

Fabio Rossi

**Regeneração óssea de defeitos circunferenciais criados cirurgicamente ao
redor de implantes submersos. Estudo experimental em cães**

Araçatuba – 2011

Fabio Rossi

**Regeneração óssea de defeitos circunferenciais criados cirurgicamente ao
redor de implantes submersos. Estudo experimental em cães**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia do Câmpus de Araçatuba –
UNESP, para a obtenção do Grau de
“Doutor em Odontologia” – Área de
Concentração Implantodontia.

Orientador: Prof.Dr^o. Daniele Botticelli

Araçatuba - 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Rossi, Fabio.

R831p Regeneração óssea de defeitos circunferenciais
criados cirurgicamente ao redor de implantes submersos.
Estudo experimental em cães / Fabio Rossi. - Araçatuba :
[s.n.], 2011

78 f. :il. ; tab. + 1 CD-ROM

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

Orientador: Prof. Daniele Botticelli

1. Experimentação animal 2. Implantes dentários
3. Osso e ossos 4. Osseointegração 5.

Black D7

CDD 617.64

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

À minha esposa **Constance** com muito carinho pelo grande apoio, carinho, companheirismo e disponibilidade em me apoiar para a conclusão desta grande etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador Prof. Dr. **Daniele Botticelli**, meu amigo e parceiro, com quem compartilhei as alegrias e dificuldades encontradas durante a realização desta etapa da minha vida. Agradeço pela paciência demonstrada durante esses anos.

Ao Prof. Dr. **Wilson Roberto Poi** pela amizade, harmonia de trabalho compartilhando conhecimentos e filosofias. Por toda ajuda e apoio.

Ao Prof. Dr. **Idelmo Rangel Garcia Junior** pelos conhecimentos clínicos e científicos compartilhados, oportunidades, dedicação e paciência.

Ao Prof.Dr. **Américo de Oliveira**, por sua amizade, companheirismo e disponibilidade em ajudar sempre.

A toda minha equipe e auxiliares do consultório pelo apoio em todas as etapas.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA – UNESP**, sob direção do Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé e vice direção da Prof^a. Dr^a. Ana Maria Pires Soubhia, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Aos **COORDENADORES DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Prof. Dra. Maria José Hitomi Nagata** e **Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior**.

Ao Prof. Dr. **Luiz Antonio Salata** por sua colaboração no processamento histológico.

A **Claudia Mizue Kanno** e Prof. Dr. **Roberta Okamoto** pela colaboração nas pesquisas experimentais.

A **Flávia Priscila Pereira** presença constante, amiga e colaboradora insubstituível nas fases experimentais e finais deste estudo.

Ao Prof. Dr. **Leandro de Carvalho Cardoso** por sua amizade e colaboração.

Aos amigos do curso de doutorado em Implantodontia: **Alessandro Scala, Enzo de Santis, Fabio Pantani, Gabriele Baffone** e **Marco Caneva** amigos com os quais compartilhei momentos inesquecíveis.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA BIBLIOTECA**: Cláudio, Fernando, Ivone, Junior, Izamar, Luzia, Cláudia e Maria Cláudia pela disponibilidade e carinho.

Ao **Gilmar**, por sua contribuição inestimável no processamento histológico.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA PÓS-GRADUAÇÃO**: Diogo, Marina e Valéria, pela paciência, disponibilidade, alegria e admirável interesse em nos ajudar sempre.

A **Cesare Bronzetti** por sua colaboração que nos permitiu a realização de nossas pesquisas experimentais em animais.

A todos os **colegas do mestrado e doutorado** do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP.

Aos **estagiários** do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP.

Ao veterinário **Murilo Rodrigues**, pelos serviços prestados.

Aos Prof(s). Dr(s).da Disciplina de Clínica Integrada da FOA-UNESP: **Wilson Roberto Poi, Sônia Regina Panzarini Barioni, Celso Koogi Sonoda, Daniela Atili Brandini, Denise Pedrini Ostini, José Carlos Monteiro de Castro** pela amizade, harmonia de trabalho compartilhando conhecimentos e filosofias.

Aos Prof(s). Dr(s).da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOA-UNESP: **Alessandra Marcondes Aranega, Michel Saad Neto, Osvaldo Magro Filho, Ana Paula Farnezi Bassi, Daniela Ponzoni.**

À funcionária **Cleide Lemes da Silva** pelo carinho e alegria.

Aos funcionários do Biotério: **Camilo, Odair e João.**

Ao **Carlos**, por sua cortesia e serviços prestados.

EPÍGRAFE

Epígrafe

Gli uomini non sanno apprezzare e misurare che la fortuna degli altri.

La propria, mai.

“Os homens só sabem apreciar e medir a fortuna dos outros.

A sua própria, nunca”

Indro Montanelli

RESUMO

Resumo

ROSSI, F. Regeneração óssea em defeitos circunferenciais criados cirurgicamente ao redor de implantes submersos. Estudo experimental em cães [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2011.

Objetivo: descrever o processo de reparo em defeitos marginais ao redor de implantes submersos 1mm abaixo ou acima da crista óssea. Estudo experimental em cães.

Material e Métodos: Em 12 cães labradores, todos os pré-molares inferiores e primeiros molares foram extraídos bilateralmente. Três meses após as extrações, foi realizada a incisão sobre o rebordo e o descolamento dos retalhos de espessura total do lado direito da mandíbula. Foram preparados dois sítios cirúrgicos para instalação de implantes, com a região marginal alargada em 5mm de diâmetro para obtenção de um gap de 0,5 mm na região mesial (defeito pequeno) e um gap de 1,25 mm na região distal (defeito grande). Os parafusos de cobertura foram colocados aos implantes e os retalhos suturados para permitir um processo de cicatrização totalmente submerso. Posteriormente, foram realizados os mesmos procedimentos experimentais no lado esquerdo da mandíbula. O momento da realização dessas cirurgias e as eutanásias foram planejados de forma a se obter biópsias com 5, 10, 20, 30 dias de pós-operatórios. Após a eutanásia, os cortes histológicos foram processados laboratorialmente para análise histomorfométrica.

Resultados: Aos 30 dias pós-operatório, os defeitos ósseos apresentaram-se parcialmente preenchidos por osso neoformado em todos os espécimes. A formação óssea ocorreu originando-se a partir da base do defeito e das paredes laterais. Um maior volume de osso neoformado foi observado nos defeitos grandes quando comparado aos pequenos. A maior parte de osso neoformado nos defeitos grandes formou-se entre o décimo e vigésimo dias de pós-operatórios. Entretanto, o contorno do osso neoformado localizou-se a uma distância similar da superfície do implante (aproximadamente 0,4 mm) em ambos os tipos de defeitos, no período de 30 dias. Nos defeitos grandes foi observado uma menor quantidade de osso neoformado em contato com o implante, originado da base dos defeitos (cerca de 0,8 mm), quando comparado aos defeitos pequenos (cerca de 2,2 mm).

Conclusão: nos defeitos marginais criados cirurgicamente ao redor de implantes submersos de titânio já se observou a neoformação óssea aos 20-30 dias pós-operatórios por meio de osteogênese à distância. No entanto, o preenchimento ósseo dos defeitos apresentou-se incompleto aos 30 dias pós-operatórios.

Palavras- chave: estudo animal, osso, reparo ósseo, defeitos, implante dentário, osseointegração, reparo submerso, histomorfometria.

ABSTRACT

Abstract

ROSSI, F. Bone healing pattern in surgically created circumferential defects around submerged implants: an experimental study in the dog. [Thesis]. Araçatuba: UNESP - São Paulo State University; 2011.

Objective: to describe the healing of marginal defects below or above one millimeter of dimension around submerged implants in a dog model.

Material and Methods: In 12 Labrador dogs, all mandibular premolars and first molars were extracted bilaterally. After 3 months of healing, full-thickness flaps were elevated in the edentulous region of the right side of the mandible. Two recipient sites were prepared and the marginal 5 mm were widened to such an extent to obtain, after implant installation, a marginal gap of 0.5 mm at the mesial site (small defect) and of 1.25 mm at the distal site (large defect). Titanium healing caps were affixed to the implants and the flaps were sutured allowing a fully-submerged healing. The experimental procedures were subsequently performed in the left side of the mandible. The timing of the experiments and sacrifices were planned in such a way to obtain biopsies representing the healing after 5, 10, 20, 30 days. Ground sections were prepared and histomorphometrically analyzed.

Results: The filling of the defect with newly formed bone was incomplete after one month of healing in all specimens. Bone formation occurred from the base and the lateral walls of the defects. A larger volume of new bone was formed in the large compared to the small defects. Most of the new bone at the large defect

was formed between the 10 and the 20-day period of healing. After one month of healing, the outline of the newly formed bone was, however, located at a similar distance from the implant surface (about 0.4 mm) at both defect types. Only minor newly formed bone in contact with the implant, starting from the base of the defects, was seen at the large defects (about 0.8 mm) while a larger amount was detected at the small defects (about 2.2 mm).

Conclusion: Marginal defects around titanium implants appeared to regenerate in 20-30 days by means of a distance osteogenesis. The bone fill of the defects was, however, incomplete after one months.

Key-Words: animal study, bone, bone healing, defect, implant dentistry, osseointegration, submerged healing, histomorphometry

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Vista clínica dos procedimentos experimentais.....	51
Figura 2: Diagrama mostrando os pontos de referência para avaliação histológica.....	52
Figura 3: Distância (em mm) entre a margem do implante (IS) e o contato osso-implante mais coronal (B) nos vários tempos de regeneração (em dias), nos defeitos grandes e pequenos.....	53
Figura 4a: Distância (em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito (W) em direção à superfície do implante(S) nos vários intervalos de regeneração (em dias) nos defeitos pequenos.....	54
Figura 4b. A distância (em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito (W) em direção à superfície do implante (S) nos vários intervalos de tempo(em dias) nos defeitos grandes.....	55
Figura 4c Valores médios da distância(em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito(W) para a superfície do implante (S) nos vários intervalos de tempo (em dias) nos defeitos pequenos e grandes.....	56
Figura 5. Área remanescente do defeito ocupada por tecido conjuntivo, nos diferentes tempos de regeneração, em defeitos pequenos e grandes.....	57
Figura 6a. Porcentagem de coágulo, tecido não mineralizado e mineralizado, nos limites do defeito original pequeno, nos vários tempos de regeneração.....	58

Figura 6b Porcentagem de coágulo, tecido não mineralizado e mineralizado, dentro dos limites do defeito original grande, nos vários tempos de regeneração	59
Figura 7. Regeneração do defeito pequeno aos 5 dias.....	60
Figura 8. Regeneração do defeito pequeno aos 10 dias.....	61
Figura 9. Regeneração do defeito pequeno aos 20 dias.....	62
Figura 10. Regeneração do defeitos pequeno aos 30 dias.....	63
Figura 11 Regeneração do defeito grande aos 5 dias.....	64
Figura 12. Regeneração do defeito grande aos 10 dias.....	65
Figura 13 Regeneração do defeito grande aos 20 dias.....	66
Figura 14 Regeneração do defeito grande aos 30 dias.....	67

LISTA DESIGLAS

IS - ombro do implante (IS)

B - contato osso-implante mais coronal

C - topo da crista óssea adjacente

PM - parte superior da mucosa peri-implantar

AJE - porção apical da barreira (epitélio) juncional

LISTA DE SÍMBOLOS

% – por cento

< - menor

≥ - maior ou igual

μm – micrômetro

g – grama

Kg – kilograma

mg- miligrama

mm - milímetros

mm – milímetros

mm² – milímetros quadrados

P4 – 4º pré-molar

α - alfa

SUMÁRIO

Resumo	14
Abstract	17
1. Introdução	25
2. Material e métodos	30
3. Resultados	35
4. Discussão	40
5. Conclusão	45
6. Referências	47
7. Figuras	50
8. Anexos	67

INTRODUÇÃO

Introdução

Na literatura já foram relatados diferentes padrões de reparo que ocorrem a partir do contato osso-implante, como a osteogênese à distância e a osteogênese de contato. Estes são dois dos mecanismos propostos de neoformação óssea sobre a superfície do implante (Davies 1998). A osteogênese à distância foi definida como a formação óssea pela aproximação do osso pré-existente à superfície do implante, enquanto a osteogênese de contato é a neoformação óssea diretamente sobre a superfície do implante (Davies 1998).

Estudos experimentais em cães (Botticelli et al. 2003a, b) descreveram o reparo de defeitos marginais de 1 à 1,25 mm de largura ao redor de implantes após 1, 2 e 4 meses. Nesses experimentos, o preenchimento ósseo dos defeitos originou-se a partir da base e das paredes laterais dos defeitos, ou seja, ocorreu a osteogênese à distância. A neoformação óssea em contato direto com a superfície do implante também se iniciou a partir da base do defeito, e após 1, 2 e 4 meses, foi observado cerca de 2 mm, 3 mm e 4 mm de osso "anexo" à superfície do implante respectivamente. Isto significa que a osteogênese à distância foi o mecanismo de formação óssea predominante nestes estudos. Este padrão de reparo foi posteriormente confirmado em estudos semelhantes com animais (Abrahamsson et al. 2008, Lai et al. 2009).

Estudos avaliando a regeneração em cães propuseram a noção de que a configuração de superfície do implante poderia desempenhar um papel significativo, tanto no aumento da superfície disponível para a osseointegração, quanto facilitando a

adesão do coágulo à superfície (Davies 1998, Schwarz et al. 2008). Isto pode explicar a superioridade das superfícies ásperas e / ou quimicamente modificados para a osseointegração, quando comparados diferentes tipos des superfícies (Buser et al. 1991, 2004, Abrahamsson et al. 2004, Botticelli et al . 2004, Berglundh et al. 2007).

A formação óssea em defeitos foi previamente estudado em coelhos (Schenk & Willenegger 1977), em que foram descritas diferentes modalidades de osteogênese espontânea. Defeitos de até 0,2 mm de dimensão foram regenerados pela formação de osteon primário, e gaps com dimensão acima de 0,2 mm, a regeneração ocorreu pela formação de uma ponte de osso esponjoso de até 1,0 mm , no entanto isso não foi observado em “gaps” de 1,0 mm (Schenk, 1994).

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste experimento foi descrever em cães, as etapas iniciais da regeneração de defeitos marginais localizados a 1 mm abaixo ou acima da crista óssea ao redor de implantes submersos.

MATERIAL E

MÉTODO

Material e Método

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, São Paulo, Brasil.

Procedimentos clínicos

Para este estudo foram utilizados doze cães Labrador (cada um com peso aproximado de 25 a 28 kg e com idade média de 2 anos). Durante os procedimentos cirúrgicos, os animais foram pré-anestesiados com Acepran (0,05 mg / Kg Univet-Vetnil, São Paulo, Brasil), sedado com Zoletil 10 mg / Kg (Virbac, EUA) e Xilazina (1 mg / Kg Cristália, São Paulo, Brasil), complementada com ketamina, ($\frac{1}{4}$ da dose de 10 mg / Kg, Cristália, São Paulo, Brasil). Durante toda a cirurgia, os animais foram mantidos com perfusão intravenosa de soro.

A primeira etapa cirúrgica, realizada nos animais consistiu na exodontia de todos pré-molares e primeiros molares inferiores bilateralmente. Três meses após as extrações, quando a área se apresentava regenerada, foi realizada uma incisão sobre a crista óssea, na região da mandíbula onde havia sido feita as exodontias anteriormente. Descolou-se um retalho de espessura total e foram criados seis sítios experimentais para a instalação de implantes no rebordo alveolar. O preparo do sítio cirúrgico foi realizado de acordo com o manual do sistema de implantes (Suedew & Martina, Carrare Due, Padova, Itália). Foram usadas a sequência adequada de fresas para a instalação de implantes de 10 mm de comprimento e 3,3 mm de diâmetro (Premium™, Suedew e Martina). Posteriormente, utilizou-se uma fresa específica para

alargar a região cervical (marginal): nos dois implantes localizados no centro da área desdentada o alargamento foi de 4,3 mm e 5 mm (defeitos pequenos), os localizados distalmente apresentaram 5,8 mm (defeitos grandes). Na etapa seguinte, os implantes foram instalados, seguindo a margem da crista alveolar vestibular e protegidos por parafusos de cobertura. Após a instalação, pode-se observar um “gap” marginal que ocorreu ao redor dos implantes (defeitos pequenos = 0,5 mm; defeitos grandes 1,25 milímetros;. Fig. 1). Os retalhos foram reposicionados e suturados para permitir a cicatrização totalmente submersa.

Os procedimentos experimentais foram realizados, no lado esquerdo da mandíbula em todos os cães. O momento das etapas cirúrgicas e os sacrifícios foram planejadas de forma a obter biópsias representando a regeneração aos 5, 10, 20 e 30 dias.

Após as cirurgias, os animais foram medicados com Ketoflex® 1% (0,02 ml / Kg, Cetoprofeno, Biofarm Química e Farmacêutica Ltda, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e Pentabiotico® (Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, Brasil). Os animais foram mantidos em canis localizados no biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, com livre acesso à água e ração canina equilibrada e umedecida. Foram realizadas a inspeção diária das feridas com o intuito de observar possíveis sinais clínicos de complicação pós-operatória. Nos tempos planejados, os animais foram eutanasiados com overdose de Tiopental® (CristáliaLtd., Campinas, Brasil).

Processamento histológico

Foram removidas os blocos ósseos da mandíbula, contendo os implantes individualizados, juntamente com os tecidos moles e duros circundantes e fixados em solução de formaldeído a 4%. Foram obtidas uma amostra de cada grupo da mandíbula (controle, defeito grande e pequeno) para obtenção de cortes incluídos em resina (3 amostras) e em parafina (3 amostras). Este estudo descreveu os resultados apenas dos cortes incluídos em resina, e os demais resultados histológicos foram apresentados em outros trabalhos.

Os blocos ósseos selecionados para este experimento foram desidratadas em uma série crescente de soluções de etanol, e, finalmente, incluídos em resina (LR Branca ® série difícil, London Resin Company Ltd, Berkshire, Reino Unido). Os blocos foram cortados no sentido vestibulo-lingual seguindo o longo eixo dos implantes, utilizando-se uma serra de diamante montado em uma máquina de corte de precisão (Microslice 2™, Ultratec, Santa Ana, CA, EUA). A secção central obtida foi polida e reduzida até 30 µm. As lâminas histológicas foram coradas com Azul de Stevenel e vermelho de alizarina e examinada sob um microscópio de luz óptica para análise histológica.

Análise histológica

Com auxílio de um microscópio de luz padrão Nikon Eclipse 50i (Nikon Corporation, Tokio, Japão) com objetiva de 100x, e conectado a uma câmera fotográfica digital (Digital Sight DS-2Mv, Nikon) e a um computador, as seguintes

marcações foram identificadas (Fig.2): ombro do implante cilíndrico (IS), contato osso-implante na região mais coronal do implante (B), topo da crista óssea adjacente (C), superfície do implante (S), o contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito (W). O defeito remanescente foi definido como a área incluída dentro de C, B, S e W. As seguintes medidas foram realizadas: (i) a distância linear entre IS e B no longo eixo dos implantes (IS-B), (ii) a distância entre o contorno do osso neoformado e a superfície do implante (WAS); (iii) a área do defeito remanescente (Área).WS (Fig. 2b), expressando-se como três medidas (W-S1, S2 W-, W-S3), que foram obtidas da divisão do comprimento da superfície dos implantes dentro do defeito remanescentes em três partes, medida esta distância no centro de cada uma das três zonas (W-S1 = coronal; W-S2 = meio; W-S3 = apical). O valor médio dessas três medidas foi também calculado (W-Sm).A porcentagem de osso mineralizado, dentro dos limites dos defeitos original também foi determinada, através de uma grade que foi sobreposta à área do tecido.

Análise estatística

Os valores das médias e desvios-padrão (SD) foram calculados para cada variável estudada. As variáveis primárias deste estudo foram MB, W-Sm, e a área. Foram analisadas as diferenças entre os defeitos pequenos e grandes, bem como entre os períodos de cicatrização, usando o teste t de Student para observações pareadas com nível de significância fixado em 0,05.

RESULTADOS

Resultados

Todos os implantes apresentaram-se integrados ao osso. Durante o processamento histológico, as lâminas não apresentaram falhas de artefatos que impossibilitassem a inclusão na amostra, logo, todos os intervalos de regeneração apresentaram um $n = 6$.

Avaliação histológica

Após um mês de regeneração, os defeitos marginais aparentaram-se preenchidos predominantemente por osso neoformado. No entanto, o osso neoformado "aderido" à superfície do implante, apresentou-se restrito a porção basal do implante. A Fig. 3 relata a distância entre a margem do implante (IS) e contato osso-implante mais coronal (B) em intervalos diferentes de análise. As Figs. 4a, b ilustram a distância do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito até superfície do implante (WAS). A Fig. 5 descreve a área remanescente ocupada por tecido conjuntivo e as Figs. 6a, b relatam a porcentagem de coágulo, tecido não mineralizado e mineralizado, no interior dos defeitos original.

Pequenos defeitos

Aos 5 dias de regeneração (Fig. 7a, b), os defeitos ainda não apresentavam sinais de osso neoformado. O valor médio das três medidas de 1,2,3 foi de $0,53 \pm 0,03$. Nesta fase ainda estavam presentes em alta porcentagem (41%; Fig 6a) resíduos coágulo. O tecido conjuntivo apresentava células inflamatórias e vasos sanguíneos esparsos.

Aos 10 dias de regeneração (Fig. 8a, b), não foram observados restos de coágulo. Foram evidenciadas "ilhas" de osso esponjoso formadas na parede dos defeitos em

direção à superfície do implante, preenchendo a área entre as paredes ósseas e a superfície do implante. O valor médio das três medidas 1,2 e 3 foi de $0,50 \pm 0,08$. Nenhum osso neoformado foi encontrada "aderido" à superfície do implante no interior do defeito. A porcentagem de tecido mineralizado no interior da área do defeito foi de cerca de 18% (Fig. 6a).

Aos 20 dias (Fig. 9a, b), foi observada uma quantidade relativamente alta de osso neoformado estendendo-se em direção à superfície do implante, em comparação a pequena dimensão do defeito, que foi adicionado ao volume das espécimes aos 10 dias. A aposição óssea durante este intervalo de análise também foi ilustrada pelo gráfico da figura 4 a, demonstrado pela área reduzida do defeito remanescente (Fig. 5). Foi visualizado osso neoformado "aderido" à superfície do implante, mas só na base do defeito (distância osteogênese: 0,6 mm; Fig. 3). A porcentagem de tecido mineralizado na área de defeito neste período foi de aproximadamente 27% (Fig.6a).

No intervalo de 30 dias (Fig. 10a, b), nas porções média e coronal dos defeitos, houve pouca aposição óssea ao contorno do osso recém-formado na parede lateral. Na base dos defeitos, no entanto, foi observada a formação de maior quantidade de osso, refletindo um ganho total de 2,2 mm de osso de suporte "aderido" ao implante (Fig. 3). As áreas remanescentes do defeito apresentaram-se diminuídas (decrécimo).

Grandes defeitos

Aos 5 dias de regeneração (Fig. 11a, b), também não foi observada a presença de nenhum osso neoformado. Uma grande porcentagem de matriz provisória (cerca de 68%;. Fig. 6b) interposta por uma rede de fibrina e alguns vasos estavam presentes. Foram encontrados uma alta porcentagem de resíduos de coágulo (cerca de 32%;. Fig. 6b).

Aos 10 dias de regeneração (Fig. 12a, b), não foram evidenciados remanescentes de coágulo. Foi visualizado, apenas pouco osso neoformado, originando-se das paredes do defeito e proliferando-se em direção à superfície do implante, ocupando uma parte da área entre as paredes originais do defeito e os implantes. Em alguns espécimes, o osso neoformado foi encontrada "aderido" ao implante na porção mais apical do defeito. A porcentagem de tecido mineralizado no interior da área do defeito ainda era limitada em volume (cerca de 19%;. Fig. 6b).

Aos 20 dias (Fig. 13a, b), o contorno do osso recém-formado originário das paredes do defeito (avaliada em W-S1, 2,3) resultou em um ganho adicional de aumento linear de 0,60-0,70 mm (cerca de metade de todo o defeito original), comparando-se com o intervalo anterior de avaliação da regeneração aos 10 dias (Fig. 4b). A aposição de osso neoformado atingiu uma distância média da superfície do implante (W-Sm;. Fig. 4c) similar a do defeito pequeno ($0,39 \pm 0,12$ e $0,39 \text{ mm} \pm 0,06$, respectivamente.). A área do defeito remanescente também correspondeu a esse valor, passando de $4,55 \text{ mm}^2$ aos 10 dias a $2,06 \text{ mm}^2$ aos 20 dias de regeneração (Fig. 5). Apesar deste rápido crescimento do tecido duro em direção à superfície do implante, foram observadas quantidades mínimas de osseointegração, sempre localizadas na base do defeito

original e em continuidade com o osso recém-formado proliferando-se das paredes dos defeitos originais (Fig. 3). A mineralização do tecido foi de 26% neste período de regeneração (Fig. 6b).

No tempo de 30 dias (Fig. 14a, b), houve pouca proliferação de osso neoformado em direção à superfície do implante, calculando-se uma distância residual (W-Sm). A área de defeito residual apresentou-se ligeiramente inferior aos observado no período de regeneração anterior (20 dias). Cerca de 0,5 mm de ganho adicional de osso "aderido" à superfície do implante foi encontrado na base dos defeitos original. O tecido não mineralizado ocupou uma grande parte dos defeitos originais (71,4%;. Fig. 6b).

DISCUSSÃO

Discussão

O presente experimento foi realizado para estudar as fases iniciais de regeneração em defeitos marginais cirurgicamente criados ao redor dos implantes. O preenchimento do defeito com osso neoformado apresentou-se incompleto após um mês de regeneração em todos os espécimes. A formação óssea ocorreu a partir da base e das paredes laterais dos defeitos. Um maior volume de osso neoformado foi observado nos defeitos grandes do que nos pequenos. No entanto, o contorno do osso recém-formado, estava localizado a uma distância semelhante da superfície do implante em ambos os tipos de defeitos, indicando uma proliferação óssea mais acentuada nos defeitos grandes dentro do mesmo intervalo de tempo. Isto significa que os tecidos moles residuais dos defeitos influenciaram a taxa de proliferação na regeneração óssea. Além disso, pode-se sugerir que os tecidos moles originários da região de submucosa adjacente à entrada do defeito podem ter proliferado para a abertura artificial criada.

Os resultados do presente experimento estão de acordo com outros estudos em animais (Botticelli et al. 2003a). Em quatro cães, foi estudada a regeneração em vários intervalos de tempo, com defeitos marginais de 5 mm de profundidade e 1,25 mm ao redor dos implantes de titânio, avaliou-se a formação óssea originada da base e das paredes laterais dos defeitos. A altura do osso neoformado em contato com a superfície do implante no interior do defeito foi de aproximadamente 2 mm e 3 mm após 1 e 2 meses, respectivamente. De forma semelhante ao presente estudo, diferentes tamanhos de defeitos de 0,5 mm e 1,25 mm, nenhum dos defeitos apresentou-se preenchido completamente por osso neoformado, embora neste estudo

(Botticelli et al. 2003a) os defeitos tenham sido cobertos por membranas reabsorvíveis para limitar a possibilidade de proliferação dos tecidos moles da área submucosa marginal. No presente estudo, a quantidade de osso neoformado em contato com a superfície do implante no interior do defeito foi mínima durante os primeiros 20 dias de cicatrização. Após um mês, observou-se cerca de 2,2 mm e 0,8 mm nos defeitos pequenos e grandes, respectivamente, sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). O padrão e a seqüência de regeneração relatada no presente estudo estão de acordo com de outros estudos em animais, em caso de defeitos marginais em torno dos implantes, com períodos de análise semelhantes (Abrahamsson et al. 2008, Lai et al. 2009).

Em outro estudo (Abrahamsson et al. 2008), em seis cães foram confeccionados defeitos marginais de 1mm e 4 mm de profundidade ao redor de implantes com superfícies rugosas TiOblast[®] ou OsseoSpeed[®] (Astra Tech Dental[®], Astra Tech AB, Mölndal, Suécia). O osso neoformado "aderido" à superfície TiOblast[®] foi de cerca de 0,5 e 1,2 mm da base do implante após 2 e 6 semanas, respectivamente, enquanto que para a superfície OsseoSpeed[®], os valores correspondentes foram de cerca de 0,6 e 1,6 mm, respectivamente. Da mesma forma, os dados de outro estudo (Lai et al. 2009) corroboram com os resultados obtidos neste experimento. Foi avaliada a regeneração de defeitos marginais grandes de 0,5 mm ou 1,0 milímetros e 5,0 mm de profundidade ao redor dos implantes. Foram usadas duas superfícies diferentes de implantes para estudar aposição óssea: SLA (jateada, de grande ancoragem e ataque ácido) e um SLA quimicamente modificado (SLActive[®], Straumann[®] Dental Implant System, Institut Straumann AG, Basel, Suíça). O osso neoformado "aderido" à

superfície do implante SLA no interior do defeito foi de 0 mm e 1,5 mm nos pequenos e 0 e 1,0 mm nos grandes defeitos, após 2 e 4 semanas de regeneração, respectivamente. Os dados correspondentes a superfícies SLActive® foram de 2,0 e 3,0 mm nos pequenos e 1,5 mm e 2,5 nos grandes defeitos, respectivamente.

A importância das configurações de superfície para a osseointegração já foi descrita na regeneração de defeitos marginais ao redor de implantes (Botticelli et al. 2005). Por exemplo, foram testados implantes (Straumann® Dental Implant System, Institut Straumann AG, Basel, Suíça) com 2 configurações de superfície diferentes, uma moderadamente áspera (SLA) e outra modificada (teste). A deposição de osso neoformado no interior do defeito após 4 meses de regeneração foi de 4,2 mm no SLA e de 1,6 mm na superfície modificada (teste), respectivamente.

Aos 10 dias de regeneração, o contorno do osso recém-formado na parede lateral do defeito e a distância à superfície do implante já era evidente. Após um mês, essa distância foi semelhante à relatada anteriormente para grandes defeitos (Botticelli et al, 2003a).

Os resultados do presente estudo parecem estar em desacordo com estudos em animais, quando da aplicação de um modelo de câmara que favorece a osseointegração precoce (Berglundh et al.2003, Abrahamssonetal.2004, Buseretal.2004). Nestes estudos, foi observado após uma semana uma camada de tecido ósseo em contato com a superfície do implante no interior das câmaras.Isto pode ser interpretado como o fenômeno de osteogênese de contato (Davies1998). Após duas semanas de regeneração, esta camada apresentou-se completamente

mineralizada. Vele ressaltar que o modelo de câmara ofereceu um espaço totalmente isolado parao coágulo sanguineo posteriormente possibilitar o desenvolvimento da matriz primária. Além disso, o fenômeno da osteogênese de contato só foi observado adjacente a superfícies “osteofílica” (isto é, moderadamente áspera). Além disso, a câmara ofereceu um espaço com coágulos menores do que o apresentado no presente experimento.

Agradecimentos

Este estudo recebeu auxílio financeiro da Suedew& Martina SRL, DueCarrare, Padova, Itália e da ARDEC, Odontológica Ariminum SRL, Rimini, Italia.

Ao Prof Dr. Luiz AntonioSalata e Sebastião Bianco (Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil) pelo processamento histológico.

Os autores declaram que não há conflito de interesses referentes aos materiais utilizados neste estudo.

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

Os defeitos marginais ao redor de implantes de titânio aos 20-30 dias, já se apresentaram regenerado. No entanto, este preenchimento ósseo apresentou-se incompleto nos períodos finais de observação. O tecido ósseo neoformado iniciou a proliferação a partir das paredes laterais e da base dos defeitos, com a maior proliferação observada entre 10 e 20 dias nos defeitos grandes. A diferença residual de cerca de 0,4 milímetros preenchido com tecido conjuntivo denso de origem indeterminada permaneceu após um mês, o que sugere que estes defeitos marginais regeneraram-se por osteogênese à distância.

REFERÊNCIAS

Referências

Abrahamsson, I., Berglundh, T., Linder, E., Lang, N.P. &Lindhe, J. (2004) Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implant Research***15**: 381–392

Abrahamsson, I., Albouy, J.-P. &Berglundh, T. (2008) Healing at fluoride-modified implants placed in wide marginal defects: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implant Research* **19**: 153–159.

Berglundh, T., Abrahamsson, I., Albouy, J.-P. &Lindhe, J. (2007) Bone healing at implants with a fluoride-modified surface: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implant Research***18**: 147–152.

Berglundh, T., Abrahamsson, I., Lang, N.P. &Lindhe, J. (2003) De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. A model study in the dog. *Clinical Oral Implants Research***14**: 251–262.

Botticelli, D., Berglundh, T., &Lindhe, J. (2005) Bone regeneration at implants with turned or rough surface in combination with submerged and non-submerged protocols. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 448-455.

Botticelli, D., Berglundh, T., &Lindhe, J. (2004) Hard tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology***31**: 820-828.

*Segundo as normas do periódico “*Clinical Oral Implants Research*” (Anexo B)

Botticelli, D., Berglundh, T., Buser, D. & Lindhe, J. (2003a) Appositional bone formation in marginal defects at implants. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implant Research***14**: 1-9.

Botticelli, D., Berglundh, T., Buser, D. & Lindhe, J. (2003b) The jumping distance revisited. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implant Research***14**: 35-42.

Buser, D., Brogini, N., Wieland, M., Schenk, R.K., Denzer A.J., Cochran, D.L., Hoffmann, B., Lussi, A. & Steinemann S.G. (2004) Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *Journal of Dental Research***83**: 529-533.

Buser, D., Schenk, R.K., Steinemann, S., Fiorellini, J.P., Fox, C.H. & Stich H. (1991) Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of Biomedical Materials Research***25**:889-902.

Davies, J.E. (1998) Mechanisms integration. *International Prosthodontics***11**: 391–401.

Lai HC, Zhuang LF, Zhang ZY, Wieland M, Liu X. (2009) Bone apposition around two different sandblasted, large-grit and acid-etched implant surfaces at sites with coronal circumferential defects: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implant Research***20**:247-253.

Schenk, R.K. (1994) Bone regeneration: biologic basis. In: Buser, D., Dahlin, C., Schenk, R.K., Eds. Guided bone regeneration in implant dentistry, Chapter 3, 49–100. Chicago: Quintessence Publishing Co., Inc.

Schenk & Willenegger (1977) Zur Histologie der primären Knochenheilung. Modifikationen und Grenzen der Spaltheilung in Abhängigkeit von der Defektgrösse. Unfallheilkunde 80: 155-160.

Schwarz, F., Sager, M., Ferrari, D., Herten, M., Wieland, M. & Becker, J. (2008) Bone regeneration in dehiscence-type defects at non-submerged and submerged chemically modified (SLActive) and conventional SLA titanium implants: an immunohistochemical study in dogs *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 64–75.

Figuras

Fig.1: Vista clínica dos procedimentos experimentais. Defeito pequeno e grande. Após a instalação, uma lacuna ("gap") marginal circunferencial foi criada ao redor dos implantes.

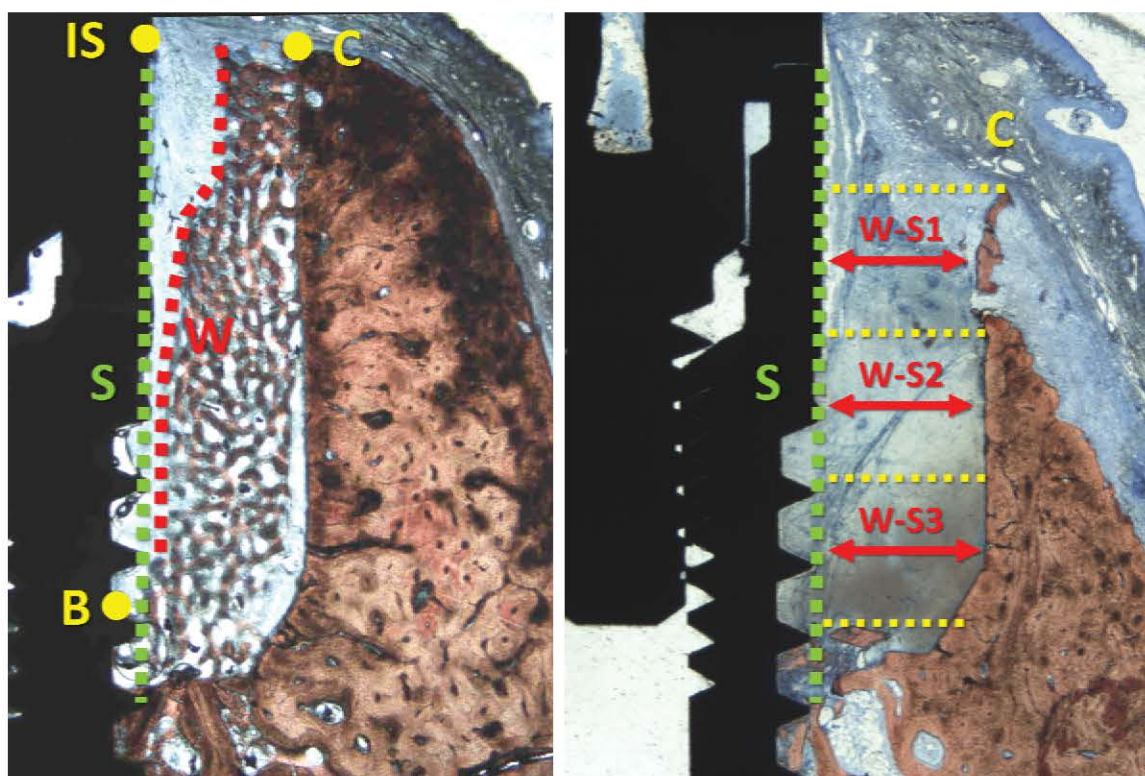


Fig.2. Diagrama mostrando os pontos de referência para avaliação histológica.

IS - ombro do implante; B- localização do contato osso-implante mais coronal; C- topo da crista alveolar; S - superfície do implante (linha pontilhada verde); W - contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito (linha pontilhada vermelha).(b) WS - é expresso como três medidas (W-S1, S2W-, W-S3), obtido pela divisão do comprimento da superfície dos implantes no interior do defeito remanescente em três partes iguais(linhas amarelo pontilhadas) média da distância no centro de cada uma das três zonas (W-S1 = coronal;W-S2 = meio; W-S3 = apical; setas vermelhas).

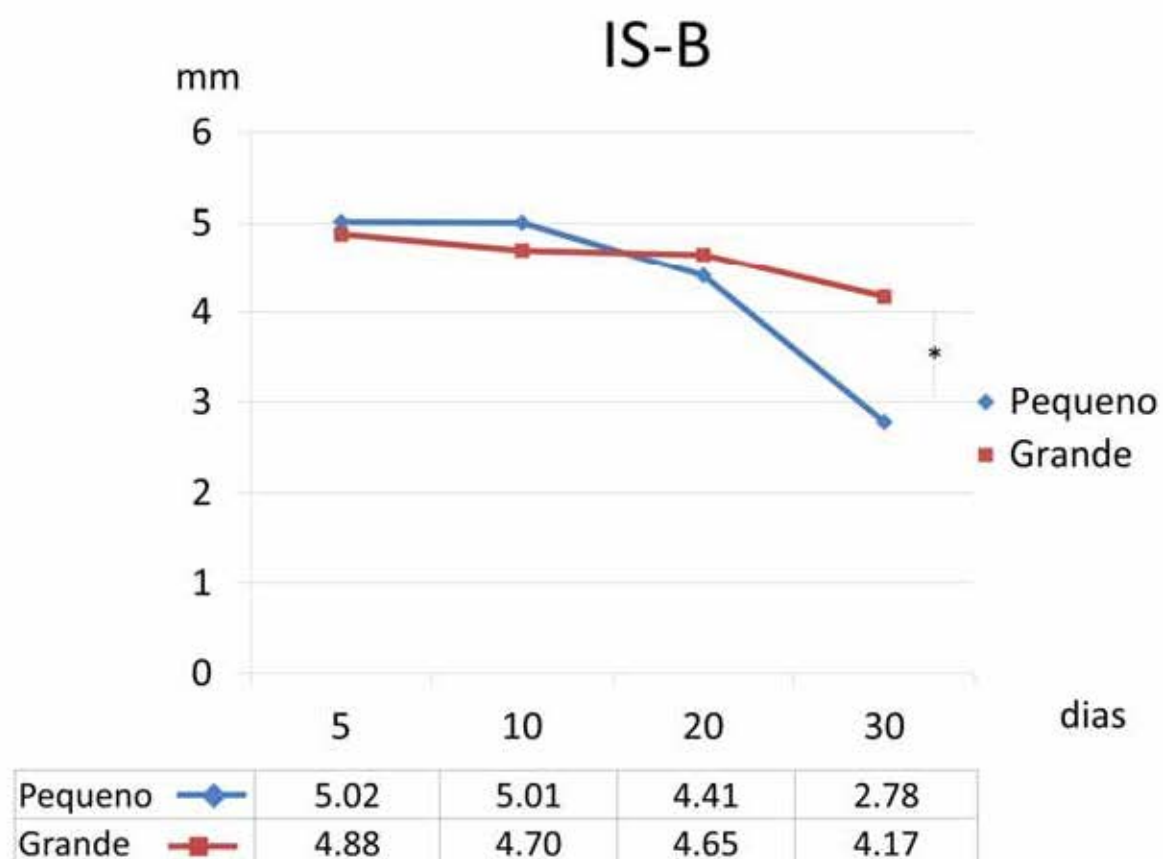


Fig. 3. Distância (em mm) entre a margem do implante (IS) e o contato osso-implante mais coronal (B) nos vários tempos de regeneração (em dias), nos defeitos grandes e pequenos. * $p < 0.05$.

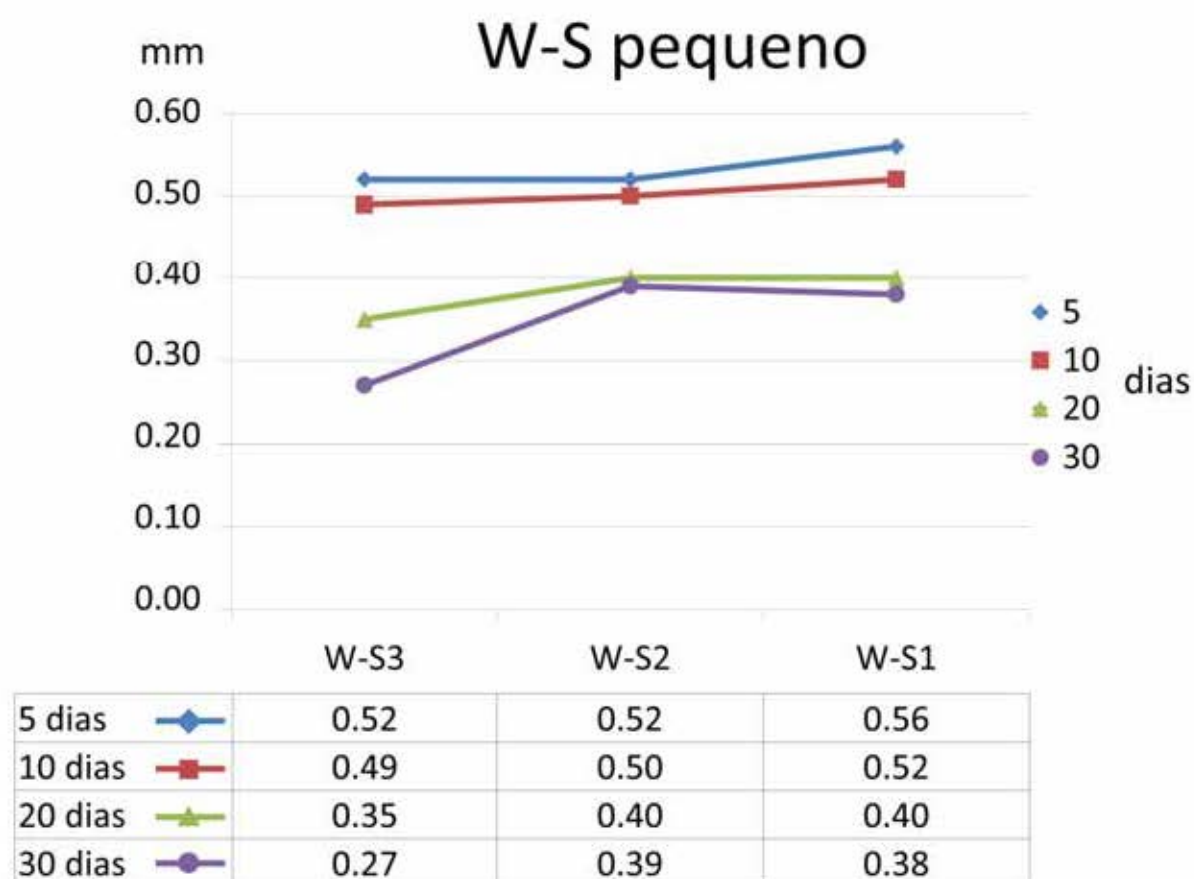


Fig.4a. Distância (em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito(W) em direção à superfície do implante(S) nos vários intervalos de regeneração (em dias) nos defeitos pequenos. As medidas foram realizadas em três diferentes níveis (W-S1, S2W-, W-S3).

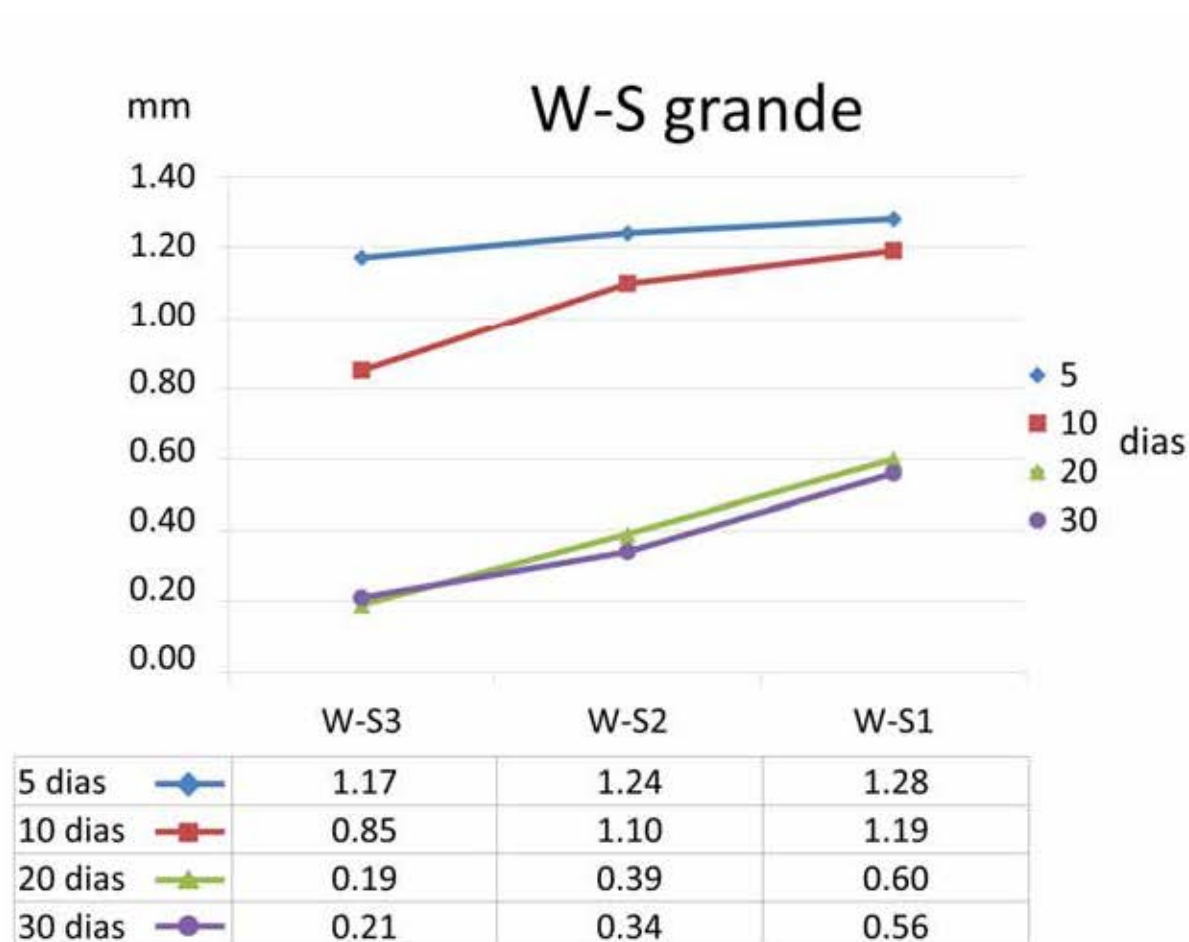


Fig.4b. A distância (em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito (W) em direção à superfície do implante (S) nos vários intervalos de tempo(em dias) nos defeitos grandes. As medidas foram realizadas em três diferentes níveis (W-S1, S2W-, W-S3).

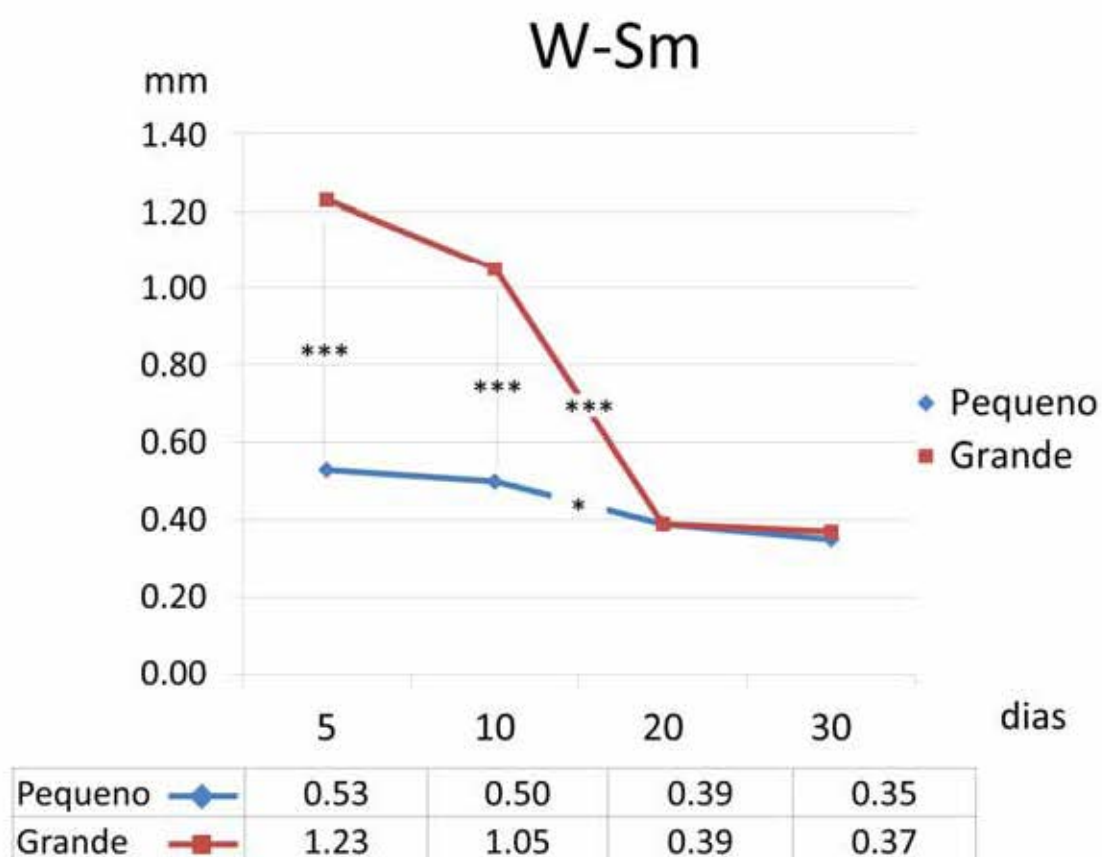
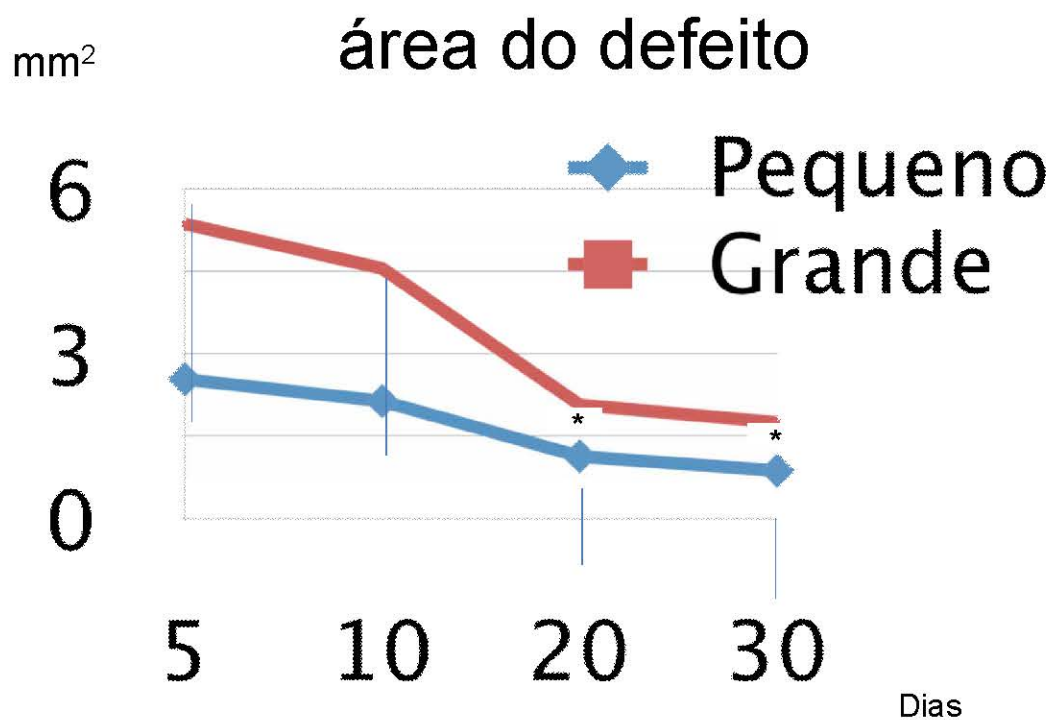


Fig.4c Valores médios da distância(em mm) do contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito(W) para a superfície do implante (S) nos vários intervalos de tempo (em dias) nos defeitos pequenos e grandes. Os dados relatados representam as médias das mensurações realizadas em três níveis diferentes do defeito remanescente (W-S1, S2 e W-W-S3). * $P < 0,05$; *** $p < 0,001$.





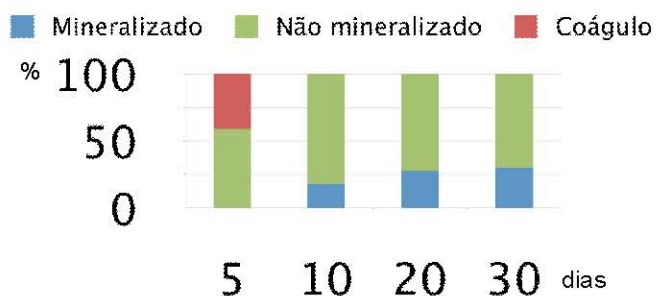
Pequeno		2.53	2.13	1.13	0.87
Grande		5.36	4.55	2.06	1.74

Fig.5. Área remanescente do defeito ocupada por tecido conjuntivo, nos diferentes tempos de regeneração, em defeitos pequenos e grandes. A formação óssea reduzida na base dos defeitos grandes em relação aos pequenos (ver fig.3), pode explicar a diferença dos valores de área entre os dois grupos nos dois últimos períodos.* P<0,05.

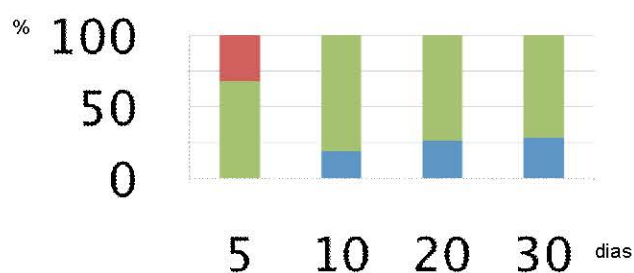
composição do defeito pequeno



Coágulo	■	41.3	0.0	0.0	0.0
Não mineralizado	■	58.7	82.3	72.9	69.9
Mineralizado	■	0.0	17.7	27.1	30.1

Fig.6a. Porcentagem de coágulo, tecido não mineralizado e mineralizado, nos limites do defeito original pequeno, nos vários tempos de regeneração.

composição do defeito grande



Coágulo	■	32.4	0.0	0.0	0.0
Não mineralizado	■	67.6	80.9	74.0	71.4
Mineralizado	■	0.0	19.1	26.0	28.6

Fig.6b Porcentagem de coágulo, tecido não mineralizado e mineralizado, dentro dos limites do defeito original grande, nos vários tempos de regeneração.

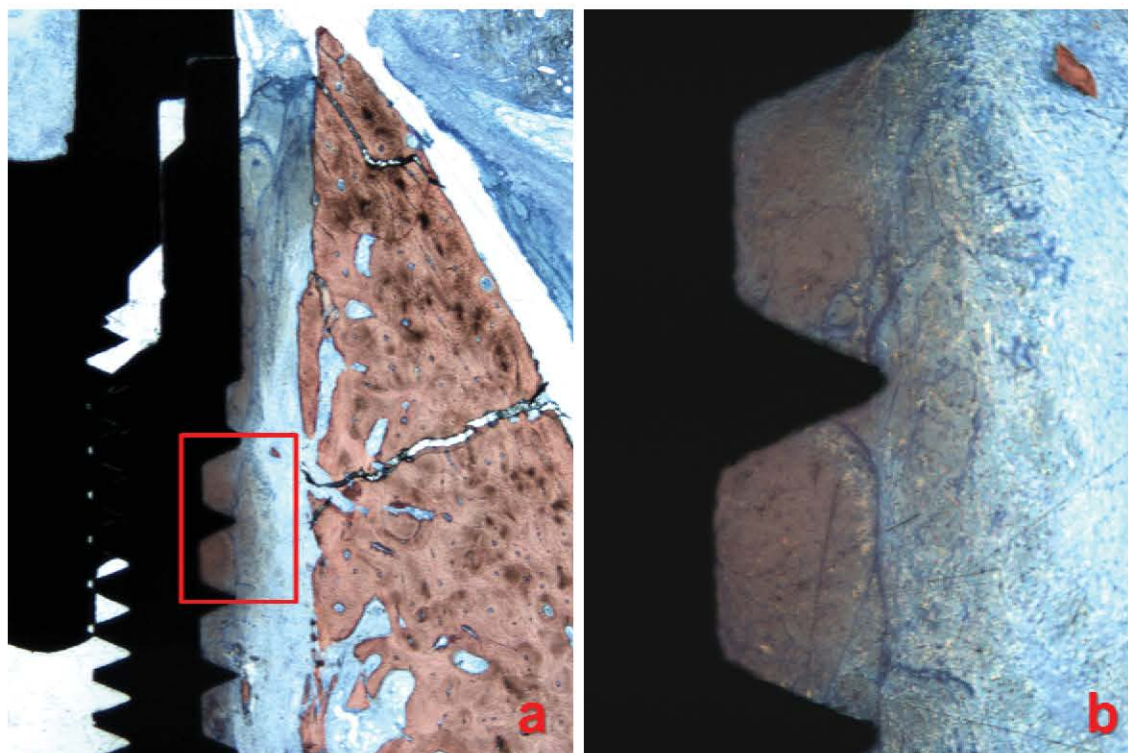


Fig. 7. Regeneração do defeito pequeno aos 5 dias. (a) Nenhum osso neoformado foi encontrado nesta fase. Tecido conjuntivo e resíduos de coágulo preenchem o defeito. Ampliação original 20X. (b) Maior aumento (original 100X) da área enquadrada no (a) que mostra grande quantidade de resíduos de coágulo. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

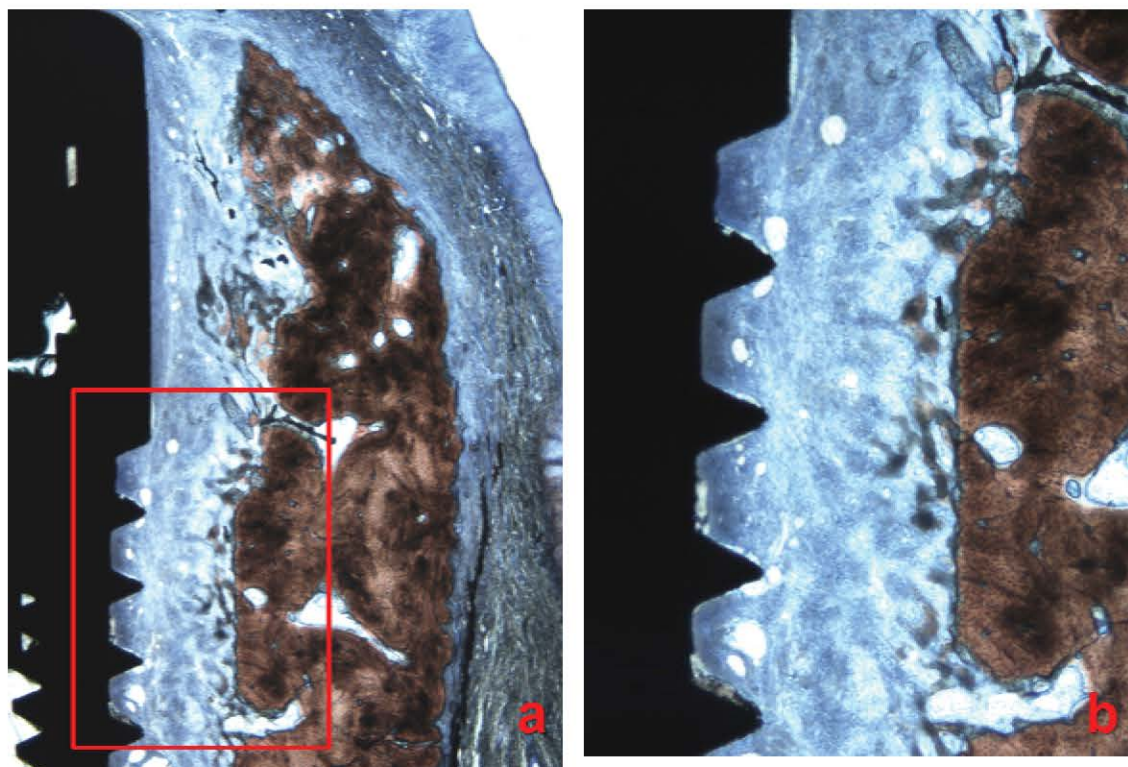


Fig.8. Regeneração do defeito pequeno aos 10 dias. (a) Formação de osso esponjoso da parede do defeito em direção à superfície do implante. Ampliação original 20X. (b) Maior aumento (original 40X) da área enquadrada no(a) mostrando detalhes do tecido ósseo formado. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

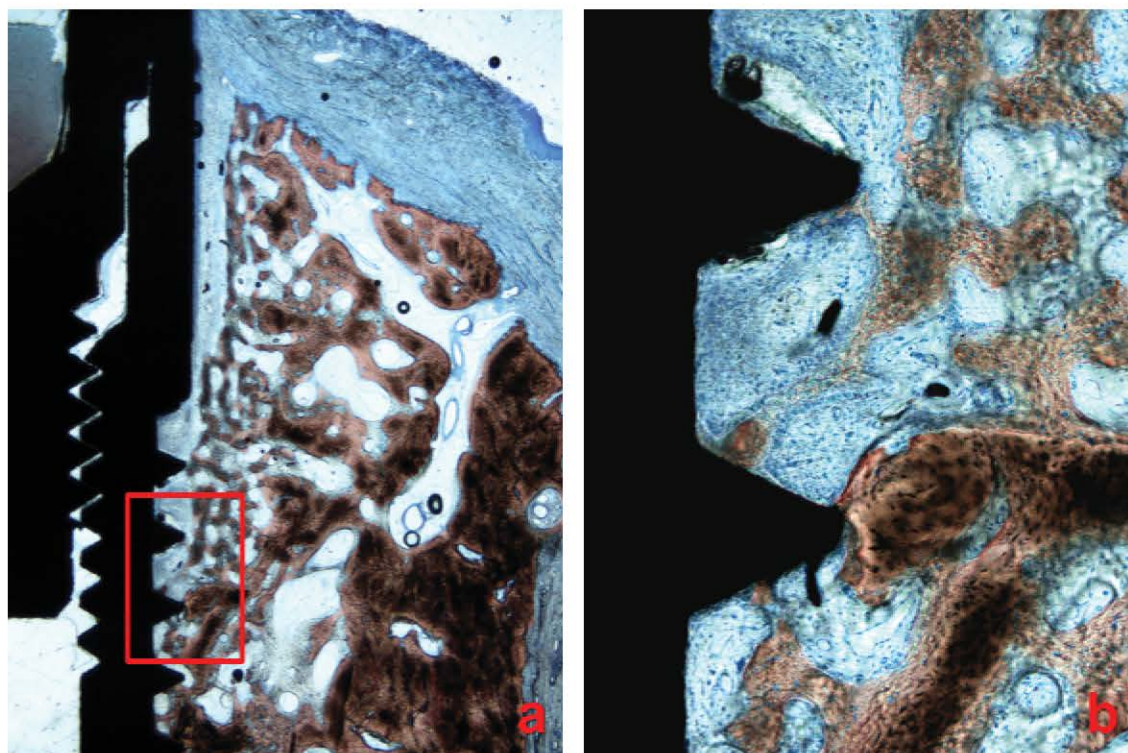


Fig. 9. Regeneração do defeito pequeno aos 20 dias. (a) quantidade relativamente alta de osso neoformado estendendo-se em direção à superfície do implante que foi adicionado ao volume ósseo dos espécimes aos 10 dias. Ampliação original 20 X. (b) Maior aumento (original 100X) da área enquadrada no (a) mostrando detalhes de osso novo "aderido" à superfície do implante na base do defeito (osteogênese a distância). Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

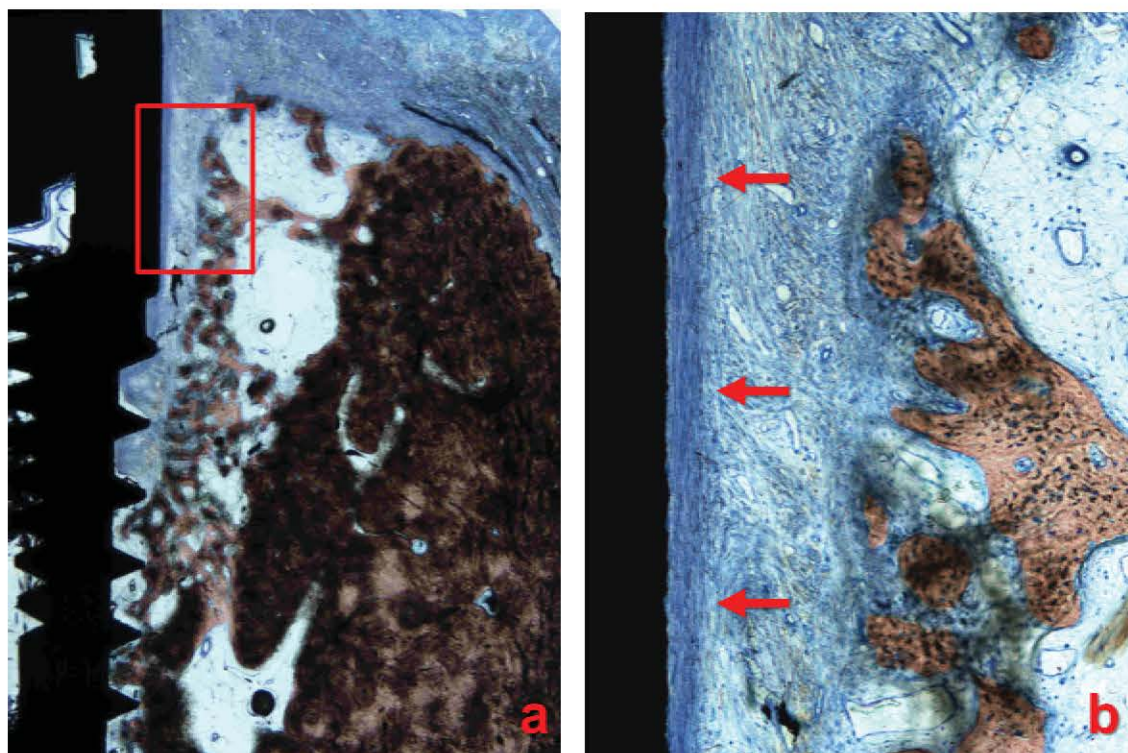


Fig. 10. Regeneração do defeitos pequeno aos 30 dias. (a) aposição de pouco osso ao novo contorno do osso neoformado na parede lateral do defeito nas porções média e coronal dos defeitos. Na base dos defeitos, no entanto, houve a formação de mais osso refletindo um ganho de osso "aderido". Ampliação original 20 X. (b) Maior aumento (original 100X) da área enquadrada no (a) detalhes do tecido conjuntivo presente nos remanescentes do defeito. A camada mais densa de tecido conjuntivo, contendo fibras paralelas e aderidas à superfície do implante, esta indicada (setas vermelhas). Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

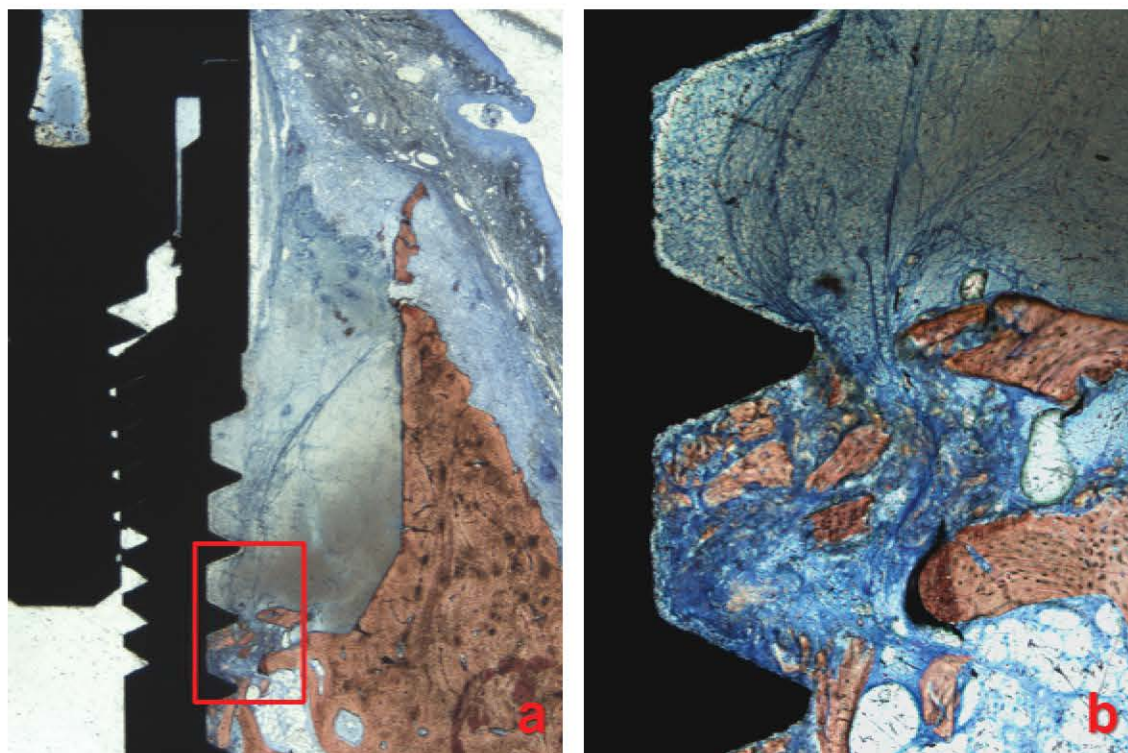


Fig.11 Regeneração do defeito grande aos 5dias. (a) Nenhum osso neoformado foi encontra do nesta fase.Tecido conjuntivo e resíduos de coágulo preenchendo o defeito. Ampliação original 20X. (b) Maior aumento (original 100 X) da área enquadrada no(a), mostrando as partículas de osso e resíduos de coágulo na base do defeito. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

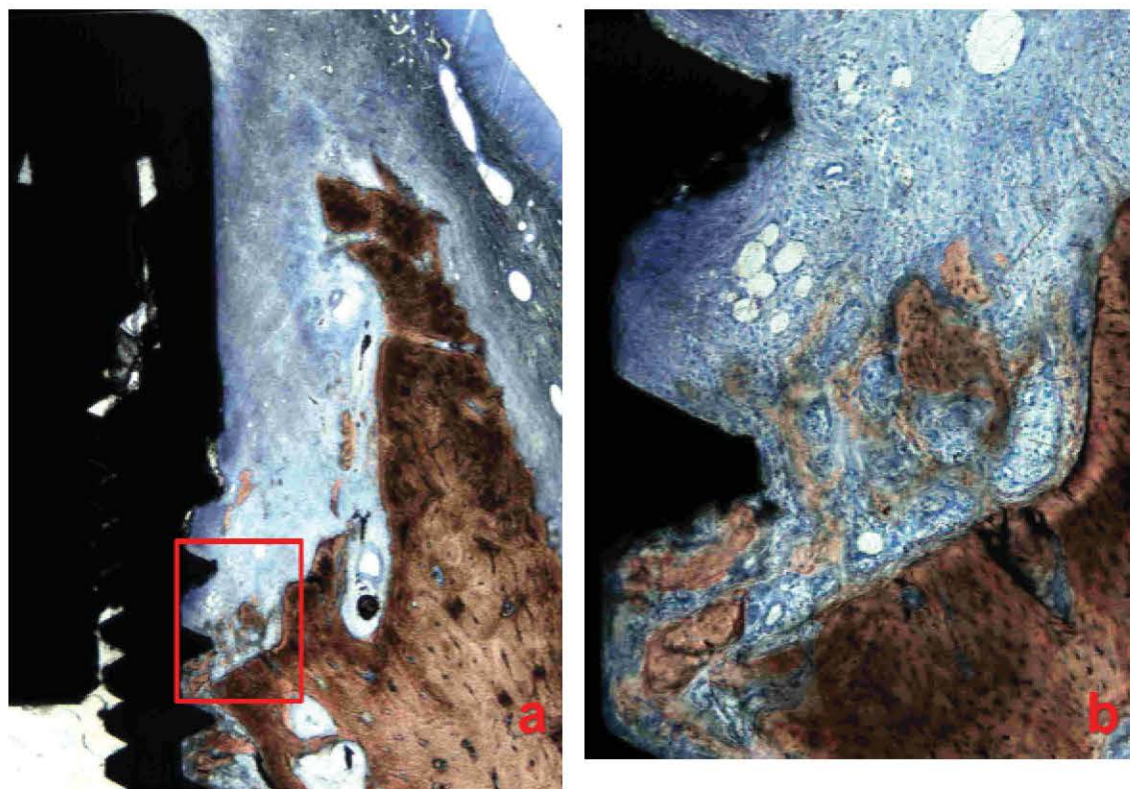


Fig.12. Regeneração do defeito grande aos 10 dias. (a) Osso neoformado, desenvolvido das paredes do defeito e proliferando em direção à superfície do implante. Ampliação original 20X. (b) Maior aumento (original 100X) da área enquadrada no(a), mostrando um novo osso, formado a partir da parede lateral e a base do defeito, aderido à superfície do implante. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

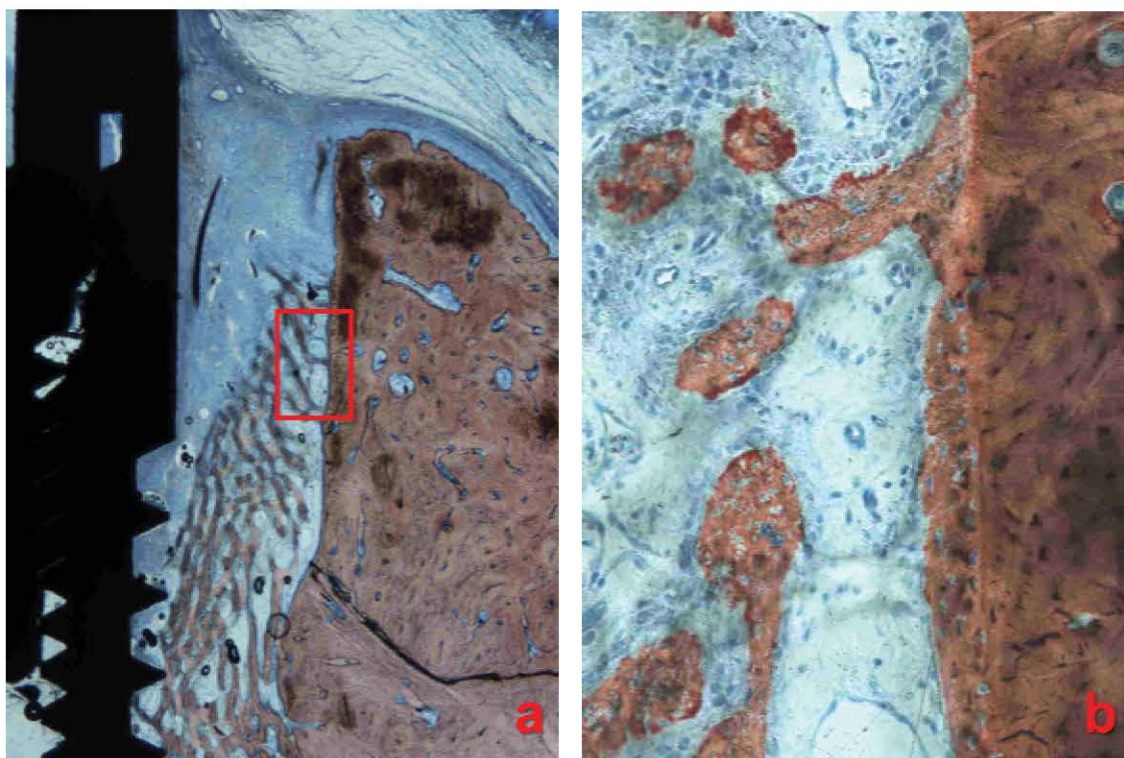


Fig.13 Regeneração do defeito grande aos 20 dias. (a) Grande quantidade de osso neoformado, preenchendo a maior parte do defeito original. A camada de tecido conjuntivo apresentou-se interposta entre a frente de formação do osso neoformado e a superfície do implante. Foi observado pouco osso aderido à superfície do implante na base do defeito. Ampliação original X 20. (b) maior aumento (original 100 X) da área enquadrada em (a), mostrando o osso neoformado formado a partir das paredes do defeito preparado originalmente. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

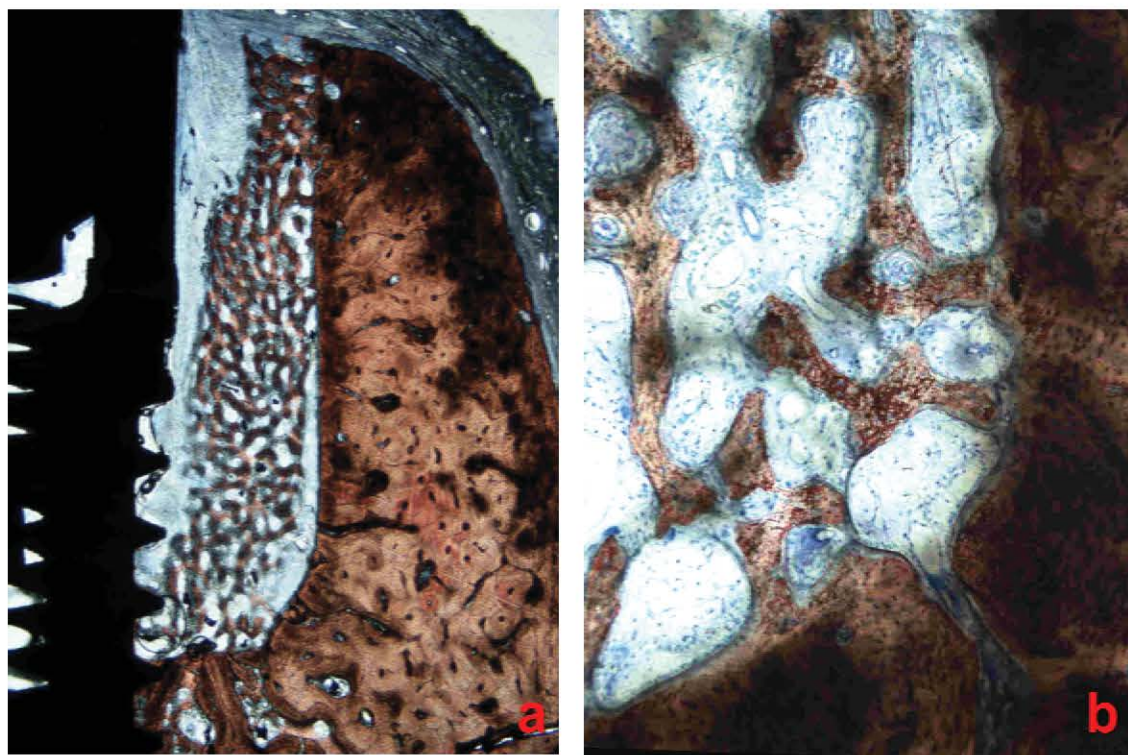


Fig. 14 Regeneração do defeito grande aos 30 dias. (a) Pequena quantidade de osso aparentou-se aderida ao implante na base do defeito. A camada de tecido conjuntivo ainda estava ocupando a área entre a superfície do implante e o osso neoformado. Ampliação original 20X. (b) Maior aumento (Original 100X) (a) formação óssea que se origina das paredes laterais e da base do defeito original. Azul de Stevenel e vermelho de alizarina.

ANEXOS

Anexo A



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"REGENERAÇÃO PRECOCE EM DEFEITOS MARGINAIS AO REDOR DE IMPLANTES. ESTUDO HISTOLÓGICO E IMUNOISTOQUÍMICO EM CÃES"** sob responsabilidade do **Prof. Adj Idelmo Rangel Garcia Junior** e colaboração de **Profa. Dra. Roberta Okamoto, Prof. Dr. Wilson Roberto Poi e Gabriele Baffone** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA número de protocolo número 002014-2010

Araçatuba, 14 de Março de 2010



Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA- FOA/UNESP

Anexo B

Clinical Oral Implants Research

Official publication of the European Association for Osseointegration

Edited by:

Niklaus P. Lang

Print ISSN: 0905-7161

Online ISSN: 1600-0501

Frequency: Monthly

Current Volume: 22 / 2011

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2009: Engineering, Biomedical: 13 / 59; Dentistry, Oral Surgery & Medicine: 6 / 64

Impact Factor: 2.812

TopAuthor Guidelines

Content of Author Guidelines: [1. General](#), [2. Ethical Guidelines](#), [3. Submission of Manuscripts](#), [4. Manuscript Types Accepted](#), [5. Manuscript Format and Structure](#), [6. After Acceptance](#).

Relevant Document: [Copyright Transfer Agreement](#)

Useful Websites: [Submission Site](#), [Articles published in *Clinical Oral Implants Research*](#), [Author Services](#), [Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL

Clinical Oral Implants Research conveys scientific progress in the field of implant dentistry and its related areas to clinicians, teachers and researchers concerned with the application of this information for the benefit of patients in need of

oral implants. The journal addresses itself to clinicians, general practitioners, periodontists, oral and maxillofacial surgeons and prosthodontists, as well as to teachers, academicians and scholars involved in the education of professionals and in the scientific promotion of the field of implant dentistry.

Clinical Oral Implants Research publishes:

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts.

Case reports and case series only if they provide or document new fundamental knowledge.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Clinical Oral Implants Research*. Authors are encouraged to visit [Wiley-Blackwell Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Clinical Oral Implants Research adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication.

Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

Clinical Oral Implants Research adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Up to 6 authors are accepted without need for justification. In the case of a specific and detailed justification of the role of every author, up to 8 authors may be mentioned. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version, 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

Clinical Oral Implants Research encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

Clinical Oral Implants Research requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. Information concerning conflict of interest and sources of funding should be included under Acknowledgements.

2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign copyright to Wiley-Blackwell if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author licences the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the copyright to publish their paper to Wiley-Blackwell. Assignment of the copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement;

however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer Agreement must be sent before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Copyright Transfer Agreement at submission. Please return your completed form to:

Production Editor

Wiley Services Singapore Pte Ltd

1 Fusionopolis Walk, #07-01

Solaris South Tower, Singapore 138628

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to clr@oxon.blackwellpublishing.com or faxed to +65 6643 8599. For questions concerning copyright, please visit [Wiley-Blackwell's Copyright FAQ](#)

3. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Editorial Assistant Ms. Brigitte Baur. E-mail: coir@zmk.unibe.ch

3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>

- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/coir> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select Corresponding Author Center.

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the 'Submit a Manuscript' link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop-down menu next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Clinical Oral Implants Research* will be reviewed by two experts in the field. *Clinical Oral Implants Research* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer

Clinical Oral Implants Research attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation email after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our email server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit your revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision' . Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts. Reviews are generally by invitation only and have to be approved by the Editor-in-Chief before submission.

Case reports and case series, but only if they provide or document new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Proceedings of international meetings may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 published pages are subject to a charge of USD 160 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language might choose to have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only standard abbreviations. All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of Webster's third new international dictionary will be adhered to.

Scientific Names: Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., Ps. for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

5.2. Structure

All manuscripts submitted to *Clinical Oral Implants Research* should include Title Page, Abstract, Main Text and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate.

Title Page: should contain the title of the article, full name(s) of the authors (no more than 6) and institutional affiliation(s), a running title not exceeding 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers, email and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

Abstract: should not to exceed 250 words. This should be structured into: objectives, material and methods, results, conclusions, and no other information.

Main Text of Original Research Article should include Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

Introduction: Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and Methods: Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

Results: Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

Discussion: Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

Main Text of Short Communications: Short communications are limited to two printed pages including illustrations and references and need not follow the usual division into material and methods, etc., but should have an abstract.

Acknowledgements: Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support should be acknowledged.

5.3. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus: Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

c) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised, and followed by volume number in bold type, and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* **4**: 177-186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. Protein turnover and lysosome function, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Each figure should have a legend

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use

pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures:

<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. Additional pages will be charged to the author(s) at the rate of USD 160 per page.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Clinical Oral Implants Research is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including