

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/06/2024.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Lara

Eficácia da hidroxiapatita sintética particulada na formação óssea: revisão sistemática e meta-análise

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Lara

Eficácia da hidroxiapatita sintética particulada na formação óssea: revisão sistemática e meta-análise

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Biociências, Biomateriais e Ciências Forenses

Orientadora: Ticiano Sidorenko de Oliveira Capote

Araraquara

2022

L318e

Lara, Mariana

Eficácia da hidroxiapatita sintética particulada na formação óssea: revisão sistemática e meta-análise / Mariana Lara. -- Araraquara, 2022
96 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Ticiania Sidorenko de Oliveira Capote

1. Durapatita. 2. Osteogênese. 3. Regeneração óssea. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

MARIANA LARA

Eficácia da hidroxiapatita sintética particulada na formação óssea: revisão sistemática e meta-análise

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Ticiania Sidorenko de Oliveira Capote

Prof. Dr. Leonardo Pereira Franchi

Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga

Profa. Dra. Mônica Serra

Prof. Dr. Mauro Antônio de Arruda Nóbilo

Araraquara, 15 de junho de 2022

DADOS CURRICULARES

MARIANA LARA

NASCIMENTO: 17/01/1997 – Ribeirão Preto – São Paulo

FILIAÇÃO: Claudia Misto
Luiz Antonio Narvais Lara

2015-2022

Graduada em Odontologia (2015-2019) pela Faculdade de Odontologia - UNESP Araraquara. Membro do grupo de pesquisa em Patologia Experimental e Biomateriais (LPEB) da FOAr/Unesp de 2017 a 2019, como aluna de iniciação científica. Bolsista IC-FAPESP (2018-2019) sob orientação da Profa. Dra. Josimeri Hebling Costa. Atualmente, mestranda no Programa de Odontologia na área de concentração em Biociências, Biomateriais e Ciências Forenses, sob orientação da Profa. Dra. Ticiano Sidorenko de Oliveira Capote na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

Dedico esse trabalho aos meus pais que sempre me apoiaram e me ofereceram todo e qualquer suporte necessário para que eu chegasse até aqui. Vocês são os melhores pais do mundo, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, **agradeço à Deus** por ter me dado força e saúde para superar os momentos difíceis durante essa caminhada.

Aos meus pais, Luiz Antonio e Claudia. Sem vocês, nada disso seria possível. Obrigada por nunca medirem esforços para que eu conseguisse chegar até aqui. Vocês são meus exemplos de vida.

À minha família, sempre tão solícita, encantadora e que nunca deixaram de acreditar em mim e em meu potencial. **Aos meus avós (Antonio, Tereza e Moacyr) e meu padrinho (Fabrício),** que não estão mais fisicamente presentes, mas que sempre me ensinaram valores importantes para a minha vida. Carrego vocês em meu coração!

Aos meus amigos de infância que, mesmo longe, sempre torceram por mim e nunca me negaram palavras de incentivo.

À minha segunda família: Tiago, Bianca, Felipe, Gabriela, Evaldo. Não existem palavras para vocês! Obrigada pelo laço lindo de amizade que criamos.

À minha orientadora querida, Ticiania, pela oportunidade maravilhosa, pela dedicação e pela confiança ao longo da elaboração do meu projeto. Uma professora e amiga querida que me espelha como ser humano e como profissional.

À Suzane Pigossi, sempre tão solícita e paciente, agradeço pelo apoio, pelos ensinamentos e por não ter medido esforços para me ajudar e permitir com que eu conseguisse chegar até aqui. Obrigada por ter sido tão acolhedora comigo e me ensinado tanto.

Ao Luis, Lélío e Marcela, por terem colaborado comigo e terem sido tão gentis ao longo desse processo.

Ao Laboratório de Anatomia e todos ali presentes (Gaby, Marcelo, Marcela e Margarete), foi um prazer enorme conviver com pessoas tão iluminadas como vocês por esse tempo!

À CAPES: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001 e Código de financiamento 830852/1999-9.

Lara M. Eficácia da hidroxiapatita sintética particulada na formação óssea: revisão sistemática e meta-análise [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

Atualmente, a engenharia tecidual óssea tem buscado desenvolver biomateriais que tenham capacidade de promover o reparo tecidual em defeitos ósseos extensos. A hidroxiapatita sintética na forma particulada tem mostrado resultados promissores nesse processo, porém algumas dúvidas ainda surgem quanto a sua eficácia. O objetivo desta revisão sistemática e meta-análise foi avaliar a formação óssea em defeitos preenchidos com hidroxiapatita sintética (HA) na forma particulada em modelos animais. Além disso, investigou-se a influência dos parâmetros físico-químicos da HA, incluindo o tamanho da partícula, porosidade, tamanho dos poros e cristalinidade, na formação óssea e taxa de reabsorção das partículas. Buscas eletrônicas nas bases de dados PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science e Scopus foram realizadas para publicações até maio de 2021. Todos os artigos incluídos eram estudos in vivo que relataram defeitos ósseos em animais preenchidos com HA pura sintética particulada. A formação óssea em defeitos ósseos preenchidos com HA em comparação com coágulos sanguíneos foi avaliada por meio da meta-análise de efeitos aleatórios. Além disso, o efeito do tamanho das partículas na formação óssea foi avaliado por meio da análise de meta-regressão. Cinquenta e seis estudos foram incluídos na análise qualitativa (revisão sistemática) e 2 estudos compuseram a meta-análise/meta-regressão. Os estudos incluídos mostraram formação óssea nos defeitos preenchidos com HA sintética particulada. Em comparação aos defeitos preenchidos com coágulo sanguíneo, a HA apresentou superioridade na formação óssea nas análises qualitativa e quantitativa. Partículas pequenas, principalmente em nanoescala (nano-HA), apresentaram maior taxa de reabsorção óssea e maior formação óssea na análise qualitativa. No entanto, nenhuma influência do tamanho das partículas na formação óssea foi demonstrada na análise de meta-regressão (considerando apenas três observações). Maior porosidade e tamanho dos poros parecem promover maior formação óssea nos defeitos preenchidos com HA. Em conclusão, as partículas de HA são osteocondutoras, proporcionando uma superfície para a formação de novo osso. Além disso, alterações nas propriedades físico-químicas da HA, incluindo tamanho de partícula, porosidade e tamanho dos poros, influenciam diretamente o resultado da formação de osso novo e as taxas de reabsorção.

Palavras chave: Durapatita. Osteogênese. Regeneração óssea.

Lara M. Synthetic hydroxyapatite in particulate forms in bone formation: systematic review and meta-analysis [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

Currently, bone tissue engineering has sought to develop biomaterials that are able to promote tissue repair in extensive bone defects. Synthetic hydroxyapatite in particulate form has shown promising results in this process, but some doubts still arise about its effectiveness. The aim of this systematic review and meta-analysis of animal studies was to evaluate the bone formation in defects filled with synthetic hydroxyapatite (HA) in particulate forms. Moreover, we identified the influence of HA particle size, porosity, pore size, and crystallinity in bone formation outcomes and particle resorption. Electronic searches in the PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science, and Scopus databases were conducted for publications up to May 2021. All articles were in vivo studies that reported bone defects filled with synthetic pure HA in particulate form in animals. The bone formation in bone defects filled with synthetic pure HA in comparison to blood clots was calculated using a random-effects model meta-analysis. Moreover, the effect of particle size on bone formation was evaluated with a meta-regression analysis. Fifty-six studies were included in the qualitative analysis (systematic review) and 2 studies composed the meta-analyses/meta-regression. The studies included showed bone formation in defects filled with HA particles. In comparison to defects filled with a blood clot, the HA showed superiority in bone formation outcomes in qualitative and quantitative analysis. Small particles, mainly at the nanoscale (nano-HA), showed a higher rate of bone resorption and greater bone formation in qualitative analysis. However, no influence of particle size in bone formation was shown in meta-regression analysis (considering only three observations). Higher porosity and pore size seem to increase bone formation in defects filled with HA. In conclusion, the HA particles are osteoconductive, providing surfaces for new bone formation. Moreover, alterations in HA physicochemical properties including particle size, porosity, and pore size directly influence the outcome of new bone formation and resorption rates.

Keywords: Durapatite. Osteogenesis. Bone regeneration.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 PROPOSIÇÃO	15
3 PUBLICAÇÃO	16
4 CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS.....	89
APÊNDICE A – METODOLOGIA DO ESTUDO	92

1 INTRODUÇÃO

A regeneração tecidual óssea é uma área que vem ganhando destaque dentro das pesquisas científicas devido a sua ampla aplicação clínica, uma vez que o tecido ósseo se apresenta susceptível a fraturas, traumas, tumores, infecções ou distúrbios genéticos^{1,2}. A formação e reabsorção óssea é realizada por osteoblastos, osteoclastos, osteócidos. Ela é orientada por uma via de sinalização óssea e requer vascularização adequada, estabilidade, presença de fatores de crescimento e uma matriz de crescimento³.

Em determinadas situações, esse ciclo de reparo ósseo é insuficiente e requer o auxílio de enxertos³. Quando idealizamos um enxerto ideal, algumas características são imprescindíveis: ser osteocondutor, ter propriedades osteoindutoras e osteogênicas³. A osteoindução consiste no processo pelo qual as células mesenquimais são recrutadas para se diferenciarem em condroblastos e osteoblastos, sendo este processo modulado por fatores de crescimento derivados da matriz do enxerto cuja atividade é desencadeada quando o mineral ósseo é removido. Um material osteocondutor, por meio de uma estrutura tridimensional, possibilita o crescimento interno de vasos sanguíneos e células osteoprogenitoras. A osteogênese remete-se à osteo-diferenciação e posterior formação de novo osso, com o envolvimento de mesenquimais viáveis, osteoblastos e osteócitos⁴⁻⁸.

Para que o enxerto ósseo seja bem-sucedido, não basta o material apresentar atividade osteogênica e formar osso. A formação óssea deve ser regular e apresentar resistência mecânica adequada para exercer sua função⁶.

O enxerto mais eficaz é, indubitavelmente, o enxerto autógeno, considerado o padrão ouro, apresentando histocompatibilidade completa e todas as propriedades necessárias. Sendo assim, é osteocondutor, osteoindutor, apresenta células osteogênicas viáveis, e não promove respostas imunes^{2,3,6}. Além disso, algumas formas de enxerto autógeno também podem fornecer suporte estrutural³. As áreas doadoras mais comuns são o crânio, costelas ou crista ilíaca⁹. Apesar do enxerto autógeno ser referência, apresenta uma série de desvantagens, incluindo o desconforto para o paciente devido à necessidade de um sítio doador, quantidade óssea limitada, aumento da perda de sangue, potencial de infecção do local doador,

aumento da hospitalização e custos associados, pode apresentar reabsorção imprevisível e pode ser difícil a adaptação ao esqueleto craniofacial^{2,6,8,10,11}.

Algumas desvantagens encontradas no enxerto autógeno podem ser superadas utilizando os enxertos alógenos. O aloenxerto vem em uma variedade de formas, incluindo derivados ósseos osteocondrais, corticais, esponjosos e altamente processados, como a matriz óssea desmineralizada^{2,6}. Geralmente colhido de secções da pelve de cadáver ou de cabeças femorais removidas em artroplastias totais de quadril^{2,12}. O aloenxerto apresenta potencial osteocondutor, e possibilidade de capacidade osteoindutora, estando relacionada ao processo de preparação. Normalmente, não possuem células viáveis, não sendo osteogênicos^{4,6}. Os maiores problemas associados aos aloenxertos são as transmissões de doenças e infecções, tanto de origem viral como bacteriana^{4,6,10}.

A matriz óssea desmineralizada (MOD) é uma forma de aloenxerto altamente processado, descalcificado utilizando solução ácida para remover componentes minerais, contendo colágeno, proteínas não-colágenas, proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) e outros fatores de crescimento que lhe conferem propriedades osteocondutoras e também osteoindutoras sendo o potencial osteoindutor maior do que o aloenxerto, porém dependente também da forma de preparação^{6,13}. O risco de infecção e reação imunológica é reduzido devido ao processo de desmineralização, assim como destrói as células originais, inviabilizando atividade osteogênica^{13,14}. A quantidade de BMPs nas MOD é altamente variável e é menor do que o encontrado no osso humano normal, havendo ampla diferença entre os produtos comercialmente disponíveis¹⁴.

Enxertos ósseos obtidos de animais (comumente bovinos ou suínos), chamados xenógenos, foram desenvolvidos como uma alternativa ao uso do enxerto autógeno. Os enxertos de origem bovina têm demonstrado resultados promissores em diversos estudos¹⁵⁻¹⁷. Destaca-se propriedades como formação óssea adequada, baixa taxa de reabsorção, características osteocondutoras e compensação da reabsorção óssea natural causada pela remodelação óssea¹⁸. Esse tipo de biomaterial é utilizado com frequência na odontologia para elevação do assoalho do seio nasal, preenchimento de alvéolos em exodontias e no tratamento de defeitos periodontais¹⁸.

O biomaterial xenógeno líder no mercado mundial é o Bio-Oss®, produzido pela empresa Geistlich Pharma A, obtido de osso bovino. O Bio-Oss® se apresenta

como um enxerto ideal devido às suas propriedades mecânicas e ao seu comportamento biológico, apresentando características químicas e físicas semelhantes ao osso humano; é osteocondutor, sendo que sua estrutura altamente porosa e uma grande área de superfície de contato promovem o crescimento capilar e migração e proliferação de osteoblastos; estimula adequada formação óssea, apresenta baixa taxa de reabsorção, não estando associado ao aumento das taxas de complicações, além de evitar a necessidade de áreas doadoras^{19,11,20}. Devido a estas propriedades, seu uso costuma apresentar resultados comparáveis aos enxertos ósseos autógenos²⁰.

Para obtenção do Bio-Oss®, o osso bovino é submetido a um tratamento alcalino forte como hidróxido de sódio (NaOH) e, posteriormente com peróxido de hidrogênio (H₂O₂), além de um tratamento térmico (temperatura de cerca de 300°C), para a retirada de matéria orgânica composta basicamente de colágeno. Contudo, mesmo utilizando métodos agressivos para a retirada de matéria orgânica nesse tipo de enxerto, uma parte ainda permanece no material (aproximadamente 1180-1200 ppm (partes por milhão) de matéria orgânica, que correspondem a 620 ppm de proteína, 500 ppm de colágeno e 60 ppm de outros componentes)²⁰. Surge, assim, o questionamento de até que ponto enxertos xenógenos podem ser considerados seguros e quais seriam os riscos de transmissão de doenças aos humanos, como a encefalopatia espongiforme bovina²¹. Os antígenos celulares dos enxertos xenógenos demonstraram provocar respostas inflamatórias, estimulando liberação de mediadores inflamatórios do receptor, acarretando falha do enxerto²². Além disso, alguns pacientes podem recusar o uso de materiais de origem animal¹¹.

A engenharia tecidual óssea tem buscado desenvolver incessantemente biomateriais que apresentem biocompatibilidade, osteocondução e osteoindutividade como substitutos para autoenxertos, enxertos alógenos e xenógenos, tendo sido reconhecidos como alternativas promissoras para resolverem problemas de disponibilidade e limitação de volume, reações imunológicas e transferência de patógenos^{7,22}.

A hidroxiapatita (HA) (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) é um dos materiais biocerâmicos mais conhecidos com variadas aplicações dependendo de sua morfologia, tendo sido amplamente utilizada para o preenchimento de defeitos ósseos²³.

A HA é uma das biocerâmicas à base de fosfato de cálcio mais estáveis e menos solúveis que possui excelentes propriedades de biocompatibilidade,

bioatividade, bioafinidade e osteocondução, osteointegração, não tendo sido relatado toxicidade local ou sistêmica adversa. Possui boa afinidade biológica com o tecido ósseo devido a sua semelhança química e biológica com o mineral ósseo natural^{5,24}. Além disso, a HA tem demonstrado atuar muito bem como um suporte durante o processo de adesão e proliferação de osteoblastos *in vitro* e possui capacidade de estabelecer uma forte ligação com o fase mineral óssea recém-depositada *in vivo*²⁵.

As diferentes formas de HA empregadas para aplicações biomédicas incluem blocos porosos (scaffolds) e densos, grânulos, pasta, cimento e revestimentos²⁴.

As propriedades mecânicas do HA dependem da porosidade, densidade, sinterabilidade, tamanho do cristal e composição da fase²⁴. Pesquisadores têm buscado aprimorar as propriedades desse material alterando sua composição, morfologia e tamanho de partículas para aumentar sua bioatividade, resistência mecânica, solubilidade e sinterabilidade⁵. Alterações nas propriedades físico-químicas da HA como a porosidade, forma e tamanho de partículas, estão mostrando resultados positivos no processo de formação e regeneração óssea, além de promover propriedades osteoindutoras²⁶.

O aprimoramento dessas características pode ser modulado variando o método e as condições de síntese²⁶. A HA pode ser sintetizada por vários métodos, como pirólise por pulverização, síntese por combustão, por hidrólise, método sol-gel, método de emulsão, método mecânico-químico, síntese hidrotermal, método de troca iônica, reação de estado sólido, e métodos de precipitação^{27,28}. Um dos métodos mais usados é a precipitação úmida, em que as reações químicas ocorrem entre os íons cálcio e fósforo sob um pH e temperatura controlados da solução²⁶. Cada método de síntese requer vários parâmetros de processamento para a produção de uma HA pura, como pH, temperatura, proporção molar de produtos químicos, entre outros, resultando em diferentes tamanhos e morfologias. As características diferentes das HA obtidas afetam significativamente a bioatividade, propriedades mecânicas e biológicas. Assim, o método de síntese está intimamente relacionado ao controle da morfologia, cristalinidade, tamanho e composição química da HA, sendo que estas características determinam a aplicação biomédica da HA²⁹.

Estudos clínicos e histológicos com partículas sólidas e densas de HA demonstraram boa estabilidade e biocompatibilidade do material, mas a taxa de crescimento ósseo apresentou um aumento mínimo nessas regiões^{30,31}. Atualmente,

a HA particulada tem mostrado maior eficácia no processo de reparo ósseo, pela sua maior área de superfície e espaço entre os grânulos, o que beneficia a invasão do tecido nessa região³¹.

Ademais, diversos estudos têm mostrado a influência do tamanho da partícula no processo de reparo ósseo com biomateriais^{25,32,33}. Essa característica afeta diretamente a taxa de absorção dos materiais utilizados. Resultados promissores foram observados quando a HA é reduzida a uma escala nanométrica. A nanohidroxiapatita (nanoHA) favorece o aumento da área de superfície e, conseqüentemente, uma maior solubilidade cinética. Dessa forma, o material se integra melhor ao defeito ósseo, proporciona maior biodegradação e promove maior remodelação óssea^{25,31,32,34}.

A capacidade de um biomaterial de aumentar a expressão osteogênica e fornecer um suporte para a formação de um novo tecido ósseo é diretamente ligada ao tamanho do poro e porosidade³². O grau de porosidade regula a bioatividade dos biomateriais para enxerto, sendo que a interconectividade dos poros, geometria, topografia modulam a osteogênese, que promove sinergicamente a osteocondutividade do enxerto ósseo²⁴. A porosidade refere-se à porcentagem geral de espaços vazios dentro de um sólido, enquanto o tamanho dos poros reflete o diâmetro individual dos vazios no material³⁵. A importância dessas características pode ser atribuída à estrutura nativa do osso, que é um tecido poroso. O osso medular é uma estrutura altamente porosa com valores típicos de porosidade entre 50 e 90%. As regiões porosas do osso cortical permitem a vascularização e a infiltração celular da estrutura. A porosidade e o tamanho dos poros demonstraram crescimento de tecido vascularizado, melhoria na fixação celular e conseqüentemente, afeta a densidade da sementeira, distribuição e migração celular^{35,33}.

Em um estudo realizado por De Val et al.³⁶, foi feita uma comparação das propriedades físico-químicas de HA sintética com materiais comerciais. Uma análise detalhada das curvas de distribuição do tamanho dos poros foi obtida pela intrusão de mercúrio e revelou que os biomateriais à base de HA, puros e bifásicos, são meios eficazes para processos de regeneração óssea; destes, materiais com maior porosimetria inicial e secundária permitem maior colonização celular e, portanto, substituição mais efetiva por um osso novo³⁵. O uso de HA in vivo tem sido avaliada há anos com a obtenção de resultados efetivos para regeneração óssea, sendo

utilizada pura ou associada a outros ativos com o objetivo de melhorar suas propriedades mecânicas, químicas e/ou biológicas^{37-42,11,43-46}.

As evidências científicas mostram que nenhum substituto ósseo ideal foi desenvolvido até o momento⁵. Há a necessidade de uma melhor combinação entre macro e micro características, além da simplificação do processo de fabricação e que tenha um custo acessível. Com isso, essa revisão sistemática traz dados promissores que mostram eficácia do uso HA sintética em estudos in vivo durante o processo de regeneração óssea. Além disso, faz o delineamento e a análise das características físico-químicas da HA e sua comparação com outros enxertos ósseos presentes no mercado atualmente.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que as partículas de HA são osteocondutoras, proporcionando uma superfície para a formação de novo osso. Além disso, alterações nas propriedades físico-químicas da HA, incluindo tamanho de partícula, porosidade e tamanho dos poros, influenciam diretamente o resultado da formação de osso novo e as taxas de reabsorção.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira HL, Da Rosa WL, Cuevas-Suárez CE, Carreño NL, da Silva AF, Guim TN, et al. Histological evaluation of bone repair with hydroxyapatite: a systematic review. *Calcif Tissue Int.* 2017; 101 (4): 341-54.
2. García-Gareta E, Coathup MJ, Blunn GW. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration. *Bone.* 2015; 81:112-21.
3. Fillingham Y, Jacobs J. Bone grafts and their substitutes. *Bone Joint J.* 2016; 98 (1_Supple_A): 6-9.
4. Khan SN, Cammisa Jr FP, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005; 13 (1): 77-86.
5. Wang W, Yeung KW. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review. *Bioact Mater.* 2017; 2 (4): 224-47.
6. Roberts TT, Rosenbaum AJ. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis.* 2012; 8 (4): 114-24.
7. Rogers GF, Greene AK. Autogenous bone graft: basic science and clinical implications. *J Craniofac Surg.* 2012; 23 (1): 323-7.
8. Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, Greenfield MLV. Autogenous iliac crest bone graft: complications and functional assessment. *Clin Orthop Relat Res.* 1997; 339: 76-81.
9. 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 Oct 29; 2014: 967091.
10. Lewandrowski KU, Bondre SP, Wise DL, Trantolo DJ. Enhanced bioactivity of a poly(propylene fumarate) bone graft substitute by augmentation with nano-hydroxyapatite. *Biomed Mater Eng.* 2003; 13 (2): 115-24.
11. Zhang H, Yang L, Yang Xg, Wang F, Feng Jt, Hua K-C et al. Demineralized bone matrix carriers and their clinical applications: an overview. *Orthop Surg.* 2019; 11 (5): 725-37.
12. Zimmermann G, Moghaddam A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury.* 2011; 42: S16-S21.
13. Delloye C, Cornu O, Druetz V, Barbier O. Bone allografts: what they can offer and what they cannot. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89 (5): 574-80.
14. Dau M, Kämmerer PW, Henkel KO, Gerber T, Frerich B, Gundlach KK. Bone formation in mono cortical mandibular critical size defects after augmentation with two synthetic nanostructured and one xenogenous hydroxyapatite bone substitute—in vivo animal study. *Clin Oral Implants Res.* 2016; 27 (5): 597-603.
15. Jang CH, Cho YB, Choi CH, Jang YS, Jung WK, Lee JK. Comparison of osteoconductivity of biologic and artificial synthetic hydroxyapatite in experimental mastoid obliteration. *Acta Otolaryngol.* 2014; 134 (3): 255-9.

16. Trevisiol L, Nocini PF, Albanese M, Sbarbati A, D'Agostino A. Grafting of large mandibular advancement with a collagen-coated bovine bone (Bio-Oss Collagen) in orthognathic surgery. *J Craniofac Surg.* 2012; 23 (5): 1343-8.
17. Shamsoddin E, Houshmand B, Golabgiran M. Biomaterial selection for bone augmentation in implant dentistry: a systematic review. *J Adv Pharm Technol Res.* 2019; 10 (2): 46.
18. Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials.* 2001; 22 (12):1599-606.
19. Amini Z, Lari R. A systematic review of decellularized allograft and xenograft-derived scaffolds in bone tissue regeneration. *Tissue Cell.* 2021; 69:101494.
20. Fillingham YA, Lenart BA, Gitelis S. Function after injection of benign bone lesions with a bioceramic. *Clin Orthop Relat Res.* 2012; 470 (7): 2014-20.
21. Mary IR, Sonia S, Viji S, Mangalaraj D, Viswanathan C, Ponpandian N. Novel multiform morphologies of hydroxyapatite: synthesis and growth mechanism. *Appl Surf Sci.* 2016; 361: 25-32.
22. Zeng J-H, Qiu P, Xiong L, Liu S-W, Ding L-H, Xiong S-L et al. Bone repair scaffold coated with bone morphogenetic protein-2 for bone regeneration in murine calvarial defect model: systematic review and quality evaluation. *Int J Artif Organs.* 2019; 42 (7): 325-37.
23. Kattimani VS, Kondaka S, Lingamaneni KP. Hydroxyapatite—Past, present, and future in bone regeneration. *Bone Tissue Regen.* 2016; 7: 9-19.
24. Rahavi SS, Ghaderi O, Monshi A, Fathi MH. A comparative study on physicochemical properties of hydroxyapatite powders derived from natural and synthetic sources. *Russ Non-Fer Met.* 2017; 58 (3): 276-86.
25. Attia MS, Mohammed HM, Attia MG, Hamid MA, Shoeriabah EA. Histological and histomorphometric evaluation of hydroxyapatite-based biomaterials in surgically created defects around implants in dogs. *J Periodontol.* 2019; 90 (3): 281-7.
26. Nayak AK. Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview. *Int J Chemtech Res.* 2010; 2 (2): 903-7.
27. Agbeboh NI, Oladele I, Daramola O, Adediran A, Olasukanmi O, Tanimola M. Environmentally sustainable processes for the synthesis of hydroxyapatite. *Heliyon.* 2020; 6 (4): e03765.
28. Pu'ad NM, Haq RA, Noh HM, Abdullah H, Idris M, Lee T. Synthesis method of hydroxyapatite: a review. *Mater Today: Proc.* 2020; 29: 233-9.
29. Sadat-Shojai M, Khorasani M-T, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater.* 2013; 9 (8): 7591-621.
30. Frame JW, Rout P, Browne R. Ridge augmentation using solid and porous hydroxylapatite particles with and without autogenous bone or plaster. *J Oral Maxillofac Surg.* 1987; 45 (9): 771-7.

31. Gonda Y, Ioku K, Shibata Y, Okuda T, Kawachi G, Kamitakahara M et al. Stimulatory effect of hydrothermally synthesized biodegradable hydroxyapatite granules on osteogenesis and direct association with osteoclasts. *Biomaterials*. 2009; 30 (26): 4390-400.
32. de Val J, Calvo-Guirado JL, Gomez-Moreno G, Martinez CPA, Mazon P, De Aza PN. Influence of hydroxyapatite granule size, porosity, and crystallinity on tissue reaction *in vivo*. Part A: synthesis, characterization of the materials, and SEM analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2016; 27 (11): 1331-8.
33. Agrawal K, Singh G, Puri D, Prakash S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite powder by sol-gel method for biomedical application. *JMMCE*. 2011; 10 (8): 727-34.
34. Gonda Y, Ioku K, Shibata Y, Okuda T, Kawachi G, Kamitakahara M et al. Stimulatory effect of hydrothermally synthesized biodegradable hydroxyapatite granules on osteogenesis and direct association with osteoclasts. *Biomaterials*. 2009; 30 (26): 4390-400.
35. de Val J, Calvo-Guirado JL, Gomez-Moreno G, Gehrke S, Mazon P, De Aza PN. Influence of hydroxyapatite granule size, porosity, and crystallinity on tissue reaction *in vivo*. Part B: a comparative study with biphasic synthetic biomaterials. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Nov; 29 (11): 1077-1084.
36. Sugaya A, Minabe M, Tamura T, Hori T, Watanabe Y. Effects on wound healing of hydroxyapatite-collagen complex implants in periodontal osseous defects in the dog. *J Periodontal Res*. 1989; 24 (4): 284-8.
37. Okanoue Y, Ikeuchi M, Takemasa R, Tani T, Matsumoto T, Sakamoto M et al. Comparison of *in vivo* bioactivity and compressive strength of a novel superporous hydroxyapatite with beta-tricalcium phosphates. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2012; 132 (11): 1603-10.
38. Yaman F, Dundar S, Cakmak O, Saybak A, Kirtay M, Kaya B et al. Guided bone regeneration with polyethylene membrane, zoledronic acid and hydroxiapatite bone graft in peri-implant bone defect: an experimental study. *Biomed Res*. 2017; 28 (6): 2684-8.
39. Vieira E, Silva M, Maia-Filho A, Ferreira D, Figuerêdo-Silva J, Rovaris K et al. Effect of cerium-containing hydroxyapatite in bone repair in female rats with osteoporosis induced by ovariectomy. *Minerals*. 2021; 11 (4): 1-22.