



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



STTEPHANY SILVA BERNARDINO

**Efeitos dos diferentes thresholds na
acurácia de análises lineares e volumétricas
de biópsias de osso nativo e enxertado com
osso bovino desproteínizado**

UBERLÂNDIA

2021

STTEPHANY SILVA BERNARDINO

**Efeitos dos diferentes thresholds na
acurácia de análises lineares e volumétricas
de biópsias de osso nativo e enxertado com
osso bovino desproteínizado**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Faculdade de
Odontologia da UFU, como requisito
parcial para obtenção do título de
Graduado em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Guilherme José
Pimentel Lopes de Oliveira.

Co-orientadora: Mestranda Júlia
Raulino Lima.

UBERLÂNDIA

2021

SUMÁRIO

Resumo	06
Abstract	08
Introdução	10
Objetivo	15
Hipóteses	17
Materiais e Métodos	19
Resultados	24
Discussão	31
Conclusão	35
Referências bibliográficas	37
Anexos	44

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	21
Figura 2	22
Figura 3	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	26
Tabela 2	27
Tabela 3	28
Tabela 4	29
Tabela 5	30

Resumo

Resumo

O objetivo desse estudo foi investigar a acurácia da microtomografia para avaliar de forma linear e volumétrica áreas de osso nativo e enxertado de biópsias de seios maxilares enxertados com osso bovino desproteínizado (OBD) em humanos e sua correlação com a análise histométrica. Foram coletadas ao todo 111 biópsias dos seios maxilares previamente enxertados de 19 pacientes. Foi correlacionado as análises lineares em área de osso nativo e enxertado das análises microtomográfica e histométrica. Além disso, especificamente na análise volumétrica, foram feitas variações nos thresholds (Escala de cinza) entre 90-250, reduzindo-se o ponto do limite superior até o intervalo de 90-150. Foi verificado na análise microtomográfica o comprimento linear do osso nativo e do osso enxertado foi de 2.44 ± 0.91 mm e de 3.63 ± 1.66 mm, respectivamente, enquanto que na análise histométrica, o comprimento de osso nativo foi de 2.48 ± 1.50 mm e de osso enxertado foi de 3.13 ± 1.45 mm, o que gerou um nível de correlação de $r = 0.57$ em osso nativo e $r = 0.74$ em área enxertada. Na análise histométrica foi verificado uma porcentagem de osso de 45.91 ± 11.69 % na área de osso nativo, e de 49.57 ± 5.59 % de osso e biomaterial em área enxertada. O volume total de tecidos mineralizados que mais se aproximou dos valores da análise histométrica foram de 43.75 ± 15.39 % na área de osso nativo (Threshold: 90-240) e de 51.68 ± 8.42 % em área enxertada (Threshold: 90-180). O nível de correlação entre essas análises foi positivo e significativo ($r = 0.50$) em osso nativo e não significativo ($r = -0.028$) em área enxertada. A análise microtomográfica apresentou boa acurácia na análise linear em ambas as porções da biópsias. Entretanto, a análise volumétrica apresentou boa acurácia apenas em osso nativo.

Palavras-Chaves: Enxerto ósseo, histologia, tomografia

Abstract

Abstract

The aim of this study was to investigate the accuracy of microtomography to evaluate in a linear and volumetric areas of native bone and grafted in biopsies of maxillary sinuses grafted with deproteinized bovine bone (DBB) in humans and its correlation with histometric analysis. A total of 111 biopsies of the previously grafted maxillary sinuses were collected from 19 patients. Linear analyzes in the area of native bone were correlated and grafted from the microtomographic and histometric analyzes. In addition, specifically in the volumetric analysis, there were variations in the thresholds (Gray scale) between 90-250, reducing the point of the upper limit until the interval of 90-150. In the microtomographic analysis, the linear length of native bone and grafted bone was 2.44 ± 0.91 mm and 3.63 ± 1.66 mm, respectively, whereas in histometric analysis, the length of native bone was 2.48 ± 1.50 mm and bone grafted was 3.13 ± 1.45 mm, which generated a correlation level of $r = 0.57$ in native bone and $r = 0.74$ in the grafted area. Histometric analysis showed a percentage of bone of $45.91 \pm 11.69\%$ in the native bone area, and $49.57 \pm 5.59\%$ of bone and biomaterial in the grafted area. The total volume of mineralized tissues that were closest to the values of the histometric analysis were $43.75 \pm 15.39\%$ in the native bone area (Threshold: 90-240) and $51.68 \pm 8.42\%$ in the grafted area (Threshold: 90-180). The level of correlation between these analyzes was positive and significant ($r = 0.50$) in native bone and non-significant ($r = -0.028$) in the grafted area. The microtomographic analysis showed good accuracy in the linear analysis in both portions of the biopsies. However, the volumetric analysis showed good accuracy only in native bone.

Keywords: Bone graft, histology, tomography

Introdução

Introdução

A necessidade de tratamento da perda dentária em pacientes acompanha a história da prática odontológica desde os seus primórdios (Chazel et al, 2005). Populações antigas já substituíam dentes perdidos por próteses dentárias preocupadas no restabelecimento da função e estética da cavidade oral (Ramirez-Salomon et al, 2018). Com a descoberta do processo de osseointegração, foi inserido no contexto do tratamento do edentulismo a necessidade de reabilitação de perdas ósseas tanto por processos patológicos quanto por deformações congênitas que impedem a reabilitação destes pacientes por meio da utilização de próteses suportadas por implantes dentários (Benic & Hämmerle, 2014). Dessa forma, tem sido estimulada a produção de informações científicas que buscam o desenvolvimento de técnicas de regeneração óssea guiada associado a utilização de enxertos substitutos de tecido ósseo que visam aumentar a disponibilidade desse tecido para permitir a instalação de implantes dentários em posição adequada para instalação de próteses com bom perfil de emergência (Spin-Neto et al, 2015).

Uma gama de materiais tem sido propostos para serem utilizados como substitutos ósseos em cirurgias de regeneração óssea guiada, sendo que o biomaterial de origem autógena é considerado o padrão ouro por ser o único biomaterial com as três propriedades biológicas para formação de tecido ósseo (Spin Neto et al, 2015; Zendron et al, 2018). Porém, como existe grande comorbidade e em alguns casos essa técnica não pode ser empregada, outros substitutos ósseos alternativos têm sido propostos para essa finalidade (Nkenke & Neukam, 2014; Wychowanski et al, 2020). Destacam-se como biomateriais alternativos os substitutos ósseos osteocondutores que permitem a formação de tecido ósseo em íntimo contato com suas partículas, sendo os mesmos

incorporados ao osso neoformado (Smith et al, 2018; Pignaton et al, 2020). Reabilitações suportadas por implantes instalados em áreas enxertadas com substitutos ósseos com essas características de propriedade biológica de formação óssea tem sido aplicadas com boas taxas de sucesso e sobrevivência (Mordenfeld et al, 2016; Sivolella et al, 2020), entretanto, também tem sido indicado que essas áreas enxertadas apresentam menores formações de tecido ósseo e um retardo no processo de osseointegração (Araújo et al., 2009; Pinotti et al., 2018).

O sucesso do tratamento depende diretamente da qualidade do osso após o procedimento de enxertia, sendo assim é de extrema importância analisar as características deste tecido para verificar a qualidade da área enxertada que está relacionada, como o grau de reabsorção dos biomateriais e as características estruturais do osso neoformado (Barboni et al, 2013). A análise histológica tem sido aplicada como padrão ouro como técnica para investigar a qualidade biológica das áreas enxertadas, por fornecer informações que podem indicar sobre o comportamento clínico do enxerto e sua relação com a deposição de osso neoformado, ou osso imaturo, a reabsorção do material enxertado, e a observação dos limites da interface entre as partículas de enxerto e osso neoformado, que indicam a capacidade de osteocondução deste material, assim prevendo o sucesso ou insucesso do enxerto para posterior reabilitação com implante (Araújo et al, 2009; Pignaton et al, 2019; Pignaton et al, 2020). Entretanto, essa análise apresenta limitações, por fornecer informações bidimensionais sobre os processos biológicos e também pela necessidade de se aguardar longos períodos de descalcificação para promover a produção de cortes finos o suficiente para avaliação histomorfométrica com boa capacidade de distinção dos diferentes elementos teciduais presentes nas áreas enxertadas (Vasconcelos et al, 2016).

Como forma de superar as limitações da análise histológica em avaliar áreas enxertadas, tem sido proposto utilização das tomografias computadorizadas por ser um procedimento não invasivo e rápido que pode agilizar o exame e a avaliação do enxerto do paciente (Bedini et al, 2009). Entretanto existem limitações no emprego destas técnicas, quando em contato com objetos metálicos ocorre a formação de artefatos, que consistem em uma imagem com densidade diferente do esperado vindo do objeto metálico que causa dificuldade na observação tanto do implante, quanto da região peri-implantar de interesse (Chou et al, 2020), e que também impede a avaliação da composição das áreas enxertadas

Para o estudo de pequenas amostras, como biópsias obtidas em estudos pré-clínicos e clínicos, a microtomografia computadorizada tem sido uma metodologia aplicada como forma de avaliar a condição biológica das áreas enxertadas. Esse método promove avaliações rápidas, tridimensionais e que não destroem as amostras coletadas (Bedini et al, 2009; de Faria Vasconcelos et al, 2017). Visto a necessidade de analisar as microestruturas ósseas como o número de trabéculas, espessura das trabéculas, volume ósseo ao redor dos implantes é essencial para ter um bom diagnóstico da osseointegração, a análise 3D mostra a riqueza de detalhes que os métodos convencionais não apresentam (Vandeweghe et al, 2013; Bissinger et al, 2017), e para que tenhamos esses dados, o micro-ct traz uma vantagem em relação a formação de artefatos em relação a tomografia convencional, uma vez que os cortes das imagens são bem mais finos chegando na casa dos micrômetros (μm), a formação de artefatos é menor e podemos ver com mais facilidade a região de interesse (Bissinger et al, 2017; Iida et al, 2018; Chou et al, 2020). Entretanto, alguns padrões de análise, tais como determinações de parâmetros de escaneamento, reconstrução e determinação da

binarização necessitam ser melhor investigados para checar a correlação da análise microtomográfica em segmentas de osso nativo e neoformado das partículas remanescentes de biomateriais com as análises histomorfométricas.

Objetivos

Objetivos

Objetivo Geral

O objetivo desse estudo foi de avaliar a acurácia da análise microtomográfica em avaliar os diferentes componentes mineralizados em biópsias de seio maxilar enxertados com osso bovino desproteínizado.

Objetivo Específico

- 1) Avaliar a acurácia da análise microtomográfica em realizar medidas lineares em áreas de osso nativo e enxertadas com osso bovino desproteínizado.
- 2) Avaliar a acurácia da análise microtomográfica em realizar medidas volumétricas em áreas de osso nativo e enxertadas com osso bovino desproteínizado.
- 3) Avaliar o efeito dos ajustes dos threshold na acurácia da análise volumétrica realizada por meio de microtomografia.

Hipóteses

Hipóteses

H0 – A análise microtomográfica não apresentará acurácia adequada para execução de análises lineares e volumétricas de biópsias removidas em seios maxilares contendo osso nativo e enxertado com osso bovino desproteinizado.

H1 - A análise microtomográfica apresentará acurácia adequada para execução de análises lineares e volumétricas de biópsias removidas em seios maxilares contendo osso nativo e enxertado com osso bovino desproteinizado.

Material e métodos

Material e métodos

Considerações éticas

Conforme descrito no anexo A, esse estudo foi feito com biópsias removidas de seios maxilares de 19 pacientes que foram enxertados com osso bovino desproteínizado em humanos derivados de um estudo anterior que foi aprovado junto ao Comitê de ética da Faculdade de Odontologia de Araraquara (CEP-FOAr, CAAE: 37753514.6.0000.5416) e registrado no REBEC (UTN: U1111-1173-9435).

Obtenção das biópsias

Foram coletadas ao todo 111 biópsias dos seios maxilares previamente enxertados desses 19 pacientes, sendo que os pacientes foram considerados como unidade amostral. Essas biópsias foram removidas durante a instalação dos implantes na segunda etapa cirúrgica, onde a broca guia foi substituída por uma broca trefina de 3 mm de diâmetro para que amostras histológicas das áreas enxertadas fossem coletadas (Figura-1). A utilização da broca trefina não proporcionou nenhum tipo de risco adicional ou malefício ao tratamento e/ou a saúde do paciente. Como bem observado na imagem, todas as biópsias apresentavam um componente de osso nativo e de osso enxertado. As biópsias foram fixadas em paraformaldeído por 48 horas e foram posteriormente mantidas em álcool 70° até o momento do escaneamento no microtomógrafo.



Figura-1 Material removido após a biópsia onde é possível se observar no lado direito a área de osso nativo e no lado esquerdo da imagem a área de osso enxertado.

Análise por microtomografia

As biópsias foram escaneadas por meio do aparelho Skyscan (SkyScan, Kontich, Bélgica) com os seguintes parâmetros: Camera Pixel: 12.45; x-ray tube potential: 65 kVP, x-ray intensity: 385 μ A, integration time: 300 ms, filter: Al-1 mm, and voxel size: 18 μ m³. As imagens geradas foram posteriormente reconstruídas, reorientadas espacialmente e analisadas por softwares específicos (NRecon/DataViewer/CTan, Skyscan, Aartselaar, Belgium). Foram mensurados os comprimentos lineares e o volume de tecidos mineralizados das áreas de osso nativo e enxertado. Especificamente na avaliação volumétrica dos tecidos mineralizados, foram avaliados de forma separada o osso nativo e o osso enxertado variando-se os thresholds das escalas de cinza que serve para binarizar nas análises o que seria tecido mineralizado dos tecidos não mineralizados (90-250; 90-240; 90-230; 90- 220; 90-210; 90-200; 90-190; 90-180; 90-170; 90-160 e 90-150 tons de cinza).

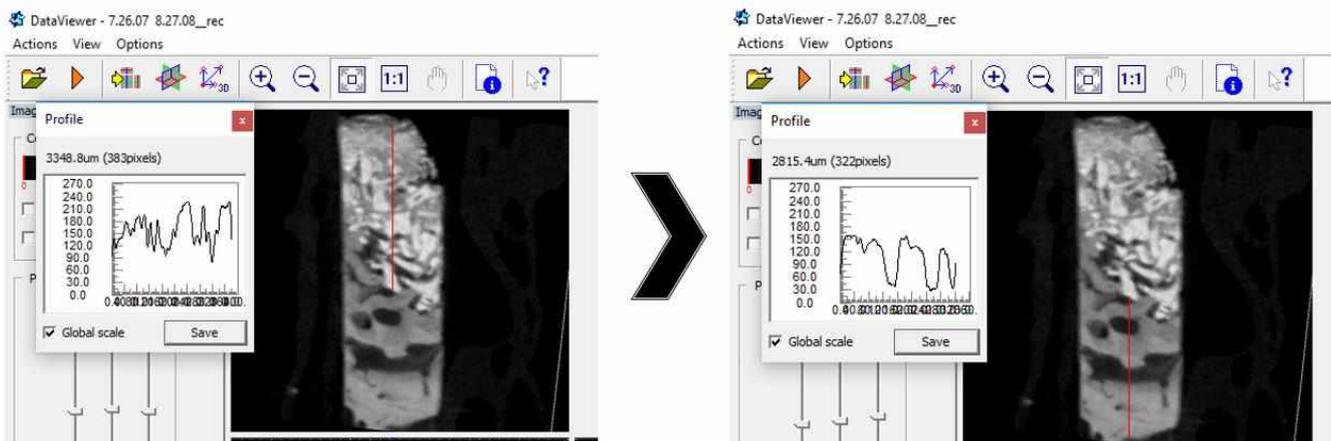


Figura-2 Mensurações lineares obtidas no software DataViewer em área de osso enxertado e de osso nativo.

Processamento e análise histológica

Posteriormente ao escaneamento pelo microtomógrafo, as biópsias foram descalcificadas em EDTA 7% por 90 dias. As biópsias foram posteriormente incluídas em parafina e foram obtidos cortes com 5mm de espessura que foram corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina.

Foram analisados dois cortes por biópsias que distavam $40\mu\text{m}$ e que foram obtidos no centro da biópsia. Foram capturas imagens dos cortes histológicos por meio de um microscópio óptico (Diastar - Leica eichert & Jung products, Alemanha), associado a uma câmera fotográfica digital (DFC-300-FX, Leica Microsystems, Alemanha) com resolução de 1.3 megapixels com um aumento de 25X. (Figura 3).

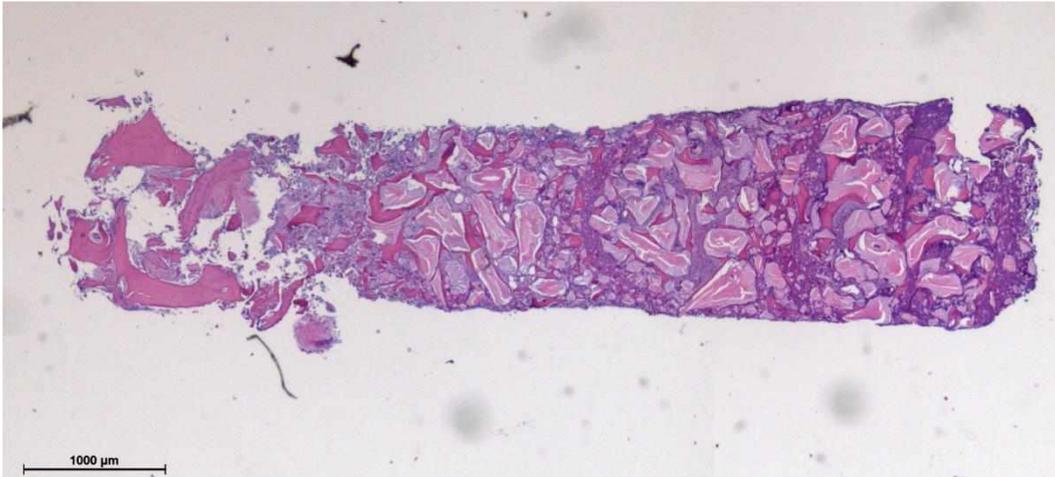


Figura-3 Lâmina histológica digitalizada onde é possível observar no lado esquerdo da imagem a porção de osso nativo e no lado esquerdo a porção de área enxertada. A histometria foi realizada e comparada com os achados da análise microtomográfica. (Aumento original 25% - Coloração em Hematoxilina-Eosina).

Foram avaliados o comprimento linear do osso residual nativo e da área enxertada. Na parte da biópsia correspondente ao osso residual nativo foram avaliados o percentual de osso residual. Na parte correspondente a área enxertada, foram avaliados o percentual de material de enxerto residual e de osso novo. Essas mensurações foram correlacionadas com as mensurações da análise microtomográfica.

Análise estatística

Os dados desse estudo se distribuíram de acordo com a normalidade. Devido a isso, foi aplicado a correlação de Pearson para avaliar a correlação das análises histométrica e microtomográfica em relação das análises lineares e volumétricas (tecidos mineralizados) em áreas de osso nativo e enxertadas, sem segmentação de osso e resquícios de enxerto em áreas enxertadas, até o momento. O software GraphPad Prism 6 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para análise inferencial dos dados. Todos os testes foram aplicados ao nível de significância de 5 %.

Resultados

Resultados

Análises Lineares

Foi verificado na análise microtomográfica o comprimento linear do osso nativo e do osso enxertado foi de 2.59 ± 1.61 mm e de 3.63 ± 1.66 mm, respectivamente. Na análise histométrica, o comprimento de osso nativo foi de 2.48 ± 1.50 mm e de osso enxertado foi de 3.13 ± 1.45 mm. O nível de correlação entre essas análises foi positivo e significativo ($r = 0.578$ em osso nativo e $r = 0.743$ em área enxertada). Na análise histométrica foi verificado uma porcentagem de osso de 45.91 ± 11.69 % na área de osso nativo, enquanto que na área enxertada foram observados porcentagem total de osso e biomaterial de 49.57 ± 5.59 %. Na análise microtomográfica o volume total de tecidos mineralizados que mais se aproximou dos valores da análise histométrica foram de 43.75 ± 15.39 % na área de osso nativo (Threshold: 90-240) e de 51.68 ± 8.42 % em área enxertada (Threshold: 90-180). O nível de correlação entre essas análises foi positivo e significativo ($r = 0.50$) em osso nativo e não significativo ($r = -0.028$) em área enxertada.

Análises volumétricas

Com relação as correlações entre a análise volumétrica por microtomografia e os dados obtidos nas análises histomorfométricas, foi observado que essas correlações foram mais fortes em áreas de osso nativos que em áreas enxertadas e que os Thresholds de 90-250 e 90-240 apresentaram as maiores correlações com as análises de tecido ósseo executadas por Histometria e que essas correlações foram estatisticamente significativas ($p < 0.05$) (Tabela 1).

Tabela 1: Média e desvio padrão da quantidade de osso e de tecidos mineralizados avaliados por histomorfometria e microtomografia em áreas de osso nativo

Threshold / % Tecidos mineralizados	BV/TV	%Osso	r
90-250	43.67 ± 15.74	45.91 ± 11.69	0.505
90-240	43.75 ± 15.39	45.91 ± 11.69	0.500
90-230	43.38 ± 15.19	45.91 ± 11.69	0.490
90-220	42.80 ± 14.94	45.91 ± 11.69	0.486
90-210	42.03 ± 14.69	45.91 ± 11.69	0.481
90-200	41.25 ± 14.43	45.91 ± 11.69	0.484
90-190	40.20 ± 14.16	45.91 ± 11.69	0.482
90-180	38.60 ± 13.77	45.91 ± 11.69	0.480
90-170	36.49 ± 12.85	45.91 ± 11.69	0.462
90-160	33.42 ± 11.29	45.91 ± 11.69	0.416
90-150	29.33 ± 9.41	45.91 ± 11.69	0.409

Com relação as correlações com as análises histométricas nas áreas enxertadas, a análise microtomográfica não foi apresentou correlação estatisticamente significativa

em relação a análise de nenhum dos componentes avaliados. A tabela 2 expõe os dados descritivos das análises histométrica e microtomográficas realizadas nas áreas enxertadas. As tabelas 3, 4 e 5 expõe respectivamente as correlações nos achados de BV/TV provenientes da análise microtomográfica com a %Osso + % OBD, %Osso e % OBD identificados pela análise histomorfométrica.

Tabela 2: Média e desvio padrão da quantidade de osso + osso bovino desproteínizado (OBD) e de tecidos mineralizados avaliados por histomorfometria e microtomografia em áreas de osso nativo

Threshold	BV/TV	%Osso + % OBD	%Osso	% OBD
90-250	76.31 ± 5.33	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-240	74.64 ± 5.93	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-230	72.19 ± 6.47	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-220	68.96 ± 6.81	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-210	65.24 ± 7.18	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-200	61.28 ± 7.57	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-190	56.62 ± 8.02	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-180	51.68 ± 8.42	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-170	46.24 ± 8.07	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
90-160	40.61 ± 6.92	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42

90-150	34.91 ± 6.89	50.23 ± 5.13	29.05 ± 5.31	21.19 ± 4.42
---------------	--------------	--------------	--------------	--------------

Tabela 3: Correlações nos achados de BV/TV provenientes da análise microtomográfica com a %Osso + % OBD identificados pela análise histomorfométrica.

Threshold	BV/TV	%Osso + % OBD	r
90-250	76.31 ± 5.33	50.23 ± 5.13	0.233
90-240	74.64 ± 5.93	50.23 ± 5.13	0.187
90-230	72.19 ± 6.47	50.23 ± 5.13	0.140
90-220	68.96 ± 6.81	50.23 ± 5.13	0.093
90-210	65.24 ± 7.18	50.23 ± 5.13	0.024
90-200	61.28 ± 7.57	50.23 ± 5.13	-0.010
90-190	56.62 ± 8.02	50.23 ± 5.13	-0.017
90-180	51.68 ± 8.42	50.23 ± 5.13	-0.028
90-170	46.24 ± 8.07	50.23 ± 5.13	0.013
90-160	40.61 ± 6.92	50.23 ± 5.13	0.120
90-150	34.91 ± 6.89	50.23 ± 5.13	0.144

Tabela 4: Correlações nos achados de BV/TV provenientes da análise microtomográfica com a %Osso identificados pela análise histomorfométrica.

Threshold	BV/TV	%Osso	r
90-250	76.31 ± 5.33	29.05 ± 5.31	0.103
90-240	74.64 ± 5.93	29.05 ± 5.31	0.004
90-230	72.19 ± 6.47	29.05 ± 5.31	-0.051
90-220	68.96 ± 6.81	29.05 ± 5.31	-0.094
90-210	65.24 ± 7.18	29.05 ± 5.31	-0.119
90-200	61.28 ± 7.57	29.05 ± 5.31	-0.141
90-190	56.62 ± 8.02	29.05 ± 5.31	-0.138
90-180	51.68 ± 8.42	29.05 ± 5.31	-0.154
90-170	46.24 ± 8.07	29.05 ± 5.31	-0.151
90-160	40.61 ± 6.92	29.05 ± 5.31	-0.125
90-150	34.91 ± 6.89	29.05 ± 5.31	-0.136

Tabela 5: Correlações nos achados de BV/TV provenientes da análise microtomográfica com a %OBD identificados pela análise histomorfométrica.

Threshold	BV/TV	% OBD	r
90-250	76.31 ± 5.33	21.19 ± 4.42	0.147
90-240	74.64 ± 5.93	21.19 ± 4.42	0.216
90-230	72.19 ± 6.47	21.19 ± 4.42	0.224
90-220	68.96 ± 6.81	21.19 ± 4.42	0.222
90-210	65.24 ± 7.18	21.19 ± 4.42	0.172
90-200	61.28 ± 7.57	21.19 ± 4.42	0.158
90-190	56.62 ± 8.02	21.19 ± 4.42	0.145
90-180	51.68 ± 8.42	21.19 ± 4.42	0.152
90-170	46.24 ± 8.07	21.19 ± 4.42	0.197
90-160	40.61 ± 6.92	21.19 ± 4.42	0.291
90-150	34.91 ± 6.89	21.19 ± 4.42	0.331

Discussão

Discussão

Análises de tecido ósseo costumam demandar muito tempo para serem executadas pois os cortes histológicos em parafina requerem que a amostra seja descalcificada por períodos que podem variar de 15-90 dias a depender do agente utilizado na descalcificação. Análises por imagem fornecem a vantagem na obtenção de resultados quase que de imediato. Entretanto, os métodos de imagem convencionais utilizados em Odontologia não demonstram apresentar acurácia o suficiente para execução das análises volumétricas e segmentadas especialmente em áreas enxertadas. A proposta desse estudo em aplicar a microtomografia tem como base teórica a possível redução de artefatos devido a maior resolução das imagens oferecidas por esse equipamento. De fato, nosso estudo demonstrou que a análise por Micro CT de biópsias removidas de seios maxilares enxertados com Osso Bovino Desproteínizado (OBD) apresentaram acurácia suficiente para execução de análises lineares em áreas de osso nativo e enxertadas e volumétricas em osso nativo, porém, a separação do osso novo de substituto ósseo remanescente bem como análise volumétrica em áreas enxertadas não apresentaram acurácia o suficiente para obtenção de resultados confiáveis.

Esse estudo demonstrou que a microtomografia permitiu a execução da análises lineares com alto grau de precisão, mesmo em áreas enxertadas com OBD que apresentam um corpo radiopaco. Os artefatos produzidos com estruturas radiopacas já demonstraram prejudicar análises lineares de imagens geradas com tomografia do tipo Cone Beam (Fakhar et al., 2017; Kim et al., 2019). De fato, essa diferença que existe na acurácia desses dois instrumentos nas análises lineares em regiões que apresentam presença de corpo radiopaco podem ser explicadas pelas diferentes forma de obtenção das imagens como também pela resolução das mesmas. Imagens geradas por

microtomografias ($\sim 0.18\mu\text{m}$) apresentam resolução maior do que imagens geradas por tomografias do tipo cone beam ($\sim 1\text{mm}$). Além disso, a geração de imagens por feixe cônico demonstra prejudicar a formação de imagens de estruturas que ficam mais afastadas do feixe de emissão dos raios X (Lee et al., 2011). Dessa forma, sugere-se que o micro CT é um instrumento metodológico valioso para análise de diferentes modelos experimentais no qual seria necessário avaliações lineares em tecido ósseo (ex. defeitos críticos em calvárias, defeitos periodontais, nível ósseo periimplantar) (Sanz-Martin et al, 2018; Jang et al, 2019).

Outro achado importante nesse estudo foi a capacidade da análise microtomográfica em determinar de forma previsível a quantidade de tecido ósseo em volume com alta correlação com a quantidade de tecido ósseo observado na análise histométrica em áreas de osso nativo. De fato, esses resultados são animadores pois mesmo a proximidade com a área enxertada não pareceu influenciar de maneira impactante na qualidade das análises de volume ósseo. Outro fator importante foi que maiores intervalos de thresholds utilizados tiveram correlação mais forte com as análises histométricas e a redução desse intervalo reduziu a quantidade relativa de volume ósseo em relação a área desse tecido identificado na histometria possivelmente por eliminar da contagem o osso com menores graus de mineralização (Bissinger, 2017). Nesse estudo, o osso nativo não foi abordado cirurgicamente, diferente do que ocorreu na área enxertada, porém, o real impacto de faixas de threshold em ossos com diferentes graus de maturação é incerto e esse estudo não foi capaz de resolver esse problema técnico. Entretanto, a microtomografia de fato é uma excelente ferramenta para análise de quantidade de osso em volume bem como na avaliação de sua estrutura como tem sido mencionado em estudos publicados anteriormente (Parsa et al, 2013).

Em áreas enxertadas com OBD, a análise microtomográfica não obteve o mesmo nível de correlação observado na análise de áreas de osso nativo. Estudos anteriores relatam a ocorrência de artefatos ao redor de corpos radiopacos que interferem análises de interface (Mangione et al, 2013), tais como entre osso e implante dentário ou entre o tecido ósseo e diferentes tipos de biomateriais (Lim et al, 2020; Lida et al, 2020). Apesar de outros estudos exporem resultados no qual existe a separação de substitutos ósseos radiopacos do tecido ósseo do hospedeiro, é provável que as diferenças entre os biomateriais, modelos experimentais e períodos avaliados justifiquem as diferenças entre nossos achados (Mangione et al, 2013). É provável que essa dificuldade de avaliação de áreas enxertadas com osso bovino desproteinizado possa ocorrer pelo efeito da irradiação por feixe de elétrons de substitutos ósseos induzindo o efeito de reticulação de cálcio que pode prejudicar as análises nas interfaces desses materiais tais como acontecessem com dispositivos metálicos (Kim et al., 2015).

Esse estudo apresenta algumas limitações que devem ser levadas em condireção ao analisar nossos achados. Vale salientar que outras variáveis durante o escaneamento também podem interferir na resolução das imagens e conseqüentemente na acurácia da análise volumétrica em áreas enxertadas e não apenas as modificações da faixa de thresholds. Além disso, os achados desse estudo apenas se aplicam para biópsias de seios maxilares enxertados com OBD pois fatores como tempo de cicatrização, estrutura e composição do substituto ósseo, o tipo do microtomógrafo e o modelo experimental podem alterar os parâmetros ótimos para análises de biópsias de tecido ósseo enxertado ou nativo.

Conclusão

Conclusão

Dessa forma, pode-se concluir que a análise microtomográfica possui acurácia suficiente para executar análises lineares em osso nativo e enxertado com OBD e em análises volumétricas em osso nativo. Entretanto, esse método de análises apresenta limitações na avaliação volumétrica em áreas enxertadas com OBD.

Referências Bibliográficas

Referências bibliográficas

- 1) Chazel JC, Valcarcel J, Tramini P, Pelissier B, Mafart B. Coronal and apical lesions, environmental factors: study in a modern and an archeological population. *Clin Oral Investig*. 2005 Sep;9(3):197-202..
- 2) Ramírez-Salomón M, Vega-Lizama E, Quintana-Owen P, Cucina A, Tiesler V. Pulp pathosis associated with ancient Maya dental inlays. *Arch Oral Biol*. 2018 Nov;95:202-208.
- 3) Benic GI, Hämmerle CH. Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontol 2000*. 2014 Oct;66(1):13-40.
- 4) Spin-Neto R, Stavropoulos A, Coletti FL, Pereira LA, Marcantonio E Jr, Wenzel A. Remodeling of cortical and corticocancellous fresh-frozen allogeneic block bone grafts--a radiographic and histomorphometric comparison to autologous bone grafts. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Jul;26(7):747-52.
- 5) Zendron MV, Cardoso MV, Veronesi GF, Benchimol de Resende DR, Damante CA, Passanezi Sant'ana AC, Aguiar Gregghi SL, Raghianti Zangrando MS. Bone Graft and Substitutes Associated with Titanium Dome for Vertical Bone Formation in Osseointegrated Implants: Histomorphometric Analysis in Dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018 March/April;33(2):311–318.

- 6) Nkenke E, Neukam FW. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *Eur J Oral Implantol*. 2014 Summer;7 Suppl 2:S203-17.
- 7) Wychowanski P, Woliński J, Morawiec T, Kownacki P, Starzynska A, Kosieradzki M, Fiedor P. Preliminary Clinical Data and the Comparison of the Safety and Efficacy of Autogenous Bone Grafts Versus Xenograft Implantations in Vertical Bone Deficiencies Before Dental Implant Installation. *Transplant Proc*. 2020 Sep;52(7):2248-2251.
- 8) Smith MM, Duncan WJ, Coates DE. Attributes of Bio-Oss® and Moa-Bone® graft materials in a pilot study using the sheep maxillary sinus model. *J Periodontal Res*. 2018 Feb;53(1):80-90.
- 9) Pignatton TB, Spin-Neto R, Ferreira CEA, Martinelli CB, de Oliveira GJPL, Marcantonio E Jr. Remodelling of sinus bone grafts according to the distance from the native bone: A histomorphometric analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2020 Oct;31(10):959-967.
- 10) Mordenfeld A, Lindgren C, Hallman M. Sinus Floor Augmentation Using Straumann® BoneCeramic™ and Bio-Oss® in a Split Mouth Design and Later Placement of Implants: A 5-Year Report from a Longitudinal Study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016 Oct;18(5):926-936.
- 11) Sivolella S, Botticelli D, Prasad S, Ricci S, Bressan E, Prasad H. Evaluation and comparison of histologic changes and implant survival in extraction sites

immediately grafted with two different xenografts: A randomized clinical pilot study. *Clin Oral Implants Res.* 2020 Sep;31(9):825-835.

- 12) Araújo MG, Lindhe J. Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: A 6-month study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2009 May;20(5):433-40.
- 13) Pinotti FE, de Oliveira GJPL, Aroni MAT, Marcantonio RAC, Marcantonio E Jr. Analysis of osseointegration of implants with hydrophilic surfaces in grafted areas: A Preclinical study. *Clin Oral Implants Res.* 2018 Oct;29(10):963-972.
- 14) Barboni B, Mangano C, Valbonetti L, Marruchella G, Berardinelli P, Martelli A, Muttini A, Mauro A, Bedini R, Turriani M, Pecci R, Nardinocchi D, Zizzari VL, Tetè S, Piattelli A, Mattioli M. Synthetic bone substitute engineered with amniotic epithelial cells enhances bone regeneration after maxillary sinus augmentation. *PLoS One.* 2013 May 17;8(5):e63256.
- 15) Pignatton TB, Wenzel A, Ferreira CEA, Borges Martinelli C, Oliveira GJPL, Marcantonio E Jr, Spin-Neto R. Influence of residual bone height and sinus width on the outcome of maxillary sinus bone augmentation using anorganic bovine bone. *Clin Oral Implants Res.* 2019 Apr;30(4):315-323.
- 16) de Faria Vasconcelos K, dos Santos Corpas L, da Silveira BM, Laperre K, Padovan LE, Jacobs R, et al. MicroCT assessment of bone microarchitecture in implant sites reconstructed with autogenous and xenogenous grafts: a pilot study. *Clin Oral Impl Res.* março de 2017;28(3):308–13.

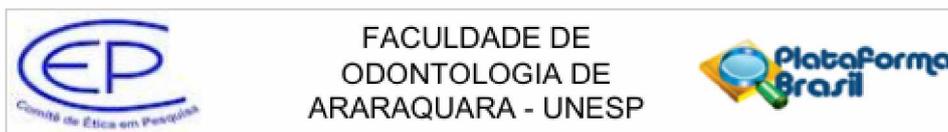
- 17) Bedini R, Meleo D, Pecci R, Pacifici L. The use of microtomography in bone tissue and biomaterial three-dimensional analysis. *Ann Ist Super Sanita.* 2009;45(2):178-84. PMID: 19636170.
- 18) Chou R, Chi H-Y, Lin Y-H, Ying L-K, Chao Y-J, Lin C-H. Comparison of quantitative measurements of four manufacturer's metal artifact reduction techniques for CT imaging with a self-made acrylic phantom. *Schwarzacher SP, Gómez C, organizadores. THC.* 4 de junho de 2020;28:273–87.
- 19) Vandeweghe S, Coelho PG, Vanhove C, Wennerberg A, Jimbo R. Utilizing micro-computed tomography to evaluate bone structure surrounding dental implants: a comparison with histomorphometry. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013 Oct;101(7):1259-66.
- 20) Bissinger O, Probst FA, Wolff KD, Jeschke A, Weitz J, Deppe H, Kolk A. Comparative 3D micro-CT and 2D histomorphometry analysis of dental implant osseointegration in the maxilla of minipigs. *J Clin Periodontol.* 2017 Apr;44(4):418-427.
- 21) 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.
- 22) Fakhar HB, Rashtchian R, Parvin M. Effect of Dental Implant Metal Artifacts on Accuracy of Linear Measurements by Two Cone-Beam

- Computed Tomography Systems Before and After Crown Restoration. *J Dent (Tehran)*. 2017 Nov;14(6):329-336.
- 23) Kim JE, Park YB, Shim JS, Moon HS. The Impact of Metal Artifacts Within Cone Beam Computed Tomography Data on the Accuracy of Computer-Based Implant Surgery: An In Vitro Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2019 May/June;34(3):585–594.
- 24) Li D, Wang H, Yin Y, Wang X. Deformable registration using edge-preserving scale space for adaptive image-guided radiation therapy. *J Appl Clin Med Phys*. 2011 Nov 15;12(4):3527.
- 25) Sanz-Martín I, Permuy M, Vignoletti F, Nuñez J, Muñoz F, Sanz M. A novel methodological approach using superimposed Micro-CT and STL images to analyze hard and soft tissue volume in immediate and delayed implants with different cervical designs. *Clin Oral Impl Res*. outubro de 2018;29(10):986–95.
- 26) Jang E, Lee J-Y, Lee E-Y, Seok H. Evaluation of the Bone Regeneration Effect of Recombinant Human Bone Morphogenic Protein-2 on Subperiosteal Bone Graft in the Rat Calvarial Model. *Materials*. 16 de maio de 2019;12(10):1613.
- 27) Parsa A, Ibrahim N, Hassan B, van der Stelt P, Wismeijer D. Bone quality evaluation at dental implant site using multislice CT, micro-CT, and cone beam CT. *Clin Oral Impl Res*. janeiro de 2015;26(1):e1–7.

- 28) Mangione F, Meleo D, Talocco M, Pecci R, Pacifici L, Bedini R. Comparative evaluation of the accuracy of linear measurements between cone beam computed tomography and 3D microtomography. *Ann Ist Super Sanita*. 2013;49(3):261–5.
- 29) Lim Y-W, Lim Y-J, Kim B, Lee S-P. A New Method of Measuring the Volumetric Change of Alveolar Bone Around Dental Implants Using Computed Tomography. *JCM*. 24 de abril de 2020;9(4):1238.
- 30) 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*. março de 2020;24(1):57–64.
- 31) Kim SM, Fan H, Cho YJ, Eo MY, Park JH, Kim BN, et al. Electron beam effect on biomaterials I: focusing on bone graft materials. *Biomater Res*. dezembro de 2015;19(1):10.

Anexos

Anexo A: Carta de aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Como as dimensões do seio maxilar influenciam na velocidade e qualidade da formação óssea?

Pesquisador: Elcio Marcantonio Junior

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 37753514.6.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.056.972

Data da Relatoria: 24/04/2015

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado "Como as dimensões do seio maxilar influenciam na velocidade e qualidade da formação óssea?" constitui uma pesquisa a ser realizada na Faculdade de Odontologia de Araraquara e no Instituto Carlos Eduardo de Almeida Ferreira em Vitória.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a influência das dimensões do seio maxilar na quantidade e qualidade da formação óssea com base em análises tomográficas, histológicas, histométricas e clínicas, determinando a importância e influência das dimensões do seio maxilar na velocidade e qualidade da formação óssea em seios maxilares enxertados com substituto ósseo inorgânico bovino.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores enumeraram todos os riscos inerentes à realização da pesquisa e que incluem aqueles relacionados à exame clínico, realização de moldagens, riscos cirúrgicos, alérgicos, e aqueles relacionados ao exame tomográfico. Apresentam também as maneiras de minimizar tais riscos. Como benefícios relatam que os pacientes selecionados para esse projeto (que preenchem os critérios de inclusão e exclusão) apresentam limitações no remanescente ósseo da maxila, o que restringe a reabilitação protética apenas à utilização de próteses totais. Assim a realização dos procedimentos oferecidos neste estudo, permite aumentar o volume ósseo nos locais onde há

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

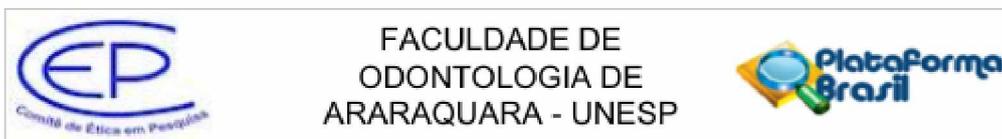
CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.056.972

deficiência e viabilizar a instalação de implantes dentários. Além disso, a fundamentação teórica do projeto poderá garantir a indicação de uma técnica cirúrgica mais rápida e menos desconfortável ao paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto interessante que visa avaliar as dimensões do seio maxilar visto que as informações sobre correlações entre as dimensões do seio maxilar e a quantidade e qualidade da formação óssea, importantes para determinar o prazo a ser aguardado para a instalação dos implantes, são escassas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos apresentados.

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram adequadas (retirar os comentários na lateral do TCLE e do projeto de pesquisa)

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Atendidas pendências de reunião considero APROVADO o protocolo.

ARARAQUARA, 11 de Maio de 2015

Assinado por:
Lígia Antunes Pereira Pinelli
(Coordenador)

Endereço: HUMAITA 1680	CEP: 14.801-903
Bairro: CENTRO	
UF: SP	Município: ARARAQUARA
Telefone: (16)3301-6459	E-mail: cep@foar.unesp.br