

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia

LETÍCIA RIBEIRO FERREIRA

Uso de xenoinxerto ósseo colagenoso para vedamento de perfuração de membrana Schneideriana. Estudo tomográfico e histomorfométrico em coelhos.

Ribeirão Preto

2024

LETÍCIA RIBEIRO FERREIRA

Uso de xenoinxerto ósseo colagenoso para vedamento de perfuração de membrana Schneideriana. Estudo tomográfico e histomorfométrico em coelhos.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgiã Dentista.

ORIENTADOR: PROF. DR. SAMUEL
PORFÍRIO XAVIER

Ribeirão Preto

2024

Nome: FERREIRA, Letícia Ribeiro

Título: **Uso de xenoenxerto ósseo colagenoso para vedamento de perfuração de membrana Schneideriana.** Estudo tomográfico e histomorfométrico em coelhos.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Cirurgiã Dentista.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Luís e Deborah, meus irmãos Ricardo e Eduardo, e família, que sempre estiveram do meu lado e acreditaram no meu sucesso, comemoraram minhas conquistas e me incentivaram a ir atrás de meus sonhos independente da situação.

Aos meus amigos e duplas de faculdade, que sempre permaneceram ao meu lado, tornaram meus dias na graduação mais leves, estiveram presentes nos momentos de felicidade e me ajudaram nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Samuel Porfírio Xavier e ao meu co-orientador Prof. Dr. Erick Ricardo, que tornaram possível a realização deste trabalho, e me deram diversas oportunidades e conhecimentos para desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao instituto ARDEC, na Itália, pelas diversas colaborações internacionais. Ao grupo de pesquisa, que contribuiu para o desenvolvimento de diversos projetos no decorrer de minha graduação. Ao departamento de CTBMF, com todos os professores e funcionários que me acolheram, por se tornar um local que visitei com frequência considerada nos últimos anos de faculdade.

À todo o corpo docente, que passa os anos de graduação se dedicando em ensinar a teoria e técnicas indispensáveis à profissão, e compartilhar conhecimentos essenciais à minha formação e de toda a turma.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), que se tornou minha segunda casa nesses últimos 5 anos, e aos funcionários responsáveis pela manutenção e funcionamento da faculdade.

RESUMO

FERREIRA, Letícia Ribeiro. **Uso de xenoenxerto ósseo colagenoso para vedamento de perfuração de membrana Schneideriana.** Estudo tomográfico e histomorfométrico em coelhos. 2024. 43 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Este estudo tem como objetivo avaliar a eficácia e segurança de um substituto ósseo viscoso derivado porcino comparado a um enxerto ósseo similar não-adesivo no tratamento de perfurações da membrana de Schneider durante o procedimento de elevação do seio maxilar, utilizando modelo de estudo de coelho. Doze coelhos foram incluídos no estudo em dois grupos de 2 e 10 semanas contendo 6 coelhos cada. Foram realizadas elevações bilaterais no assoalho sinusal. A mucosa do seio maxilar foi intencionalmente perfurada utilizando uma lâmina de bisturi de ambos os lados, e sequencialmente foi feito o preenchimento randomizado utilizando em cada lado osso cortical esponjoso com 10% de colágeno (mp3) ou osso cortical esponjoso embebido em gel termossensível a 20% (GTO). O processo de cicatrização foi avaliado após 2 e 10 semanas, utilizando 6 animais em cada momento, através de tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), microtomografia computadorizada (Micro-CT), e avaliações histológicas. Em 2 semanas, na TCFC, foram observadas algumas partículas de biomateriais próximas à membrana de Schneider. A Micro-CT e avaliações histológicas revelaram consistentemente a presença de poucos grânulos além da região elevada, sendo a análise histológica provando ser mais sensível. Seguindo o período de cicatrização de 2 semanas, cinco seios maxilares do grupo mp3 e dois seios maxilares do grupo GTO demonstraram grânulos fora da região elevada, mas em proximidade com a região das perfurações. No grupo de 10 semanas, o número de seios maxilares afetados reduziu a um do grupo mp3 e dois do grupo GTO. Adicionalmente, a avaliação em Micro-CT demonstrou uma redução de volume da região elevada em aproximadamente 12% após 2 semanas e 50-54% após 10 semanas. A utilização de substituto ósseo viscoso parece impedir a extrusão de partículas ósseas na perfuração induzida da membrana de Schneider. No entanto, os materiais de controle também se comportaram de modo similar. Isso sugere que pode ser possível utilizar osso viscoso como uma alternativa para vedamento de perfuração de membrana sinusal e evitar a extrusão de grânulos durante a prática clínica.

Palavras-Chave: elevação de seio maxilar, membrana de Schneider, complicações, perfuração sinusal, enxerto ósseo colagenoso, osso viscoso

ABSTRACT

FERREIRA, Letícia Ribeiro. **Use of collagenous bone xenograft for sealing Schneiderian membrane perforation.** Tomographic and histomorphometric study in rabbits. 2024. 43 pages. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

This study aims to assess the efficacy and safety of a sticky porcine-derived viscous bone substitute compared to a similar non-adhesive bone graft, in addressing induced perforations of the Schneider membrane during maxillary sinus lift procedure using a within-subject design rabbit model. Twelve rabbits were enrolled in the study in two groups of 2 and 10 weeks with 6 rabbits each. Bilateral sinus floor elevations were performed. The sinus mucosa was intentionally perforated using a blade on both sides and subsequently randomly filled with either cortical cancellous bone with 10% collagen (mp3) or a cortico-cancellous bone embedded in a 20% thermosensitive gel (GTO). Healing progress was evaluated after 2 and 10 weeks in 6 animals at each time-point, with cone-beam computed tomography (CBCT), micro-computed tomography (microCT) and histological assessments. At 2-week, on CBCTs, biomaterials particles were observed in the vicinity of the Schneider membrane. MicroCT and histologic assessments consistently revealed the presence of few granules beyond the elevated region, with histological analysis proving to be the most sensitive. Following a 2-week healing period, five sinuses in the mp3 group and two sinuses in the GTO group exhibited granules outside the elevated region but in the vicinity of the perforation region. In the 10-week groups, the number of affected sinuses decreased to one in the mp3 group and two in the GTO group. Additionally, micro-CT evaluation demonstrated a reduction in the volume of the elevated region by approximately 12% after 2 weeks and 50-54% after 10 weeks. The use of a sticky bone substitute seems to prevent a substantial amount of bone particles from extruding through an induced perforation of the Schneiderian. However, also the control materials behaved similarly. This suggests that it could be possible to use a sticky bone as an alternative to a barrier membrane to avoid the extrusion of bone granules in the presence of accidental perforation of the sinus membrane in clinical practice.

Keywords: Sinus lift; Schneider membrane; complications; sinus perforation, collagenated bone graft; sticky bone

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
PROPOSIÇÃO.....	10
MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
Comissão de ética.....	10
Design do Estudo	11
Modelo animal	11
Tempos Experimentais.....	12
Amostra.....	12
Randomização	13
Biomateriais	14
Procedimentos de Anestesia.....	14
Procedimento de Levantamento de Seio Maxilar.....	15
Manutenção dos Animais	17
Eutanásia	18
Processamento e Análise Tomográfica	18
Análise Tomográfica.....	19
Análise Microtomografia	20
Processamento Histológico	21
Avaliação Histológica e Histomorfométrica	21
Medida de Resultados	23
Análise Estatística	23
RESULTADOS	24
Avaliações TCFC.....	24
Avaliações Micro CT	24
Avaliação histológica descritiva.....	27
Avaliação histomorfométrica	31
DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS	38

INTRODUÇÃO

Os procedimentos de elevação do seio maxilar são essenciais para a implantologia moderna, pois visam recuperar o volume ósseo insuficiente devido à pneumatização do seio maxilar na região posterior da maxila (Esposito et al. 2014). A perda óssea da região posterior da maxila decorre de diversos fatores como perda dental precoce, infecções, traumas, neoplasias, cistos, idade e pneumatização do seio maxilar (Scarano et al. 2017, Aldelaimi et al. 2016, Mohan et al. 2015), e para melhorar o prognóstico ao garantir dimensões ósseas favoráveis para a instalação de implantes osseointegráveis (Starch-Jensen et al. 2018, Al-Moraissi et al. 2020., Del Fabbro et al. 2013, La Barbera et al. 2018, Juzikis et al. 2018). É uma técnica que possui como objetivo principal melhorar as condições para melhor estabilização e integração estável do implante dentário, favorecendo o processo de reabilitação do paciente (Pjetursson et al. 2008, Starch-Jensen et al. 2018, Del Fabbro et al. 2013).

O procedimento envolve o acesso ao seio maxilar, por meio de uma janela óssea lateral feita cuidadosamente para acessar a membrana sinusal e realizar o descolamento e elevação da membrana sinusal, de modo a proporcionar espaço para a colocação de enxertia óssea granular ou enxertos de substituição óssea (Boyne e James 1980; Tatum 1991). Um dos riscos da técnica realizada é a perfuração acidental ou laceração da membrana de Schneider (Testori et al. 2020, Schwartz-Arad et al. 2004, Nolan et al. 2014, Kim et al. 2019). Em virtude dessa intercorrência, a intrusão de biomaterial para a região interna do seio maxilar pode levar à obstrução do complexo ostiomeatal responsável pela drenagem mucosa (Nolan et al. 2014, Testori et al. 2019; 2023), podendo resultar em infecção e/ou sinusite crônica. (Urban et al. 2012, Doud Galli et al. 2001).

A fim de evitar complicações, perda da enxertia e estabelecer cobertura estável da área perfurada, são estabelecidas condutas para a cicatrização da perfuração, utilizando principalmente de barreira membranosa (Testori et al. 2008, Tarnow et al. 2000). Em alguns casos, o processo de reparo após a perfuração pode ocorrer espontaneamente (Aimetti et al. 2001), entretanto existem algumas técnicas que são utilizadas no tratamento de extensas perfurações, incluindo sutura oclusiva da membrana (Schwartz-Arad et al. 2004, Khoury 1999; Lundgren et al. 2004), adesivos biológicos de cianoacrilato (Schwartz-Arad et al. 2004, Khoury et al. 1999, Choi et al. 2006), e barreiras reabsorvíveis como membranas de colágeno (Kawakami et al. 2018;2019, Pikos et al. 1999, Proussaefs et al. 2003, Testori et al. 2008, Kim

et al. 2014, Scala et al 2016). Estas intervenções aumentam a complexidade cirúrgica, tempo e custo, sem a garantia de sucesso do procedimento (Testori et al. 2008, Tarnow et al. 2000).

Substitutos ósseos xenógenos como osso bovino ou suíno, podem representar uma alternativa viável em razão de suas propriedades osteocondutoras (Scarano et al. 2011). Especificamente, o enxerto ósseo suíno induz a expressão de genes específicos de osteoblastos (Crespi et al. 2011), além de possuir características estruturais semelhantes ao osso humano e apresentar baixa reabsorção (Nannmark et al. 2008). Devido à capacidade do colágeno de facilitar a coagulação sanguínea, ocorre maior invasão de células reparadoras e regenerativas, ao mesmo tempo que a consistência microporosa facilita a neoformação óssea em locais de defeito ósseo, acelerando o processo de regeneração (Iida et al. 2017).

A mucosa sinusal possui capacidade de induzir a formação óssea (Gruber et al. 2004, Srouji, 2013; 2010; 2009). O osso viscoso possui natureza adesiva, mantendo o material do enxerto *in situ*, de modo a reduzir o risco de extravasamento do material para cavidade sinusal, favorecendo o processo natural de cicatrização e protegendo a mucosa sinusal sem a perda de seu potencial osteogênico (Scala et al. 2016, Favero et al. 2016, Iida et al. 2018, Lim et al. 2022, Hirota et al. 2019, Morimoto et al. 2022, Lim et al. 2018).

PROPOSIÇÃO

Este estudo foi conduzido de modo a verificar, por meio de análises tomográficas e histomorfométricas, a eficácia do uso de biomaterial ósseo viscoso de origem suína comparado a um enxerto ósseo não adesivo semelhante na presença de perfurações na membrana de Schneider durante o procedimento de elevação do seio maxilar em modelos de coelhos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Comissão de ética

O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - CEUA 0056/2022 protocolo nº 2023.1.342.58.5). As diretrizes ARRIVE (<https://arriveguidelines.org>) para experimentos

com animais foram seguidas.

Design do Estudo

Estudo randomizado comparado controlado em animais pela abordagem *split mouth* com avaliação às cegas. O modelo de estudo animal foi selecionado em coelhos devido às pressões respiratórias no seio maxilar serem isobáricas. Apesar da medida de espessura da mucosa sinusal ser mais fina (~0,08mm) (Aimetti et al. 2008) em comparação ao do humano (~0,45-1 mm) (Godoy et al. 2021), é comprovada eficácia de estudos experimentais de procedimentos de aumento de seio maxilar em coelhos (Scharf et al. 1995; Ferreira Balan et al. 2022).

Modelo animal

Doze coelhos machos brancos da raça *New Zealand White* com aproximadamente 4,0 kg, de 4-5 meses de idade, foram randomizados e alocados em dois grupos de seis animais cada para realizar o procedimento cirúrgico de elevação do seio maxilar, com uma perfuração bilateral intencional da membrana sinusal para estudar a resposta biológica ao tratamento da lesão utilizando biomateriais xenógenos com diferentes concentrações de colágeno de origem suína (Figura 1).

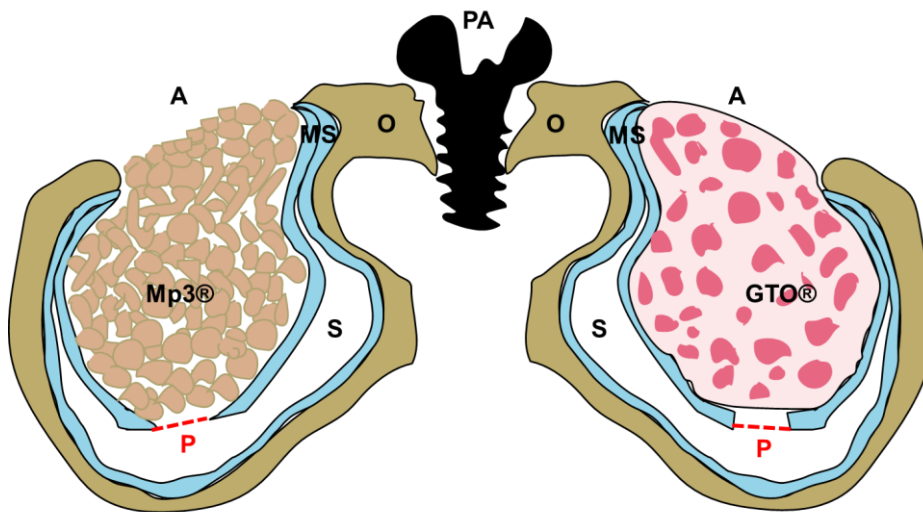


Figura 1: Representação esquemática dos seios maxilares elevados e enxertados, apresentando lados controle (mp3®) e teste (GTO®). Paredes ósseas (O), região da antrostomia (A), seio maxilar (S), membrana Schneideriana (MS), perfuração da membrana de Schneider (P), e parafuso de referência (PA). A linha pontilhada em vermelho representa a extensão da perfuração. (Imagem / fonte: Prof. Dr. Samuel P. Xavier).

Tempos Experimentais

Foram utilizados os períodos experimentais de 2 e 10 semanas, para ser possível identificar se há diferença estatística significativa entre os grupos (entre-grupos) e entre os tempos (intra-grupos), de acordo com modelos de estudos de análises de enxertos em seios maxilares em coelhos previamente realizados, inclusive de artigos publicados pelo grupo de pesquisa do orientador (Omori et al. 2018).

Amostra

O tamanho da amostra foi calculado com base na presença/ausência de enxerto no seio maxilar fora da membrana de Schneider como desfecho primário. Na ausência de estudos clínicos anteriores investigando substitutos ósseos pegajosos (SB) em comparação com o mesmo enxerto ósseo sem características pegajosas (NSB), as seguintes suposições foram feitas com base na plausibilidade clínica. Um total de 12 animais foram estimados para comparar proporções pareadas por meio de um teste de McNemar bilateral, com taxa de erro tipo I alfa.

Foram utilizados doze coelhos machos, adultos, da raça *New Zealand White*, pesando 4,0 kg. Considerando o desenho experimental proposto (Figura 2) foi necessário apenas um grupo de animais com medida repetida entre os dois lados. Foi obtido o resultado do cálculo amostral obtido pelo software G*Power 3.1.9.7 para o modelo experimental proposto neste estudo (considerando alfa = 0.05, poder do teste = 0.8, correlação entre medidas de 0.5) semelhante ao utilizado em estudos prévios (Figura 2).

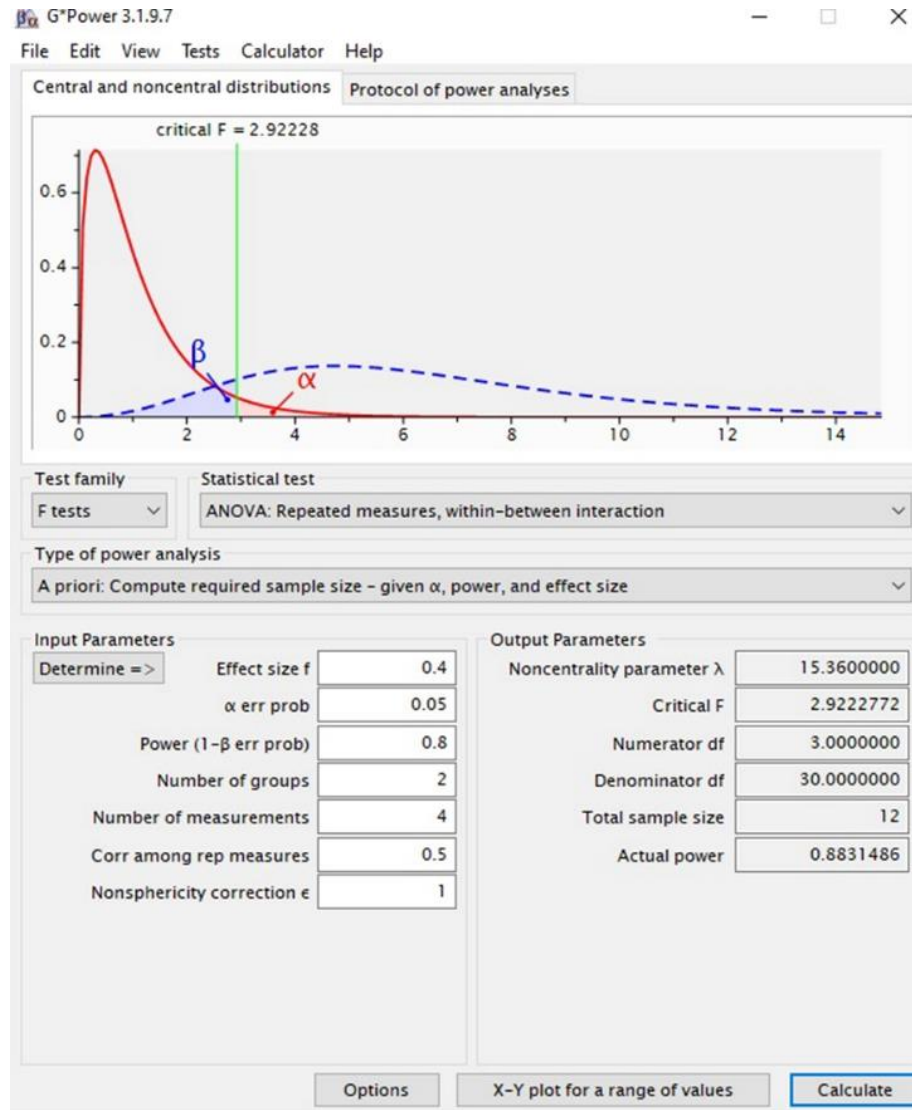


Figura 2: Imagem referente ao cálculo amostral obtido a partir do software G*Power 3.1.9.7. Fonte própria.

Neste modelo, para esta configuração o tamanho amostral necessário mínimo é de 12 animais (2 grupos, $n=6$).

Randomização

A randomização entre os lados teste e controle foi realizada eletronicamente (randomization.com) por um colaborador que não estava envolvido na seleção e manuseio dos animais e/ou nos procedimentos cirúrgicos. A determinação foi assegurada em envelopes opacos lacrados sequencialmente fornecidos pelo orientador do estudo. Após realizar a elevação do seio maxilar e a perfuração intencional padronizada da membrana de Schneider, o operador foi informado sobre qual tipo de substituto ósseo preencher em cada lado.

Biomateriais

Foram utilizados dois biomateriais xenógenos de origem porcina. O do grupo controle apresenta característica convencional mais granular e menos colagenosa, enquanto o do grupo teste possui os grânulos dispersos em conteúdo colagenoso com característica pastosa / viscosa.

Grupo teste: O OsteoBiol® GTO (Tecnoss, Giaveno, Itália) é um substituto ósseo viscoso reabsorvível composto por 80% de mistura de osso suíno córtico-esponjoso heterólogo colagenado (granulometria de 600-1000) + 20% de gel termossensível (TSV) (seringa de 0,5 cc) que proporciona trabalhabilidade e adesividade. Este por sua vez, é composto por colágeno do tipo I e III com ácidos graxos poli saturados e um copolímero sintético biocompatível diluído em solução aquosa, podendo ser facilmente adaptado no local do defeito.

Grupo controle: O OsteoBiol® mp3 (Tecnoss, Giaveno, Itália) é um substituto ósseo gradualmente reabsorvível composto por grânulos de osso suíno de osso cortical e esponjoso e 10% de colágeno com granulometria de 600-1000 (seringa de 0,5 cc). O biomaterial possui propriedades osteocondutoras e é gradualmente reabsorvível, preservando forma e volume originais do enxerto (Iida et al. 2017).

Procedimentos de Anestesia

A sedação foi realizada com acepromazina 1,0 mg/kg (Acepran®, Vetnil, Louveira, São Paulo, Brasil) administrada por via intramuscular, seguida da anestesia realizada com solução de xilazina 3,0 mg/Kg (Dopaser®, Hertape Calier, Juatuba, Minas Gerais, Brasil) e de cloridrato de cetamina 50mg/kg (Ketamin Agener, União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, São Paulo, Brasil) intramuscular IM. No pré-operatório, os animais receberam uma dose profilática de oxitetraciclina 20 mg/kg por via intramuscular (Biovet, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil), meloxicam 0,2%, 1,0mg/kg por via subcutânea (Flamavet; União Química Farmacêutica S/A., Embu-Guaçu, São Paulo, Brasil) e cloridrato de tramadol 5,0 mg/kg por via subcutânea (Halexistar; Goiânia, Goiás, Brasil). As medicações anti-inflamatórias, meloxicam 0,2%, 0,5 mg/kg por via subcutânea (Flamavet; União Química Farmacêutica S/A., Embu-Guaçu, São Paulo, Brasil) e cloridrato de tramadol 5,0 mg/kg por via subcutânea (Halexistar; Goiânia, Goiás, Brasil), foram mantidas nos primeiros 03 dias de pós-operatório e administradas 1 vez ao dia.

A área a ser operada foi tricotomizada e a antissepsia da região realizada pela aplicação tópica de solução de iodopovidona a 1% (Riodeine Tintura, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). A anestesia local foi realizada com mepivacaína 2% + epinefrina 1:100.000 (Mepiadre, Nova DFL, Rio de Janeiro, Brasil) nas regiões experimentais.

Procedimento de Levantamento de Seio Maxilar

As intervenções cirúrgicas foram realizadas por um cirurgião experiente. Foi realizada uma incisão de 2,5 cm sobre a pele do dorso nasal ao longo da linha média, seguido de descolamento dos planos musculares até atingir o periósteo com exposição do osso nasal. A osteotomia foi feita 1 cm anterior à sutura nasofrontal e 4mm lateral à sutura naso-incisal bilateralmente. As janelas de abertura do seio maxilar foram preparadas com brocas esféricas diamantadas nº 6 com extensão de 4mm de largura e 12mm de comprimento (Figura 3A).

A elevação da mucosa sinusal foi feita delicadamente com curetas específicas de seio maxilar (Bontempi®, Bmed Srl, San Giovanni in Marignano, Itália) e a perfuração longitudinal da membrana sinusal realizada utilizando lâmina de bisturi nº15 com 4 mm de comprimento (Figura 3B). Um pequeno parafuso de referência de 1,5x6mm foi inserido na sutura nasal para demarcar o centro das osteotomias (Figura 3C) para guiar o posterior processamento histológico. O código de alocação aleatória foi obtido do envelope lacrado, determinando o tipo de substituto ósseo a ser aplicado em cada seio maxilar (Figura 3D) um lado do seio maxilar foi preenchido com o biomaterial teste (GTO® OsteoBiol, Tecnos, Giaveno, Itália) a fim de realizar a obliteração da perfuração sinusal. Contralateralmente, os grânulos de biomaterial do grupo controle foram inseridos para preencher a região elevada (mp3® - Tecnos, Giaveno, Itália).

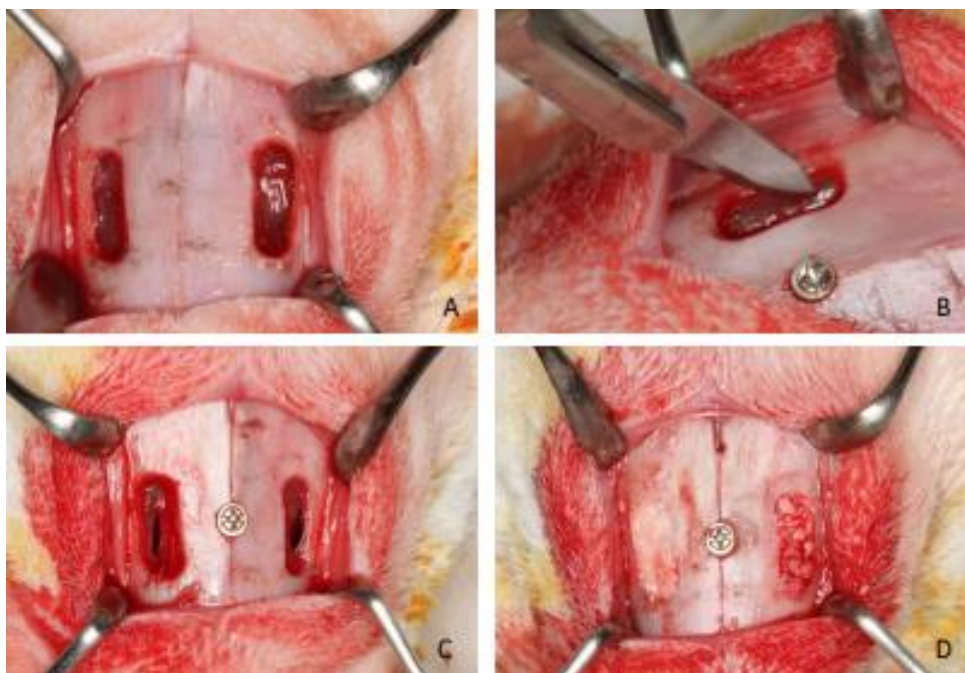


Figura 3: A: Foram preparadas osteotomias retangulares bilaterais; B: Incisão longitudinal utilizando lâmina de bisturi para perfuração intencional da membrana de Schneider; C: Perfuração em ambos os seios maxilares com parafuso de referência; D: Seios maxilares preenchidos com biomaterial. (Fotografia / fonte: Prof. Dr. Samuel P. Xavier).

Cada seio maxilar foi preenchido de modo padronizado utilizando uma ferramenta como um dispensador (FK 05, Bontempi, San Giovanni in Marignano, Itália) a medida de 0,2 cc (200mm³) de biomaterial (Figura 4). A manipulação da membrana sinusal e a inserção do material foram realizadas de forma cuidadosa para evitar o extravasamento do enxerto para além da membrana de Schneider. Não foram utilizadas membranas para cobrir a janela de acesso.

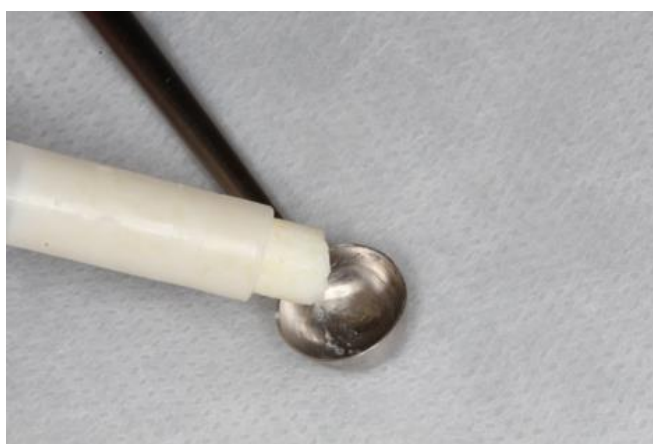


Figura 4: Fotografia da colher de medida a ser utilizada para padronização da quantidade de 0,2 cc (200mm³) de enxerto para procedimento de levantamento de seio maxilar. Foto de cirurgia animal piloto, biomaterial GTO colagenoso (fotografia / fonte: Prof. Dr. Samuel P. Xavier).

Para promover a síntese cirúrgica foram feitas suturas a nível de perióstio com fios reabsorvíveis (Polyglactin 910 5-0, Vicryl®, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil) e sutura oclusiva da pele utilizando fio de nylon (Ethilon 4-0®, Ethicon).

No pós-operatório, cada coelho recebeu injeções subcutâneas de oxitetraciclina (0.2 ml/kg/dia por 3 dias; Biovet®, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) e buprenorfina (0.02 mg/kg/duas vezes ao dia por 3 dias; Bupaq®, Richter Pharma, Wels, Áustria) para analgesia, juntamente com a administração intramuscular de cetoprofeno (3.0 mg/kg/dia por 3 dias; Ketojet®, Agener União, São Paulo, Brasil) para fins antiinflamatórios.

A eutanásia foi prevista para 2 semanas de pós-operatório em um grupo de seis coelhos, e após 10 semanas com os seis coelhos restantes.

Observação: todos os animais foram operados sem intercorrências e acompanhados até as datas dos períodos de sacrifícios para obtenção das peças anatômicas. Não foram observadas complicações pós-operatórias tais como infecções, sinusites e nenhum outro tipo de alteração da área cirúrgica.

Manutenção dos Animais

Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais, sem forração específica, com pequeno apoio em plástico para descanso das patas (1 animal/6000 cm²). A sala onde os animais ficaram alojados possui ar condicionado Split (21° C), sem controle de umidade, com 27 a 34 trocas de ar/hora, controle de iluminação automático seguindo ciclo claro-escuro de 12/12 horas, com disponibilidade de ração e água filtrada *ad libitum*, além de estarem disponíveis as seguintes barreiras sanitárias: autoclave, banheiros/sanitários/vestiário e tela para controle de insetos.

Após o procedimento cirúrgico foi realizado um meticuloso protocolo de monitoramento implementado durante todo o período experimental, com observação diária para avaliação das funções biológicas básicas. Durante o pós-operatório e nos três dias subsequentes, todos os animais receberam cetoprofeno (3.0 mg/kg, 1 vez ao dia, I.M., 10% Ketofen, Merial, Campinas, São Paulo, Brasil) e cloridrato de tramadol 2% (1.0 mg/kg, 1 vez ao dia, subcutânea, Cronidor, Agener União Saúde Animal, Apucarana, Paraná, Brasil). Sinais comportamentais de qualquer traço de dor e/ou infecção pós-operatória na ferida cirúrgica foram observados para cuidados adequados até o momento da eutanásia.

Eutanásia

Os animais, após 2 e 10 semanas de cicatrização, receberam sedação com acepromazina 1,0 mg/kg (Acepran®, Vetnil, Louveira, São Paulo, Brasil) seguida de solução de xilazina 3,0 mg/Kg (Dopaser®, Hertape Calier, Juatuba, Minas Gerais, Brasil) e de cloridrato de cetamina 50mg/kg (Ketamin Agener, União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçú, São Paulo, Brasil), administrados por via intramuscular. Após sedados, os animais foram levados individualmente à câmara de CO₂, com fluxo controlado de 7L/min na ordem de 20% do volume total do recipiente. O fluxo foi mantido por pelo menos 1 minuto após a confirmação de morte por sinais clínicos do animal, como parada respiratória, cianose das mucosas e ausência de pulso.

Após o sacrifício, a pele foi retirada, as regiões experimentais dissecadas e as biópsias dos locais operados foram coletadas após 2 e 10 semanas de pós-operatório (n=12) e imediatamente submersas em solução de paraformaldeído 10%. Antes de serem submetidas ao processamento histológico, todas as biópsias foram digitalizadas em TCFC e em Micro-CT.

As amostras foram desidratadas em graus ascendentes de álcool, e posteriormente embebidas em resina dura LR White (London Resin, Berkshire, UK). Em seguida, as biópsias foram polimerizadas e seccionadas no plano coronal, perpendicular ao osso nasal. Foram realizadas radiografias para localizar com precisão o parafuso de referência e foi feito um corte cruzando a cabeça do parafuso. Utilizando um aparelho de fatiamento (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany), foram obtidas duas secções, cada uma medindo aproximadamente 100 a 150 microns de largura. Estas secções foram ainda reduzidas para uma largura de 50 a 60 µm usando uma retificadora (Exakt®, Apparatebau). Por fim, os espécimes foram corados com azul de toluidina ou azul de Stevenel e vermelho de alizarina para visualização.

Processamento e Análise Tomográfica

As biópsias foram enviadas para processamento tomográfico utilizando tomógrafo PaX- i3D Smart SC (Vatech Global Co., Ltd – Coreia) seguindo os seguintes parâmetros para avaliação: 90 kVp e 10.0 mA com tempo de exposição de 18 segundos, FOV 100x85, tamanho VOXEL 0,200. O volume do espaço foi determinado através de uma análise tridimensional (3D) da interpolação total de regiões de interesse (ROI). Além disso, foi avaliada a presença/ausência de partículas ósseas livres na cavidade do seio maxilar, fora do espaço

elevado. As imagens obtidas foram processadas e reconstruídas a partir do software do próprio aparelho (Console Software Ver. 2.0.1.12) em cortes de 0,25mm. Todas as análises foram realizadas por um único examinador calibrado, desconhecendo a localização dos diferentes biomateriais.

Análise Tomográfica

Os arquivos obtidos em DICOM foram então processados utilizando o software Mimics Research® 21 (Materialise®, Materialise HQ, Leuven, Belgium). Primeiramente as imagens tomográficas foram orientadas seguindo os planos coronal, sagital e axial, em seguida foi determinado um limite (226 – 5471 HU) a fim de destacar o biomaterial do osso nativo. Por fim uma máscara foi criada e interpolada sobre o enxerto de modo a permitir a realização a mensuração do volume total da região enxertada (Figura 5).

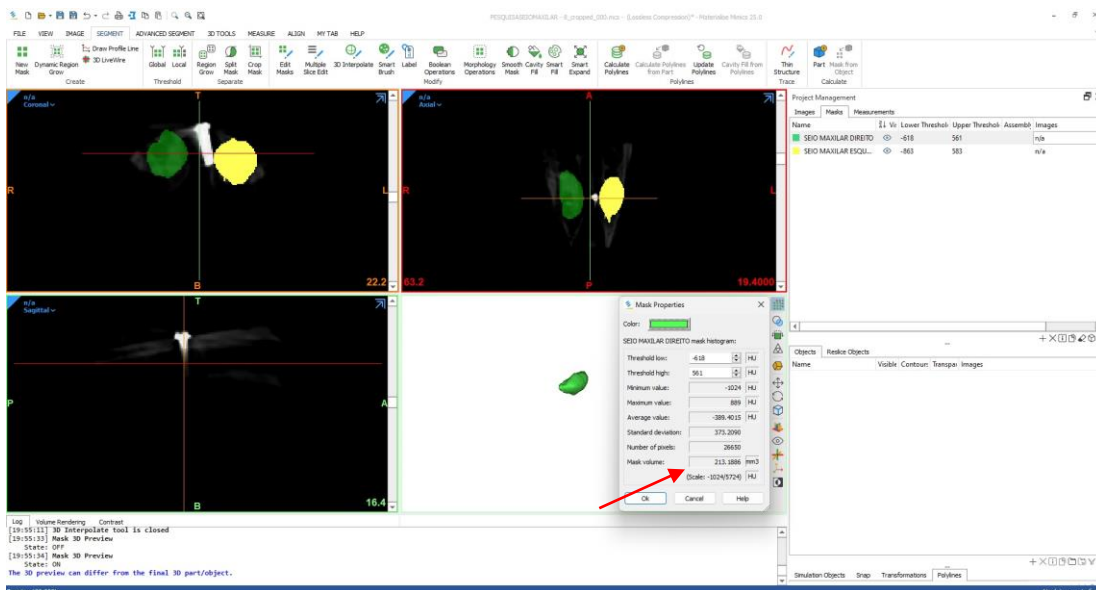


Figura 5: Captura de tela do software Mimics Research® 21 (Materialise®, Materialise HQ, Leuven, Belgium) utilizando DICOM de animal piloto a fim de demonstrando a utilização de máscaras para mensuração de volume na região enxertada. Em verde seio maxilar direito; em amarelo seio maxilar esquerdo; a seta vermelha indica resultado do volume obtido.

Ainda no software Mimics Research® 21 (Materialise®, Materialise HQ, Leuven, Belgium), na aba “measure”, utilizou-se a ferramenta “distance” e através de medidas lineares determinou-se a altura máxima no centro do enxerto utilizando o corte sagital da tomografia (Figura 6). Os dados obtidos foram armazenados em tabelas utilizando o software Excel (Microsoft Office, Redmond, Washington, EUA) para posterior análise estatística.

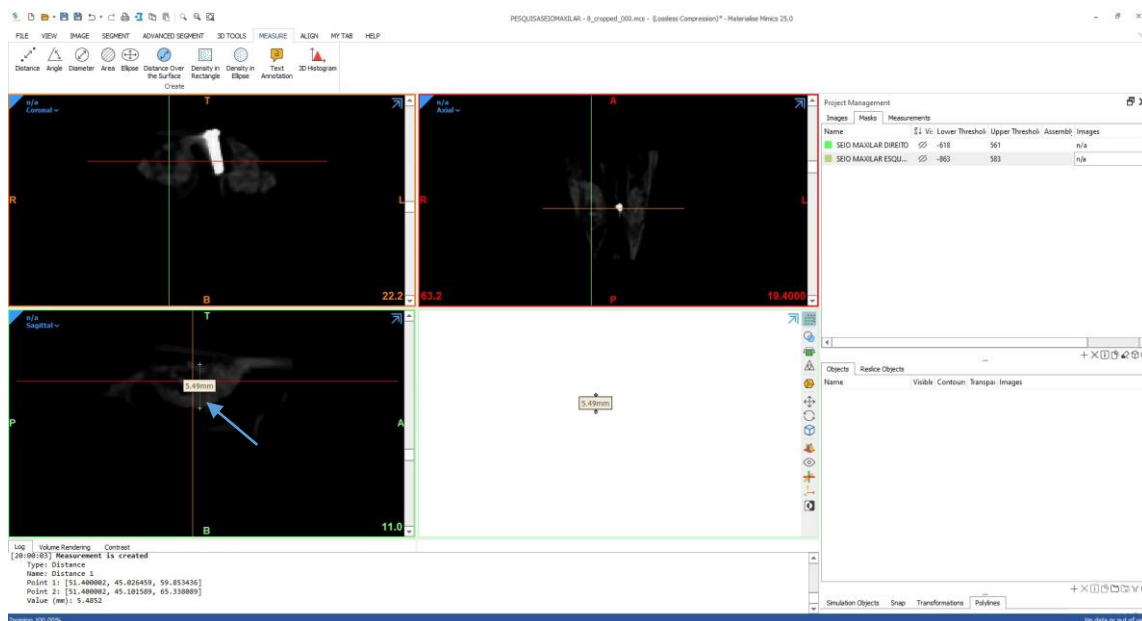


Figura 6: Captura de tela do software Mimics Research® 21 (Materialise®, Materialise HQ, Leuven, Belgium) utilizando DICOM de animal piloto para mensuração da altura na região central do enxerto. A seta em azul sobre o corte sagital demonstra a região onde foi realizada a medida linear da altura no centro do enxerto.

Análise Microtomografia

Após a fixação, os espécimes foram submetidos à Microtomografia de Raio X, utilizando um microtomógrafo de alta resolução (SkyScan 1172®, Bruker, Kontich, Belgium). Os parâmetros de varredura foram padronizados em tempo de exposição de 580 ms por movimento, tensão ajustada em 89 kV, corrente em 112 μ A, resolução isotrópica de 8,70 μ m, rotação de 360° em torno do eixo vertical com passo de rotação de 0,6°, média de quatro quadros e uso de filtro Al + Cu. Sequencialmente, as imagens adquiridas foram reconstruídas utilizando o software NRecon® 1.6.10 (Bruker) com os parâmetros específicos de 10% de redução de artefatos em forma de anel (Ring Artifact Correction), 20% de correção de endurecimento de feixe (Beam Hardening) e suavização de 2. A reposição 3D das imagens reconstruídas foi realizada pelo software DataViewer® 1.5.4.6 (Bruker), facilitando a determinação do volume de interesse (VOI) dentro das amostras. Ao estabelecer o VOI CTAn® 1.17.7.2 + software (Bruker) foi utilizado para as mensurações, com interpolação ROI focada exclusivamente nas áreas enxertadas em ambos os seios maxilares dos coelhos. Posteriormente, as imagens passaram por binarização, com análise em escala de cinza, realizada em dois limiares distintos. Os *thresholds* das escalas de cinza foram determinados em 70–100 para tecido ósseo e 100–255 para os enxertos xenógenos, de acordo com metodologia já publicada pelo grupo de pesquisa (Iida et al. 2020).

Os volumes de tecido mineralizado e enxerto foram determinados através de análise morfométrica 3D da interpolação ROI total. Além disso, também foi avaliada a presença/ausência de partículas ósseas livres na cavidade do seio maxilar. Todas as análises foram realizadas por um único examinador calibrado, desconhecendo a localização dos diferentes biomateriais.

Processamento Histológico

Os espécimes foram desidratados em uma sequência de álcoois em graus ascendentes (50%-100%) por 6 dias e imersão sucessiva em concentrações ascendentes de solução de resina (50%-100%) LR White™ HardGrid, Londo Resin Co Ltd, Berkshire, Reino Unido). Durante a polimerização da resina os espécimes foram mantidos em estufa a 60°C por 24 horas. Finalizada a polimerização, cada bloco foi cortado seguindo um plano coronal no centro da área elevada, guiado pelo parafuso colocado na sutura naso-incisal. Secções de aproximadamente 100 - 150 µm foram preparadas usando um equipamento de corte / desgaste de precisão (Exakt, Apparatebau, Norderstedt, Alemanha) e lixadas até se obter lâminas com espessura aproximada de 50 - 60 µm. Os cortes histológicos foram corados em Azul de Toluidina e com Azul de Stevenel e Vermelho de Alizarina.

Avaliação Histológica e Histomorfométrica

Previamente ao início das medidas morfométricas, um histologista realizou a calibração do examinador responsável pelas análises. As medidas dentro de cada área foram tomadas duas vezes consecutivas e para realizar o cálculo médio. Posteriormente ao treinamento, foi calculado um kappa intra-examinador (> 0,08). Um microscópio óptico Eclipse Ci (Nikon Corporation, Tóquio, Japão) equipado com uma câmera digital (Digital Sight DS-2Mv, Nikon Corporation, Tóquio, Japão) conectado a um computador foi utilizado para obtenção das fotos para mensuração.

Uma grade reticulada contendo quadrados de 75µm de dimensões foi sobreposta às fotomicrografias em magnificação de 100x utilizando-se o software Image J, versão 1.34s (NIH, Bethesda, MD, EUA) para contagem das estruturas histológicas presentes em cada região de intersecção das linhas, de acordo com Schroeder &, Münzel-Pedrazzoli, 1973, semelhante a grade de Merz, que apresenta vantagem quanto ao tempo gasto na identificação de estruturas em comparação a ferramenta *freehand selection* do software Image J. (Figura 7).

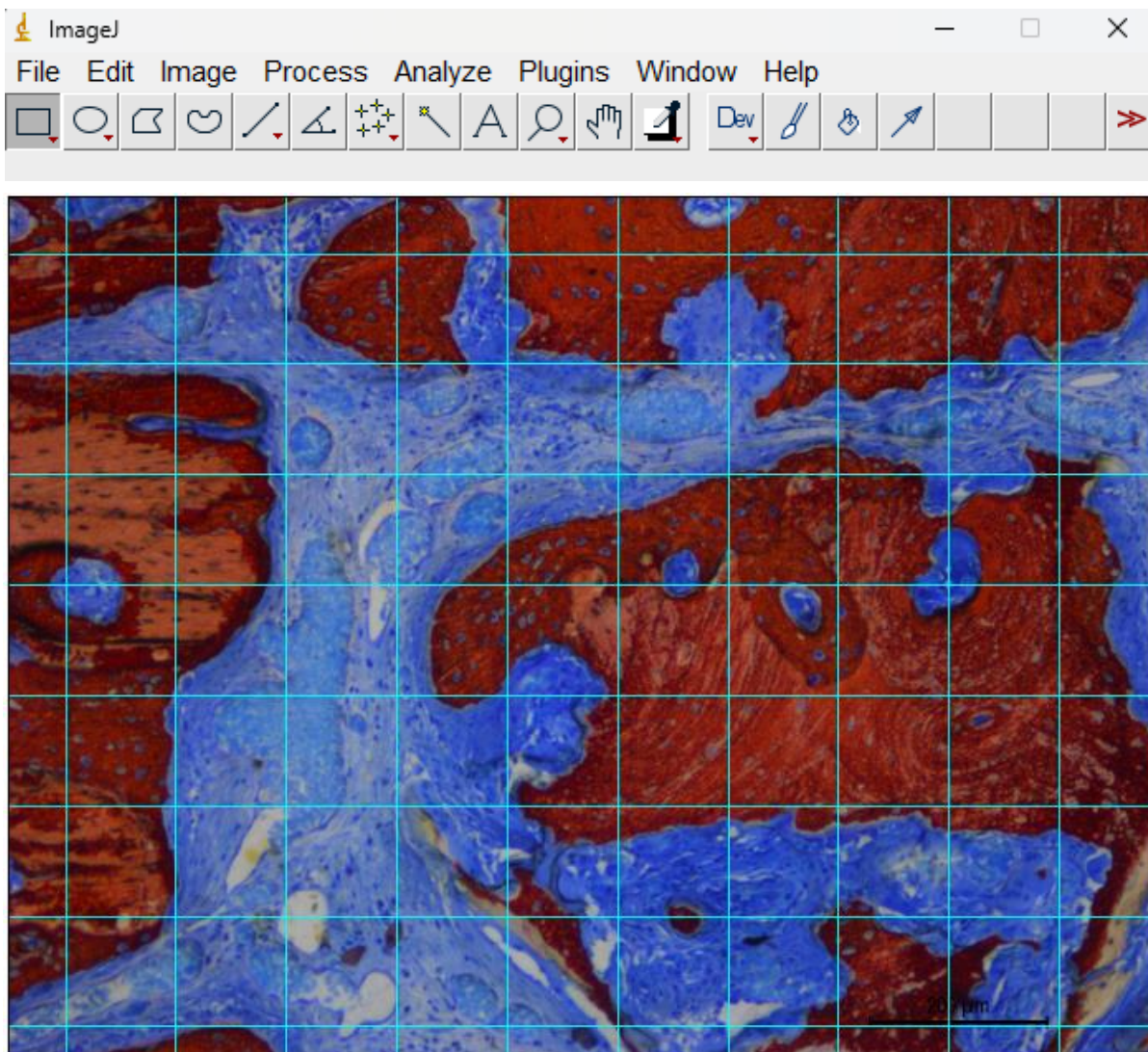


Figura 7: Fotomicrografia representativa da sobreposição de grade com 80 pontos de intersecção a partir do programa ImageJ (Bethesda, MD, EUA) para quantificação de osso novo mineralizado; xenoinxerto remanescente; tecido conjuntivo; células inflamatórias; osteoclastos; vasos; e resíduos de membrana.

A avaliação histomorfométrica seguiu os seguintes parâmetros: quantidades de tecido ósseo neoformado, enxerto residual, tecido conjuntivo.

Histologicamente, foram analisados o tecido ósseo neoformado, enxerto xenógeno remanescente, vasos, tecido conjuntivo, espaços medulares, matriz tecidual densa e frouxa, infiltrado de células inflamatórias e reparo da membrana Schneideriana. Incluiu-se a avaliação do processo de cicatrização da perfuração induzida cirurgicamente na mucosa sinusal. Foi realizada uma avaliação meticulosa da porcentagem de osso recém-formado e de material de enxerto no espaço elevado, juntamente com uma avaliação da área do espaço elevado. Além disso, foram registrados grânulos fora do espaço elevado. Mucosa íntegra não descolada e locais de adelgaçamento da mucosa sinusal elevada, definidos como áreas com espessura $<40 \mu\text{m}$,

também foram medidos. Além disso, o número e as dimensões de qualquer perfuração foram avaliados para fornecer uma compreensão abrangente do resultado cirúrgico. A área da região elevada também foi avaliada. Todas as análises foram realizadas por um único examinador calibrado, desconhecendo a localização dos diferentes biomateriais.

Medida de Resultados

- Análise TCFC: a primeira variável foi a presença/ausência de partículas ósseas livres presentes no seio maxilar fora do limite da área elevada.
- Análise Micro-CT: a primeira variável foram as alterações volumétricas do enxerto ósseo em mm³ e porcentagem desde a enxertia até o sacrifício foram avaliadas pela diferença entre volume inicial de 0,2 cc (200 mm³) de material de preenchimento utilizado e os volumes ósseos finais.
- Análise histomorfométrica: primeira variável foi medida da porcentagem de enxerto ósseo residual no espaço elevado e a segunda variável foi da porcentagem de osso neoformado. Além disso, número de locais da mucosa afinada e perfurações da mucosa sinusal foram consideradas variáveis secundárias.

Análise Estatística

Os dados foram expressos como valores médios e desvio padrão com intervalos de confiança (IC) de 95% para desfechos contínuos e número e porcentagem para desfechos dicotômicos. Para os resultados dicotômicos (presença ou ausência de partículas ósseas livres dentro do seio maxilar fora da membrana Schneideriana) as comparações entre os grupos foram realizadas por meio do teste de McNemar bilateral. Para os desfechos contínuos, a normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Foram empregados Teste T e teste de Wilcoxon para avaliar diferenças entre grupos em diferentes momentos (entre-grupos), enquanto testes T independentes ou testes de Mann-Whitney foram usados para comparações entre dois períodos de tempo (intra-grupos). Todas as comparações foram realizadas com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Avaliações TCFC

Após 2 semanas de cicatrização, partículas de biomaterial foram observadas próximas da cavidade antral, fora da região elevada em dois seios maxilares dos seis de ambos os grupos (Figura 8A). No de 10 semanas, dois seios maxilares com GTO apresentaram partículas de enxerto dentro do espaço antral, enquanto nenhum enxerto foi observado no grupo mp3 (Figura 8B). Os grânulos do enxerto residiam consistentemente perto da área elevada em todos os casos.

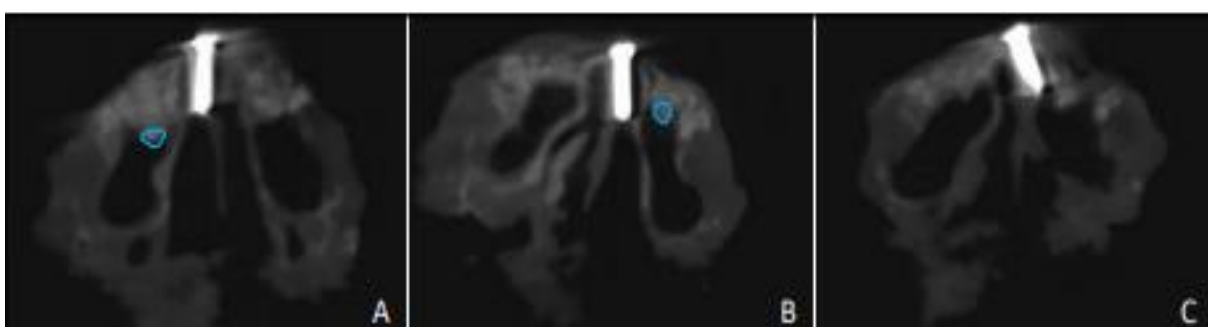


Figura 8: Vista coronal das imagens de TCFC. A: 2 semanas de cura do mp3; um grânulo está localizado fora da região elevada (linha azul). B: 10 semanas de cicatrização, observa-se partículas do enxerto dispersas no seio maxilar com GTO, mas ainda próximas à região elevada (linha azul). C: nenhuma partícula de enxerto dispersa é visível em ambos os seios maxilares do grupo de 10 semanas.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos em termos de resíduos de partículas de enxerto próximo da cavidade sinusal pelas análises de TCFC em 2 semanas (diff. = 0, P = 1) e 10 semanas (diff. = 0,33, P = 0,5) (tabela 1).

Avaliações Micro CT

Nas amostras de 2 semanas, foram observados grânulos de biomateriais em dois seios maxilares elevados e enxertados com GTO e três seios maxilares preenchidos com mp3 (Figura 9A). Após 10 semanas, apenas dois seios maxilares elevados com GTO apresentaram partículas de enxerto próximo a cavidade sinusal (Figuras 9B; Tabela 1). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos em termos de resíduos de partículas de enxerto dentro da cavidade sinusal em 2 semanas (diff. = 0,17, P = 1) e 10 semanas (diff. = 0,33, P = 0,5) (tabela 1).

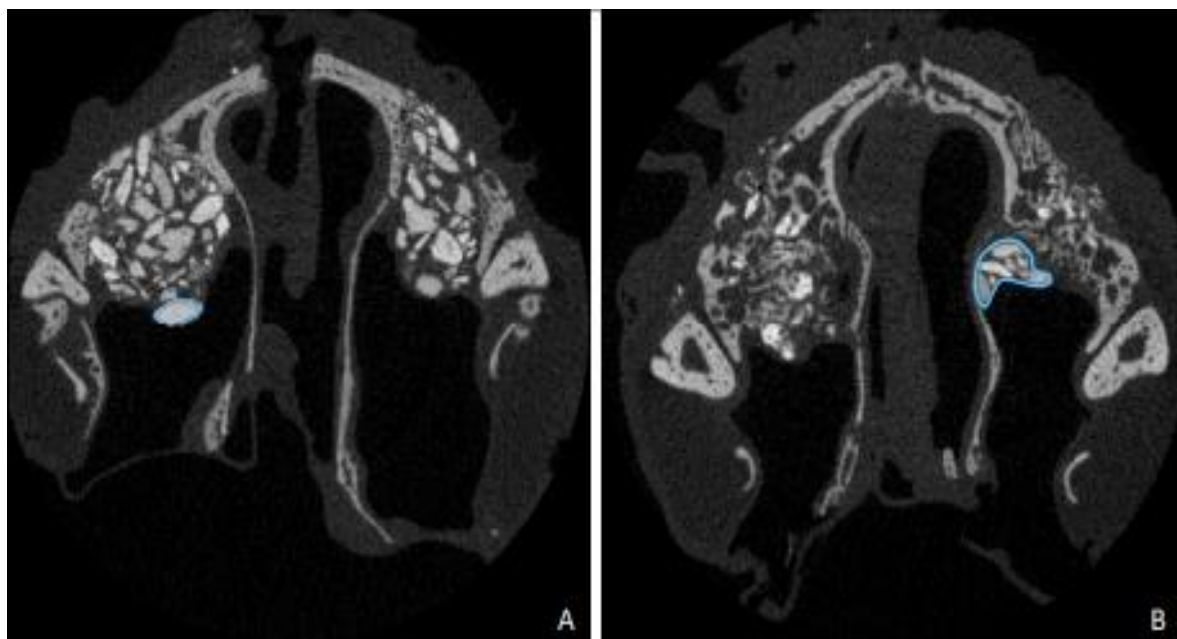


Figura 9: Vista coronal de imagens de Micro-CT. A: 2 semanas de cura em uso de mp3. B: 10 semanas de cicatrização em local de GTO. Os grânulos localizados fora do espaço elevado são destacados em azul.

Tabela 1: Grânulos extruídos para dentro do seio maxilar em 2 e 10 semanas.

	TCFC		Micro-CT		Histomorfometria	
	2 semanas	10 semanas	2 semanas	10 semanas	2 semanas	10 semanas
GTO (n=6)	2	2	2	2	2	2
mp3 (n=6)	2	0	3	0	5	1
Diferença em proporções	0	0.33	0.17	0.33	0.5	0.17
P-valor*	1	0.5	1	0.5	0.25	1

*McNemar Test

Quantidades equivalentes de ambos os biomateriais foram aplicadas após a elevação da mucosa sinusal (aproximadamente 200mm³). Após duas semanas, o volume total da região elevada mediu 176.0 ± 42.1 mm³ no grupo GTO e 175.9 ± 47.1 mm³ no grupo mp3 (tabela 2),

não apresentando diferença estatística significativa (diferença média = -0.04; 95%CI -41.73, 41.66, P = 0.9983). Na décima semana, esses volumes diminuíram para $97.6 \pm 30.0 \text{ mm}^3$ e $92.4 \pm 33.9 \text{ mm}^3$, respectivamente (diferença média = -5.19; 95%CI -31.91, 21.54; P = 0.6389).

Tabela 2: Comparações médias entre-grupos (DP) de osso recém formado, material de enxerto residual, área elevada e seu volume total em 2 e 10 semanas.

	Osso neoformado (%)		Material de enxerto residual (%)		Área elevada (mm ²)		Volume total da área elevada (mm ³)	
	2 semanas	10 semanas	2 semanas	10 semanas	2 semanas	10 semanas	2 semanas	10 semanas
GTO (n=6)	4.38 (3.35)	24.22 (9.37)	42.15 (6.28)	13.35 (5.74)	13.14 (2.72)	8.48 (4.02)	175.97 (42.12)	97.61 (30.01)
mp3 (n=6)	4.51 (1.11)	23.49 (7.56)	36.91 (5.09)	12.97 (5.43)	14.38 (3.90)	10.31 (2.42)	175.93 (47.06)	92.43 (33.93)
Diferença média entre-grupos (95%CI)	-0.13 (-2.76; 3.02)	-0.73 (-3.31; 1.86)	-5.25 (-13.70; 3.20)	-0.38 (-2.42; 1.66)	1.24 (-1.36; 3.84)	1.83 (-4.48; 8.14)	-0.04 (-41.73; 41.66)	-5.19 (-31.91; 21.54)
P-valor*	0.9103	0.5013	0.1715	0.6529	0.2743	0.4898	0.9983	0.6389

*Paired T-test.

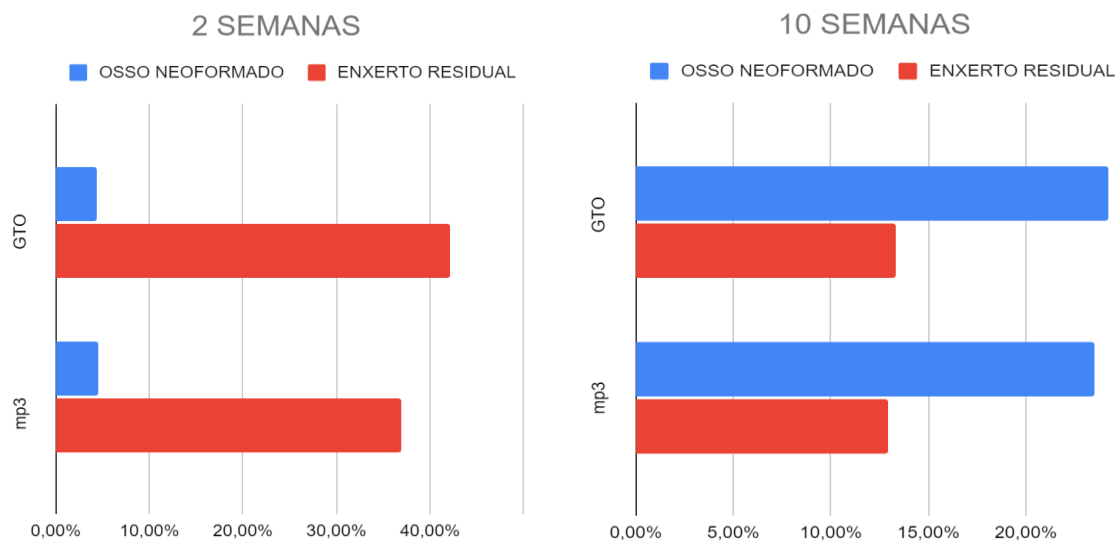


Gráfico 1: Gráfico de barras contendo as porcentagens de osso neoformado e de enxerto residual de ambos os materiais avaliados, GTO e mp3, nos intervalos de grupos de 2 e 10 semanas.

Avaliação histológica descritiva

Algumas cavidades sinusais exibiram grânulos residuais de xenoenxerto, com maior prevalência observada durante o período de cicatrização de 2 semanas em comparação com o intervalo de 10 semanas. Após uma cicatrização de 2 semanas, a mucosa sinusal apresentou recuperação significativa na maioria dos casos, com o local da incisão geralmente mostrando sinais de cicatrização adequada (Figuras 9A,B).

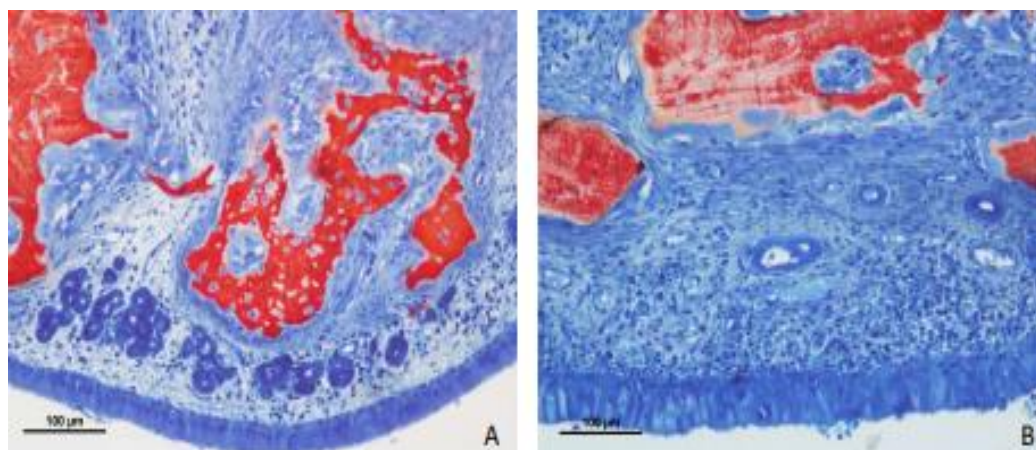


Figura 9: Fotomicrografias de cortes retificados ilustrando a recuperação completa da mucosa sinusal na região da perfuração após 2 semanas de cicatrização. A: GTO; B: mp3. Coloração azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

No entanto, em vários casos, observou-se que o material do enxerto rompeu a mucosa sinusal através da incisão produzida cirurgicamente ou foi ejetado dentro da cavidade sinusal

(Figuras 9A,B). Infiltrado inflamatório e exsudato foram frequentemente observados em conjunto com esses enxertos (Figuras 10A, B).

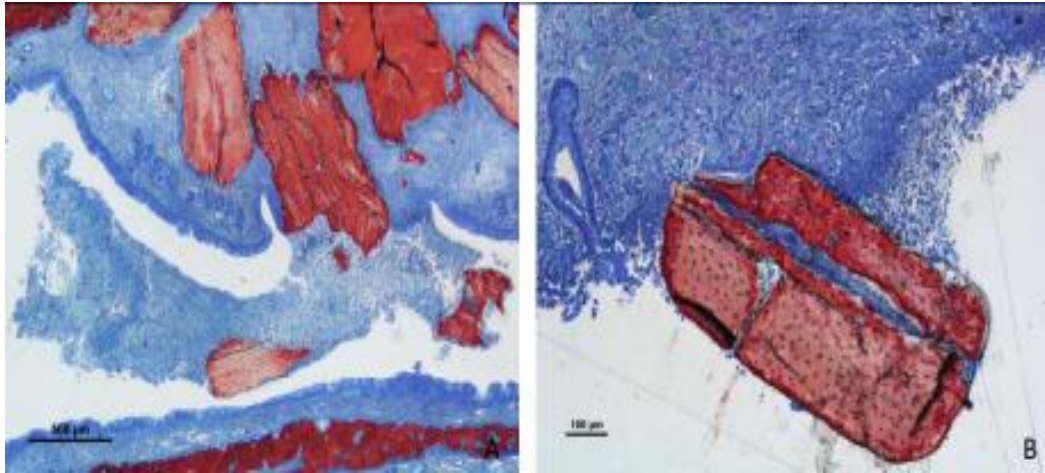


Figura 10: Fotomicrografias de secções retificadas de locais de GTO ilustrando a ruptura do enxerto através da incisão produzida cirurgicamente ou ejetado dentro da cavidade sinusal. Infiltrados e exsudatos inflamatórios foram frequentemente observados em conjunto com esses enxertos. A: 2 semanas de cicatrização; B: 10 semanas de cicatrização. Coloração azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

Em um coelho, ambas as cavidades sinusais exibiram o local da incisão aderido ao revestimento mucoso intacto da parede óssea oposta (Figura 11A, B).

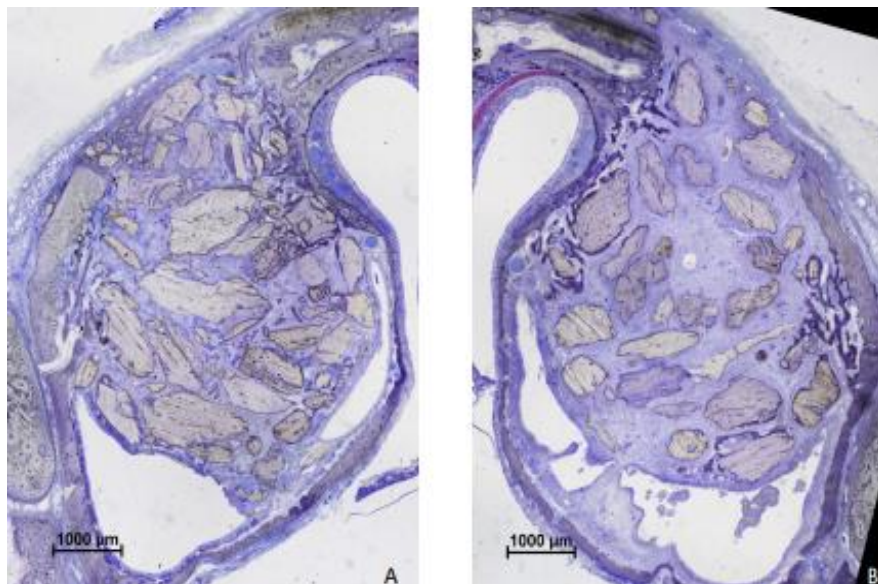


Figura 11: Fotomicrografias de cortes básicos ilustrando a adesão da mucosa sinusal elevada à mucosa intacta subjacente após 2 semanas de cicatrização. A: mp3; B: GTO. Coloração com azul de toluidina.

O epitélio colunar ciliado pseudoestratificado do tecido mucoso elevado e a mucosa intacta subjacente foram conectados adequadamente, demonstrando assim a característica marcante de uma sinequia (aderência entre tecidos).

Em um seio maxilar do grupo mp3, os grânulos localizados fora do espaço elevado na região da incisão estavam circundados por mucosa sinusal, indicativo de um processo de cicatrização único (Figuras 12A,B). No entanto, nenhuma perfuração foi detectada neste seio maxilar.

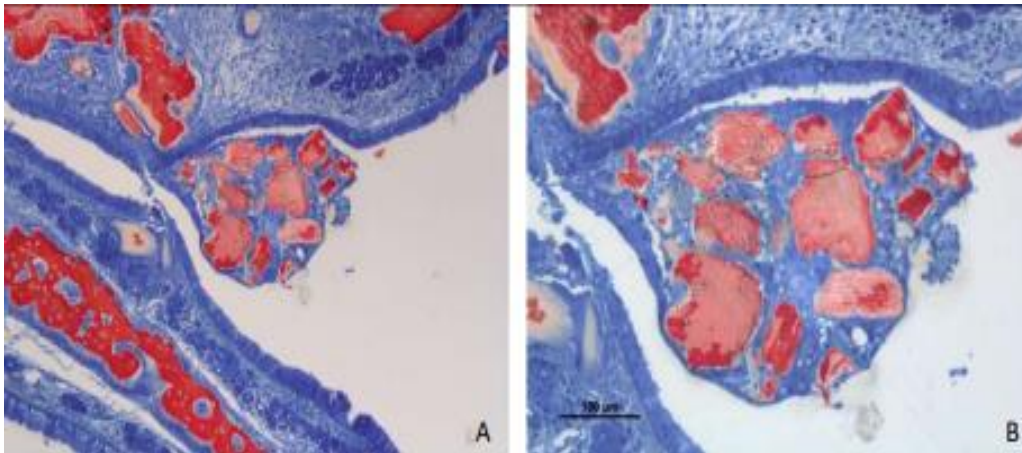


Figura 12: A: fotomicrografia de cortes retificados ilustrando partículas de enxerto ejetadas do espaço elevado na região da perfuração produzida cirurgicamente após 2 semanas de cicatrização; B: maior ampliação; as partículas do enxerto são encapsuladas pela mucosa sinusal adelgada. Coloração azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

Após cicatrização de 10 semanas, foram observadas menos perfurações em comparação com o período de 2 semanas. Porém, em um caso, foram observadas perfurações em ambos os seios maxilares, com partículas do enxerto quase expelidas e o epitélio crescendo ao redor dos enxertos na tentativa de isolá-lo do espaço elevado (Figuras 13A,B).

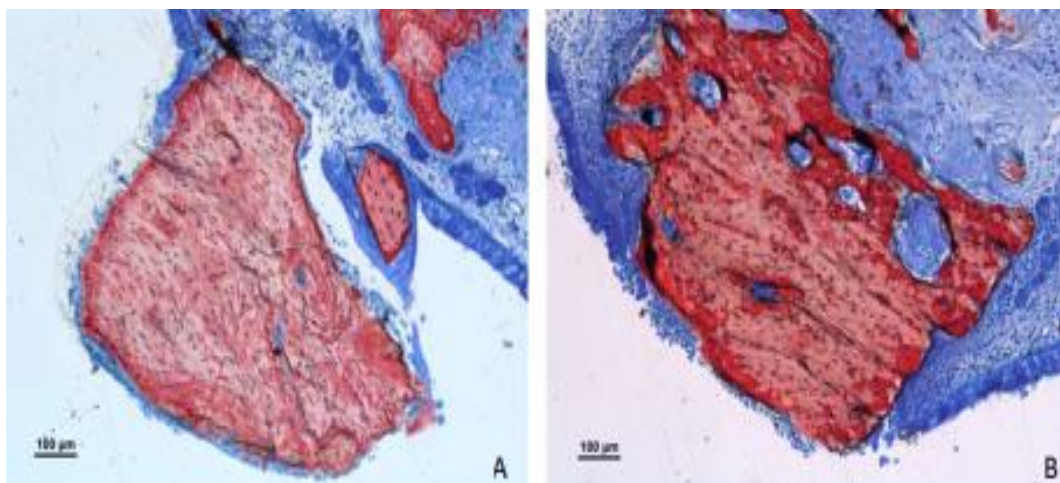


Figura 13: Fotomicrografias de seções básicas de locais de mp3 mostrando um grânulo derramado fora da membrana sinusal em 2 semanas (A) e outro penetrando na incisão em 10 semanas (B). Observe o crescimento epitelial ao redor do grânulo, indicando tentativa de isolá-lo fora do espaço elevado. Coloração azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

Observou-se, no grupo GTO de outro animal, que nenhuma perfuração foi evidente, mas várias partículas de enxerto foram encontradas fora da região elevada. Além disso, foi observada uma depressão estreita e profunda na posição central da mucosa elevada, provavelmente um remanescente da incisão cirúrgica (Figura 14A). Essa depressão foi um achado atípico observado em apenas alguns casos. Por outro lado, no seio maxilar mp3 contralateral, foi observada uma sinequia conectando as mucosas elevadas e não descoladas (Figura 14B).

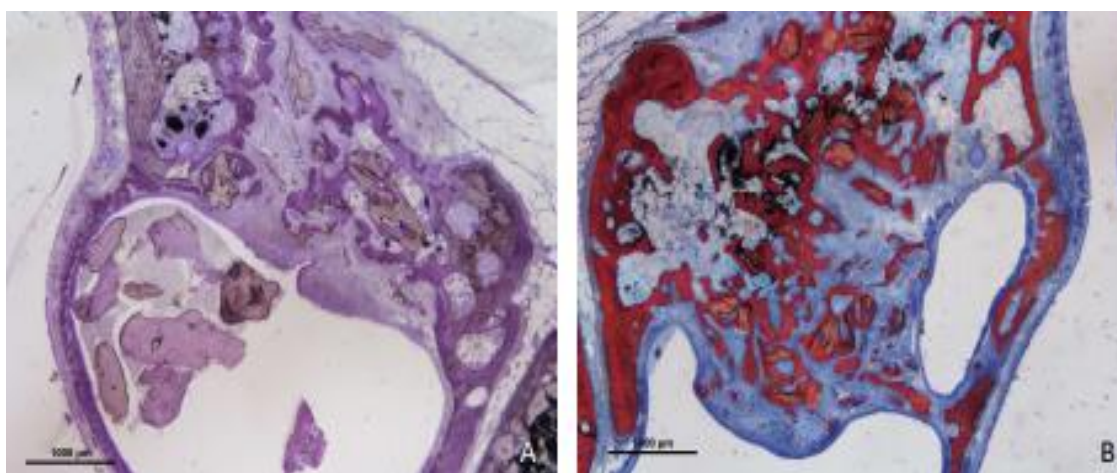


Figura 14: Fotomicrografias de cortes do soalho ilustrando a cicatrização após 10 semanas. A: diversas partículas de enxerto foram encontradas fora do espaço elevado da região de GTO. Observe a depressão estreita e profunda na posição central da mucosa elevada na ausência de perfuração. B: no seio maxilar oposto do mesmo animal em região de mp3, foi observada uma sinequia conectando as mucosas elevadas e não descoladas. Coloração azul de stevenel e vermelho de alizarina.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos em termos de resíduos de partículas de enxerto dentro da cavidade sinusal em 2 semanas (diff. = 0.5, $P = 0.25$) e 10 semanas (diff. = 0.17, $P = 1$) (tabela 1).

Durante os períodos de cicatrização, a mucosa sinusal em contato com partículas residuais do enxerto não apenas exibiu perfurações, mas também demonstrou espessura reduzida ($<40 \mu\text{m}$) em comparação com a mucosa intacta da parede óssea do seio maxilar, que mostrou uma espessura média de 143-118 μm . A presença desses grânulos levou a um deslocamento progressivo dos vasos sanguíneos e das glândulas mucosas das áreas de mucosa adelgada (Figura 15A).

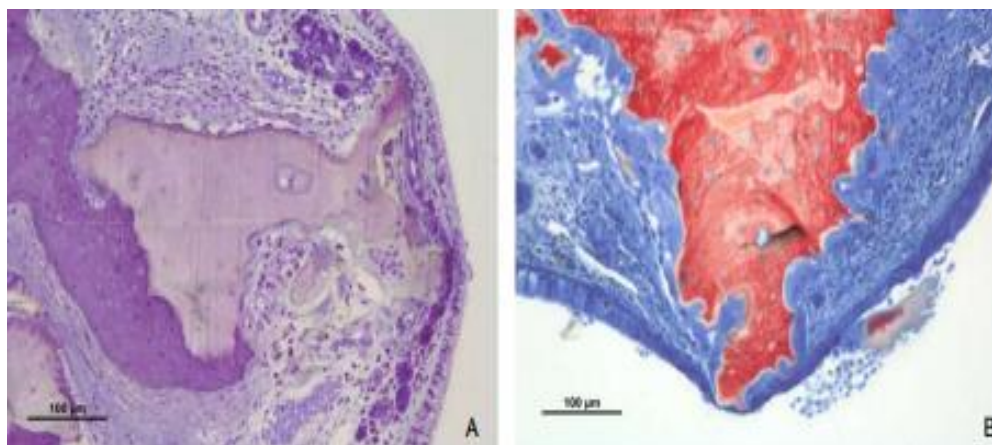


Figura 15: Fotomicrografias de secções do soalho. O contato próximo dos grânulos do enxerto com a mucosa levou ao deslocamento progressivo dos vasos sanguíneos e das glândulas mucosas e ao adelgaçamento da mucosa sinusal. Observe as áreas de reabsorção ao redor do biomaterial. A: 10 semanas de cicatrização de mp3, coloração com azul de toluidina. B: 2 semanas de cicatrização de GTO. Coloração azul de Stevenel e vermelho alizarina.

Após 2 semanas de cicatrização, o grupo GTO exibiu nove sítios em três coelhos e o grupo mp3 exibiu quatorze sítios em três coelhos com largura mucosa $<40\ \mu\text{m}$. Este número diminuiu nas amostras de 10 semanas para quatro e sete locais, respectivamente. Além disso, a maioria dos locais afinados em ambos os grupos e períodos apresentou redução na largura das células epiteliais pseudoestratificadas (Figura 15B). A faixa média de largura das células epiteliais em locais originais foi de $28.3\text{-}32.7\ \mu\text{m}$, enquanto a faixa média de largura em locais reduzidos foi de $9.5\text{-}18.4\ \mu\text{m}$ (min $2.5\ \mu\text{m}$).

Avaliação histomorfométrica

Após duas semanas, uma pequena quantidade de osso recém-formado foi detectada em ambos os grupos, concentrada principalmente perto das paredes ósseas dos seios maxilares, estendendo-se em cristas em direção ao centro do seio maxilar, onde a regeneração óssea era limitada (Figura 16A). Além disso, em alguns espécimes foi observada neoformação óssea adjacente à mucosa sinusal, de forma independente ou em contato com os grânulos do biomaterial (Figura 16B). A proporção de osso neoformado foi medida em $4,4\%$ no grupo GTO e $4,5\%$ no grupo mp3 (diferença média = $0,13\%$; IC 95% $-2,76, 3,02$; $P = 0,9103$), enquanto as respectivas proporções de enxerto residual material foram $42,2\%$ e $36,9\%$ (diferença média = $-5,25\%$; $95\%CI$ $-13,70, 3,20$; $P = 0,1715$) (Gráfico 1). As partículas do enxerto ósseo apresentaram diversas “lacunas” ocupadas por células semelhantes a osteoclastos indicando um processo reabsortivo ativo (Figuras 10A,B). Não foram observadas diferenças significativas em nenhuma análise de variáveis (Tabela 2, Gráfico 1).

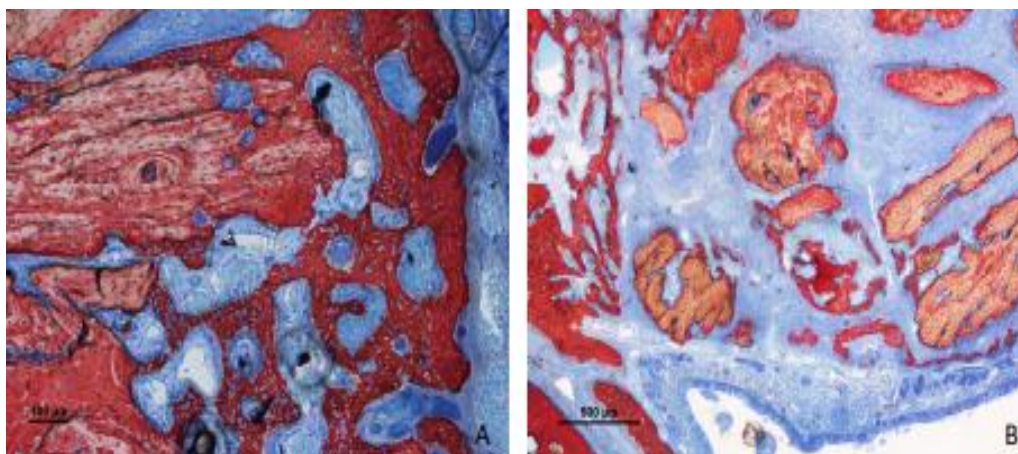


Figura 16: Fotomicrografias de seções do soalho ilustrando a formação óssea após 2 semanas. A: mp3; novos ossos que formaram pontes que conectam as paredes ósseas do seio maxilar aos grânulos do enxerto. B: GTO; a neoformação óssea foi observada adjacente à mucosa sinusal. Coloração azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

Após 10 semanas de cicatrização, o novo osso prolifera em todo o espaço elevado, atingindo percentuais de 24,2% e 23,5% nos grupos GTO e mp3, respectivamente (diferença média = 0,73%; 95%CI -3,31, 1,86; P = 0,5013) (Tabela 2, Gráfico 1, Figuras 17A,B).

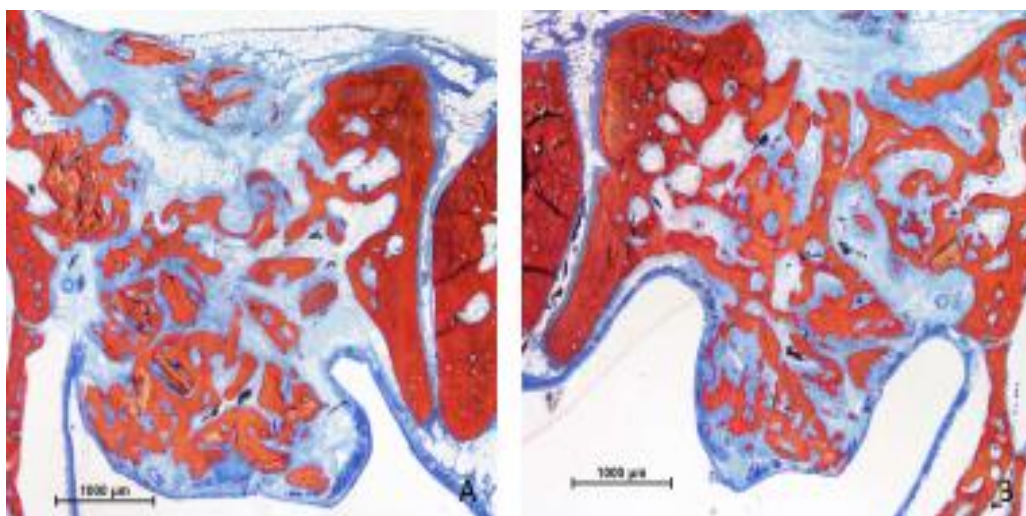


Figura 17: Fotomicrografias de cortes do soalho ilustrando a cicatrização no espaço elevado após 10 semanas. A: GTO. B: mp3. Coloração azul de Stevenel e vermelha de alizarina.

A proporção de remanescentes de biomateriais diminuiu significativamente para 13,4% e 13,0% (diferença média = 0,38%; 95%CI -2,42, 1,66; P = 0,6529) (Gráfico 1), indicando reabsorção substancial do biomaterial desde o período de observação de 2 semanas. Notavelmente, células semelhantes a osteoclastos estavam quase ausentes, sugerindo um declínio na sua atividade. Ao mesmo tempo, as partículas residuais do enxerto foram envolvidas por osso recém-formado e tecidos moles circundantes, indicativo de processos

contínuos de remodelação tecidual. Não foram encontradas diferenças significativas em nenhuma variável analisada (Tabela 2, Gráfico 1).

No grupo GTO, a área elevada diminuiu de 13.1 mm² para 8.5 mm² (diferença média = -4.65 mm²; 95%CI -9.15, -0.15; P < 0.0441). No grupo mp3, a área elevada diminuiu 14.4 mm² para 10.3 mm² (mean diff. = -4.07 mm²; 95% CI -8.35, -0.22; P < 0.0605) (tabela 3).

Tabela 3: Comparações entre tempos (2 e 10 semanas) da média (DP) de osso neoformado, material de enxerto residual e área elevada por grupo.

	Osso neoformado (%)		Material de enxerto residual (%)		Área elevada (mm ²)	
	GTO (n=6)	mp3 (n=6)	GTO (n=6)	mp3 (n=6)	GTO (n=6)	mp3 (n=6)
2 semanas	4.38 (3.35)	4.51 (1.11)	42.15 (6.28)	36.91 (5.09)	13.14 (2.72)	14.38 (3.90)
10 semanas	24.22 (9.64)	23.49 (7.56)	13.35 (5.74)	12.97 (5.43)	8.48 (4.02)	10.31 (2.42)
Diferença média entre tempos (95%CI)	19.84 (9.72; 29.95)	18.98 (11.06; 26.89)	-28.80 (-36.55; -21.05)	-23.94 (-30.71; -17.16)	-4.65 (-9.15; -0.15)	-4.07 (-8.35; 0.22)
P-valor*	0.0029**	0.0015**	<0.0001**	<0.0001**	0.0441**	0.0605

*Independent T-test.

**Statistically significant

DISCUSSÃO

O estudo teve como objetivo avaliar a eficácia e segurança do substituto ósseo viscoso de origem suína OsteoBiol® GTO® disponível comercialmente em comparação a um enxerto ósseo não adesivo semelhante OsteoBiol® mp3® em procedimentos de elevação do seio maxilar, utilizando um modelo de estudo de coelho com perfurações induzidas na membrana de Schneider. A principal descoberta foi que na tomografia computadorizada realizada 2

semanas após a elevação do seio maxilar, não foi possível observar nenhuma massa de partículas ósseas de qualquer tipo de enxerto difundidas em todo o seio maxilar, embora algumas partículas estivessem concentradas na proximidade das membranas sinusais perfuradas. Além disso, não foram detectadas diferenças significativas entre os dois grupos nas variáveis avaliadas em ambos os momentos. A principal implicação clínica potencial é a possibilidade de utilizar o substituto ósseo viscoso GTO na presença de uma perfuração na membrana sinusal na tentativa de evitar a extrusão para a cavidade maxilar, embora os resultados semelhantes foram obtidos com o substituto de osso não viscoso.

Outros achados intrigantes foram observados na presente investigação. Grânulos de biomateriais foram descobertos em vários seios maxilares fora do espaço elevado pretendido, conforme confirmado por avaliações radiográficas e histológicas. Os grânulos do enxerto residiam consistentemente próximos à região elevada. Dentro do período inicial de cicatrização de 2 semanas, a análise histológica revelou grânulos além dos limites do espaço elevado em cinco dos seis seios maxilares no grupo de enxerto ósseo não adesivo (mp3) e em dois dos seis seios maxilares no grupo de substituto ósseo viscoso (GTO). Após um intervalo de 10 semanas, apenas três seios maxilares apresentaram remanescentes de enxerto no exame histológico, com apenas dois seios maxilares apresentando remanescentes nas avaliações radiográficas. Esta redução no número de partículas de enxerto livres dentro do seio maxilar pode ser atribuída a vários fatores. A hipótese é devido a uma diminuição na perda do enxerto do espaço aumentado. Essa teoria encontra respaldo no processo de cicatrização da mucosa sinusal, que foi observada já cicatrizada em todos os locais onde não foram interpostos enxertos nas bordas da mucosa da ferida.

A presença reduzida de enxerto durante o período de cicatrização de 10 semanas em comparação com o intervalo de 2 semanas poderia ser atribuída a fatores, incluindo a expulsão de partículas do enxerto através do óstio e infundíbulo (Bernardello et al. 2021). No entanto, é necessário considerar cuidadosamente as potenciais complicações associadas à persistência do material de enxerto na cavidade sinusal. Instâncias como estas têm o potencial de levar à sinusite, suscitando a necessidade de intervenção para prevenir consequências negativas (Nolan et al. 2014, Urban et al. 2012, Doud Galli et al. 2001). Em um estudo clínico envolvendo 198 pacientes submetidos à elevação dos seios maxilares com enxertos, totalizando 274 seios tratados (Urban et al. 2012), oito indivíduos apresentaram complicações significativas dentro de 1 a 3 semanas após o procedimento, manifestando-se como dor intensa, aumento de

temperatura corporal, inchaço facial recorrente e perda de material de enxertia por fístula. A intervenção imediata envolveu tratamento com antibióticos e remoção do enxerto infectado, resultando na recuperação total do paciente. O estudo considera apenas pacientes que apresentaram sintomas graves, destacando uma potencial sub-representação de casos com sintomas mais leves ou tardios, ou mesmo casos assintomáticos com problemas subjacentes relacionados ao enxerto, como a perfuração da mucosa sinusal.

Vários estudos experimentais em coelhos demonstraram adelgaçamento progressivo e subsequente perfuração da mucosa, atribuído ao contato direto com grânulos de enxerto (Nakajima et al. 2023 [BDDM vs coll]; Omori et al. 2022 [HA B-TCP]; Miki et al. 2021; Kato et al. 2021) e fios de implante ou ápice (Omori et al. 2021 [imp]; Kato et al. 2021). Esses achados ressaltam a maior susceptibilidade da mucosa ao adelgaçamento e à perfuração, particularmente quando se utiliza DBBM em comparação com enxertos colagenoso e osso autógeno, ou implantes sem material de enxerto (Nakajima et al. 2023).

No entanto, resultados contrastantes de outros estudos sugerem que complicações podem não surgir necessariamente, mesmo em casos que envolvam perfurações substanciais não tratadas (Park et al. 2019; Bernardello et al. 2021). Em um estudo retrospectivo (Park et al. 2019), aproximadamente 40% das perfurações (média de 12mm; faixa de 3 a 30mm) foram identificadas entre 65 procedimentos de elevação do soalho de seio maxilar. Dentre os procedimentos, nenhuma intervenção específica foi realizada para fechar estas perfurações, e um material aloplástico foi empregado para preencher o espaço elevado. Notavelmente, nem os resultados clínicos nem radiográficos foram afetados negativamente pela presença de perfurações. No entanto, dada a natureza retrospectiva do estudo, é necessário interpretá-lo com cautela.

A redução nas dimensões aumentadas do espaço pode ser atribuída apenas parcialmente à perda de biomateriais através da perfuração da mucosa sinusal. O volume inicial de biomaterial utilizado durante a cirurgia foi de aproximadamente 200mm³. Este volume apresentou uma redução de 12% após 2 semanas e aproximadamente 52-54% após 10 semanas em ambos os grupos experimentais. Em outro estudo experimental em coelhos (Miyachi et al. 2022), foi observada uma atividade osteoclástica na marca de 2 semanas, com uma proporção muito maior de osteoclastos e atividade de reabsorção observada por volta de um período de cicatrização de 4 semanas. Esta atividade osteoclástica aumentada pode estar correlacionada

com a perda volumétrica substancial observada no presente estudo entre os intervalos de 2 e 10 semanas, que não foi totalmente compensada pela neoformação óssea.

A perda volumétrica entre 2 e 10 semanas foi de aproximadamente 35% para o grupo GTO e aproximadamente 28% para o grupo mp3. Esta redução está estreitamente alinhada com os outros resultados de outro estudo em coelhos utilizando osso suíno córtico-esponjoso colagenoso, que relatou uma redução volumétrica de aproximadamente 26% (Iida et al. 2018).

O potencial de cicatrização da mucosa sinusal foi claramente demonstrado no presente estudo. A cicatrização adequada da mucosa sinusal foi observada já em 2 semanas em vários seios maxilares. A mucosa sinusal exibiu capacidade de encapsular e isolar partículas que interferiam no processo de cicatrização, expulsando-as do espaço aumentado. Apenas três seios maxilares ainda apresentavam perfurações centrais ocupadas por grânulos na marca de 10 semanas. Além disso, foram observadas sinequias em seis seios maxilares nos dois períodos, principalmente na região central do espaço elevado. Esses fenômenos estão alinhados com os achados de um estudo anterior que elucidava vários estágios de adesão entre a mucosa elevada e a parede óssea do seio maxilar subjacente (Nakajima et al. 2023 COIR). Essa capacidade da mucosa sinusal em fechar discontinuidades facilita os processos de formação óssea e de reabsorção do enxerto. Após 10 semanas, a formação de osso novo atingiu aproximadamente 24% em ambos os grupos experimentais, consistente com experimentos semelhantes utilizando diferentes biomateriais, como mineral ósseo bovino desproteínizado preparado em temperaturas variadas (17-20% após 10 semanas de cicatrização - Balan et al. 2022) ou osso suíno córtico-esponjoso colagenoso (aproximadamente 27% - Iida et al. 2023 COIR).

A principal limitação do presente estudo é que, por um lado, tanto a histologia quanto a Micro-CT só pode avaliar detalhadamente uma área limitada do seio maxilar. Portanto, é difícil ter uma visão abrangente do que ocorre em toda a cavidade sinusal. Por outro lado, a TCFC oferece uma visão 3D completa de toda a cavidade sinusal, mas carece de sensibilidade para detectar pequenas quantidades de partículas ósseas.

CONCLUSÃO

O uso de substituto ósseo viscoso parece impedir que uma quantidade substancial de partículas ósseas sejam extruídas através de uma perfuração induzida da membrana de

Schneider para o interior do seio maxilar. No entanto, o biomaterial controle também se comportou de forma semelhante. Isto sugere que seria possível usar o osso viscoso como uma alternativa para evitar a extrusão de grânulos ósseos na presença de perfuração acidental na prática clínica. Após 10 semanas de cicatrização, o volume da região elevada diminuiu aproximadamente 50%, possivelmente devido à reabsorção e perda do biomaterial através da perfuração criada cirurgicamente.

REFERÊNCIAS

1. Esposito M, Felice P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: augmentation procedures of the maxillary sinus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014(5): Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
2. Scarano A. Maxillary Sinus Augmentation with Decellularized Bovine Compact Particles: A Radiological, Clinical, and Histologic Report of 4 Cases. *Biomed Res. Int.* 2017;2017:2594670. doi: 10.1155/2017/2594670.
3. Aldelaimi T.N., Khalil A.A. Maxillary Sinus Augmentation. *J. Craniofac. Surg.* 2016;27:e557–e559. doi: 10.1097/SCS.00000000000002864.
4. Mohan N., Wolf J., Dym H. Maxillary Sinus Augmentation. *Dent. Clin. N. Am.* 2015;59:375–388. doi: 10.1016/j.cden.2014.10.001.
5. 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;47:103–116. doi: 10.1016/j.ijom.2017.05.001.
6. Al-Moraissi E.A., Alkhutari A.S., Abotaleb B., Altairi N.H., Del Fabbro M. Do Osteoconductive Bone Substitutes Result in Similar Bone Regeneration for Maxillary Sinus Augmentation When Compared to Osteogenic and Osteoinductive Bone Grafts? A Systematic Review and Frequentist Network Meta Analysis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2020;49:107–120. doi: 10.1016/j.ijom.2019.05.004.
7. Del Fabbro M., Wallace S.S., Testori T. Long-Term Implant Survival in the Grafted Maxillary Sinus: A Systematic Review. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* 2013;33:773–783. doi: 10.11607/prd.1288.
8. La Barbera L., Corbella S., Taschieri S., Galbusera F., Gianni A.B., Francetti L. Augmentation of the Atrophic Maxillary Sinus Floor: Graft Stiffness, Implant Shape and Length. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2018;32:1295–1301.
9. Juzikis, E.; Gaubys, A.; Rusilas, H. Uses of maxillary sinus lateral wall bony window in an open window sinus lift procedure: Literature review. *Stomatologija* 2018, 20, 14–21.
10. Pjetursson, B.E., Tan, W.C., Zwahlen, M. & Lang, N.P. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. *Journal of Clinical Periodontology* 2008; 35 (Suppl 8): 216-240.
11. BOYNE, P. J.; JAMES, R. A. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J. Oral Surg.*, v. 38, n. 1, p. 613-616, 1980.
12. TATUM JR, O. H.; LEBOWITZ, M. S. Anatomic Considerations for dental implants. *Journal of Oral Implantology*, v. 57, n. 1, p. 16-21, Sep./Oct. 1991.

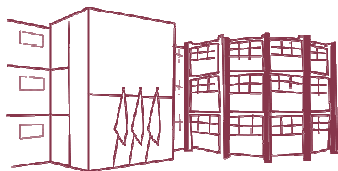
13. Testori T, Yu SH, Tavelli L, Wang HL. Perforation Risk Assessment in Maxillary Sinus Augmentation with Lateral Wall Technique. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2020 May/Jun;40(3):373-380. doi: 10.11607/prd.4179. Review.
14. Schwartz-Arad D, Herzberg R, Dolev E. The prevalence of surgical complications of the sinus graft procedure and their impact on implant survival. *J Periodontol*. 2004 Apr;75(4):511-6.
15. Nolan PJ, Freeman K, Kraut RA. Correlation between Schneiderian membrane perforation and sinus lift graft outcome: a retrospective evaluation of 359 augmented sinus. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014 Jan;72(1):47-52.
16. Kim J, Jang H. A review of complications of maxillary sinus augmentation and available treatment methods. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2019 Aug;45(4):220-224. doi: 10.5125/jkaoms.2019.45.4.220.
17. Testori T, Weinstein T, Taschieri S, Wallace SS. Risk factors in lateral window sinus elevation surgery. *Periodontol 2000*. 2019 Oct;81(1):91-123. doi: 10.1111/prd.12286. PMID: 31407430.
18. Testori T, Tavelli L, Scaini R, Saibene AM, Felisati G, Barootchi S, Decker AM, Deflorian MA, Rosano G, Wallace SS, Zucchelli G, Francetti L, Wang HL. How to avoid intraoperative and postoperative complications in maxillary sinus elevation. *Periodontol 2000*. 2023 Jun;92(1):299-328. doi: 10.1111/prd.12480. Epub 2023 Jun 21. PMID: 37345386.
19. Urban IA, Nagursky H, Church C, Lozada JL. Incidence, diagnosis, and treatment of sinus graft infection after sinus floor elevation: A clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27:449–457.
20. Doud Galli SK, Lebowitz RA, Giacchi RJ, Glickman R, Jacobs JB. Chronic sinusitis complicating sinus lift surgery. *Am J Rhinol* 2001;15:181–186.
21. Testori T, Wallace SS, Del Fabbro M, et al. Repair of large sinus membrane perforations using stabilized collagen barrier membranes: surgical techniques with histologic and radiographic evidence of success. *Int. J. Periodontics Restorative Dent* 2008;28:9–17.
22. Tarnow DP, Wallace SS, Froum SJ, et al. Histologic and clinical comparison of bilateral sinus floor elevations with and without barrier membrane placement in 12 patients: Part 3 of an ongoing prospective study. *Int. J. Periodontics Restorative Dent* 2000;20:117–25.
23. Aimetti M, Romagnoli R, Ricci G, Massei G. Maxillary sinus elevation: The effect of macrolacerations and microlacerations of the sinus membrane as determined by endoscopy. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2001;21:581–589.
24. Khoury, F. (1999) Augmentation of the sinus floor with mandibular bone block and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 14: 557–564.

25. Lundgren S, Andersson S, Gualini F, Sennerby L. Bone reformation with sinus membrane elevation: A new surgical technique for maxillary sinus floor augmentation. *Clin Implant Dent Relat Res* 2004;6:165–173.
26. Choi BH, Zhu SJ, Jung JH, Lee SH, Huh JY. The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during sinus lifts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:150–154.
27. Kawakami S, Lang NP, Ferri M, Apaza Alccayhuaman KA, Botticelli D. Influence of the height of the antrostomy in sinus floor elevation assessed by cone beam computed tomography- a randomized clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2019 January/February;34(1):223–232.
28. Kawakami S, Lang NP, Iida T, Ferri M, Apaza Alccayhuaman KA, Botticelli D. Influence of the position of the antrostomy in sinus floor elevation assessed with cone-beam computed tomography: A randomized clinical trial. *J Investig Clin Dent*. 2018 Nov;9(4):e12362. doi: 10.1111/jicd.12362.
29. Pikos MA. Maxillary sinus membrane repair: report of a technique for large perforations. *Implant Dent*. 1999;8(1):29-34.
30. Proussaefs P, Lozada J. The “Loma Linda pouch”; A technique for repairing the perforated sinus membrane. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:593–597.
31. Kim, Y.K., Yun, P.Y., Oh, J.S. & Kim, S.G. (2014) Prognosis of closure of large sinus membrane perforations using pedicled buccal fat pads and a resorbable collagen membrane: case series study. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 40: 188–194.
32. Scala A, Lang NP, Velez JU, Favero R, Bengazi F, Botticelli D. Effects of a collagen membrane positioned between augmentation material and the sinus mucosa in the elevation of the maxillary sinus floor. An experimental study in sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2016 Nov;27(11):1454-1461.
33. Scarano A., Piattelli A., Perrotti V., Manzon L., Iezzi G. Maxillary Sinus Augmentation in Humans Using Cortical Porcine Bone: A Histological and Histomorphometrical Evaluation after 4 and 6 Months. *Clin. Implant Dent. Relat. Res*. 2011;13:13–18. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00176.x.
34. Crespi M., Capparè P.E., Romanos G., Mariani E., Benasciutti E., Gherlone E. Corticocancellous porcine bone in the healing of human extraction sockets: Combining histomorphometry with osteoblast gene expression profiles in vivo. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant*. 2011;26:866–872.
35. Nannmark U., Sennerby L. The Bone Tissue Responses to Prehydrated and Collagenated Cortico Cancellous Porcine Bone Grafts: A Study in Rabbit Maxillary Defects. *Clin. Implant Dent. Relat. Res*. 2008;10:264–270. doi: 10.1111/j.1708-8208.2007.00080.x.
36. Iida T, Carneiro Martins Neto E, Botticelli D, Apaza Alccayhuaman KA, Lang NP, Xavier SP. Influence of a collagen membrane positioned subjacent the sinus mucosa following the elevation of the maxillary sinus. A histomorphometric study in rabbits.

- Clin Oral Implants Res. 2017 Dec;28(12):1567-1576. doi: 10.1111/clr.13027. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28593727.
37. Iida T, Baba S, Botticelli D, Masuda K, Xavier SP. Comparison of histomorphometry and microCT after sinus augmentation using xenografts of different particle sizes in rabbits. *Oral Maxillofac Surg*. 2020 Mar;24(1):57-64. doi: 10.1007/s10006-019-00813-x. Epub 2019 Dec 9. PMID: 31820198.
 38. Gruber, R., Kandler, B., Fuerst, G., Fisher, M.B. & Watzek, G. (2004) Porcine sinus mucosa holds cells that respond to bone morphogenetic protein (BMP)-6 and BMP-7 with increased osteogenic differentiation in vitro. *Clinical Oral Implants Research* 15: 575-580.
 39. Srouji, S., Ben-David, D., Funari, A., Riminucci, M. & Bianco, P. (2013). Evaluation of the osteoconductive potential of bone substitutes embedded with schneiderian membrane- or maxillary bone marrow-derived osteoprogenitor cells. *Clinical Oral Implants Research* 24: 1288-1294.
 40. Srouji, S., Ben-David, D., Lotan, R., Riminucci, M., Livne, E. & Bianco, P. (2010). The innate osteogenic potential of the maxillary sinus (Schneiderian) membrane: an ectopic tissue transplant model simulating sinus lifting. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 39: 793-801
 41. Srouji, S., Kizhner, T., Ben David, D., Riminucci, M., Bianco, P. & Livne, E. (2009) The Schneiderian membrane contains osteoprogenitor cells: in vivo and in vitro study. *Calcified Tissue International* 84: 138-145.
 42. Favero, V., Lang, N.P., Canullo, L., Urbizo Velez, J., Bengazi, F. & Botticelli, D. (2016) Sinus floor elevation outcomes following perforation of the Schneiderian membrane. An experimental study in sheep. *Clinical Oral Implants Research* 27: 233-240.
 43. Iida T, Silva ER, Lang NP, Apaza Alccayhuaman KA, Botticelli D, Xavier SP. Histological and micro-computed tomography evaluations of newly formed bone after maxillary sinus augmentation using a xenograft with similar density and mineral content of bone: An experimental study in rabbits. *Clin Exp Dent Res*. 2018 Nov 23;4(6):284-290. doi: 10.1002/cre2.146. PMID: 30603111; PMCID: PMC6305965.
 44. Lim ST, Kusano K, Taniyama T, Sakuma S, Nakajima Y, Xavier SP, Baba S. Contribution to Bone Formation of the Schneiderian Membrane after Sinus Augmentation: A Histological Study in Rabbits. *Materials (Basel)*. 2022 Nov 15;15(22):8077. doi: 10.3390/ma15228077. PMID: 36431558; PMCID: PMC9692365.
 45. Hirota A (1), Lang NP, Ferri M, Fortich Mesa N, Apaza Alccayhuaman KA, Botticelli D. Tomographic evaluation of the influence of the placement of a collagen membrane subjacent to the sinus mucosa during maxillary sinus floor augmentation: a randomized clinical trial. *Int J Implant Dent*. 2019 Aug 19;5(1):31. doi: 10.1186/s40729-019-0183-5. PMID: 31423548; PMCID: PMC6702501.
 46. Morimoto A, Kobayashi N, Ferri M, Iezzi G, Piattelli A, Fortich Mesa N, Botticelli D. Influence on Implant Bone Healing of a Collagen Membrane Placed Subjacent the Sinus Mucosa-A Randomized Clinical Trial on Sinus Floor Elevation. *Dent J (Basel)*. 2022 Jun 8;10(6):105. doi: 10.3390/dj10060105. PMID: 35735646; PMCID: PMC9221570

47. Lim HC, Son Y, Hong JY, Shin SI, Jung UW, Chung JH. Sinus floor elevation in sites with a perforated schneiderian membrane: What is the effect of placing a collagen membrane in a rabbit model? *Clinical Oral Implants Research*. 2018;29(12):1202-11.
48. ARRIVE: Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments. Disponível em: <https://arriveguidelines.org>
49. Aimetti, M., Massei, G., Morra, M., Cardesi, E., & Romano, F. (2008). Correlation between gingival phenotype and Schneiderian membrane thickness. *The International Journal Oral Maxillofacial Implants*, 23(6), 1128–1132
50. Godoy EP, Alccayhuaman KAA, Botticelli D, Amaroli A, Balan VF, Silva ER, Xavier SP. Osteoconductivity of Bovine Xenograft Granules of Different Sizes in Sinus Lift: A Histomorphometric Study in Rabbits. *Dent J (Basel)*. 2021 May 31;9(6):61. doi: 10.3390/dj9060061. PMID: 34072644; PMCID: PMC8227860.
51. Scharf, K. E., Lawson, W., Shapiro, J. M., & Gannon, P. J. (1995). Pressure measurements in the normal and occluded rabbit maxillary sinus. *Laryngoscope*, 105, 570–574.
52. Ferreira Balan V, Botticelli D, Peñarrocha-Oltra D, Masuda K, Pires Godoy E, Xavier SP. Maxillary Sinus Floor Augmentation with Two Different Inorganic Bovine Bone Grafts: An Experimental Study in Rabbits. *Chin J Dent Res*. 2022 Jun 10;25(2):93-105. doi: 10.3290/j.cjdr.b3086337. PMID: 35686589.
53. Omori Y, Ricardo Silva E, Botticelli D, Apaza Alccayhuaman KA, Lang NP, Xavier SP. Reposition of the bone plate over the antrostomy in maxillary sinus augmentation: A histomorphometric study in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Aug;29(8):821-834. doi: 10.1111/clr.13292. Epub 2018 Jun 7. PMID: 29876969.
54. Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue. Morphometric model, tissue sampling and test of stereologic procedures. *J Microsc*. 1973 Dec;99(3):301-29. doi: 10.1111/j.1365-2818.1973.tb04629.x. PMID: 4801631.
55. Bernardello, F.; Lombardi, T.; Stacchi, C. Clearance of Bone Substitute in Gel Form Accidentally Dispersed into the Sinus Cavity during Transcrestal Maxillary Sinus Floor Elevation: Two-Case Report. *Sinusitis* 2021, 5, 132–140. <https://doi.org/10.3390/sinusitis5020014>
56. Nakajima Y, Botticelli D, De Rossi EF, Ferreira Balan V, Pires Godoy E, Ricardo Silva E, Xavier SP. Schneiderian Membrane Collateral Damage Caused by Collagenated and Non-Collagenated Xenografts: A Histological Study in Rabbits. *Dent J (Basel)*. 2023 Jan 26;11(2):31. doi: 10.3390/dj11020031. PMID: 36826176; PMCID: PMC9955563.
57. Omori Y, Botticelli D, Migani S, Ferreira Balan V, Pires Godoy E, Xavier SP. Sinus Mucosal Damage Triggered by Synthetic or Xenogeneic Bone Substitutes: A Histological Analysis in Rabbits. *J Funct Biomater*. 2022 Nov 19;13(4):257. doi: 10.3390/jfb13040257. PMID: 36412898
58. Miki M, Botticelli D, Silva ER, Xavier SP, Baba S. Incidence of Sinus Mucosa Perforations During Healing After Sinus Elevation Using Deproteinized Bovine Bone

- Mineral as Grafting Material: A Histologic Evaluation in a Rabbit Model. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2021 Jul-Aug;36(4):660-668. doi: 10.11607/jomi.8580. PMID: 34411205.
59. Kato S, Botticelli D, De Santis E, Kanayama M, Ferreira S, Rangel-Garcia I Jr. Sinus mucosa thinning and perforation after sinus augmentation. A histological study in rabbits. *Oral Maxillofac Surg*. 2021 Feb 4. doi: 10.1007/s10006-021-00946-y. Epub ahead of print. PMID: 33543404.
 60. Omori Y, Botticelli D, Ferri M, Delgado-Ruiz R, Ferreira Balan V, Porfirio Xavier S. Argon Bioactivation of Implants Installed Simultaneously to Maxillary Sinus Lifting without Graft. An Experimental Study in Rabbits. *Dent J (Basel)*. 2021 Sep 6;9(9):105. doi: 10.3390/dj9090105. PMID: 34562979; PMCID: PMC8466067.
 61. Nakajima Y, Apaza Alccayhuaman KA, Botticelli D, Lang NP, De Rossi EF, Xavier SP. Mucosal adhesion phenomenon after maxillary sinus floor elevation: A preclinical study. *Clin Oral Implants Res*. 2023 Sep;34(9):967-978. doi: 10.1111/clr.14123. Epub 2023 Jul 5. PMID: 37403596.
 62. Park WB, Han JY, Kang P, Momen-Heravi F. The clinical and radiographic outcomes of Schneiderian membrane perforation without repair in sinus elevation surgery. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Oct;21(5):931-937. doi: 10.1111/cid.12752.
 63. Miyauchi Y, Izutani T, Teranishi Y, Iida T, Nakajima Y, Xavier SP, Baba S. Healing Patterns of Non-Collagenated Bovine and Collagenated Porcine Xenografts Used for Sinus Floor Elevation: A Histological Study in Rabbits. *J Funct Biomater*. 2022 Dec 5;13(4):276. doi: 10.3390/jfb13040276. PMID: 36547536; PMCID: PMC9787467.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 536ª Reunião Ordinária, realizada em 04 de outubro de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 04 de novembro de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP