rodrigo dos Santos Pereira

**Araçatuba
2022**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

D136a Dallazen, Eduardo.
Avaliação comparativa entre Endobon® e enxerto
autógeno em seio maxilar humano: análise
histomorfométrica, imunohistoquímica e Micro-CT /
Eduardo Dallazen. – Araçatuba, 2022
63 f. : il.; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Eduardo Hochuli-Vieira.
Coorientador: Prof. Rodrigo dos Santos Pereira

1. Seio maxilar 2. Transplante ósseo
3. Imuno-histoquímica I. T.

Black D7
CDD 617.64

Ana Claudia M. Grieger Manzatti CRB-8/6315

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, bem mais precioso cedido por Deus, alicerce e porto seguro para que os sonhos profissionais se realizem.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus por permitir minha existência e pelas bênçãos que são constantes em minha vida. A fé deu sentido ao trabalho e fez com que ele fosse executado com amor ao próximo.

Ao meu orientador Prof. Ass. Eduardo Hochuli-Vieira, pela honra de poder ser orientado por um dos maiores nomes da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial do nosso país. Agradeço por ter confiado em mim para realizar essa pesquisa e estar sempre disponível para me mostrar o melhor caminho a ser seguido durante o mestrado. Tenho profunda admiração pela qualidade e ética com que conduz seus trabalhos. Além disso é uma pessoa de caráter ímpar com quem desejo continuar trabalhando em todas as oportunidades que a vida me der.

Ao Prof. Ass. Leonardo Perez Faverani que me acolheu desde os primeiros dias em Araçatuba, considerando-me como amigo, sempre estando à disposição para me ajudar profissional e pessoalmente em tudo que precisei durante o mestrado. A excelência na pesquisa, no ensino e no atendimento clínico só é conquistada por aqueles que se dedicam ao máximo e posso dizer seguramente que o senhor é exemplo de dedicação para com todos que o cercam.

Ao Dr. Rodrigo Santos Pereira por idealizar e coorientar minha dissertação estando sendo disponível para auxiliar o desenvolvimento das etapas deste trabalho

À Prof^a. Roberta Okamoto por todo apoio concedido disponibilizando todo suporte humano e material para o desenvolvimento deste trabalho além de representar uma fonte conhecimento inigualável.

Ao Dr. Raphael Capelli Guerra e Dr. Elton Carlos Pichotano por darem suporte as etapas clínicas desenvolvidas nesse trabalho e serem cirurgiões de referência na Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial brasileira.

À toda família Dallazen e Garcia por me apoiar em todos os momentos e, entendendo os momentos que me ausentei do convívio familiar. Sendo necessários infinitos agradecimentos a meu pai e exemplo profissional Paulo Miguel Dallazen, minha mãe Neusa Maria Garcia Dallazen que é exemplo de dedicação e carinho e meus irmãos que tanto me incentivam, Guilherme Dallazen, Paula Ângela Dallazen e

Gisele Dallazen, bem como seus atuais esposos e esposa Aline Del Pintor Dallazen, Jair Biatto e Sandro Augusto Bernardo.

À minha namorada Mariana Elias Queiroz pelos momentos de amor e companheirismo nos últimos 10 anos que nos fazem seguir na mesma direção. Compartilhar meus sonhos contigo faz com que eles tornem realidade com mais facilidade. Ter você do meu lado durante o mestrado deixou ele mais leve pois em todas as dificuldades você estava do meu lado me dando apoio e incentivo.

Aos meus amigos da pós-graduação Anderson Maikon de Souza Santos, Cristian Statkiewicz, Bruno Coelho Mendes, Tiburtino José de Lima Neto, Willian Phillip, Leonardo Delanora, Barbara Rios, Matheus Paveski, Stefany Barbosa, João Matheus Fonseca e Santos, Mirela Carolina Silva que convivendo pude admirar pelo profissionalismo e dedicação, meus sinceros agradecimentos pelo compartilhamento de conhecimento.

Aos alunos de iniciação científica Gabriela Baccaro, Mileni Buzo, Victor Perinazzo Sachi, Natália Pereira Ribeiro, Monique Gonçalves, Iago Guerra, Gustavo Ribeiro, Leticia Carpaneji Paludetto que foram fundamentais para o desenvolvimento dos trabalhos executados durante o mestrado.

Aos professores do departamento de diagnóstico e cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, em especial a **Prof^a. Ana Paula Franezi Bassi** por ser um grande exemplo profissional e por todo conhecimento compartilhado durante os anos de mestrado. **Ao Prof. Francisley Ávila Souza**, por todo o acolhimento e suporte nesse período. **Ao Prof. Osvaldo Magro Filho**, pela oportunidade de aprender tanto sobre a cirurgia ortognática com este profissional que zela pelo paciente nos mínimos detalhes. **Ao Prof. Idelmo Rangel Garcia Júnior**, pela honra de desfrutar dos seus conhecimentos. **À Prof^a. Daniela Ponzoni**, que com seu jeito calmo e acolhedor sempre me ajudou nesta jornada. **À Prof^a. Alessandra Marcondes Aranega**, que me mostrou que o trabalho, quando feito com amor, é sempre maravilhoso.

Aos funcionários do departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Marco Ianner, Paulo Gratão, Renato Oliveira e Fausto Canuto pelo apoio e orientação nas etapas laboratoriais deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Multiusuário em especial o técnico em microtomografia **Paulo Henrique** que foi fundamental para o desenvolvimento dessa análise. Através desses estendo meu agradecimento a todos os funcionários desta maravilhosa instituição (FOA – Unesp), que sempre me receberam com carinho e me ajudaram incansavelmente, em especial

Aos funcionários e colaboradores das instituições parceiras (Santa Casa de Misericórdia de Araçatuba, Hospital da Unimed Araçatuba, Hospital da Unimed Birigui.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, na pessoa do diretor **Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara**, pelo acolhimento e por proporcionar meu aprendizado durante o curso de Mestrado e pela oportunidade de poder carregar o brasão desta instituição histórica e fundamental para a Cirurgia Buco-maxilo-facial.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia desta faculdade, que na pessoa do seu coordenador, o **Prof. Dr. Wirley Gonçalves Assunção**, não mede esforços para manter esta faculdade no seu patamar de direito. Aproveito para estender meus agradecimentos às funcionárias desta pós-graduação, **Cristiane Regina Lui Matos, Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto, Lilian Sayuri Mada, Eduardo Moure Cícero, Camila de Abreu Rodrigues Rosa**, que sempre me atenderam com muita gentileza e solucionaram todos os meus problemas e as minhas dúvidas com muita eficiência.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela disponibilidade e atenção.

Aos pacientes os quais tratei durante o mestrado e em especial aos que participaram da pesquisa, pois buscando saúde contribuíram para que a ciência fosse desenvolvida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001 – pelo acreditar nos pesquisadores brasileiros e me incentivar por meio de bolsa de estudo nos primeiros meses do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) que deu fomento a essa pesquisa na qualidade de bolsa de Mestrado no Processo nº 2020/06626-2.

“Eu sou parte de uma equipe. Então, quando venço, não sou eu apenas quem vence. De certa forma termino o trabalho de um grupo enorme de pessoas.”

Ayrton Senna

DALLAZEN, E. **Avaliação comparativa entre Endobon® e enxerto autógeno em seio maxilar humano: análise histomorfométrica, imunohistoquímica e Micro-CT.** 62 f. 2022. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2022.

RESUMO

A reabsorção óssea progressiva e a pneumatização do seio maxilar podem impedir a instalação de implantes dentais e a reabilitação protética na região posterior da maxila. Técnicas cirúrgicas para a elevação da membrana sinusal e utilização de enxertos possibilitam a reconstrução óssea desta região. O enxerto ósseo autógeno representa o padrão ouro para reconstrução de áreas com defeitos ósseos devido suas propriedades osteogênicas, osteoindutoras e osteocondutoras. No entanto, por necessitar de outro sítio cirúrgico, biomateriais, tais como a hidroxiapatita derivada da cortical óssea bovina, estão sendo usadas como substituto ósseo com resultados promissores. O Endobon® representa uma opção de biomaterial com características moleculares semelhantes ao osso medular humano. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar prospectivamente o comportamento e a dinâmica do reparo ósseo do Endobon®, adicionado ou não ao osso autógeno em uma proporção de 1:1 após a realização de enxertia da região posterior de maxila pela técnica de elevação da membrana do seio maxilar em humanos. Foram incluídos 22 pacientes que totalizaram 34 seios maxilares submetidos a enxertia utilizando os três tipos de enxerto ósseo propostos nesse estudo, sendo eles Endobon® puro (END), Endobon® mais enxerto ósseo autógeno (END+AUT) e enxerto autógeno puro (AUT). Após 6 meses da enxertia foram realizadas biópsias da região enxertada e essas passaram por processamento para serem realizadas análises histomorfométrica para calcular a porcentagem de osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente e análises imunohistoquímica e por microtomografia computadorizada (Micro-CT). Na análise histomorfométrica foi observado 49,9% de osso neoformado no grupo AUT com diferença estatística para o grupo END+AUT que apresentou 33,2% de neoformação óssea ($P < 0,05$). Não foram observadas outras diferenças estatísticas na análise histomorfométrica. Analisando grupo END+AUT foi observado sinais histológicos e imunohistoquímicos compatíveis com menor neoformação óssea, além disso esse grupo não apresentou diferenças na Micro-CT comparado ao grupo END. Desta forma, o uso isolado do

biomaterial deve ser considerado para ganho ósseo na região posterior de maxila por meio da técnica de elevação da membrana do seio maxilar, visto que a utilização do Endobon® puro não apresentou diferenças para o grupo controle (AUT).

Palavras-chave: Seio maxilar. Transplante ósseo. Imuno-histoquímica.

DALLAZEN, E. **Comparative evaluation between Endobon® and autogenous graft in human maxillary sinus: histomorphometric, imunohistochemical and Micro-CT analyze.** 62 f. 2022. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2022.

ABSTRACT

The progressive bone resorption and pneumatization of the maxillary sinus can prevent the placement of dental implants and prosthetic rehabilitation in the posterior region of the maxilla. Surgical techniques for sinus membrane elevation and use of grafts allow bone reconstruction of this region. Autogenous bone graft represents the gold standard for reconstruction of areas that show bone defects due to its osteogenic, osteoinductive and osteoconductive properties. However, due to the need for a second surgical site, biomaterials, such as hydroxyapatite derived from bovine cortical bone, are being used as a bone substitute with promising results. Endobon® represents a biomaterial option that has molecular characteristics similar to human medullary bone. Therefore, the objective of this study was to prospectively evaluate the behavior and dynamics of Endobon® bone repair, added or not to autogenous bone in a 1:1 ratio after grafting the posterior region of the maxilla by the membrane elevation technique of the human maxillary sinus. Twenty-two patients were included, totaling 34 maxillary sinuses undergoing grafting using the three types of bone graft proposed in this study: Endobon® (END), Endobon® plus autogenous bone graft (END+AUT) and pure autogenous graft (AUT). After 6 months of grafting, biopsies of the grafted region were performed and these underwent processing in order to allow the histomorphometric analysis to calculate the percentage of newly formed bone, connective tissue and remaining biomaterial, the immunohistochemical analysis and the computed microtomography (Micro-CT). In the histomorphometric analysis, 49.9% of new bone formation was observed in the AUT group, with a statistical difference from the END+AUT group, which presented 33.2% of new bone formation ($p < 0.05$). No other statistical differences were observed in the histomorphometric analysis. Analyzing the END+AUT group, histological and immunohistochemical signs of less bone neoformation were observed. This group did not show differences in Micro-CT compared to the END group. Thus, the isolated use of the biomaterial should be considered for bone gain in the posterior region of the

maxilla using the maxillary sinus membrane elevation technique, since the use of pure Endobon® showed no differences for the control group (AUT)

Keywords: Maxillary sinus. Bone transplantation. Immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Visão geral de um espécime biopsiado do seio maxilar enxertado com osso autógeno, demonstrando as três regiões estudadas (ASM, assoalho do seio maxilar); corado com HE, magnificação de 12,5x. 31

FIGURA 2 - Cortes histológicos observados em uma visão panorâmica (acima) exemplificando a região que está sendo observada nas imagens com aumento de 20x (abaixo) corados com hematoxilina e eosina. A. Imagens histológicas do grupo AUT evidenciando tecido ósseo lamelar com osteócitos dispostos em camadas (▪) e presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→). B. Imagens histológicas do grupo END evidenciando presença de tecido ósseo lamelar com osteócitos dispostos em camadas (▪), biomaterial remanescente marcado pela ausência de núcleos celulares (●) e presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→). C. Imagens histológicas do grupo END+AUT evidenciando tecido ósseo imaturo sem disposição em camadas dos osteócitos (+), maior presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→), biomaterial remanescente marcado pela ausência de núcleos celulares (●) e tecido conjuntivo altamente celularizado (◇). 36

FIGURA 3 - Gráfico comparando a média de porcentagem de tecido ósseo neoformado nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais AUT, END e END+AUT. 38

FIGURA 4 - Gráfico comparação a média de porcentagem de tecido conjuntivo nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais AUT, END e END+AUT. 38

FIGURA 5 - Gráfico comparando a média de porcentagem de biomaterial remanescente nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais END e END+AUT. 39

FIGURA 6. Gráfico comparando as médias gerais de osso neoformado entre os grupos experimentais AUT, END e END+AUT. 40

FIGURA 7 - Gráfico comparando as médias gerais de tecido conjuntivo entre os grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	40
FIGURA 8 - Gráfico comparando as médias gerais de biomaterial remanescente entre os grupos experimentais END e END+AUT.	41
FIGURA 9 - Cortes histológicos corados com Hematoxilina de Harris mostrando marcação positiva de RUNX-2 nos grupos AUT (discreta), END (moderada) e END+AUT (discreta).	42
FIGURA 10 - Cortes histológicos corados com Hematoxilina de Harris mostrando marcação positiva de Osteocalcina nos grupos AUT (moderada), END (moderada) e END+AUT (moderada). Neoformação óssea mais delgada nos grupos END e END+AUT.	43
FIGURA 11 - Gráfico comparando as porcentagens de BV/TV dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	44
FIGURA 12 - Gráfico comparando as porcentagens de Tb.Th dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	44
FIGURA 13 - Gráfico comparando as porcentagens de Tb.N dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	45
FIGURA 14 - Gráfico comparando as porcentagens de Tb.Sp dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	45
FIGURA 15 - Imagens representativas da Micro-CT com cortes axiais superiormente e reconstruções 3D em uma visualização trans sagital abaixo. A. Micro-CT do grupo AUT evidenciando maior espessura e distanciamento das trabéculas comparado com os demais grupos. B. Micro-CT do grupo END evidenciando maior número de trabéculas, com menor espessura e distanciamento quando comparado ao grupo AUT. Também é possível observar os grânulos de biomaterial remanescente bem demarcados por uma coloração mais esbranquiçada. C. Micro-CT do grupo END+AUT evidenciando maior número de trabéculas, com menor espessura e distanciamento quando comparado ao grupo AUT. Também é possível observar os grânulos de biomaterial remanescente bem demarcados por uma coloração mais esbranquiçada.	50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Média e desvio padrão da porcentagem geral e por região de tecido ósseo neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente de acordo com os grupos experimentais	37
TABELA 2 - Scores de imunomarcacão referentes as proteínas RUNX-2 e osteocalcina para os grupos experimentais AUT, END e END+AUT.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA 1 fator Análise de variância a um fator

AUT Autógeno

BV/TV Porcentagem de volume ósseo

EDTA Ácido etileno tetra-acético

END Endobon®

HE Hematoxilina e Eosina

Micro-Ct Microtomografia Computadorizada

RUN-X Runt-related transcription factor 2

Tb.N Número de trabéculas

Tb.Sp Separação das trabéculas

Tb.Th Espessura trabecular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.1	Ética do Estudo	26
2.2	Tamanho da Amostra	26
2.3	Determinação dos Grupos	26
2.4	Randomização	27
2.5	Cegamento	27
2.6	Crítérios de Inclusão e Exclusão	28
2.7	Procedimento Cirúrgico	28
2.7.1	Coleta do Osso Autógeno	28
2.7.2	Elevação da Membrana do Seio Maxilar e Enxertia do Soalho do Seio Maxilar	29
2.8	Análises Clínicas e Experimentais	30
2.8.1	Análise por Microtomografia Computadorizada (Micro-CT)	30
2.8.2	Análise Histomorfométrica	30
2.8.3	Análise Imunohistoquímica	32
2.9	Análise Estatística	33
3.	RESULTADOS	35
3.1	Análise Qualitativa e Histomorfométrica	35
3.2	Análise Imunohistoquímica	41
3.3	Análise por Micro-CT	43
4.	DISCUSSÃO	46
5.	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	62

1 INTRODUÇÃO

Atualmente os procedimentos envolvendo a instalação de implantes dentais são amplamente empregados para restaurar a oclusão dentária. Entretanto, a reabsorção óssea progressiva e a pneumatização do seio maxilar em regiões desdentadas da porção posterior da maxilla representam um desafio relacionado a dificuldade de reabilitação oral utilizando implantes dentários.¹⁻³ A técnica para ganho ósseo da região posterior da maxila realizando a elevação da membrana do seio maxilar por meio de janela lateral desenvolvida por Tatum Jr⁴ e descrita por Boyne e James⁵ é uma forma de solucionar este problema. Por meio dessa técnica é possível aumentar a altura óssea alveolar antes ou em conjunto a instalação de implantes dentais.

Durante muito tempo os enxertos autógenos foram considerados mais adequados para este fim, devido suas propriedades osteogênicas, osteoindutoras e osteocondutoras que proporcionam boa qualidade de osso neoformado e alta taxa de sucesso dos implantes instalados nessas áreas, como descrito em inúmeras revisões.⁶⁻¹³ Contudo, deve-se considerar que esse tipo de enxerto apresenta reabsorção imprevisível, de até 74%, e necessita de outro sítio cirúrgico para sua coleta, o que promove grande morbidade ao paciente.^{7,14} Com o intuito de simplificar a técnica cirúrgica, sem a necessidade de uma área doadora, inúmeros substitutos ósseos estão sendo utilizados. Esses materiais são capazes de promover a maturação óssea para suportar implantes dentais, mesmo apresentando apenas propriedades osteocondutoras. Além disso a possibilidade de utilizar biomaterias que assegurem neoformação óssea de qualidade é benéfica para os pacientes e cirurgiões, visto que exclui ou diminui a necessidade de coleta de osso autógeno, proporciona um procedimento menos invasivo e reduz o tempo operatório.¹⁵⁻¹⁹ Idealmente o biomaterial deve apresentar características biológicas de biocompatibilidade, promover atração de células osteogênicas, aderir ao osso do hospedeiro, apresentar porosidade com interconectividade permitindo a migração celular, não ser antigênico e compartilhar carga mecânica com o osso do hospedeiro durante o processo de reparo e remodelação óssea.²⁰

Dentre os xenoenxertos ósseos disponíveis comercialmente, o Bio-Oss, uma hidroxiapatita derivada da cortical óssea bovina (Geistlich Pharma AG, Wolhusen,

Suíça), apresenta ótima morfologia segundo as características apresentadas, além de apresentar taxas de sucesso com implantes instalados em seios maxilares enxertados variando de 94,9% a 100%, independente do tamanho das partículas utilizadas.²¹⁻²⁵ Um outro estudo comparativo realizado por Lutz et al.²³ mostrou não existir diferença estatística na sobrevida dos implantes instalados em seio maxilares enxertados com osso autógeno ou utilizando Bio-Oss, em um acompanhamento de 5 anos. Outra hidroxiapatita de origem bovina existente é o Endobon® (Biomet 3i – São Paulo – Brasil). Esse biomaterial oferece osteocondutividade e microporosidade com interconectividade que facilitam o crescimento ósseo, semelhante ao osso medular humano.²⁶ Esse material pode ser aplicado na ortopedia e cirurgia maxilofacial para o tratamento de fraturas ósseas, cistos ósseos, artrodeses e tumores ósseos.²⁷ Todavia, não existem muitos estudos sobre o comportamento biológico do reparo ósseo utilizando este biomaterial na recuperação da altura óssea do seio maxilar.

Outro ponto a ser considerado é a proposta de alguns autores de incorporar osso autógeno a biomateriais com a finalidade de adicionar fatores de crescimento e melhorar a reparação óssea.^{18,28} Tal prática leva em conta o fato de alguns substitutos ósseos não possuírem características ideais de osteocondução e resistência estrutural, podendo influenciar na qualidade da osseointegração a longo prazo.²⁹ Uma revisão sistemática atual mostra que não há diferença entre utilizar enxerto de osso autógeno, enxerto de osso autógeno misturado a biomateriais e puramente biomateriais em levantamento de seio maxilar, quando se leva em consideração a taxa de sobrevida dos implantes.¹⁹ Contudo, estudos recentes evidenciaram que a mistura entre enxerto autógeno e biomaterial atrasa o reparo ósseo no seio maxilar após 6 meses quando utilizado o beta-tricálcio fosfato e o Bio-Oss.^{30,31} Tendo em vista a variedade de marcas comerciais que utilizam hidroxiapatita derivada do córtex bovino e a necessidade de estudos que esclareçam os eventos biológicos envolvidos com o reparo ósseo promovido por esses materiais, o delineamento de um estudo clínico prospectivo é essencial para que o profissional possa conduzir o tratamento dos pacientes baseado nas evidências científicas e indicar aquele que promoverá o melhor reparo frente às condições clínicas do paciente.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar prospectivamente o comportamento e a dinâmica do reparo ósseo do Endobon®, adicionado ou não ao osso autógeno em uma proporção de 1:1, após a realização de enxertia da região posterior de maxila pela técnica de elevação da membrana do seio maxilar em humanos.

A hipótese nula do estudo é que o Endobon® puro ou associado ao osso autógeno não apresentará diferença na neoformação óssea quando comparado com enxertos exclusivamente autógenos.

MATERIAIS E MÉTODOS

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Ética do Estudo

O presente estudo clínico prospectivo, randomizado e duplo cego, foi desenhado de acordo com as declarações do CONSORT *guidelines*³² e seguiu os princípios éticos para pesquisas médicas envolvendo humanos contidos na Declaração de Helsinque.³³ Para que este estudo fosse enquadrado nos Princípios Éticos para estudos clínicos em humanos, o projeto foi enviado e obteve o parecer consubstanciado favorável (ANEXO A) da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), por meio da Plataforma Brasil, e do Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP sob o número 34781120.0.0000.5420. Após deliberação favorável, os voluntários catalogados na seção de triagem da Faculdade de Odontologia de Araçatuba foram convidados à clínica de cirurgia oral para avaliação. Aqueles que tinham os requisitos da pesquisa foram convidados e, os que aceitaram, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido junto aos autores da pesquisa.

2.2 Tamanho da Amostra

O número de seios maxilares a serem estudados em cada grupo foi determinado pelo *power test* realizado no website <http://www.lee.dante.br> e baseado em estudos prévios.³⁴ A diferença na média detectada foi de 15,1, com desvio padrão de 9,9, o nível de significância adotado foi de 5%, o poder do teste foi atribuído a 80% e foi conduzido na forma monocaudal. De acordo com o teste realizado, foi determinada a alocação de 10 seios maxilares para cada grupo.

2.3 Determinação dos Grupos

Os pacientes selecionados deveriam totalizar no mínimo 30 seios maxilares distribuídos da seguinte forma:

Grupo 1 – 10 seios maxilares enxertados com Endobon® (END)

Grupo 2 – 10 seios maxilares enxertados com Endobon® associado a osso autógeno na proporção de 1:1 (END+AUT)

Grupo 3 – 10 seios maxilares enxertados exclusivamente com osso autógeno (AUT)

2.4 Randomização

A seleção de qual material ou associação que representa cada grupo (1, 2 ou 3) foi previamente determinada por sorteio em envelopes. O grupo END foi representado pelos números de 1 a 10, o grupo END+AUT foi representado pelos números de 11 a 20 e o grupo AUT foi representado pelos números de 21 a 30. Na sequência por meio do site www.randomizer.org realizamos a randomização da sequência de material de enxertia utilizado para cada seio maxilar. Dessa forma, seguindo o que foi descrito, a divisão dos materiais foi realizada por seio maxilar. Sendo assim este estudo não foi desenhado como “boca-dividida”, visto que os pacientes que tivessem necessidade de enxertos bilatareis poderiam receber o mesmo tipo de enxerto, se assim determinasse o sorteio.

2.5 Cegamento

Nesse estudo não foi possível impedir que o cirurgião tivesse conhecimento sobre o tipo de enxerto utilizado em cada caso, visto que o mesmo também foi responsável pela coleta do enxerto autógeno e, em alguns casos, sua manipulação e associação com o biomaterial previamente a inserção no leito receptor. No entanto, os pacientes não tiveram conhecimento sobre qual grupo pertenciam e aqueles que foram submetidos a remoção de enxerto ósseo autógeno não sabiam se esse iria ser utilizado isoladamente ou em conjunto com o biomaterial. Além disso, o pesquisador responsável pelas análises histomorfométricas, imunohistoquímicas e por Micro-CT não teve conhecimento sobre qual grupo pertenciam as amostras. Dessa forma o estudo pode ser caracterizado como duplo cego.

2.6 Critérios de Inclusão e Exclusão

Para esse estudo a idade e o gênero dos pacientes não representaram critérios de inclusão ou exclusão. Foram convidados voluntários com atrofia do rebordo alveolar da região posterior da maxila, com altura óssea de 5mm ou inferior, com necessidade de aumento do soalho do seio maxilar e que desejavam ser reabilitados com implantes dentais em duas etapas. Os critérios de exclusão desse estudo foram: pacientes com comprometimentos sistêmicos não controlados, pacientes com discrasias sanguíneas, gestantes, pacientes com problemas periodontais não tratados, pacientes realizando tratamento com medicações que interferem no metabolismo ósseo, pacientes com patologias sinusais, tabagistas, irradiados na região da cabeça ou pescoço, com a presença de raízes residuais no seio maxilar ou que possuísem volume ósseo inadequado no ramo ou mento mandibular para coleta do enxerto ósseo autógeno. Foi requisitado uma radiografia panorâmica e quando necessário uma tomografia computadorizada de feixe cônico da maxila e da mandíbula para avaliar os requisitos propostos.

2.7 Procedimento Cirúrgico

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia local com mepivacaína associado à adrenalina 1:100.000 (DFL – Jacarepaguá/RJ).

2.7.1 Coleta do Osso Autógeno

Todos os enxertos autógenos foram coletados da região mentoniana utilizando trefina coletora com particulador acoplado. Este método substitui a necessidade de particular o enxerto após a sua remoção. Para isso foi realizado acesso na região sinfisária por meio de incisão com uma lâmina de bisturi número 15 na mucosa labial inferior estendendo-se de canino a canino e deixando uma faixa de mucosa aderida à gengiva. Com a visualização dos músculos mentuais, a lâmina foi inclinada em direção ao osso e realizou-se nova incisão até o periósteo. Depois, com um descolador Molt número 9, o osso da região foi exposto. Seguindo o que foi descrito por Noia et al.³⁵ e Misch³⁶ delimitou-se a região de coleta, respeitando a distância de 5mm abaixo das raízes dentárias superiormente, acima da

protuberância mentoniana inferiormente e entre as raízes dos caninos lateralmente. Foram realizadas as coletas por meio de trefina coletora de osso de 6mm de diâmetro (Harte Precision Grip® - Ribeirão Preto/BR). Esse procedimento foi realizado para os grupos END+AUT e AUT, os quais utilizaram enxerto autógeno misturado com o Endobon® ou então aplicado isoladamente

2.7.2 Elevação da Membrana do Seio Maxilar e Enxertia do Soalho do Seio Maxilar

O acesso ao seio maxilar foi realizado de acordo com a técnica preconizada por Boyne e James.⁵ Com uma lâmina número 15 acoplada a um cabo de bisturi, uma incisão crestal foi realizada no osso maxilar para exposição da parede óssea lateral. Com uma broca diamantada esférica número 8 sob irrigação copiosa com soro fisiológico 0.9%, uma fenestração foi feita para acesso à membrana do seio maxilar e elevadores de membrana foram utilizados para o cuidadoso processo de elevação da mesma onde, a seguir, o local foi enxertado com o enxerto ósseo proposto. Na sequência o enxerto foi recoberto por uma membrana de colágeno reabsorvível (Lumina-Coat Criteria – São Carlos/Brasil) com a finalidade de impedir a migração epitelial tecidual através da janela óssea.

As suturas das feridas foram realizadas com fio absorvível de poligalactina 4.0. Durante a primeira semana os pacientes foram medicados com 500 mg de dipirona sódica 4 vezes ao dia para analgesia, se necessário e, 500 mg de amoxicilina 3 vezes ao dia para reduzir as chances de infecção.

Após 6 meses de reparo ósseo, foram realizadas tomografias de feixe cônico da região enxertada para que fossem realizadas a aferição da quantidade óssea resultante da enxertia e seleção dos implantes a serem instalados. Além disso, a partir das tomografias, foram confeccionados guias cirúrgicos por meio do addon OrtogOnBlender desenvolvido para o software digital Blender (Blender Foundation - Amsterdã/NLD). Esses guias auxiliaram o direcionamento da região a ser biopsiada, visto que essa também determinou o direcionamento do implante. Foram realizadas coletas do material enxertado com brocas trefinas, de 2,0 mm de diâmetro interno por 15 mm de comprimento (Harte Precision Grip® - Ribeirão

Preto/BR). A seguir, os espécimes foram acondicionados em solução de formalina tamponada 10%, PH = 7, por 48 horas mantendo a orientação apico-coronal.

2.8 Análises Clínicas e Experimentais

Desfecho primário: nesse estudo a porcentagem de tecido ósseo neoformado encontrado na histomorfometria representou o desfecho primário.

Desfecho secundário: os resultados da histomorfometria quanto porcentagem de tecido conjuntivo, biomaterial remanescente, bem como os resultados das análises imunohistoquímica e por Micro-CT complementam os resultados da histomorfometria óssea e foram considerados como desfecho secundário.

2.8.1 Análise por Microtomografia Computadorizada (Micro-CT)

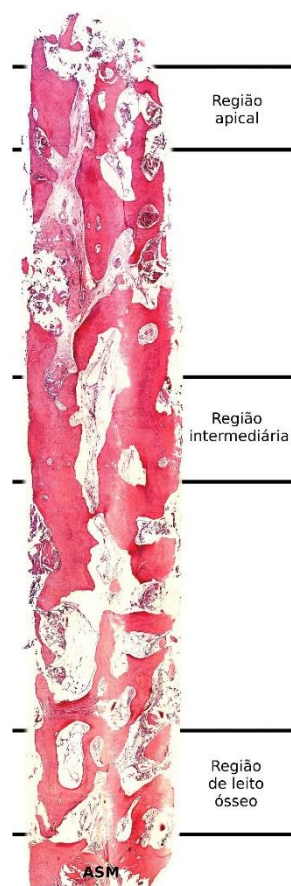
As biópsias armazenadas em solução de formalina a 10% foram lavadas em água corrente por 24 horas e acondicionadas em álcool a 70% mantendo a orientação apico-coronal. Os espécimes foram escaneados em um microtomógrafo (SkyScan – Kontich, Belgium) do Laboratório Multiusuário da Faculdade de Odontologia de Araçatuba na posição horizontal, conectadas aos tubos do próprio dispositivo e cortados em uma espessura de 8,74 μm com um raio-x apresentando 50 kV e 500 μA de corrente seguindo as recomendações de Pereira et al.³⁷ O filtro utilizado foi de alumínio (0,5 mm) em um meio úmido. As imagens foram então reconstruídas utilizando o software NRecon (v1.6.9.8) (SkyScan – Kontich, Belgium) e foram analisadas no software CTAnalyzer (CTAn) (v1.14.4) (SkyScan – Kontich, Belgium). Com isso, foram definidas duzentas secções de 0,6 mm na região central da amostra para calcular a fração de volume ósseo (BV/TV), a espessura trabecular (Tb.Th), o número de trabéculas (Tb.N) e a separação das trabéculas (Tb.Sp), conforme preconizado por Bouxsein et al.³⁸

2.8.2 Análise Histomorfométrica

Após a realização da microtomografia computadorizada, os espécimes foram novamente lavados em água corrente por 24 horas e descalcificados em solução de

EDTA (0.5 M, pH 8) por 4 semanas, sendo essas soluções trocadas semanalmente. As amostras foram incluídas em parafina seguindo o direcionamento proposto e 4 cortes de espessura de 5 µm foram obtidos e dispostos em lâminas histológicas para serem corados com hematoxilina & eosina (HE). Cada biópsia foi codificada em 3 regiões: leito ósseo (2mm acima do leito ósseo do seio maxilar), intermediária e apical (2mm abaixo da membrana de Schneiderian), como exemplificado na Figura 1. As regiões foram examinadas através de um microscópio de luz com objetiva de 12,5X por um único avaliador de acordo com Pereira et al.³⁹

FIGURA 9 - Visão geral de um espécime biopsiado do seio maxilar enxertado com enxerto de osso autógeno, demonstrando as três regiões estudadas (ASM, assoalho do seio maxilar); corado com HE, magnificação de 12,5x



Fonte: Autor, 2022

Foram obtidas imagens com uma câmera digital (JVC TK1270 Color Video Câmera) acoplada a um microscópio. Essas imagens foram importadas para o software ImageJ, onde, utilizando o *plugin grid*, foi confeccionado um retículo com 100 intersecções. Utilizando a ferramenta Cell counter foram contados os pontos referentes aos critérios analisados e obteve-se o percentual de osso neoformado, de tecido conjuntivo e biomaterial remanescente das amostras.

2.8.3 Análise Imunohistoquímica

Para elucidar a resposta celular do Endobon® puro ou associado a osso autógeno foram realizadas imunomarcações para as proteínas Runx2 (Runt-related transcription factor 2) que é responsável por regular os genes que executam o processo de formação óssea e a diferenciação dos osteoblastos⁴⁰ e para osteocalcina que é uma proteína associada à mineralização do enxerto e sua expressão indica maturação óssea.^{41,42,43}

Para o processamento imunoistoquímico foram utilizados anticorpos primários policlonais produzidos em cabras para Runx2 (Goat anti-Runx2 - Santa Cruz Biotechnology, SC8566) e osteocalcina (OC, Goat anti-OC - Santa Cruz Biotechnology, SC18319). Como anticorpos secundários, foram utilizados os anticorpos contra IgG de cabra biotinilado (anti-Goat IgG-HRP, PIERCE). O método de detecção foi efetuado por imunoperoxidase e a 3,3 diaminobenzidina (DAB, Sigma, St. Louis, MO, USA) utilizada como cromógeno seguido pela contra-coloração nuclear com Hematoxilina de Harris. Os procedimentos de controle foram feitos pela omissão dos anticorpos primários (controle negativo). Secções longitudinais de 5 µm das peças anatômicas foram colocadas em lâminas histológicas e desparafinizadas de acordo com protocolo padrão. O padrão de distribuição da imunocoloração foi analisado qualitativamente por um único observador, previamente calibrado, atribuindo-se os scores 0 (sem marcação), 1 (discreta), 2 (moderada) e 3 (intensa), a fim de avaliar a expressão das proteínas, como relatado por Dos Santos Pereira et al.⁴⁴

2.9 Análise Estatística

Os resultados obtidos da análise histomorfométrica e por Micro-CT foram analisados no software SigmaPlot (Exact Graphs and Data Analysis, San Jose, CA, EUA) versão 12.0 em relação à normalidade (teste Shapiro-Wilk e equal variance test). Os dados de osso neoformado e tecido conjuntivo resultaram em dados paramétricos sendo então adotada a análise de variância a um fator (ANOVA 1 fator), empregando-se o pós-teste Holm-Sidak quando $P < 0,05$. A histomorfometria de biomaterial remanescente resultou em dados paramétricos, porém foi utilizado o teste t para as interações estatísticas, visto que este critério se aplica apenas aos grupos END e END+AUT. Para comparar os resultados intragrupos relacionados as regiões avaliadas, foi adotado ANOVA 1-fator para os dados paramétricos, não sendo necessários pós-testes, e o teste de Kruskal-Wallis para os dados não paramétricos. Os resultados da Micro-CT também foram submetidos a ANOVA 1 fator para comparação entre os grupos. Os critérios BV/TV, Tb.N e Tb.Sp passaram por pós-teste de Tukey e o critério Tb.Th passou por pós-teste de Holm-Sidak. Adotou-se um nível de significância de 5% para todas as análises.

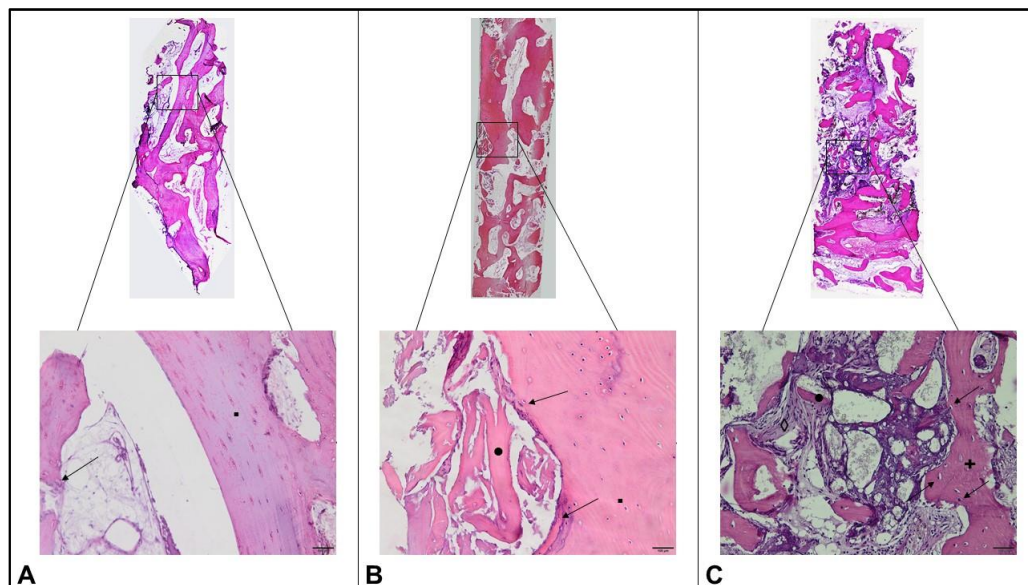
3 RESULTADOS

Devido alguns pacientes necessitarem de enxertos bilaterais para sua futura reabilitação oral, vinte e dois pacientes (14 mulheres e 8 homens), com idade entre 34 e 60 anos, totalizaram 34 seios maxilares submetidos a enxertia utilizando os três tipos de enxerto ósseo propostos nesse estudo. Seis mulheres e seis homens foram submetidos a enxertia bilateral do seio maxilar enquanto dois homens e oito mulheres foram submetidos a enxertos unilaterais. Todos os enxertos autógenos tiveram como área doadora a região mentoniana. Quatro amostras foram perdidas devido a erros técnicos durante o processamento histológico.

3.1 Análise Qualitativa e Histomorfométrica

O grupo autógeno apresentou tecido ósseo lamelar com presença de osteócitos dispostos em camadas e algumas regiões de osso imaturo com a presença de osteoblastos na periferia. O tecido conjuntivo deste grupo apresentou-se celularizado, com regiões de neovascularização e infiltrado inflamatório leve. No grupo Endobon® também foi possível observar regiões de tecido ósseo lamelar, marcado pela presença de osteócitos dispostos em camadas, maior presença de tecido ósseo imaturo, quando comparado ao grupo AUT e presença de osteoblastos na periferia próximo ao tecido conjuntivo, esse também apresentando celularização e neovascularização. Além disso, foi possível observar presença de biomaterial remanescente em algumas regiões. Já o grupo END+AUT apresentou neoformação óssea mais dispersa, com menor quantidade de osso lamelar e menor distância entre os osteócitos, sendo possível observar a disposição em camadas em poucas regiões. O tecido conjuntivo apresentou maior celularização, neovascularização e infiltrado inflamatório quando comparado aos outros grupos. Remanescentes de biomaterial também foram observados nesse grupo. Essas características podem ser observadas na Figura 2.

FIGURA 10 - Cortes histológicos observados em uma visão panorâmica (acima) exemplificando a região que está sendo observada nas imagens com aumento de 20x (abaixo) corados com hematoxilina e eosina. A. Imagens histológicas do grupo AUT evidenciando tecido ósseo lamelar com osteócitos dispostos em camadas (▪) e presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→). B. Imagens histológicas do grupo END evidenciando presença de tecido ósseo lamelar com osteócitos dispostos em camadas (▪), biomaterial remanescente marcado pela ausência de núcleos celulares (●) e presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→). C. Imagens histológicas do grupo END+AUT evidenciando tecido ósseo imaturo sem disposição em camadas dos osteócitos (+), maior presença de osteoblastos na periferia próxima ao tecido conjuntivo (→), biomaterial remanescente marcado pela ausência de núcleos celulares (●) e tecido conjuntivo altamente celularizado (◇).



Fonte: Autor, 2022

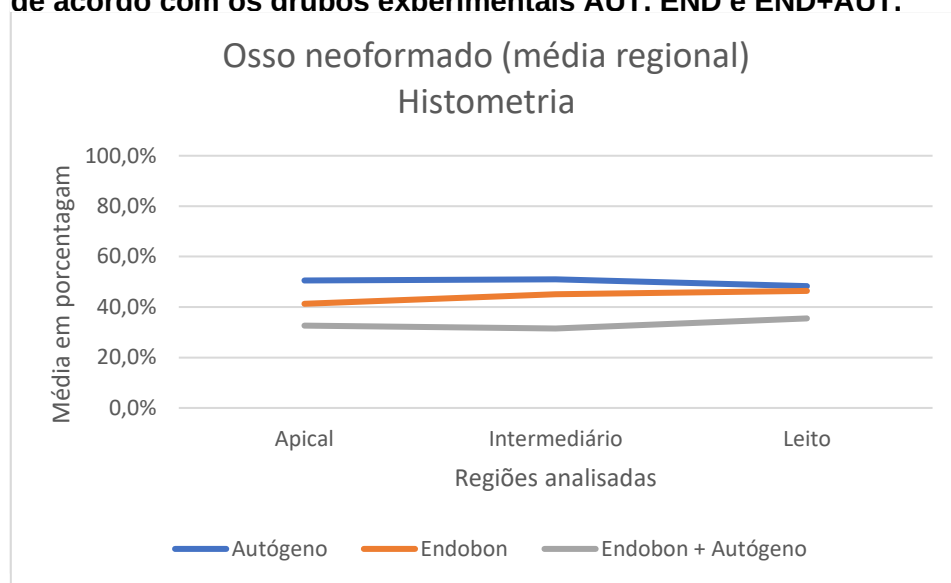
Analizando as imagens das lâminas histológicas, em todos os grupos foi possível observar homogeneidade de tecido ósseo neoformado e tecido conjuntivo em relação a sua distribuição nos terços avaliados (apical, intermediário e leito), bem como quantidade homogênea de biomaterial nas mesmas regiões para os grupos onde foi utilizado o Endobon®. Essa homogeneidade pode ser observada por meio da tabela 1 e nas figuras 3, 4 e 5 que relacionam as médias das quantidades de osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial de acordo com as regiões avaliadas, sendo que após a análise estatística não foi constatado diferença entre as quantidades de tecido entre as regiões analisadas em cada grupo ($P > 0,05$).

TABELA 3 - Média e desvio padrão da porcentagem geral e por região de tecido ósseo neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente de acordo com os grupos experimentais.

Grupo	AUT	END	END+AUT
Média geral de osso neoformado	49,9%	44,3%	33,2%
Desvio padrão	0,12	0,15	0,05
Média de osso neoformado (apical)	50,5%	41,3%	32,7%
Desvio padrão	0,13	0,16	0,11
Média de osso neoformado (intermediário)	51,0%	45,1%	31,5%
Desvio padrão	0,14	0,21	0,07
Média de osso neoformado (leito)	48,3%	46,4%	35,5%
Desvio padrão	0,13	0,19	0,10
Média geral de tecido conjuntivo	50,1%	43,3%	51,7%
Desvio padrão	0,12	0,15	0,12
Média de tecido conjuntivo (apical)	49,5%	46,3%	53,6%
Desvio padrão	0,13	0,16	0,14
Média de tecido conjuntivo (intermediário)	49,0%	41,6%	52,4%
Desvio padrão	0,14	0,19	0,18
Média de tecido conjuntivo (leito)	51,7%	42,0%	49,2%
Desvio padrão	0,13	0,17	0,14
Média geral de biomaterial remanescente	0,00%	12,4%	15,0%
Desvio padrão	-	0,04	0,09
Média de biomaterial remanescente (apical)	0,00%	12,4%	13,7%
Desvio padrão	-	0,05	0,08
Média de biomaterial remanescente (intermediário)	0,00%	13,3%	16,1%
Desvio padrão	-	0,06	0,12
Média de biomaterial remanescente (leito)	0,00%	11,6%	15,3%
Desvio padrão	-	0,05	0,10

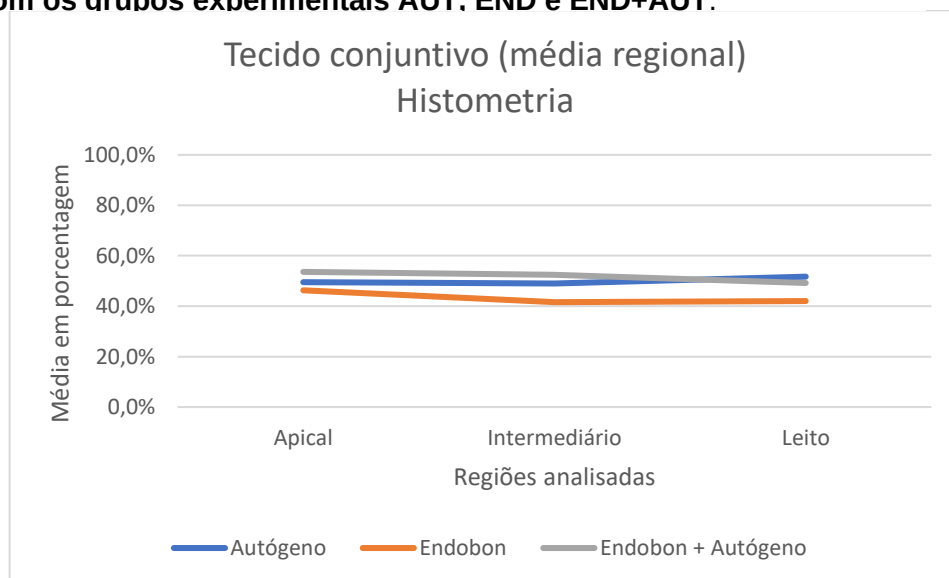
Fonte: Autor, 2022

FIGURA 11 - Gráfico comparando a média de porcentagem de tecido ósseo neoformado nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais AUT. END e END+AUT.



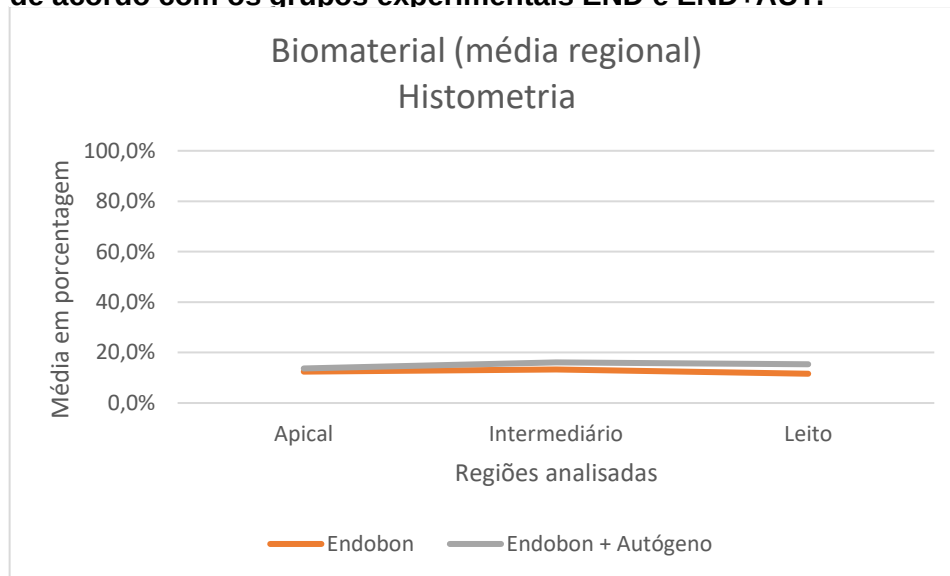
Fonte: Autor, 2022

FIGURA 12 - Gráfico comparação a média de porcentagem de tecido conjuntivo nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais AUT. END e END+AUT.



Fonte: Autor, 2022

FIGURA 13 - Gráfico comparando a média de porcentagem de biomaterial remanescente nas regiões apical, intermediária e leito de acordo com os grupos experimentais END e END+AUT.



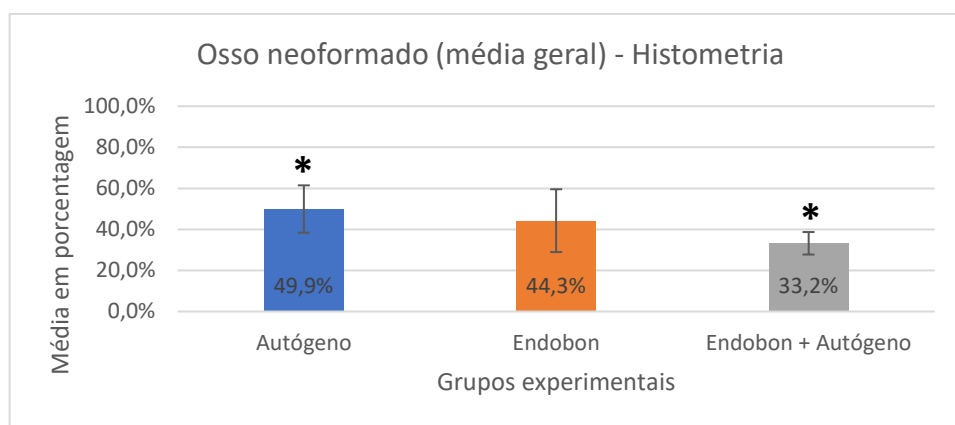
Fonte: Autor, 2022

No grupo AUT foi observado média geral de $49,9\% \pm 0,12$ de osso neoformado, sendo $50,5\% \pm 0,13$ na região apical, $51,0\% \pm 0,14$ na região intermediária e $48,3\% \pm 0,13$ na região de leito. Foi observado nesse grupo média geral de $50,1\% \pm 0,12$ de tecido conjuntivo, sendo $49,5\% \pm 0,13$ na região apical, $49,0\% \pm 0,14$ na região intermediária e $51,7\% \pm 0,13$ na região de leito. O grupo END apresentou média geral de $44,3\% \pm 0,15$ de osso neoformado, sendo $41,3\% \pm 0,16$ na região apical, $45,1\% \pm 0,21$ na região intermediária e $46,4\% \pm 0,19$ na região de leito. Nesse grupo a média geral foi de $43,3\% \pm 0,15$ de tecido conjuntivo, sendo $46,3\% \pm 0,16$ na região apical, $41,6\% \pm 0,19$ na região intermediária e $42,0\% \pm 0,17$ na região de leito. Ainda no grupo END a média geral foi de $12,4\% \pm 0,04$ de biomaterial remanescente, sendo $12,4\% \pm 0,05$ na região apical, $13,3\% \pm 0,006$ na região intermediária e $11,6\% \pm 0,05$ na região de leito. Por fim, o grupo END+AUT apresentou média geral de $33,2\% \pm 0,05$ de osso neoformado, sendo $32,7\% \pm 0,11$ na região apical, $31,5\% \pm 0,07$ na região intermediária e $35,5\% \pm 0,10$ na região de leito. Nesse grupo a média geral foi de $51,7\% \pm 0,12$ de tecido conjuntivo, sendo $53,6\% \pm 0,14$ na região apical, $52,4\% \pm 0,18$ na região intermediária e $49,2\% \pm 0,14$ na região de leito. Ainda no grupo END+AUT a média geral foi de $15\% \pm 0,09$ de biomaterial remanescente, sendo $13,7\% \pm 0,08$ na região apical, $16,1\% \pm 0,12$ na

região intermediária e $15,3\% \pm 0,10$ na região de leito. Na avaliação comparativa entre os grupos, apenas a diferença entre a quantidade de osso neoformado entre os grupos AUT e END+AUT representou diferença estatística ($P < 0,05$). O comparativo entre os grupos pode ser observado nas Figuras 6, 7 e 8.

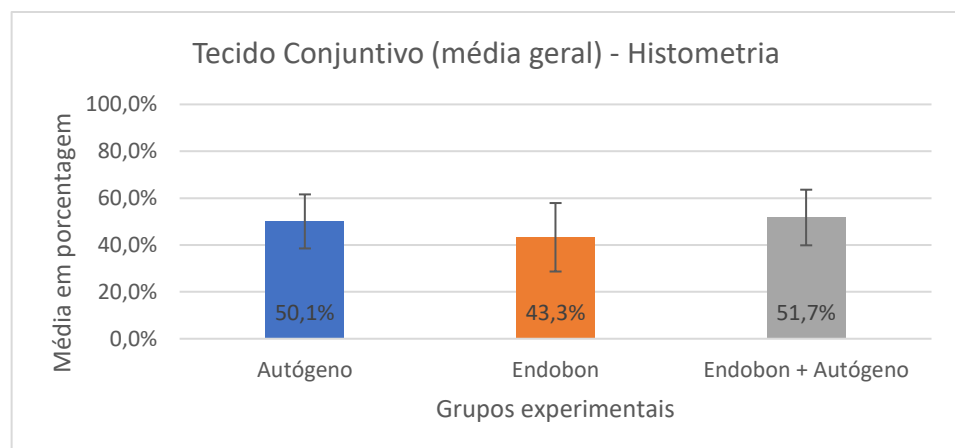
FIGURA 14. Gráfico comparando as médias gerais de osso neoformado entre os grupos experimentais AUT, END e END+AUT.

***Diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$)**



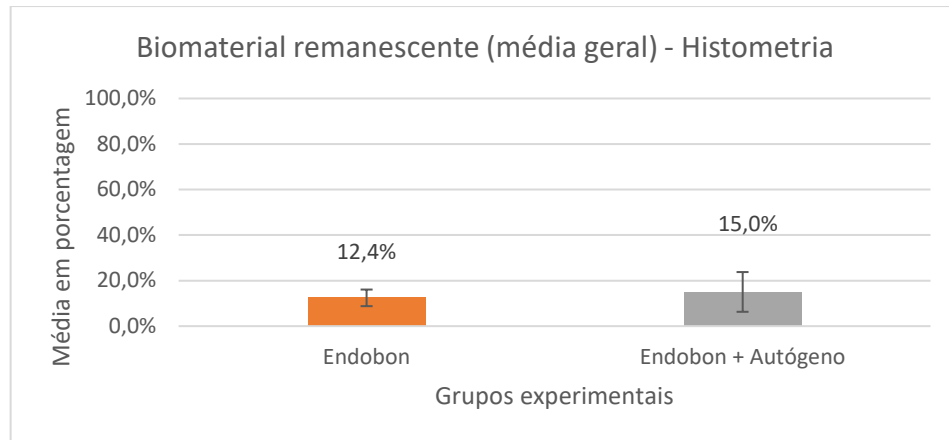
Fonte: Autor, 2022

FIGURA 15 - Gráfico comparando as médias gerais de tecido conjuntivo entre os grupos experimentais AUT, END e END+AUT.



Fonte: Autor, 2022

FIGURA 16 - Gráfico comparando as médias gerais de biomaterial remanescente entre os grupos experimentais END e END+AUT.



Fonte: Autor, 2022

3.2 Análise Imunohistoquímica

A análise imunoistoquímica foi realizada com o objetivo de detectar a presença de marcadores da atividade celular relacionada à diferenciação osteoblástica (RUNX2) e mineralização da matriz colágena do tecido ósseo (OCN).

A imunomarcacão para RUNX2 foi observada em células da linhagem osteoblástica de forma discreta no grupo AUT. Neste grupo, as células mostraram-se marcadas positivamente nas regiões de tecido conjuntivo entre porções de tecido ósseo na região de interesse. No grupo END, observou-se a presença de células positivas para RUNX2 de forma moderada, estando presente especialmente nas áreas de tecido ósseo próximo ao biomaterial. No grupo END+AUT, observou-se discreta marcação positiva para RUNX2 na região de interesse.

A osteocalcina mostrou-se marcada nas áreas de tecido ósseo pré-existente, mostrando áreas de precipitação do cromógeno que representam áreas de maior maturidade do tecido ósseo. No grupo AUT, este padrão foi observado de forma moderada, mostrando um grau de maturidade do tecido ósseo avaliado na região de interesse. Tanto no grupo END como END+AUT, observou-se um padrão moderado para a marcação de osteocalcina. Vale destacar que em ambos os grupos, observa-se áreas de tecido ósseo delgado, diferente do padrão observado no grupo autógeno. No entanto, quanto a presença do marcador de mineralização osteocalcina, foi possível observar um padrão semelhante entre os 3 grupos para a

presença desta proteína. Como pode ser observado na Tabela 2 e nas Figuras 9 e 10.

TABELA 4 - Scores de imunomarcacão referentes as proteínas RUNX-2 e osteocalcina para os grupos experimentais AUT, END e END+AUT.

PROTEÍNA	AUT	END	END+AUT
RUNX-2	1	2	1
Osteocalcina	2	2	2

Fonte: Autor, 2022

Figura 9 – Cortes histológicos corados com Hematoxilina de Harris mostrando marcação positiva de RUNX-2 nos grupos AUT (discreta), END (moderada) e END+AUT (discreta).

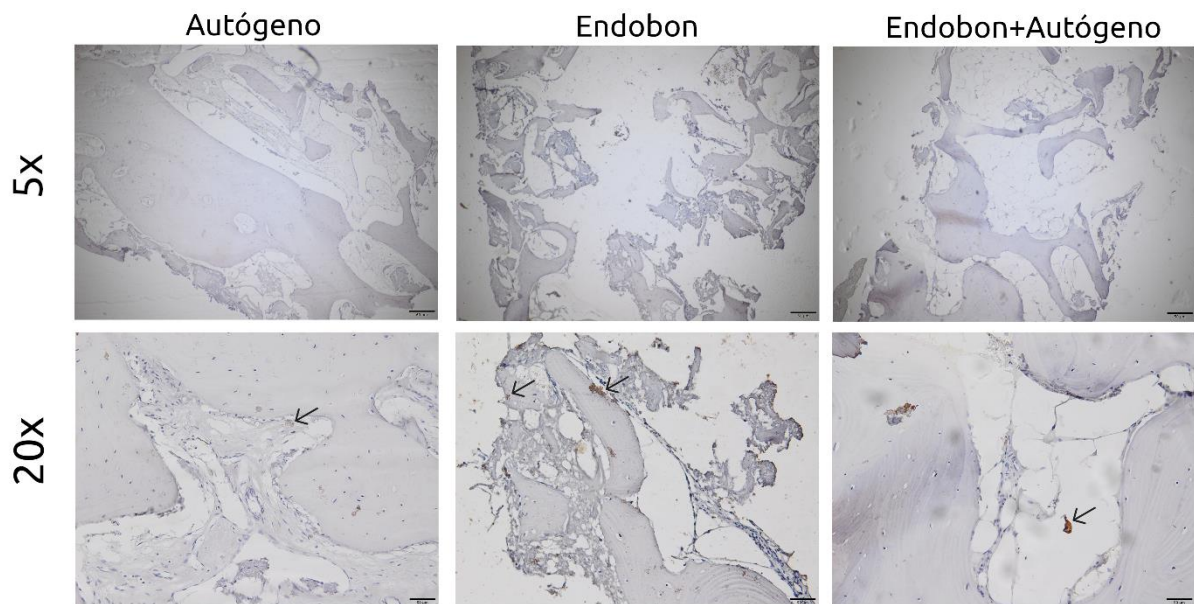
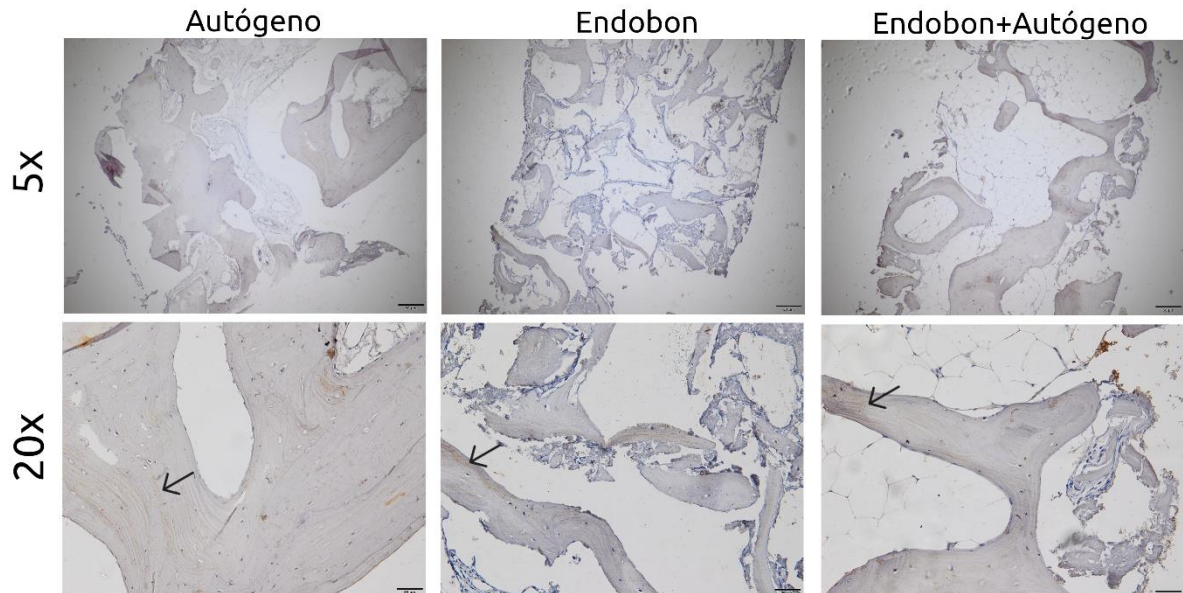


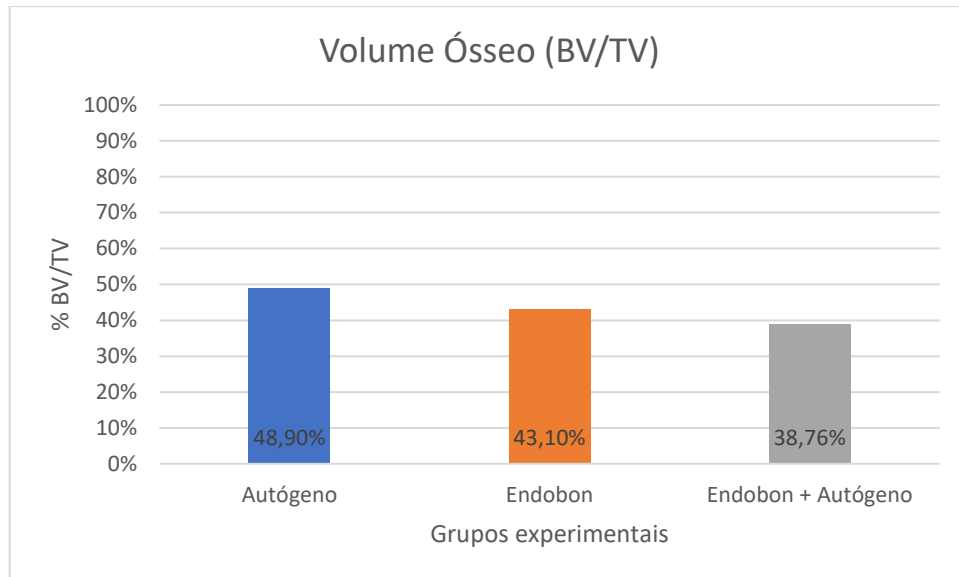
Figura 10 – Cortes histológicos corados com Hematoxilina de Harris mostrando marcação positiva de Osteocalcina nos grupos AUT (moderada), END (moderada) e END+AUT (moderada). Neoformação óssea mais delgada nos grupos END e END+AUT.



3.3 Análise por Micro-CT

Ao realizar a avaliação com microtomografia computadorizada o grupo AUT apresentou BV/TV de $48,90\% \pm 5,00$, Tb.Th $0,20\text{mm} \pm 0,05$, Tb.N $2,45/\text{mm} \pm 1,00$ e Tb.Sp de $0,22\text{mm} \pm 0,10$. O grupo END BV/TV de $43,10\% \pm 3,19$, Tb.Th de $0,06\text{mm} \pm 0,02$, Tb.N $7,68/\text{mm} \pm 3,03$ e Tb.Sp de $0,10\text{mm} \pm 0,01$. O grupo END+AUT BV/TV de $38,76\% \pm 12,87$, Tb.Th de $0,04\text{mm} \pm 0,01$, Tb.N de $8,58/\text{mm} \pm 1,75$ e Tb.Sp de $0,09\text{mm} \pm 0,01$. Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores de Tb.Sp dos grupos AUT e END+AUT. Também foi possível observar diferença estatística significativa entre os valores de Tb.Th entre todos os grupos, sendo maiores as diferenças entre os valores do grupo AUT comparados aos valores dos grupos END e END+AUT ($P < 0,001$) do que as diferenças entre o grupo END e END+AUT ($P = 0,022$). O comparativo entre os resultados dos grupos respeitando cada critério de avaliação pode ser observado nos gráficos 9,10,11 e 12.

FIGURA 11 - Gráfico comparando as porcentagens de BV/TV dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.

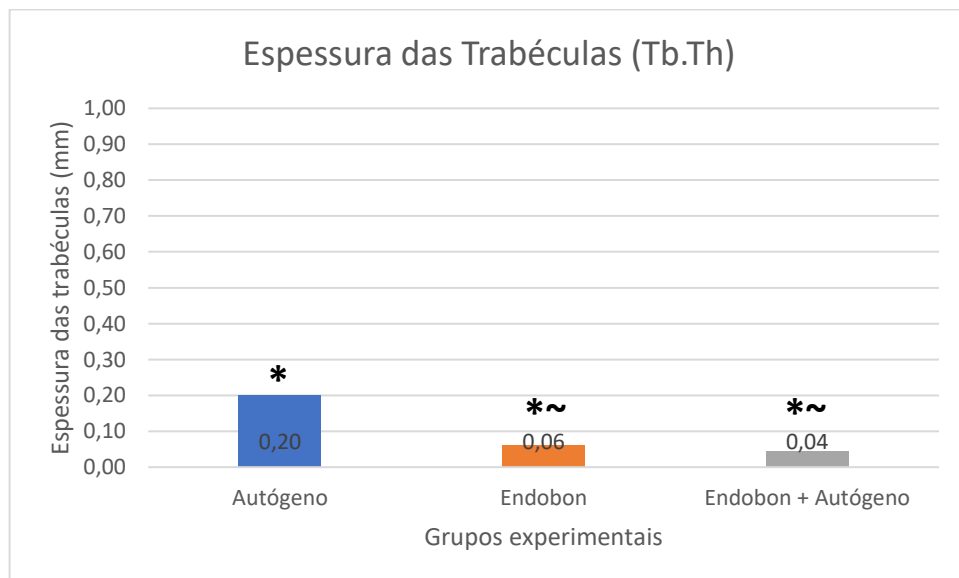


Fonte: Autor, 2022

FIGURA 12 - Gráfico comparando as porcentagens de Tb.Th dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.

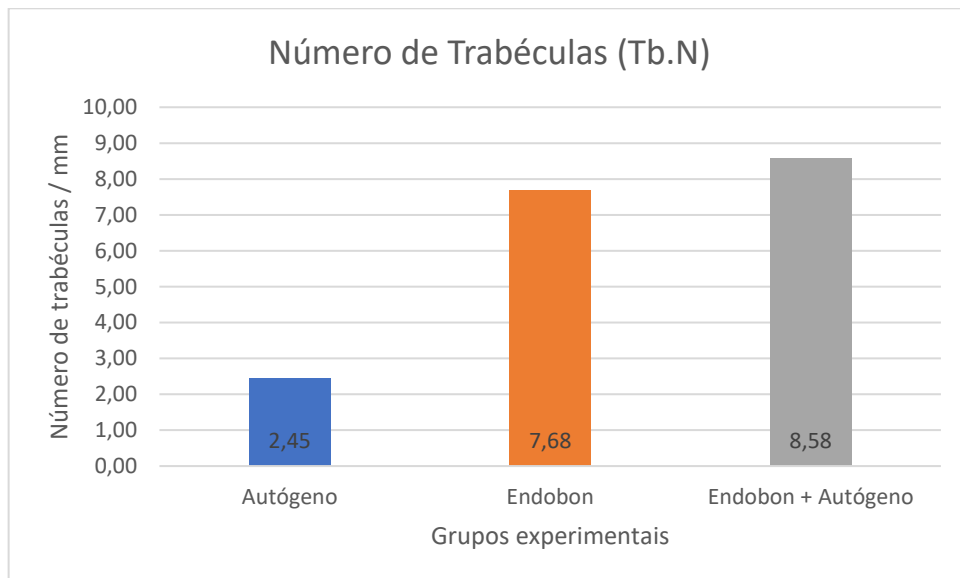
* Diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$)

~ Diferença estatisticamente significativa ($P = 0,02$)



Fonte: Autor, 2022

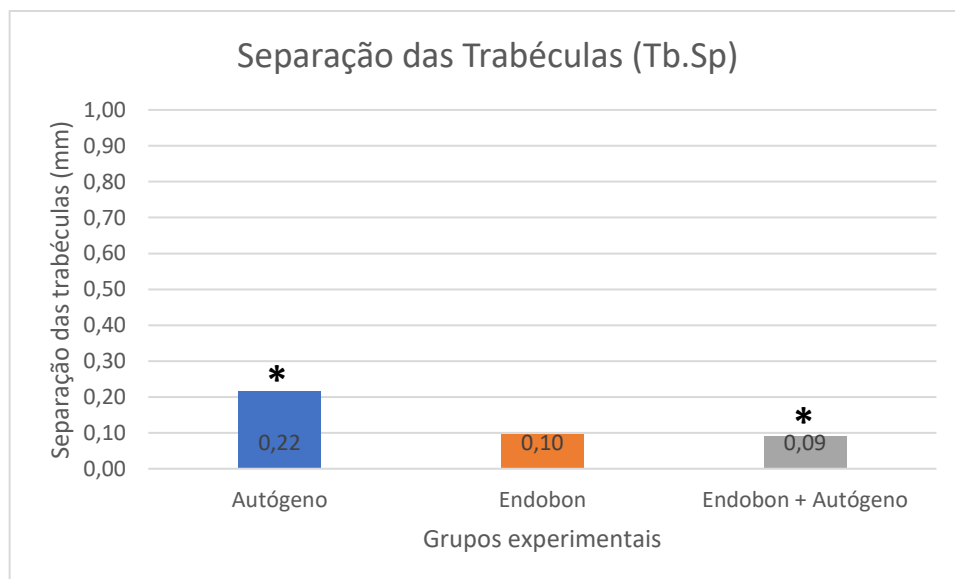
FIGURA 13- Gráfico comparando as porcentagens de Tb.N dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.



Fonte: Autor, 2022

FIGURA 14 - Gráfico comparando as porcentagens de Tb.Sp dos grupos experimentais AUT, END e END+AUT.

* Diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$)



Fonte: Autor, 2022

4 DISCUSSÃO

A hidroxiapatita derivada do córtex bovino é um material bem consolidado na literatura para utilização como xenoenxerto. Esse material tem excelente capacidade osteocondutora devido a sua arquitetura com micro e macroporos. O BioOss representa a marca comercial dominante no mercado. No entanto esses tipos de biomateriais não apresentam propriedades osteoindutoras e osteogênicas, como observado quando são utilizados enxertos autógenos. A associação de biomateriais a enxertos autógenos têm o intuito de agregar as propriedades osteogênicas do enxerto autógeno às vantagens da utilização dos biomateriais. Entre essas vantagens podemos citar a quantidade ilimitada dos enxertos xenógenos e aloplásticos, e no caso da hidroxiapatita, menor perda volumétrica durante o processo de neoformação óssea. Mesmo utilizando enxertos da região mentoniana que de acordo com Park et al.⁴⁵ apresenta menor reabsorção, foi observado através das tomografias para planejamento das biópsias e implantes, maior volume ósseo nos grupos onde foi utilizado o Endobon® após 6 meses do procedimento de enxertia, quando comparado ao grupo autógeno, corroborando com a análise tomográfica volumétrica realizada por Mendes et al. Esse por sua vez mostrou que o Endobon® apresentou as menores médias de redução volumétrica após 6 meses de reparo, com 8,04% de contração, seguido do BioOss Large com 11,93% e BioOss Small 14,98%. Esse e outros autores defendem que a utilização de biomateriais ou enxertos autógenos misturados com biomateriais podem oferecer maior estabilidade volumétrica do que a utilização de enxerto autógeno isolado.^{28,46}

Ao comparar as análises histológicas entre os grupos END e END+AUT foi possível observar que o grupo que utilizou somente o biomaterial apresentou características compatíveis com osso mais maduro que o grupo associado a enxerto autógeno. Além disso, o grupo END+AUT foi o grupo que apresentou menor quantidade de osso neoformado, maior quantidade de tecido conjuntivo e biomaterial remanescente, além marcação moderada para osteocalcina e marcação discreta para RUNX-2. A marcação discreta de RUNX-2 associada a marcação moderada de Osteocalcina no grupo END+AUT mostra que nesse grupo ocorreu o processo de diferenciação osteoblástica, porém com menor potencial para formação óssea quando comparado ao grupo END. Esses resultados estão de acordo com os achados histológicos, onde foi observado menor neoformação óssea no grupo

END+AUT. Estudos anteriores também mostraram que a associação entre enxertos xenógenos e aloplásticos com enxertos autógenos pode não ser benéfica ao reparo ósseo, não sendo necessária a mistura dos dois tipos de enxerto.^{17,25,30,34,44,47} A menor capacidade de formação óssea e o atraso no reparo ósseo observado no grupo END+AUT podem estar associados à indução de processos distintos de neoformação óssea ocasionado pelo biomaterial e pelo osso autógeno. A presença do biomaterial produz um processo inflamatório que objetiva a degradação e substituição do mesmo por tecido ósseo. No entanto, o recrutamento de células de degradação mineral prematuramente pode gerar perturbação no processo osteogênico do enxerto autógeno fazendo com que esse ocorra de maneira mais lenta que o convencional.

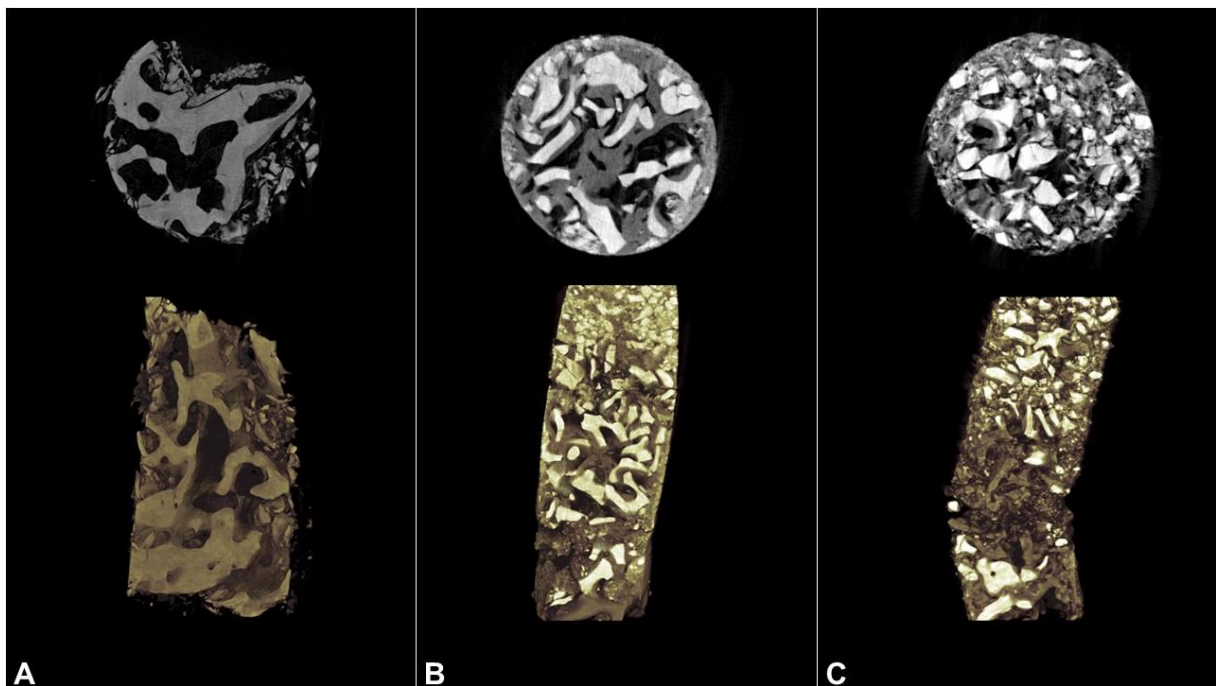
Em nosso estudo foi possível observar que o grupo AUT apresentou maior quantidade de osso neoformado em comparação aos grupos onde foi utilizado o biomaterial, no entanto somente a diferença para o grupo END+AUT foi estatisticamente significativa. Sendo assim, rejeitamos a hipótese nula, visto que existe diferença entre a utilização apenas de osso autógeno comparado a utilização de Endobon® associado ao enxerto de osso autógeno. Além disso, não consideramos vantajosa a utilização de Endobon® misturado a enxerto autógeno em levantamentos de seio maxilar, visto a maior morbidade do procedimento cirúrgico.⁴⁸ Grasso et al.⁴⁹ recentemente realizaram avaliação histológica e histomorfométrica de seios maxilares enxertados com Endobon® isoladamente. Os autores encontraram uma média de 22,84% de neoformação óssea, 30,94% de biomaterial remanescente e 46,20% de espaços medulares.⁴⁹ No nosso estudo no grupo que foi utilizado apenas o Endobon®, foi encontrado maior porcentagem do osso neoformado (44,3%), tecido conjuntivo similar aos espaços medulares (43,3%) e menor quantidade de biomaterial remanescente (12,4%) em comparação aos encontrados por Grasso et al., sendo os resultados de neoformação óssea também superiores aos encontrados nos estudos que utilizam BioOss.⁵⁰⁻⁵³ Sendo assim a utilização exclusiva do Endobon®, de acordo com nosso estudo, apresenta taxas de neoformação óssea similares ao osso autógeno e superiores ao BioOss. Em relação ao tecido conjuntivo, nesse estudo não foi observado diferença estatística entre os grupos, corroborando com estudos anteriores que não observaram diferença

estatística para esse critério ao comparar enxertos xénogenos e aloplásticos a enxertos de osso autógeno.^{30,44}

Em relação à quantidade de biomaterial remanescente, ambos os grupos que utilizaram Endobon® apresentaram quantidades semelhantes e sem diferença estatística. As quantidades de biomaterial remanescente foram inferiores às encontradas para o BioOss no estudo de Pereira et al.⁵³ e Shirmohammadi et al.⁵⁴ após 06 meses de reparo e similares às encontradas por Hallman, Lundgren e Sennerby⁵⁵ após 01 anos de reparo. Isso mostra que a reabsorção das partículas do Endobon® é maior após 06 meses de reparo comparado ao BioOss, estando associada a valores maiores de neoformação óssea. De Lange et al. também observaram a existência de uma relação entre a quantidade de reabsorção do biomaterial e a quantidade de neoformação óssea.²⁵ A utilização do Endobon® também foi clinicamente satisfatória, visto que o material permite fácil aglutinação e acomodação no leito receptor. Em nosso estudo foi utilizada pequena quantidade de solução fisiológica 0,9% para aglutinação das partículas. Além disso o material apresenta bom preenchimento do leito criado no seio maxilar, mostrando rendimento compatível com o que é prometido pelo catálogo da empresa. No entanto é importante salientar que a hidroxiapatita derivada do córtex bovino presente nesse material necessitou de maior tempo para descalcificação durante o processamento histológico. A presença de grânulos residuais do biomaterial que não descalcificaram resultou em defeitos nos cortes histológicos e consequente perda de algumas amostras. Os autores sugerem que ao trabalhar com esse tipo de material em análise de tecidos descalcificados o tempo de descalcificação seja prolongado.

A análise por Micro-CT evidenciou quantidade similar de volume ósseo entre os grupos. Em relação à quantidade de trabéculas, mesmo que não represente diferença estatística, nos grupos que foi utilizado o Endobon® foi observado uma quantidade maior de trabéculas quando comparado ao grupo AUT. No entanto essas trabéculas apresentaram menor espessura, o que pode ser confirmado pela diferença estatística entre o grupo AUT e os demais grupos. Também foi possível observar que no grupo AUT as trabéculas, apesar de mais espessas, estavam mais distantes uma da outra. Essas características podem ser observadas na Figura 15.

FIGURA 15 - Imagens representativas da Micro-CT com cortes axiais superiormente e reconstruções 3D em uma visualização trans sagital abaixo. A. Micro-CT do grupo AUT evidenciando maior espessura e distanciamento das trabéculas comparado com os demais grupos. B. Micro-CT do grupo END evidenciando maior número de trabéculas, com menor espessura e distanciamento quando comparado ao grupo AUT. Também é possível observar os grânulos de biomaterial remanescente bem demarcados por uma coloração mais esbranquiçada. C. Micro-CT do grupo END+AUT evidenciando maior número de trabéculas, com menor espessura e distanciamento quando comparado ao grupo AUT. Também é possível observar os grânulos de biomaterial remanescente bem demarcados por uma coloração mais esbranquiçada.



Fonte: Autor, 2022

Vale lembrar que a Micro-CT é um exame sensível e que traz vantagens em relação à histologia tradicional, provendo informações 3D dos tecidos mineralizados sem a necessidade de cortar o material. Porém essa análise está sujeita à experiência do operador, visto que os valores de seleção podem ser alterados. De Lange et al. utilizaram o valor de maior mineralização na região do assoalho do seio maxilar para delimitar os valores compatíveis com o tecido ósseo.²⁵ Baseado nisso, no presente estudo foram utilizadas as faixas de valores de 0,004183 a 0,195195 para reconstrução da microtomografias no software NRecon e a faixa valores de 50 a 160 na escala de cinza no software CTAn para determinar o tecido ósseo das amostras no momento das análises. Porém é importante observar que algumas regiões do biomaterial apresentaram densidade semelhante ao tecido ósseo e que o

tecido ósseo imaturo pode apresentar densidade menor que o tecido ósseo maduro, podendo ocasionar erros na estimativa da quantidade real do tecido avaliado. Sendo assim, é importante que os valores de seleção sejam mantidos iguais em todas as análises com o intuito de conferir a mesma quantidade de erros às amostras. As áreas de transição entre o biomaterial e o osso neoformado apresentaram fácil distinção, assim como observado por De Lange et al.²⁵ Na presente pesquisa apenas um biomaterial foi utilizado, tornando essa avaliação mais padronizada, no entanto esse critério deve ser rigorosamente analisado em estudos que venham a comparar diferentes biomateriais por meio da Micro-CT. Por fim, é importante que os dados da Micro-CT sejam analisados em conjunto com as características histológicas tradicionais para determinar a qualidade do osso neoformado após os enxertos em seio maxilar. Além disso, estudos que avaliem o sucesso dos implantes instalados em enxertos com Endobon®, além de possíveis associações de fatores de crescimento a esse material, podem trazer informações importantes quanto à sua utilização.

CONCLUSÃO

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização isolada do biomaterial testado (Endobon®) não apresentou diferenças para o grupo controle (Autógeno) quanto à quantidade de osso neoformado e tecido conjuntivo. No entanto, a associação do biomaterial com enxerto de osso autógeno apresentou características histológicas e imunohistoquímicas compatíveis com menor formação óssea aos 6 meses de reparo quando comparada ao demais grupos, além de características microtomográficas semelhantes ao emprego isolado do biomaterial. Desta forma, o uso isolado do biomaterial deve ser considerado para ganho ósseo na região posterior de maxila por meio da técnica de elevação da membrana do seio maxilar.

REFERÊNCIAS

1. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of severe tooth loss: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014;93(7 Suppl):20S-28S.
2. Wagner F, Dvorak G, Nemec S, Pietschmann P, Figl M, Seemann R. A principal components analysis: how pneumatization and edentulism contribute to maxillary atrophy. *Oral Dis*. 2017;23(1):55-61.
3. Sharan A, Madjar D. Maxillary sinus pneumatization following extractions: a radiographic study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008;23(1):48-56.
4. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am*. 1986;30(2):207-29.
5. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg*. 1980;38(8):613-6.
6. Misch CE. Maxillary sinus augmentation for endosteal implants: organized alternative treatment plans. *Int J Oral Implantol*. 1987;4(2):49-58.
7. Wood RM, Moore DL. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988;3(3):209–14.
8. Aghaloo TL, Moy PK. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22 Suppl:49–70.
9. Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21(5):696–710.
10. Jensen SS, 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*. 2009;24 Suppl:218–36.

11. Corbella S, Taschieri S, Del Fabbro M. Long-term outcomes for the treatment of atrophic posterior maxilla: a systematic review of literature: posterior maxilla rehabilitations. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015;17(1):120–32.
12. Tong DC, Rioux K, Drangsholt M, Beirne OR. A review of survival rates for implants placed in grafted maxillary sinuses using meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(2):175–82.
13. Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20 Suppl 4:124–33.
14. Gorla LFO, Spin-Neto R, Boos FBDJ, Pereira RS, Garcia-Junior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: a prospective, randomized, volumetric computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(12):1486–91.
15. Hench LL. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials*. 1998;19(16):1419–23.
16. Moy PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993;51(8):857–62.
17. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;16(1):23–33.
18. Szabó G, Huys L, Coulthard P, Malorana C, Garagiola U, Barabás J, et al. A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus β -tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20(3):371–81.
19. Starch-Jensen T, Aludden H, Hallman M, Dahlin C, Christensen A-E, 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.

20. Wheeler SL. Sinus augmentation for dental implants: the use of alloplastic materials. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1287–93.
21. de Molon RS, Magalhaes-Tunes FS, Semedo CV, Furlan RG, de Souza LGL, de Souza Faloni AP, et al. A randomized clinical trial evaluating maxillary sinus augmentation with different particle sizes of demineralized bovine bone mineral: histological and immunohistochemical analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2019;48(6):810–23.
22. Traini T, Degidi M, Sammons R, Stanley P, Piattelli A. Histologic and elemental microanalytical study of anorganic bovine bone substitution following sinus floor augmentation in humans. *J Periodontol.* 2008;79(7):1232–40.
23. 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.
24. dos Anjos TLMR, de Molon RS, Paim PRF, Marcantonio E, Marcantonio E Jr, Faeda RS. Implant stability after sinus floor augmentation with deproteinized bovine bone mineral particles of different sizes: a prospective, randomized and controlled split-mouth clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2016;45(12):1556–63.
25. de Lange GL, Overman JR, Farré-Guasch E, Korstjens CM, Hartman B, Langenbach GEJ, et al. A histomorphometric and micro-computed tomography study of bone regeneration in the maxillary sinus comparing biphasic calcium phosphate and deproteinized cancellous bovine bone in a human split-mouth model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117(1):8–22.
26. Ramírez-Fernández MP, Calvo-Guirado JL, Arcesio Delgado-Ruiz R, Maté-Sánchez Del Val JE, Gómez-Moreno G, Guardia J. Experimental model of bone response to xenografts of bovine origin (Endobon): a radiological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(7):727–34.
27. Briem D, Linhart W, Lehmann W, Meenen NM, Rueger JM. Long-term outcomes after using porous hydroxyapatite ceramics (Endobon) for surgical management of fractures of the head of the tibia. *Unfallchirurg.* 2002;105(2):128–33.

28. Cosso MG, de Brito RB Jr, Piattelli A, Shibli JA, Zenóbio EG. Volumetric dimensional changes of autogenous bone and the mixture of hydroxyapatite and autogenous bone graft in humans maxillary sinus augmentation: a multislice tomographic study. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(11):1251–6.
29. Miyamoto S, Shinmyozu K, Miyamoto I, Takeshita K, Terada T, Takahashi T. Histomorphometric and immunohistochemical analysis of human maxillary sinus-floor augmentation using porous β -tricalcium phosphate for dental implant treatment. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24 Suppl A100:134–8.
30. Bonardi JP, Pereira R dos S, Boos Lima FBDJ, Faverani LP, Griza GL, Okamoto R, et al. Prospective and randomized evaluation of ChronOS and bio-Oss in human maxillary sinuses: histomorphometric and immunohistochemical assignment for Runx 2, vascular endothelial growth factor, and osteocalcin. *J Oral Maxillofac Surg.* 2018;76(2):325–35.
31. Dos Santos Pereira R, Boos FB, Gorla LF, Garcia IR Jr, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Maxillary sinus elevation surgery with ChronOS and autogenous bone graft: Analysis of histometric and volumetric changes. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2016;36(6):885–92.
32. Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ.* 2010;340:c332..
33. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–4.
34. Pereira RS, Gorla LF, Boos FBJD, Okamoto R, Garcia Júnior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: histomorphometric study and immunohistochemical assessment of RUNX2 and VEGF. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2017;46(4):503–10.
35. Nóia CF, Ortega-Lopes R, Olate S, Duque TM, de Moraes M, Mazzonetto R. Prospective clinical assessment of morbidity after chin bone harvest. *J Craniofac Surg.* 2011;22(6):2195-8.

36. Misch CM. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(6):767–76.
37. Pereira RS, Menezes JD, Bonardi JP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Comparative study of volumetric changes and trabecular microarchitecture in human maxillary sinus bone augmentation with bioactive glass and autogenous bone graft: a prospective and randomized assessment. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2018;47(5):665–71.
38. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res*. 2010;25(7):1468–86.
39. Pereira RDS, Menezes JD, Bonardi JP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Histomorphometric and immunohistochemical assessment of RUNX2 and VEGF of Biogran™ and autogenous bone graft in human maxillary sinus bone augmentation: a prospective and randomized study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017;19(5):867–75.
40. Franceschi RT, Xiao G, Jiang D, Gopalakrishnan R, Yang S, Reith E. Multiple signaling pathways converge on the Cbfa1/Runx2 transcription factor to regulate osteoblast differentiation. *Connect Tissue Res*. 2003;44(1):109–16.
41. Afzal F, Polak J, Buttery L. Endothelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity. *J Pathol*. 2004;202(4):503–10.
42. Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther K-P, Dehio C, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone*. 2002;30(3):472–7.
43. Hughes SS, Hicks DG, O’Keefe RJ, Hurwitz SR, Crabb ID, Krasinskas AM, et al. Shared phenotypic expression of osteoblasts and chondrocytes in fracture callus. *J Bone Miner Res*. 1995;10(4):533–44.
44. Dos Santos Pereira R, Boos FB, Gorla LF, Garcia IR Jr, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Maxillary sinus elevation surgery with ChronOS and autogenous bone graft: Immunohistochemical assessment of RUNX2, VEGF, TRAP, and osteocalcin. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017;37(6):e321–7.

45. Park HD, Min CK, Kwak HH, Youn KH, Choi SH, Kim HJ. Topography of the outer mandibular symphyseal region with reference to the autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(8):781–5.
46. Mendes L, Bustamante R, Vidigal B, Favato M, Manzi F, Cosso M, et al. Effect of amount of biomaterial used for maxillary sinus lift on volume maintenance of grafts. *J Clin Exp Dent.* 2020;12(9):e830–7.
47. Jensen T, Schou S, Stavropoulos A, Terheyden H, Holmstrup P. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft: a systematic review: Maxillary sinus floor augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(3):263–73.
48. Pereira RS, Pavelski MD, Griza GL, Boos FBJD, Hochuli-Vieira E. Prospective evaluation of morbidity in patients who underwent autogenous bone-graft harvesting from the mandibular symphysis and retromolar regions. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019;21(4):753–7.
49. Grasso G, Mummolo S, Bernardi S, Pietropaoli D, D'Ambrosio G, Iezzi G, et al. Histological and histomorphometric evaluation of new bone formation after maxillary sinus augmentation with two different osteoconductive materials: a randomized, parallel, double-blind clinical trial. *Materials.* 2020;13(23):5520.
50. Rodriguez y Baena R, Pastorino R, Gherlone EF, Perillo L, Lupi SM, Lucchese A. Histomorphometric evaluation of two different bone substitutes in sinus augmentation procedures: a randomized controlled trial in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017;32(1):188–94.
51. Lee J-S, Shin H-K, Yun J-H, Cho K-S. Randomized clinical trial of maxillary sinus grafting using deproteinized porcine and bovine bone mineral: Randomized controlled clinical trial in sinus grafting. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2017;19(1):140–50.
52. Nizam N, Eren G, Akcalı A, Donos N. Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2018;29(1):67–75.

53. Pereira RDS, Bonardi JP, Ouverney FRF, Campos AB, Griza GL, Okamoto R, et al. The new bone formation in human maxillary sinuses using two bone substitutes with different resorption types associated or not with autogenous bone graft: a comparative histomorphometric, immunohistochemical and randomized clinical study. *J Appl Oral Sci.* 2020;29:e20200568.
54. Shirmohammadi A, Roshangar L, Chitsazi MT, Pourabbas R, Faramarzie M, Rahmanpour N. Comparative study on the efficacy of anorganic bovine bone (Bio-Oss) and nanocrystalline hydroxyapatite (Ostim) in maxillary sinus floor augmentation. *Int Sch Res Notices.* 2014; 2014:967091.
55. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2001;3(2):87–96.

ANEXOS

ANEXO A – Comitê de Ética

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"	
---	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação comparativo entre Endobon associado ou não a fatores de crescimento e enxerto autólogo em seio maxilar humano: Análise histomorfométrica imunohistoquímica e Micro-CT

Pesquisador: Eduardo Hochuli Vieira

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 34781120.0.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.366.609

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1588135.pdf	24/09/2020 19:13:38		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Endobon.docx	24/09/2020 19:12:30	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ENDOBON.docx	19/07/2020 09:58:40	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	04/07/2020 21:26:18	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"	
---	---

Continuação do Parecer: 4.366.609

ARACATUBA, 28 de Outubro de 2020

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador(a))