

*Fausto Capuano Neto*

**ESTUDO COMPARATIVO DA REPARAÇÃO DE MEMBRANAS SINUSAIS E  
DA FORMAÇÃO ÓSSEA NO INTERIOR DO SEIO MAXILAR EM COELHOS  
APÓS ENXERTOS ÓSSEOS (*Sinus Lift*), COM SELANTE DE FIBRINA E  
MEMBRANA DE COLAGENO**

Fausto Capuano Neto

Orientador: Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Júnior

FMB/CEVAP – UNESP

BOTUCATU, 2014

# Fausto Capuano Neto

**ESTUDO COMPARATIVO DA REPARAÇÃO DE MEMBRANAS SINUSAIS E  
DA FORMAÇÃO ÓSSEA NO INTERIOR DO SEIO MAXILAR EM COELHOS  
APÓS ENXERTOS ÓSSEOS (*Sinus Lift*), COM SELANTE DE FIBRINA E  
MEMBRANA DE COLAGENO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador: Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Junior**

Botucatu  
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Palavras-chave: Membrana sinusal ; Selante de fibrina ; Sinus lift ; Substitutos osseos .

Fausto Capuano Neto

**ESTUDO COMPARATIVO DA REPARAÇÃO DE MEMBRANAS SINUSAIS E  
DA FORMAÇÃO ÓSSEA NO INTERIOR DO SEIO MAXILAR EM COELHOS  
APÓS ENXERTOS ÓSSEOS (*Sinus Lift*), COM SELANTE DE FIBRINA E  
MEMBRANA DE COLAGENO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Botucatu  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Júnior

Comissão examinadora

---

Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Junior  
Faculdade de Medicina de Botucatu  
Departamento de doenças tropicais

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Liz Garcia Alves  
Faculdade de Medicina Veterinária de Botucatu  
Departamento de Cirurgia e Anestesia Veterinária

---

Prof. Dr. Antonio Carlos Rodrigues  
Faculdade de Odontologia de Bauru  
Departamento de Ciências Biológicas- Anatomia

Botucatu 31 de Julho de 2014.

---

## *Dados Curriculares*

### *Fausto Capuano Neto*

**NASCIMENTO: 08/05/1981**

**FILIAÇÃO: Fausto Capuano Filho e Sandra Stoppe Capuano**

**2003 - Graduação em Odontologia pela faculdade de Odontologia de Bauru FOB-USP**

**2004/5 - Estagio no Branemark Osseointegration Center**

**2009 - Especialista em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial pela USC**

**2010 - Especialista em Radiologia Odontologica pela ABO**

**2011/2 - Prof Assistente do curso de aperfeiçoamento de cirurgia do Prof Waldir Antonio Jorge na APCD**

---

*Dedicatória*

---

*Dedico esta dissertação*

*Aos meus pais, Fausto Capuano Filho e Sandra Stoppe Capuano, pelo carinho e ensinamento, não há melhor forma de ensinar senão pelo exemplo, e neles tive o exemplo de vida, trabalho, conquista, sempre com a retidão de seres humanos exemplares.*

*Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Jr, que acreditou no meu potencial e nesta realização quando eu mesmo já havia desistido.*

---

*Agradecimientos*

---

*A Deus, pela oportunidade da vida, cuja sabedoria guia nossos caminhos por estradas tortuosas que nos cabe confiar e ter fé.*

*À Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP pela infra estrutura e condições para o desenvolvimento deste trabalho*

*Ao CEVAP (Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos) pela oportunidade e pelas portas abertas que fui recebido pelos seus colaboradores e funcionários.*

*À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pelo auxílio financeiro que viabilizou a realização desse trabalho de pesquisa.*

*Ao Prof. Dr. Benedito Barraviera pela amizade, orientação e ensinamentos científicos, exemplo de postura profissional.*

*Ao Prof. Dr. Paulo Ricardo O. Bersano pelas sua orientação e conhecimento, sempre solícito a ajudar e esclarecer*

*Ao Prof. Dr. João Ferreira Lima pelas valiosas sugestões durante o exame de qualificação e pela sua amizade.*

---

*À Profa. Dra. Lucilene pelas suas colocações oportunas durante os cursos que me apresentou e cativou em área da ciência totalmente desconhecidas para mim.*

*À Vivian Scalon Peres, parceira durante o mestrado, cuja empolgação me motivou a concluir de forma melhor meu trabalho.*

*À Juliana Flores, que abriu as portas para o desenvolvimento da pesquisa, ajudou nos passos cirúrgicos desta pesquisa e seu conhecimento contribuiu efetivamente para o desenvolvimento da dissertação.*

*Aos funcionários da UNIPEX, que me receberam de portas abertas e sempre solícitos me ajudaram no que puderam a realização do presente trabalho.*

*Aos amigos CEVAP pela convivência pacífica, intimidade, conselhos, risos, reclamações, tornando minha estada em Botucatu mais agradável.*

*À minha irmã Alessandra Stoppe Capuano pelo seu amor fraterno, companheirismo paciência e apoio.*

---

*Epigrafe*

---

*A corrente de ferro da verdade, que vos qualificais como invariável vos mantém cegos em um círculo vicioso. Tecnicamente pode-se ter razão nos fatos e estar eternamente equivocado na verdade.*

*99 Benites em Cavalo de Troia 3*

---

*Resumo*

---

Este trabalho teve como objetivos, a avaliação da capacidade osteoindutora do selante de fibrina derivado de peçonha de serpente (SFPS) quando associado ao Bio-Oss<sup>®</sup> (BHA). Além disso, comparou-se a reparação de fenestração de membranas sinusais com SFPS e membrana de colágeno em enxertos ósseos. Para tanto, foram utilizados 32 coelhos adultos tendo seus seios maxilares bilateralmente operados e preenchidos com enxerto ósseo. No grupo 1 formado por 16 coelhos, uma ferida cirúrgica de lesão de 4 mm foi realizada na membrana sinusal maxilar em ambos os lados, sendo tratadas com selante de fibrina e membrana de colágeno (collatape<sup>®</sup>) no lado contralateral. No grupo 2, 16 coelhos receberam BHA e BHA+SFPS em cada um dos seios. Os animais do grupo 1 foram eutanasiados aos 3, 7, 14 e 30 dias, e do grupo 2 aos 7, 14, 30 e 60 dias. A avaliação se deu por microscopia ótica e análise histomorfométrica. No grupo 1 ambas as técnicas foram eficazes e não foi observado nenhuma fibrose, defeito no epitélio ciliado ou inflamação intensa na membrana sinusal em nenhum caso. No grupo 2, o SFPS criou uma rede que impediu a penetração de células, sendo totalmente reabsorvido próximo aos 30 dias, retardando a ossificação. A reabsorção da fibrina promoveu um infiltrado inflamatório intenso sendo dissipada ao longo do tempo e não impediu a ossificação. O selante de fibrina mostrou ser eficaz na correção de lesões de membrana sinusal, mas retardou a formação óssea, quando associado ao Bio-Oss<sup>®</sup>. A sua utilização clínica em combinação com o Bio-Oss<sup>®</sup> aparece como uma importante alternativa para casos que necessitem de um processo de ossificação mais lento, bem como na reparação de membrana sinusal rompida.

**Palavras-chave:** *sinus lift*, substitutos ósseos, selante de fibrina, implantodontia, membrana sinusal.

---

*Abstract*

---

The aim of this paper is to evaluate the osteoinduction ability of fibrin sealant derived from snake venom (SFPS) when combined with Bio-Oss® (BHA) and compare SFPS and collagen membrane in repairing the sinus membranes perforations during sinus lift. In group 1, 16 rabbits underwent a lesion of 4 mm in the sinus membrane on both sides and then treated with sealant or collagen membrane. In group 2, 16 rabbits received BHA and BHA + SFPS on each side of the sinus. The group 1 animals were euthanized at 3, 7, 14 and 30 days and Group 2 at 7, 14, 30 and 60 days. The evaluation was made by optical microscopy and histomorphometric analysis. In group 1 both techniques were effective and no fibrosis, defective in the ciliated epithelium or intense inflammation were observed in any case. In group 2, the SFPS created a network that prevented the penetration of cells, being completely reabsorbed in 30 days, delaying the ossification. The resorption of fibrin promoted an intense inflammatory infiltrate that dissipated with time and did not prevent the ossification. Fibrin sealant has proven effective in the correction of sinus membrane lesions, but delayed bone formation, when combined with Bio-Oss®.

**Keywords:** Sinus Augmentation, Fibrin Sealant, Bone Substitutes, Implantodonty, Sinus membrane

---

## *Lista de Abreviaturas*

---

BHA-	Hidroxiapatita bovina
BMP-	Proteínas morfogenética óssea
DBM	Matriz óssea desmineralizada
FDA-	Food and Drug Administration
FGFb-	Fator básico de crescimento para fibroblasto
MBCP-	Fosfato de cálcico bifásico micro-macroporoso
MS-	Membrana sinusal ou membrana de Schneiderian
MSC-	Células tronco mesenquimais
OC-	Osteocalcina
OPG-	Osteopoetina
PDF-	Produtos de degradação da fibrina
PDGF-	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PRF-	Plasma rico em fibrina
PRP-	Plasma rico em fibrina
RANK-L-	Ativador receptor do fator B ligante
SF-	Selante de fibrina
SFPS-	Selante de fibrina derivado de peçonha de serpente
SM-	Seio Maxilar
VEGF -	Fator de crescimento endotelial

---

## *Sumário*

---

---

<b>Resumo .....</b>	<b>13</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>15</b>
<b>Lista de Abreviaturas .....</b>	<b>17</b>
<b>Capítulo 1 – Dissertação.....</b>	<b>21</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>22</b>
<b>2. Revisão de Literatura.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1. Enxerto Ósseo no Seio Maxilar.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1.1. Biomateriais usados como substitutos ósseos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.2. Hidroxiapatita Bovina Desproteínada.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2. Indução óssea e Biomateriais.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3. Selantes de Fibrina.....</b>	<b>34</b>
<b>2.4. Fenestração da membrana sinusal.....</b>	<b>41</b>
<b>3. Proposição.....</b>	<b>47</b>
<b>4. Referências.....</b>	<b>48</b>
<b>Capítulo 2 – Manuscrito.....</b>	<b>58</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>59</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>60</b>
<b>2. Material e Métodos .....</b>	<b>62</b>
<b>2.1. Enxerto no seio maxilar.....</b>	<b>63</b>
<b>2.2. Processamento do material.....</b>	<b>63</b>
<b>3. Resultados .....</b>	<b>65</b>
<b>4. Discussão.....</b>	<b>69</b>
<b>5. Referências.....</b>	<b>73</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>77</b>

---

## *Capítulo 1 - Dissertação*

---

## **1. INTRODUÇÃO**

O selante de fibrina (SF) é um biomaterial que mimetiza o final da cascata de coagulação a partir da clivagem do fibrinogênio em fibrina mediada pela trombina<sup>1</sup>. Possuem excelente biocompatibilidade, aderência e atividade hemostática. Apesar de seu potencial terapêutico, sua utilização ainda é limitada na odontologia<sup>2</sup>.

Os selantes de fibrina (SF) têm sido avaliados com o intuito de melhorar as propriedades dos enxertos ósseos, como proferir adesividade, facilidade de manipulação e indução óssea<sup>3</sup>. A fibrina possui um papel fundamental na cicatrização, além da sua capacidade de coagulação, devido ao fato de possuir grande afinidade por fatores de crescimento como o PGDF (fator de crescimento derivado de plaquetas) e FGFb (fator básico de crescimento para fibroblasto). Além disso, libera fatores de degradação da fibrina que são quimiotáticos para neutrófilos, promovem a liberação lenta de fatores de crescimento e facilitam a adesão de células mesenquimais<sup>4</sup>.

O Selante de Fibrina derivado de veneno de serpente (SFPS) tem se apresentado como uma alternativa aos selantes comerciais pois não possui constituintes derivados do sangue humano em sua constituição<sup>5,6</sup>. O uso do SFPS em enxertos gengivais mostrou maior migração de fibroblastos e maturação tecidual mais rápida, além de ganho no tempo cirúrgico, melhor hemostasia e menor retração pós operatoria<sup>5,7</sup>.

Diferentes protocolos cirúrgicos e modelos experimentais têm sido utilizados para se avaliar o potencial dos biomateriais. Lee et al.(2007),

---

avaliaram a formação óssea em seios maxilares de cães, mostrando melhores resultados quando o osso autógeno foi acrescido ao selante de fibrina.

As fenestrações de membranas sinusais têm sido reparadas com SF associado ou não a membrana de colágeno (MC), a qual é o material de escolha para o seu tratamento<sup>8,9</sup>. Apesar do tratamento da membrana sinusal rompida em enxertos ósseos ser estritamente para conter os grânulos ósseos de penetrarem a cavidade do seio maxilar, a falha na sua correção é problemática<sup>10</sup>. A incidência desta intercorrência é alta e mesmo com seu tratamento efetivo, pode levar a falha dos implantes ou piora na ossificação<sup>11,12</sup>.

Poucos estudos randomizados em animais foram realizados com o intuito de esclarecer os acontecimentos histológicos durante a cicatrização da membrana sinusal, avaliando assim qual o tipo de tratamento é mais vantajoso para o cirurgião. O presente estudo avaliou a capacidade osseointegradora do SFPS associado à Hidroxiapatita Bovina Desmineralizada (Bio-Oss<sup>®</sup>) em seios maxilares de coelhos e também comparou histologicamente o uso do SFPS e de membrana de colágeno no tratamento da membrana sinusal rompida.

---

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. ENXERTO ÓSSEO NO SEIO MAXILAR**

O enxerto ósseo em seios maxilares foi primeiramente descrito por Tatum em 1977, sendo posteriormente publicado por Boyne em 1980. Apesar do seu aperfeiçoamento e suas modificações, seu princípio continua o mesmo<sup>13</sup>.

O objetivo do enxerto em seio maxilar é obter uma quantidade e qualidade ósseas que permitam a inserção de implantes osseointegráveis. A formação óssea pode ser acelerada e viabilizada por meio da inserção de um arcabouço biocompatível, permitindo assim o crescimento ósseo através de um processo chamado osteocondução<sup>14</sup>. Neste processo, o assoalho do seio maxilar desenvolve um papel importante, pois funciona como fonte de células para a formação óssea<sup>15</sup>.

O enxerto no seio maxilar, como qualquer outra modalidade cirúrgica, pode apresentar complicações como edema excessivo, sangramento pós-operatório e deiscência. Seu risco de falha é de 2%, considerado, portanto, um procedimento previsível e seguro<sup>16</sup>. Planejamento e manejo adequados podem prevenir intercorrência e aumentar a longevidade dos implantes osseointegráveis<sup>13</sup>. A avaliação prévia do seio maxilar, por meio de tomografia computadorizada, auxilia a verificação da presença de patologias e variações anatômicas<sup>5</sup>. Timmenga et al. (1997) observaram 45 pacientes operados e acompanhados por 12 a 60 meses; apenas dois apresentaram um quadro de

---

sinusite, sendo que estes pacientes já mostravam histórico de sinusite recorrente.

Watanabe et al. (1999), estabeleceram um modelo em coelhos para avaliar as etapas da nova formação óssea em enxertos de seios maxilares e seus efeitos na membrana sinusal. Estes autores concluíram que, em quinze dias após a cirurgia, já havia formação óssea e a membrana apresentava integridade, validando assim este modelo de estudo. Já no ano de 2002, esta técnica foi modificada com o objetivo de avaliar os efeitos da força aérea no enxerto ósseo. Uma força aérea pressionando a membrana a voltar para sua posição original foi observada. Neste sentido, o osso de escolha na enxertia deveria permitir o tempo certo de sua reabsorção e cicatrização, caso contrário a pressão aérea acarretaria na redução da vascularização, descompensando o equilíbrio entre a osteólise e osteogênese<sup>19</sup>.

### **2.1.1. Biomateriais usados como substitutos ósseos**

O osso autógeno é considerado como o melhor substituto ósseo devido a sua capacidade de osteoindução e ausência de resposta inflamatória por ser endógeno. Possui, no entanto, a desvantagem exigir outro sítio cirúrgico para sua remoção, levando a maior morbidade e limitando a quantidade de material a ser usado, além de elevar o custo financeiro do procedimento<sup>20</sup>. Áreas doadoras intra-orais possuem o risco de lesões no ápice e consequente desvitalização dos elementos dentários, bem como, risco de lesões neurais e fraturas trans e pós-operatórias no ramo e na sínfise mandibular<sup>21</sup>.

---

Nos seres humanos, o osso autógeno pode apresentar absorção de 51,3% após seis meses. Um aspecto importante, mas não muito estudado, diz respeito ao tamanho das partículas usadas na enxertia. Kon et al. (2009), compararam enxertos autógenos em coelhos, com partículas grandes (1mm a 2mm) e pequenas (150µm - 400µm). Os resultados deste estudo mostraram que pequenas partículas eram absorvidas rapidamente e não mantiveram adequadamente o volume; assim, deveriam ser complementadas com biomateriais de baixa ou nenhuma reabsorção. Partículas grandes mantiveram bem o volume mostrando-se melhor para o enxerto; entretanto a osteogênese foi limitada e lenta entre as trabéculas.

Uma maior porcentagem de absorção (40% do volume) também foi reportada por Schlegel et al. (2003), levando pesquisadores a procurar substitutos ósseos com melhor estabilidade dimensional, biocompatíveis e bioabsorvíveis. Atualmente, devido a estas características, não há uma relação custo-benefício que leve o cirurgião a escolher o osso autógeno em detrimento a enxertos ósseos comerciais<sup>24</sup>.

Dentre as opções de substitutos ósseos, temos o osso humano desmineralizado, os ossos xenógenos; a hidroxiapatita natural e sintética; os compostos a base de hidróxido de cálcio, e o osso bovino desproteínado. Suas características, como origem, tamanho, formato, porosidade e tempo de degradação, alterando diretamente seu comportamento biológico, afetando assim a formação óssea<sup>14</sup>.

---

### 2.1.2. Hidroxiapatita bovina desproteïnada (BHA)

O Bio-Oss<sup>®</sup> (Geistlich Pharma, Wolhusen, Suíça) é um osso desproteïnado de origem bovina, com capacidade osteocondutora para uso como substituto ósseo, e tem como objetivo facilitar e melhorar a regeneração óssea. Esta hidroxiapatita age estabilizando o coágulo e reduzindo o risco de colapso do tecido mole no defeito ósseo. É similar ao osso humano, física e quimicamente, formando grânulos de hidroxiapatita, com 75% a 80% de porosidade e macro e micro grânulos entremeados, compondo uma rede que facilita a angiogênese, e posteriormente, uma rede que ajuda na dissipação de força pelo implante dentário<sup>25</sup>.

Em seu processo de produção, o Bio-Oss<sup>®</sup> (BHA) sofre um aquecimento a 300°C, seguido de processamento químico, removendo assim os componentes orgânicos e retirando sua capacidade imunogênica, mas mantendo a sua arquitetura<sup>26</sup>. Seu uso *in vitro* e *in vivo* foram avaliados e sua aplicação em seres humanos obteve resultados satisfatórios<sup>27</sup>.

O Bio-Oss<sup>®</sup> possui lenta reabsorção pelo organismo, tendo a vantagem de impedir a reabsorção óssea que ocorre naturalmente, o que leva também a uma redução do espaço disponível para a formação óssea. Portanto, acredita-se que possui menor quantidade óssea quando comparado a substitutos ósseos absorvíveis<sup>28</sup>. O seu uso leva a uma estabilidade dimensional ao longo do tempo, conferindo uma excelente estabilidade primária aos implantes<sup>29</sup>. Este comportamento ao longo do tempo foi constatado por Mordenfeld et al.(2010), ao realizar biopsias em pacientes após 11 anos da enxertia, observando que os grânulos de BHA estavam de tamanhos (áreas) similares

---

aos seis meses de pós-operatório e ao especificado pela empresa. Apesar de haver células multinucleadas envolvendo o enxerto não havia presença de lacunas indicando reabsorção.

Este biomaterial possui superfície bioativa, que induz a resposta e melhora a adesão do tecido ósseo na sua superfície. Isto se deve à presença de cálcio e fosfato na sua composição, mostrando quantidades similares da OC (osteocalcina), OPG (osteoprotegeína) e Rank-L (receptor ativador do fator B ligante nuclear) do Bio-Oss<sup>®</sup> com o osso autógeno. Estes fatores promovem a estabilização de células progenitoras no defeito ósseo<sup>31</sup>. O Bio-Oss<sup>®</sup> possui maior contato com o osso novo formado do que outros biomateriais similares<sup>32</sup>.

Lambert et al. (2013) compararam o Bio-Oss<sup>®</sup> com ou sem colágeno, em seios maxilares de coelhos. A presença do colágeno facilitou o procedimento cirúrgico aderindo aos grânulos ósseos e tornando-os um bloco, mas atrasou sensivelmente a osteogênese, e promoveu inflamação quando comparado com o Bio-Oss<sup>®</sup> convencional.

## **2.2. INDUÇÃO ÓSSEA E BIOMATERIAIS**

A cicatrização do tecido ósseo, em alguns aspectos ocorre de forma similar a pele<sup>34</sup>; uma diferença importante é sua característica de regeneração, ou seja, o osso novo formado não possui cicatriz e não pode ser distinguido do osso pré-existente. Entretanto, em algumas cirurgias, o tamanho do defeito supera sua capacidade de regeneração<sup>35</sup>.

A injúria do tecido ósseo leva a um sangramento e a uma posterior necrose do sangue, estimulando a resposta inflamatória aguda. A fibrina

---

presente funciona como suporte para a migração de células reparadoras; atrai inicialmente as células inflamatórias e, posteriormente, células mesenquimais pluripotentes que produzem um tecido composto no começo de tecido fibroso, atuando como sistema estabilizador. Uma progressão e diferenciação do tecido levam à maturação e restauração do tecido ósseo<sup>34</sup>.

A formação óssea ocorre por um efeito coordenado de células, fatores bioativos e matriz extracelular que estimulam a proliferação, diferenciação e migração de células osteoprogenitoras. A indução e sinalização da cascata de reparação, resultam de uma expressão pro-inflamatória, angiogênese e osteogênica, derivada das células na região da injúria. Os fatores de crescimento são moléculas sinalizadoras que controlam uma variedade de respostas celulares<sup>36</sup>.

Os osteoblastos e osteoclastos formam a unidade multicelular básica. Os osteoblastos são derivados das células tronco-mesenquimais, e são responsáveis pela deposição de osteóides, que serão mineralizados ao atingir aproximadamente 6µm. Os osteoclastos são provenientes de uma linhagem de monócitos e escavam o osso através de digestão proteolítica<sup>34</sup>.

A indução óssea necessita de três componentes, que são: sinais moleculares solúveis, células tronco capazes de reagir a estes sinais e substrato ou sinais insolúveis. Em 1990, foi clonado uma nova classe de genes, as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP) pertencentes a superfamília TGF-β. Estas proteínas permitem que não haja necessidade de contato com a célula indutora, comumente a células profundas do epitélio, e as células a

---

serem induzidas. As células epiteliais ganham capacidade de indução ao serem descoladas do seu substrato<sup>37</sup>.

O osso é uma matriz extracelular rica em proteínas, com células e minerais. Basicamente possui colágeno tipo I que, apesar de não apresentar característica osteoindutora, funciona como arcabouço para a matriz óssea (fase de osteóide não mineralizado). Esta matriz de colágeno possui proteínas, as BMP (proteínas morfogenéticas ósseas), responsáveis pela osteoindução, sendo capazes de promover crescimento ósseo não apenas no interior do osso (ortotópico), mas também extra-ósseo (heterotópico)<sup>38</sup>.

As proteínas morfogenéticas bovinas (BMP) possuem variações na sua sequência de aminoácidos no domínio carboxi-terminal e são responsáveis pela indução de vários outros tipos de tecidos não ósseos. A BMP de origem bovina aumentou a formação óssea de diferentes biomaterias em seios maxilares de coelho quando comparado aos biomateriais isolados<sup>26</sup>. Isto deveu-se pela sua capacidade de promover a diferenciação de células tronco mesenquimais em osteoblastos, aumentando também a vascularização e a reabsorção do biomaterial e a substituição por *de novo* osso<sup>39</sup>.

Entre os biomateriais usados para melhorar a formação óssea no enxerto, o mais estudado é o PRP (plasma rico em plaquetas). Trata-se de um centrifugado de sangue autólogo, contendo plasma e proteínas plasmáticas com o objetivo de induzir a crescimento ósseo. O PRP, por conceito, não é tóxico e nem imunogênico, e seus componentes são capazes de acelerar a regeneração óssea<sup>14</sup>. Entretanto, em cabras o PRP, não melhorou ou acelerou

---

a formação óssea quando associado ao Bio-Oss<sup>®</sup>. O autor atribui o resultado a diferente concentração de plaquetas entre o PRP humano e o animal <sup>32</sup>.

A associação de plasma rico em fibrina (PRF) com BHA foi estudada por Zhang et al. (2012), que não observaram vantagem ou desvantagem de seu uso em seres humanos. Assim, a combinação Bio-Oss<sup>®</sup> com PRF não acelerou a formação óssea, em desacordo com estudos que usaram osso congelado seco (FDBA) e PRF, observando nesta combinação potencial indutor<sup>4</sup>.

A ideia de associar osso autógeno, substitutos ósseos e fatores de crescimento, parece ser a composição ideal, pois combina as três principais propriedades da regeneração óssea. O PRF produz uma matriz de fibrina que favorece adesão de células tissulares e induz a angiogênese; além disso, a matriz libera fatores de crescimento, oriundos da fibrina por certo tempo. Em calotas de coelhos, o uso de PRF com ou sem osso autógeno acelerou a ossificação, entretanto a associação de PRF com Bio-Oss<sup>®</sup> não mostrou nenhum benefício, o que se deve a desvitalização da BHA, não havendo no enxerto, células viáveis para receber a indução proveniente do PRF<sup>40</sup>.

Segundo Choukroun et al. (2006), apesar da importância dos componentes sanguíneos presentes no PRF, a fibrina é a responsável pelo potencial terapêutico do biomaterial. Existem quatro fatores importantes na cicatrização associados à fibrina: a angiogênese, a resposta imune, a atração e desenvolvimento das células-tronco circulantes e a proteção por epitelização.

Alguns fatores de crescimento como o PGDF (fator de crescimento derivado das plaquetas) e o FGFb (fator básico de crescimento para fibroblasto) possuem grande afinidade pela fibrina, portanto são constituintes

---

do gel de fibrina e, juntamente a outros fatores como a VEGF (fator de crescimento endotelial venoso) e a angiopoetina, estimulam a angiogênese<sup>4</sup>.

A angiogênese permite a migração de células tronco mesenquimais (MSC), que se diferencia em células secretoras de colágeno e se prende à rede de fibrina. Os produtos de degradação da fibrina (PDF) estimulam a migração e adesão de neutrófilos ao endotélio dos vasos e à fibrina, levando a um *feedback* positivo da fibrina nos eventos inflamatórios. A matriz de fibrina guia a recuperação de tecidos servindo de arcabouço às células envolvidas<sup>4</sup>.

A literatura é controversa em relação à capacidade dos selantes de fibrina (SF) promover a formação óssea quando associado a substitutos ósseos. O SF pode atrasar a ossificação devido a sua matriz formar uma barreira física, impedindo assim a migração de células progenitoras. Outra possibilidade discutida seria que a quimiotaxia de células inflamatórias poderia favorecer a formação de tecido fibroso e não ósseo<sup>39</sup>.

O uso dos SF possui resultados extremamente positivos em seres humanos e alguns, em pequenos animais, quando associados à biomaterias cerâmicos, fosfato de cálcio bifásico e hidroxiapatita. Estes resultados não se repetiram quando o SF foi associado ao Bio-Oss<sup>®</sup>, resultando em uma formação óssea mais lenta com esta associação. Nenhuma reação imunogênica foi observada, e a capacidade adesiva dos SF auxiliou o procedimento para o cirurgião, garantindo também melhor adesão com as paredes do defeito ósseo<sup>39</sup>.

Lee et al. (2007), enxertaram o seio maxilar de seis cães, comparando o osso autógeno e osso autógeno com SF autólogo, usando-o para substituir

---

barreiras e ganhar altura óssea. Observaram que a adição de selante autólogo com plaquetas foi benéfica não apenas em formação óssea, como na interação osso/implante, melhorando a estabilidade dimensional. Concluíram, portanto, que o SF ajuda na incorporação do enxerto, pois adere às partículas ósseas, mantendo-as unidas e a presença de plaquetas confere ao selante fatores de crescimento como BMP e PGDF, que melhoram a formação óssea.

Estudos em ratos associando HA e SF mostraram que, apesar do SF atrasar a consolidação do enxerto, ele facilitou a aplicação e moldagem, conferindo adesão ao leito receptor, além da melhor estabilidade dimensional<sup>41</sup>.

Em 2002, Carmagnola, Berglundh e Lindhe avaliaram o uso de Bio-Oss<sup>®</sup> em mandíbulas de cães, associado ou não ao selante de fibrina (Tissel<sup>®</sup>) após um e três meses. Observaram que o grupo selante possuía menor quantidade óssea e menor contato entre o osso novo formado e as partículas de Bio-Oss<sup>®</sup>, graças à presença de tecido fibroso envolvendo as partículas de Bio-Oss<sup>®</sup> e o osso hospedeiro.

O uso do SF e de MBCP (fosfato de cálcio bifásico macroporoso) foi comparado em cabras para avaliação da formação óssea. Observaram inicialmente que o selante ajudou o manuseio cirúrgico do enxerto e histologicamente o grupo selante apresentou um osso mais maduro sugerindo osteoindução. Aos seis meses a ossificação foi semelhante, entretanto três meses depois, o grupo com selante mostrou maior quantidade de tecido mineralizado e o implante maior contato com o *de novo* osso. Neste caso, o SF, além de melhorar o manuseio do MBCP, formou uma matriz bioativa que ajudou na regeneração a longo prazo<sup>43</sup>.

---

Estudos *in vitro* observaram a interação do selante de fibrina em contato com o MBCP, em diferentes concentrações de trombina, o selante forma uma característica de favos de mel, mas nas maiores concentrações o selante apresenta uma rede mais densa, com menos espaços entre as fibras, influenciando diretamente a colonização celular, já que a densidade é muito grande para a migração das células. A largura das fibras e a porosidade influenciam a velocidade de reabsorção do selante de fibrina, que deve estar alinhada com o período de formação óssea. A proteína trombina like, pode substituir a trombina, pois acelera o tempo de polimerização do SF; entretanto, em menor quantidade, permite um enxerto mais homogêneo e de melhor manuseio<sup>44</sup>.

### **2.3. SELANTES DE FIBRINA**

Os Selantes de Fibrina (SF) devem possuir como características ideais: efetividade, ou seja, apresentar coesão, união entre suas partículas e adesão ao tecido em que for aplicado; biocompatibilidade, ou seja, não ser citotóxico; possuir pouco tempo de preparo e manipulação; propiciar fácil transporte e estocagem; apresentar tempo de aplicação e polimerização adequado; devem ser fortes, entretanto elásticos como o tecido em que são aplicados; não devem liberar calor na sua polimerização; não causar reação inflamatória local onde são aplicados<sup>45</sup>.

O SF é um biomaterial que mimetiza o final da cascata de coagulação, a partir da clivagem do fibrinogênio pela trombina em monômeros de fibrina. O fibrinogênio é uma proteína de alto peso molecular (340 Kda) produzida no

---

fígado, com o objetivo de dificultar extravazamento dos vasos para o interstício de substâncias, exceto em momentos patológicos em que ocorre aumento da permeabilidade capilar. A protrombina é uma proteína instável, produzida no fígado, potássio dependente, de fácil clivagem, gerando subprodutos entre eles a trombina. A trombina é uma enzima proteolítica que cliva o fibrinogênio em partículas menores, os monômeros de fibrina. Inicialmente, estes monômeros se ligam de forma frágil por uniões covalentes de pontes de hidrogênio. Num segundo momento, o fator estabilizador de fibrina, presente no plasma e plaquetas, fortifica bastante esta ligação. O coágulo neste momento promove uma autoindução, pois a trombina age não apenas no fibrinogênio como nos fatores de coagulação e na própria protrombina<sup>46</sup>. Assim, uma rede de fibrina permite uma matriz para adesão de células importantes na cicatrização<sup>47</sup>.

Em 1909 a fibrina foi usada pela primeira vez com propósito hemostático<sup>48</sup>. Na década de 1940, a associação de trombina e fibrina foi testada, e popularizou-se na década de 1960 com o advento de tecnologias de fracionamento do plasma<sup>24</sup>. Entretanto, em 1978, o FDA (Food and Drug Administration) revogou a licença destes produtos devido ao risco de transmissão de doenças, principalmente as virais como a AIDS<sup>45,48</sup>. Em maio de 1998, duas formas de selantes foram novamente licenciadas no mercado americano: o Tisseel<sup>®</sup> (Baxter Healthcare, Deerfield, IL) e Hemaseel<sup>®</sup> (HaemacureCorp, Sarasota, FL)<sup>49</sup>.

Os selantes de fibrina podem ser classificados em três tipos básicos: 1) Autólogo, 2) Homólogo e 3) Heterólogo (Sintético ou comercial). O SF autólogo pode ser o mais indicado, pois não há risco de transmissão de doença,

---

entretanto é inviável em cirurgias emergenciais, e a necessidade da autodoação dois dias prévios ao seu uso pode aumentar a possibilidade de transfusão sanguínea intra-operatória. Outra possibilidade é o uso do selante homólogo, de apenas um doador. Este é extensivamente testado pela possibilidade de transmissão viral, podendo ser estocado a 4C° por duas semanas. O selante de fibrina comercial é mais caro que os selantes homólogos e autólogos, e provêm de um *pool* de plasma humano com exceção da aprotinina, oriunda do pulmão bovino e o cloreto de cálcio inorgânico. Desta maneira, apesar de cuidados na inativação viral em sua produção, ainda permanece o risco de transmissão de doenças. Por essa razão muitos cirurgiões usam apenas a trombina deste selante e com o fibrinogênio autólogo<sup>44</sup>.

Os selantes comerciais passam por tratamento para inativar vírus e evitar transmissão de doenças, como a pasteurização (Beriplast®), aquecimentos a vapor (Tissel® e Tissucol®) e solventes. O uso de solventes não desnatura proteínas importantes no selante, mas pode ser ineficaz com aqueles vírus que não possuam lipídio no seu envelope<sup>13</sup>. Além dos componentes básicos, os selantes comerciais podem conter Fator XIII, aprotinina e, ácido tranexâmico, que em geral são fatores estabilizadores de fibrina<sup>48</sup>. Algumas marcas comerciais ainda podem apresentar glicoproteínas plasmáticas como a vitronectina, que possuem função de aderência e estabilização do coágulo<sup>24</sup>.

Os selantes de fibrina possuem uma adesividade fraca, são totalmente absorvíveis e biocompatíveis, em comparação com os selantes à base de

---

cianoacrilatos que são fortes adesivos, mas não são biodegradáveis e podem causar reação inflamatória por serem hidrofóbicos<sup>45</sup>. Isto pode levar a formação de tecido de granulação<sup>50</sup>, necroses e extensas fibroses<sup>24</sup>.

A concentração de fibrinogênio está diretamente ligada à capacidade de adesão<sup>49</sup> e à resistência mecânica<sup>51</sup> do SF; a solidificação depende da quantidade da concentração de trombina<sup>41</sup>. A rigidez do produto pode alterar a resposta da formação endotelial, explicando assim a diferença na cinética entre o PRP, PRF e o selante de fibrina. Como contraindicação pacientes que usam constantemente SF podem desenvolver hipersensibilidade a aprotinina bovina, entretanto a incidência é baixa. O uso de SF em aplicações intravasculares pode levar a tromboembolismo, portanto completamente contraindicado.

A quantidade de trombina no selante altera a densidade, porosidade e espessura da rede de fibrina alterando assim o tempo que o organismo leva para degradar a fibrina além de favorecer ou não a penetração e adesão de células<sup>44</sup>. O SF em humanos é absorvido por células inflamatórias em duas semanas e substituído por tecido conjuntivo em quatro semanas, não interferindo na cicatrização ou aumentando a taxa de infecção em neurocirurgias<sup>52</sup>. A absorção do selante pode variar de acordo com a quantidade, o local e a espécie em que foi usado<sup>41</sup>.

O SF, em sua concepção é um agente hemostático, usado em cirurgias vasculares como enxertos e reposição valvular, e é muito útil em pacientes com problemas de coagulação, diminuindo a necessidade de reposição de fatores e a perda sanguínea em cirurgias grandes<sup>49</sup>, entretanto a homeostasia não é sua única função. A fibrina produz uma matriz para aderir outras células como as

---

endoteliais e os fibroblastos, que levam a angiogênese e a remodelação tecidual. Os fibroblastos então remodelam a estrutura de fibrina e sintetizam colágeno, dando forma e estabilidade aos capilares *in vitro*<sup>53</sup>.

Na medicina o selante está difundido na maioria das especialidades cirúrgicas: na cardiologia, auxilia a implantação de válvulas, correção de defeitos septais; na cirurgia torácica, evita vazamento de ar e fluido do parênquima pulmonar; na cirurgia gastrointestinal, em biopsias hepáticas; na traumatologia, evita sangramentos que a sutura não consegue controlar; na neurocirurgia, ancora a dura-máter; na oftalmologia, sela as lentes e repara o ducto lacrimal; na otorrinolaringologia, substitui a sutura na cartilagem traqueal e as membranas timpânicas; na cirurgia plástica, fixa enxertos de pele; na cirurgia cosmética, diminui cicatrizes causadas pela sutura; e na ortopedia, em tendões como complemento da sutura. Estes exemplos mostram que o selante possui uma grande diversidade de aplicações<sup>24</sup>.

Entretanto, o selante de fibrina, apesar de muito utilizado na medicina, não possui popularidade entre os cirurgiões dentistas<sup>2</sup>, e ainda hoje é uma realidade, embora muitos artigos científicos mostrem (com sucesso) o uso de selante de fibrina na odontologia. Estudos apontam a sua aplicabilidade em diversos segmentos como em exodontias de pacientes com distúrbios hemodinâmicos, enxertos de tecido mole, e enxertos ósseos<sup>54</sup>.

O SF foi usado para evitar sangramento pós exodontias em 135 pacientes com diferentes distúrbios hematogênicos; destes, apenas três. O SF foi eficaz para evitar sangramento em exodontias de pacientes com INR (International normalized ratio) variando de 1 a 5<sup>55</sup>.

---

A sutura convencional pode ser inconveniente por causar incompatibilidade com o material, levando à reação de corpo estranho, tecido de granulação e conseqüente fístula. Desta maneira, selantes teciduais podem efetivar a coaptção de bordas da ferida de forma menos traumática.

O uso de selante facilita adaptação, promove proteção em ambientes contaminados, facilita o manuseio, permite aproximação uniforme e facilita a homeostasia<sup>56</sup>. A cicatrização de exodontias em ratos tratados com sutura e SF foi avaliada por Yucell et al. (2003), sendo observado que a sutura levou a maior aderência de resíduos e presença de corpo estranho. A saliva não interferiu nas propriedades do selante viabilizando seu uso em procedimentos bucais potencialmente contaminados. O selante possui ótimos resultados em tecido mole, mas sua contribuição para cirurgias ósseas e periodontais ainda é controverso.

Hotz em 1991, avaliou em ratos a adição de SF à HA e observou que em comparação com o grupo controle, o selante de fibrina atrasou a integração da cerâmica em oito dias, e foi reabsorvido após duas semanas, seguido de intensa proliferação de tecido conectivo. O selante impediu o deslocamento e migração dos grânulos de HA, solidificando na posição e formato e melhorando a estabilidade dimensional do enxerto. Concluiu-se portanto, que, apesar do atraso da cicatrização, o uso do SF associado a HA foi benéfico.

O arcabouço ideal para a regeneração óssea deve promover indução dos tecidos circunvizinhos, permitir a presença de células e proteínas e induzir a formação óssea após a implantação. Deve ser biocompatível e possuir

---

resistência mecânica similar ao osso, ser biodegradável e esterilizável sem perder suas propriedades<sup>38</sup>.

O CEVAP (Centro de Estudos de Veneno e Animais Peçonhentos /UNESP-Botucatu) desenvolveu em 1989 um selante cujo fibrinogênio é derivado de animais de grande porte e uma proteína *trombina-like* derivada do veneno de cascavel em substituição a trombina bovina. Este novo produto é biocompatível, biodegradável com características de não conter sangue humano, não apresentar reações adversas, possuir uma boa capacidade adesiva. Não transmite doenças infecciosas humanas e pode ser usado como coadjuvante para suturas convencionais<sup>6</sup>.

Ferraro et al. (2005) estudaram o selante de fibrina derivado de peçonha de serpente (SFPS) em tendões de cães; optaram pelo uso deste modelo devido a sua superfície macia, ausência de irregularidades durante a cicatrização e melhora na reparação. Estes autores obtiveram resultados satisfatórios usando SFPS, que não promoveu uma adesão excessiva, facilitando a maturação da cicatrização do tendão.

O SFPS também foi testado para enxerto de pele em cães, eliminando o espaço morto, diminuindo o tempo cirúrgico, reduzindo a quantidade de sutura, e gerando, conseqüentemente, uma menor cicatriz. Histologicamente, o selante teve uma cicatrização mais rápida e menor formação de hematoma, provavelmente devido a sua característica hemostática<sup>58</sup>.

Na periodontia, o SFPS foi usado para fixar enxertos gengivais, sem a necessidade de suturas em 15 pacientes, que necessitavam de enxerto bilateralmente. Os pacientes relataram melhor pós operatório quando usado

---

SFPS, bem como o cirurgião que obteve um ganho de tempo cirúrgico, melhor hemostasia e menor retração pós operatoria<sup>5</sup>. Histologicamente, o grupo selante revelou uma maior migração de fibroblastos e maturação tecidual mais rápida, o que foi acompanhado clinicamente, especialmente na primeira semana<sup>7</sup>.

#### **2.4. FENESTRAÇÃO DA MEMBRANA DE SINUSAL**

O seio maxilar é revestido por uma mucosa respiratória similar a nasal, denominada membrana sinusal ou membrana de Schneiderian, composta por três camadas: o epitélio, a lâmina própria e o periósteo, totalizando uma espessura de 0,3mm a 0,8mm. O epitélio é pseudoestratificado ciliado, cuja função é remover bactérias e detritos da cavidade. A presença de células ciliadas varia entre 91.3% até 97.7%, batendo 1000 vezes por minuto, e em situação normal capaz de limpar o SM (seio maxilar) entre 10 e 30 minutos. Possuem também alguns vasos sanguíneos e células globulares aptas a produzir muco. A lâmina própria é uma camada de tecido conectivo com fibras elásticas e está intimamente ligada ao periósteo, e não apresenta forte ligação com o osso, facilitando seu deslocamento para o cirurgião<sup>9</sup>.

A elasticidade da membrana de Schneiderian (MS) com características normais, suporta uma força de 7.3N/mm<sup>2</sup> e pode ser alongada 132,6% bidimensionalmente e 124,7% tridimensionalmente (teste de perfuração com instrumento rombo)<sup>59</sup>. A espessura média é de 0,97 ± 0,36 podendo variar consideravelmente entre indivíduos<sup>60</sup>.

---

A saúde do seio maxilar depende de duas estruturas, ou seja, do óstio e da membrana sinusal. Caso ocorra uma falha em alguma dessas duas estruturas a capacidade do seio de remover o muco pode ser deficiente e causar uma sinusite tardia. Bravetti et al. (1998), estudaram a modificação na membrana sinusal após o enxerto de seio em cabras e observaram que as modificações que ocorreram na membrana foram em nível celular, mas não estrutural, mantendo a forma e a função da mesma. Não foram observadas desvantagens fisiológicas nem mesmo com a redução do espaço, entretanto, estes resultados só se aplicam em seios maxilares enxertados sem intercorrência, não se referindo a rupturas de membrana sinusal.

Srouji et al. (2010), demonstraram que as células da MS possuem fosfatase alcalina e osteocalcina. Assim, a camada mais profunda da membrana possui capacidade osteogênica, fato explicado em estudos em que a inserção de implantes ou levantamentos de seio maxilar sem biomateriais ocasionavam formação óssea.

A incidência de perfurações varia entre 20% a 44%, sendo a complicação mais comum em enxertos de seios maxilares. Até pequenas perfurações que podem passar despercebidas ao cirurgião podem causar problemas, embora possam naturalmente se aproximar e unir, se autotratando. Entre os fatores que levaram a ruptura da membrana estão: membrana fina (28%), septos ósseos (22%), cirurgias prévias (17%), adesão ao osso (17%), cicatrizes (11%) e cistos (5%)<sup>63</sup>.

Dentre as etapas cirúrgicas no enxerto ósseo de seio maxilar, seguem-se a preparação na janela óssea; o deslocamento inicial da membrana sinusal;

---

e a elevação da membrana para o interior do seio, sendo que todas possuem o mesmo risco de laceração da MS<sup>64</sup>. A lesão na MS foi classificada de acordo com sua localização, divididas em classe I, II, III, IV e V, dependente da etapa cirúrgica que ocorre a intercorrência<sup>65</sup>.

As lacerações grandes na membrana sinusal diferem, na literatura, em sua classificação e tratamento. Katranji et al. (2008), consideraram lacerações maiores que 2cm a 3 cm como grandes, já Becker et al. (2008), consideraram lacerações maiores que 1cm como grandes, abortando a cirurgia e reintervindo após seis meses com 100% de sucesso. Em alguns casos, quando há a necessidade de remoção de um cisto de retenção mucoso durante o enxerto no seio maxilar pode ser inevitável uma grande (+1,5cm) ou completa ruptura na MS.

As microlacerações após 31 meses resultaram em área de flugose e piora na função ciliar, sugerindo que esta área foi foco de infecção, apesar de não possuir características patológicas observadas em exame endoscópico. A membrana de colágeno não foi eficiente no tratamento de macrolacerações, permitindo o extravasamento de grânulos e consequente sinusite mesmo, que o paciente seja assintomático clinicamente<sup>66</sup>.

Alguns autores, entretanto, propuseram a reconstrução da MS através do uso de membranas e sua fixação por selantes de fibrina; Shin e Sohn 2005 reportaram um caso clínico em que foi usada uma membrana de colágeno humana e selante de fibrina (Greenplast<sup>®</sup>), resultando na formação óssea sem inflamação ou reação de corpo estranho após nove meses.

---

Estudo retrospectivo de 475 enxertos no seio maxilar resultou em 104 (25,15%) perfurações, sendo que destas, 56 foram consideradas pequenas, de até 5 mm, 28 médias com 5mm a 10 mm, e 20 grandes, com mais de 1cm. O trabalho apenas teve falhas nos casos em que houve perfurações no transoperatório, e o tamanho da perfuração foi proporcional à falha de implantes osseointegráveis. O autor com base no seu resultado correlaciona a perda de implantes com a perfuração na MS<sup>68</sup>.

Nolan et al. (2014), observou 41% de perfurações em 359 enxertos em seios maxilares, sendo que estas foram responsáveis por 70,8% do total de falhas. Dentre os enxertos que necessitaram de antibioticoterapia no pós-cirúrgico devido a sinusites, 85% possuíam perfurações no transoperatório. O autor não observou maior incidência de perfurações em relação com à idade do paciente sexo ou experiência do cirurgião. Este estudo mostra uma relação entre a laceração de MS e falha na integração dos implantes.

Perfurações classe I e classe II da MS, (menor que 2 mm e de 2 a 5mm respectivamente) apresentam bons prognósticos de tratamento. Proussaefs et al. (2004), no entanto sugerem a busca de novas técnicas ou outros biomateriais competentes na oclusão de membranas sinusais rompidas. O tipo de enxerto ósseo usado não tem relação com o sucesso ou não do reparo da perfuração<sup>21</sup> e sim a forma de seu tratamento.

Froum et al., em 2013, sugeriram o uso de duas membranas de colágeno para estabilizar os grânulos ósseos, gerando uma barreira a mais contra a invasão de tecido de granulação e proporcionando assim, melhor formação óssea nos casos de perfuração

---

Sullivan (1997) foi o primeiro autor a pesquisar uma reparação da MS com selante de fibrina, constatando que apesar de o material ser usado na medicina, os odontólogos não tinham o seu uso na rotina. Foram operados 10 pacientes com três pequenas perfurações e três de tamanho médio, todas tratadas com SF, resultando em apenas uma infecção resolvida com antibiótico empírico sem perda do enxerto.

Hallman et al. (2001) avaliaram grânulos de Bio-Oss<sup>®</sup> após seis meses da enxertia, associado a osso autógeno e selante de fibrina. Das 30 cirurgias realizadas, ocorreram nove perfurações da MS. Segundo o autor, o selante aderiu melhor às partículas, facilitando o manuseio e impedindo que estas eventualmente migrassem para o interior do seio maxilar em alguma perfuração. O tratamento da membrana sinusal rompida deve ser estritamente para conter os grânulos ósseos, entretanto a falha na sua correção é problemática<sup>10</sup>. Ainda que devidamente tratada alguns autores relatam maior incidência de perda de implantes e infecções nestes casos<sup>12</sup>.

Atualmente os coelhos têm se apresentado como uma boa alternativa de modelo experimental para enxertos ósseos, uma vez que seus seios maxilares são similares aos humanos<sup>28</sup>, e sua membrana sinusal possui uma grande quantidade de glândulas serosas. Estas facilitam a identificação de rupturas, pois após a lesão ocorre a formação de tecido conectivo ao invés das glândulas<sup>18</sup>.

Choi et al. (2006), compararam em cães a cicatrização de lesões de dois centímetros tratadas com selante de fibrina e membrana de colágeno. Após duas semanas, observaram uma melhor cicatrização no grupo selante

---

com menor inflamação e presença de fibrose comparado com o grupo membrana: clinicamente, o selante foi capaz de devolver a mobilidade da MS no trans-cirúrgico. Os autores mostraram que, apesar da membrana ser adequada, esta apresentou extensa formação de tecido fibroso na membrana sinusal. Em contrapartida, o selante promoveu melhor cicatrização, sendo resistente o suficiente para fechar a perfuração hermeticamente, com capacidade adesiva para resistir às forças elásticas provenientes da pressão aérea.

As pequenas perfurações, que possuem menos de 5 mm, são mais frequentes, possuem melhor prognóstico e facilidade de tratamento, entretanto a deficiência na sua correção tem um custo alto, que pode ser a necessidade de antibioticoterapia ou até falha do enxerto ósseo. A literatura possui poucos estudos comparativos nas opções de tratamento deixando a dúvida na melhor forma de lidar com estes casos.

### **3. PROPOSIÇÃO**

A literatura não possui um consenso sobre a capacidade do selante de fibrina promover a reparação óssea, havendo divergência entre estudos e protocolos cirúrgicos utilizados, gerando assim, resultados conflitantes. Também não foi encontrado na literatura nenhum trabalho de enxerto em seio maxilar com selante de fibrina e Bio-Oss<sup>®</sup>, utilizando o coelho como modelo experimental. Esta pesquisa visa esclarecer a capacidade de um selante de fibrina ainda em fase experimental com características únicas em promover a indução óssea, podendo significar mais uma alternativa no tratamento destas lesões.

Além disso, este trabalho também teve por objetivo comparar a reparação da membrana sinusal previamente rompida com selante de fibrina em comparação com a técnica mais adotada atualmente, ou seja, o uso de membrana de colágeno. Também não foram encontrados estudos que mostrem os acontecimentos histológicos envolvidos na reparação da MS em ambos os tratamentos e compare para o cirurgião adotar a abordagem mais vantajosa.

---

#### 4. REFERÊNCIAS

- [1] Dohan SL, Mouhyi AJJ., Dohan JDM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics.2006;101: e56–60.
- [2] Sullivan SM, Bulard RA, Meaders R, Patterson M. The use of fibrin adhesive in sinus lift procedures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997;48(6):616–9.
- [3] Lee H, Choi B, Jung J, Shi-Jiang Zhu, Lee S-H, Huh J-Y, et al. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103:329–33.
- [4] Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard M-O, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2006;101(3):e56–60.
- [5] Barbosa M, Gregh SLA, Passanezi E. Fibrin adhesive derived from snake venom in periodontal surgery. J Periodontol 2007 ;78(10):2026–31.
- [6] Barros LC, Ferreira RS Jr., Barravieira SRCS, Stolf HO, Thomazini-Santos , Mendes-Giannini MJS, Toscano E, Barraviera B. A new fibrin sealant from crotalus durissus terrificus venom: applications in medicine. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B.2009; 12:553 - 571.
-

- [7] Barbosa MDS, Stipp AC, Passanezi E, Gregh SL. Fibrin adhesive derived from snake venom in periodontal surgery. *T Appl Oral Sci.* 2008;16(5):310–5.
- [8] Katranji A, Fotek P, Wang H-L. Sinus augmentation complications: etiology and treatment. *Implant Dent.* 2008;17(3):339–49.
- [9] Pikos MA. Maxillary Sinus Membrane Repair: Update Complete Perforations. *Implant Dent.* 2008;17(1):24–31.
- [10] Wallace SS, Froum SJ, Tarnow DP. Use of Barrier Membranes in sinus augmentation. *Sinus Bone Graft*; 2<sup>a</sup> edição. Denver Colorado Quintessence Publishing. 2006. p. 229–39.
- [11] Proussaefs P, Lozada MSJ, Kim DDSJ, Rohrer MD. Repair of the Perforated Sinus Membrane with a Resorbable Collagen Membrane : A Human Study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2004;19(3):413–20.
- [12] Oh E, Kraut RA. Effect of Sinus Membrane Perforation on Dental Implant Integration: A Retrospective Study on 128 Patients. *Implant Dent.* 2011;20(1):13–9.
- [13] Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 1980;38:613-616.
- [14] Browaeys H, Bouvry P, Bruyn H De. A Literature Review on Biomaterials in Sinus. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2007;9(3):166–177.
-

[15] Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-fan. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* 2012;40(4):321–8.

[16] Anavi Y, Allon DM, Avishai G, Calderon S. Complications of maxillary sinus augmentations in a selective series of patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(1):34–38.

[17] Timmenga NM, Raghoobar GM, Boering G, Weissenbruch R. Maxillary sinus function after sinus lifts for the insertion of dental implants. *J. oral Maxillofac. Surg.* 1997 Sep;55(9):936–9

[18] Watanabe K, Niimi A, Ueda M. Autogenous bone grafts in the rabbit maxillary sinus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;88:26–32

[19] Asai S, Shimizu Y, Ooya K. Maxillary sinus augmentation model in rabbits: effect of occluded nasal ostium on new bone formation. *Clin. Oral Impl. Res.* 2002;13:405–9.

[20] Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M: Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res.* 17: 136e140, 2006.

[21] Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin. Oral Impl. Res.* 2009;20(Suppl4):124–33.

---

- [22] Kon K, Shiota M, Ozeki M, Yamashita Y, Kasugai S. Bone augmentation ability of autogenous bone graft particles with different sizes: a histological and micro-computed tomography study. *Clin. Oral Impl. Res.* 2009; 20:1240–1246
- [23] Schlegel KA, Schultze-mosgau S, Wiltfang J, Neukam FW, Rupprecht S, Thorwarth M. Changes of mineralization of free autogenous bone grafts used for sinus floor elevation. *Clin. Oral Impl. Res.* 2006;17:673–8.
- [24] Radosevich M, Goubran HA, Burnouf T. Fibrin Sealant: Scientific Rationale, Production Methods, Properties, and Current Clinical Use. *Vox Sang.* 1997;72:133–43.
- [25] Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, et al: Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and B-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19: 357-36.
- [26] Allegrini S, Yoshimoto M, Salles MB, Konig B. Bone Regeneration in Rabbit Sinus Lifting Associated with Bovine BMP. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.* 2003;68B:127–31.
- [27] Schlegel, A.K. & Donath, K. Bio-Oss – a reasorbable bone substitute? *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants.* 1998; 8: 201–209.
- [28] Sohn, D-S., Kim, W-S., Kim, W-S., An, K-M, Song, K-J., Lee, J-M., Mun, S-M.. Comparative Histomorphometric Analysis of Maxillary Sinus Augmentation With and Without Bone Grafting in Rabbit. *Implant Dentistry.* 2010;19:259–70.
-

[29] Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic Analysis of Clinical Biopsies Taken 6 Months and 3 Years after Maxillary Sinus Floor Augmentation with 80 % Bovine Hydroxyapatite. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2001;3(2):2001.

[30] Mordenfeld A, Hallman Ma, Johansson CB, Albrektsson T. Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone. *Clin. Oral Impl. Res.* 2010;21:961–71.

[31] Donizeti M, Soeiro L, Nunes DS, Victor R, Oliveira D, Andrade L, et al. Bovine hydroxyapatite (Bio-Oss ®) induces osteocalcin , RANK-L and osteoprotegerin expression in sinus lift of rabbits. *J. Cranio-Maxillofacial Surg;* 2012;40(8):e315–e320.

[32] Mooren RECM, Dankers ACA, Merx MAW, Bronkhorst EM, Jansen JA, Stoelinga PJW. The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing using a mixture of particulate autogenous cancellous bone and Bio-Oss®: an experimental study in goats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg. International Association of Oral and Maxillofacial Surgery;* 2010;39(4):371–8.

[33] Lambert F, Léonard A, Drion P, Sourice S, Pilet P, Rompen E. The effect of collagenated space filling materials in sinus bone augmentation: a study in rabbits. *Clin. Oral Implants Res.* 2013;24(5):505–11.

[34] Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Princípios de Cirurgia Bucomaxilofacial de Peterson* 1.Ed Editora Santos 2008.

---

- [35] Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis P V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011 Jan;66(9):1-10.
- [36] Vo TN, Kasper FK, Mikos AG. for Bone Regeneration. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(12):1292–309.
- [37] Ripamonti U. Soluble and insoluble signals sculpt osteogenesis in angiogenesis. *World J Biol Chem.* 2010 May 26;1(5):109–32
- [38] Heliotis M, Ripamonti U, Ferretti C, Kerawala C, Mantalaris A, Tsiridis E. Leading article The basic science of bone induction. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2009;47:511–4.
- [39] Le Guéhennec L, Layrolle P, Daculsi G. A review of bioceramics and fibrin sealant. *Eur. Cell. Mater*2004 Jan;8:1–10.
- [40] Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit ' s calvarial defects. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.*2013;41(8):191–200.
- [41] Hotz G. Alveolar ridge augmentation with hydroxylapatite using fibrin sealant for fixation. Part I: An experimental study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1991 Aug;20(4):204–7.
- [42] Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss A with bone tissue An experimental study in labrador dogs. *J Clin Periodontol.* 2002;29:377–83.
-

[43] Saffarzadeh A, Gauthier O, Bilban M, D'Arc MB, Daculsi G. Comparison of two bone substitute biomaterials consisting of a mixture of fibrin sealant (Tisseel) and MBCP t (TricOs) with an autograft in sinus lift surgery in sheep. *Clin. Oral Impl. Res.* 2009;9:1133–9.

[44] Le Nihouannen D, Guehenec L Le, Rouillon T, Pilet P, Bilban M, Layrolle P, et al. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27:2716–22.

[45] Buckley MJ, Beckman EJ. Adhesive Use in Oral and Maxillofacial Surgery. *Oral Maxillofac. Surg. Clin.* 2010;22(1):195–9.

[46] Guyton AC, Hall JE *Tratado de fisiologia médica.* 9. Ed. Madrid; Mc Graw-Hill Interamericana de España, 1996.

[47] Gürbüzer B, Pıkdöken L, Tunali M, Urhan M, Küçükodacı Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 68(5):980–9.

[48] Fattahi T, Mohan M, Caldwell GT. Clinical applications of fibrin sealants. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2004 Feb;62(2):218–24.

[49] Spotnitz WD. Fibrin sealant: past, present, and future: a brief review. *World J. Surg.* 2010;34(4):632–4.

[50] Colm S j. The Use of a Fibrin Sealant to Control Intraoperative Bleeding During a Le Fort 1 Osteotomy: Report of a Case. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54:1014–6.

---

[51] Soffer E, Ouhayoun JP, Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95:521–8.

[52] Ito S, Sc DM, Nagayama K, Iino N, Saito I, Takami Y. Frontal Sinus Repair with Free Autologous Bone Grafts and Fibrin Glue. *Surg Neurol.* 2003;60:155-8.

[53] Gaßling VLW, Açil Y, Springer IN, Hubert N, Jorg W. Platelet-rich Plasma and Platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(1):48–55.

[54] Rakocz M, Mazar A, Varon D, Spierer S, Blinder D, Maetinowitz U. Dental extractions in patients with bleeding disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;75(3): 280–282.

[55] Carter G, Goss A. Oral surgery; haemostasis: Tranexamic acid mouthwash versus autologous fibrin glue in patients taking warfarin undergoing dental extractions: a randomized prospective clinical study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:1432–5.

[56] Yucell EA, Oral O, Olgaç V, Oral CK. Effects of fibrin glue on wound healing in oral cavity. *J. Dent.* 2003;31:569–75.

[57] Ferraro GC, Moraes JRE, Pereira GT, Moraes FR, Bueno de Camargo MH. Clinical and morphological evaluation of snake venom derived of fibrin glue tendon healing in dogs. *J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis.* 2005;11:433–446.

[58] Rahal SC, Amaral MSP, Pai VD, Barraviera SRCS, Caporal EHG, Crocci AJ. Effect of fibrin glue derived from snake venom on the viability of autogenous split-thickness skin graft. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2004; 10: 161-72.

---

- [59] Pommer B, Unger E, Suto D, Hack N, Watzek G. Mechanical properties of the Schneiderian membrane in vitro. *Clin. Oral Impl. Res.* 2009;20:633–8.
- [60] Aimetti M, Massei G, Morra M, Cardesi DMDE, Romano F. Correlation Between Gingival Phenotype and Schneiderian Membrane Thickness. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008;23(6):2–7.
- [61] Bravetti P, Membre H, Marchal L, Jankowski R. Histologic changes in the sinus membrane after maxillary sinus augmentation in goats. *J Oral Maxillofac Surg* 1998;56:1170-6.
- [62] Srouji S, Lotan R, Riminucci M, Livne E, Bianco P. The innate osteogenic potential of the maxillary sinus ( Schneiderian ) membrane: an ectopic tissue transplant model simulating sinus lifting. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg. International Association of Oral and Maxillofacial Surgery;* 2010;39(8):793–801.
- [63] Becker ST, Terheyden H, Steinriede A, Behrens E, Springer I, Wiltfang J. Prospective observation of 41 perforations of the Schneiderian membrane during sinus floor elevation. *Clin. Oral Impl. Res.* 2008;19:1285–9.
- [64] Malkinson S, Irinakis T. The influence of interfering septa on the incidence of Schneiderian membrane perforations during maxillary sinus elevation surgery: a retrospective study of 52 consecutive lateral window procedures. *Oral Surg.* 2009;2:19–25.
- [65] Vlassis JM, Fugazzotto PA. Commentary A Classification System for Sinus Membrane Perforations. *J Periodontol.* 1999;70(6):692–9.
-

[66] Aimetti M, Romagnoli R, Ricci G, Massei G. Maxillary Sinus Elevation : The Effect of Macrolacerations and Microlacerations of the Sinus Membrane as Determined by Endoscopy. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001;21(6):581–9.

[67] Shin H, Sohn D. A Method of Sealing Perforated Sinus Membrane and Histologic Finding of Bone Substitutes: A Case Report. *Implant Dent.* 2005;14(4):328–35.

[68] Hernández-Alfaro F, Torradeflot MM, Marti C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Jan;19(1):91–8.

[69] Nolan PJ, Freeman K, Kraut RA. Correlation Between Schneiderian Membrane Perforation and Sinus Lift Graft Outcome : A Retrospective Evaluation of 359 Augmented Sinus. *J Oral Maxillofac Surg;* 2014;72(1):47–52.

[70] Froum SJ, Khouly I, Favero G, Cho S-C. Effect of maxillary sinus membrane perforation on vital bone formation and implant survival: a retrospective study. *J Periodontol.* 2013 Aug;84(8):1094–9.

[71] Hallman M, Cederlund A, Lindskog S, Lundgren S, Sennerby L. A clinical histologic study of bovine hydroxyapatite in combination with autogenous bone and fibrin glue for maxillary sinus floor augmentation. *Clin. Oral Impl. Res.* 2001;12:135–43.

[72] Choi B, Zhu S, Jung J, Lee S-H, Huh J-Y. The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during sinus lifts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(2):150–4.

---

## *Capítulo 2 - Manuscrito*

---

## **Histological findings in sinus membrane repair with fibrin sealant and collagen membrane in rabbits**

**Background:** O enxerto no seio maxilar pode causar perfuração na membrana sinusal, o que pode levar a falha no enxerto. Esta fenestração pode ser tratada com membrana de colágeno reabsorvível ou selante de fibrina. **Objetivo:** Este estudo visa avaliar a eficácia de um novo selante de fibrina e comparar com a membrana de colágeno na reparação de lesões na membrana sinusal de coelhos. **Metodologia:** Após o acesso cirúrgico bilateralmente em 16 coelhos adultos machos nova Zelândia, uma laceração de (0,4cm ) foi realizada em ambos os seios e tratadas com membrana de colágeno e selante de fibrina. Os animais foram eutanasiados e uma avaliação histológica realizada aos 3, 7 14 e 30 dias. **Resultados:** Ambos os tratamentos mostraram epitélio ciliado na região da perfuração aos 30 dias. A membrana sinusal foi totalmente reparada, sendo difícil a localização da lesão inicial. **Conclusão:** Nossos resultados que o uso do selante de fibrina a base de veneno de serpente, foi uma excelente alternativa para tratar pequenas lacerações.

**Keywords:** Sinus lift, Selante de Fibrina, Membrana sinusal e Membrana de Colageno.

---

## 1. INTRODUÇÃO

A técnica de levantamento de seio (*Sinus lift*) é amplamente utilizado na reconstrução da estrutura (altura) óssea posterior da maxilar permitindo a reabilitação mastigatória do paciente com implantes osseointegráveis<sup>1,2,3</sup>. No entanto, a laceração da membrana sinusal é uma intercorrência comum<sup>4</sup> (11 a 44%) e pode levar o cirurgião a suspender o procedimento<sup>5,6</sup>.

A perfuração da MS, além de comunicar o enxerto ósseo com a cavidade sinusal potencialmente contaminada, pode levar a migração dos grânulos ósseos para esta cavidade, causando sinusopatia (sinusite), acarretando perda de volume do enxerto<sup>7,8</sup>. Assim, o principal objetivo na reparação da MS é conter os grânulos no interior da área enxertada<sup>6</sup>.

A perfuração da membrana sinusal (MSMP) pode ocorrer durante a confecção da janela lateral no deslocamento da membrana sinusal e sua elevação para o interior do seio<sup>9</sup>. Apesar da habilidade do cirurgião, a presença de cistos, cicatrizes, afinamento da membrana, adesão com o tecido ósseo, e presença de septos ósseos podem levar a perfurações durante o descolamento da MS<sup>6</sup>.

Nolan et al, (2014), avaliaram retrospectivamente 359 seios maxilares e observaram falha na osteointegração do enxerto em 6,7%, sendo que, 70,8% apresentaram perfuração durante a cirurgia. Concluíram que, esta perfuração aumenta estatisticamente a incidência de sinusite e subsequente falha no enxerto.

---

Lacerações na membrana sinusal de até 2 mm podem passar despercebidas pelo cirurgião, sendo normalmente autotratadas pelo próprio descolamento<sup>8,11,12</sup>. Já as de 10 mm ou maiores, podem representar risco ao enxerto, sendo indicado a suspensão da cirurgia e reintervenção após 6 meses<sup>4</sup>.

A interposição da ruptura com uma membrana de colágeno reabsorvível é amplamente utilizada no seu tratamento<sup>7,8,13</sup>. O uso de selante de fibrina vem sendo avaliado para aproximar as bordas da ferida, com resultados satisfatórios e promissores<sup>14,15,16</sup>.

Há poucos estudos que esclareçam os acontecimentos histológicos no tratamento de lacerações consideradas pequenas ou médias, apesar destas serem as mais frequentes e ainda que imperceptíveis, podem levar a riscos para o enxerto ósseo<sup>6</sup>. O conhecimento destes eventos pode auxiliar a comunidade científica a melhor entender porque a laceração da MS promove maior incidência de complicações no pós-operatório dos enxertos ósseos. O presente estudo avaliou os eventos histológicos envolvidos na reparação da membrana sinusal de coelhos com lacerações médias tratadas com um novo selante de fibrina derivado de peçonha de serpente comparando-as com aquelas tratadas com membrana de colágeno.

---

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Todo procedimento realizado neste estudo seguiu os princípios éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, CEEA 890-2011.

Foram avaliados bilateralmente, os seios maxilares de 16 coelhos Nova Zelândia pesando aproximadamente 3,5 kg com 6 meses de idade, que foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de quatro animais cada, avaliados nos tempos de 3; 7; 14 e 30 dias respectivamente. A indução e a manutenção anestésica foi realizada com uma associação de cloridrato de ketamina (Agener União, Brasil), cloridrato de xilazina (Agener União, Brasil), e acepromazina (Univet, Brasil), na doses de 35mg/kg, 5 mg/kg e 0,75 mg/kg respectivamente, por via intramuscular. Iniciada a manutenção anestésica, foi realizado bloqueio anestésico no local da incisão, utilizando-se mepivacaína 3% com adrenalina 1:100000 (DFL, Brasil). Profilaticamente, enrofloxacino 5mg /kg por via subcutânea por mais 3 dias a cada 24 horas, e Flunixin meglumini (Schering-Plough, Brasil) 1 mg/kg por via intramuscular, duas vezes ao dia por 3 dias foram utilizados

O Selante de Fibrina derivado de veneno de serpente (SFVS) foi produzido e gentilmente cedido pelo Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da Universidade Estadual Paulista, Brasil.

---

## 2.1. ENXERTO NO SEIO MAXILAR

Para a realização do enxerto ósseo, foi efetuada uma incisão na linha média da calota craniana do animal, de 25 mm, rebatendo-se o periósteo, para a exposição do osso nasal e maxilar. A parede superior do seio maxilar foi removido com broca (número 6) diamantada sob irrigação abundante de solução fisiológica. Um leve descolamento da membrana sinusal foi realizado, certificando-se em todos os casos, a ausência de laceração ou de defeito na membrana sinusal<sup>17</sup>.

O defeito da SM foi causado por uma incisão de 4 mm com auxílio de uma lâmina de bisturi número 11 na região mais central, em ambos os antímeros (Figura 1), cessando os movimentos aéreos da MS. Posteriormente, o antímero esquerdo foi tratado com membrana de colágeno CollaTape® (Zimmer Dental, Carisband CA). No antímero direito, as bordas foram aproximadas com pinças oftálmicas Colibri e utilizado o SFSV, com a finalidade correção da lesão crítica. Após 30 segundos, as pinças foram retiradas e observou-se o fechamento da lesão crítica da membrana sinusal. Ambos os antímeros tratados receberam enxerto ósseo com Bio-Oss® (Geistlich Pharma, Wolhusen, Suíça) e posterior sutura das camadas musculares e pele.

## 2.2. PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Os animais foram eutanasiados aos 3, 7, 14 e 30 dias, utilizando-se sobredose anestésica da associação de cloridrato de ketamina (Agener União, Brasil), cloridrato de xilazina (Agener União, Brasil), e acepromazina (Univet, Brasil), nas doses de 35mg/kg, 5 mg/kg e 0,75 mg/kg respectivamente, por via

---

intravenosa. As regiões do seio maxilar contendo o enxerto ósseo e sua respectiva membrana sinusal foram coletadas e posteriormente fixadas em formalina tamponada a 10%, descalcificados em ácido nítrico 10% e processados pelas técnicas histológicas usuais de desidratação, diafanização e inclusão em parafina, cortados com espessura máxima de 4 micrômetros, e corados pela Hematoxilina-Eosina para estudo em microscopia de luz.

As imagens das lâminas histológicas dos fragmentos foram digitalizadas utilizando-se microscópio Trinocular “Axio Lab.A1”, com iluminação transmitida 35 watts para o campo claro com câmera digital científica colorida AxioCamERc 5.8 (Carl Zeiss®).



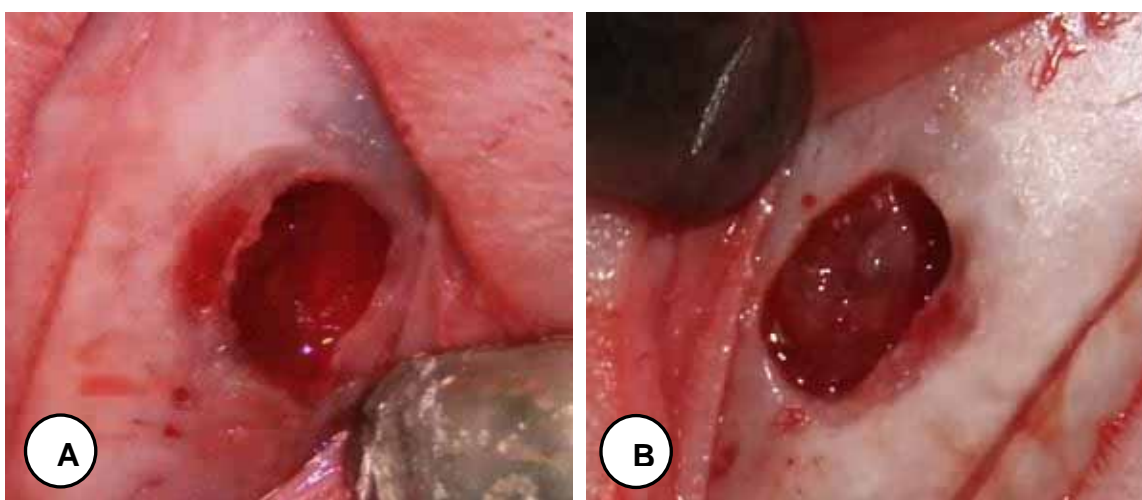
**Figura1:** Coelho de 6 meses. Exposição cirúrgica do osso nasal e sutura naso-incisal evidenciando as osteotomias bilaterais com rompimento das respectivas membranas sinusais.

### 3. RESULTADOS

Em nenhum animal houve complicações durante os procedimentos pré, trans e pós-cirúrgicos, sem sinais de dor ou edema significativo.

No antímero esquerdo, logo após a interposição da lesão crítica provocada e tratada com a membrana de colágeno CollaTape<sup>®</sup>, houve o fechamento da lesão, permitindo a colocação do enxerto ósseo Bio-Oss<sup>®</sup> no seio maxilar, sem extravasamento para a cavidade sinusal (Figura 2A).

No antímero direito foi observado que, logo após a aplicação do selante de fibrina, foram necessários 30 segundos para a ação do selante, produzindo uma rápida adesão das bordas da lesão crítica, verificada após a soltura das pinças utilizadas no procedimento, permitindo a colocação do enxerto ósseo Bio-Oss<sup>®</sup> no seio maxilar, sem extravasamento para a cavidade sinusal (Figura 2B).



**Figura 2:** Correção da lesão crítica na MS em seio maxilar de coelho de 6 meses. **(A)** Uso de membrana de colágeno no antímero esquerdo do osso nasal. **(B)** Uso do novo selante de fibrina derivado de peçonha de serpente no antímero direito.

Aos 3 dias, no antímero direito (Figura 3A), observou-se uma íntima aproximação das bordas da ferida cirúrgica. No antímero esquerdo (Figura 3B) foi observado a ruptura da membrana sinusal com a lesão cirúrgica crítica obstruída pela membrana de colágeno (MC). Em ambos os lados, observou-se que os grânulos de BHA apresentaram-se contidos dentro do seio com um discreto infiltrado inflamatório apresentando majoritariamente macrófagos e neutrófilos.

Aos 7 dias, no antímero direito foi observado a presença de tecido delgado com 3 a 5 camadas fibroblastoides reparando a lesão. Além disso, apresentava infiltrado inflamatório discreto a moderado, com predomínio de macrófagos com presença de neutrófilos e células multinucleadas (Figura 3C). No antímero esquerdo a MS apresentou uma íntima adesão à MC com presença discreta a moderada de tecido de granulação. Superficialmente na lesão crítica, apresentava tecido conjuntivo imaturo e delicado, de cinco a seis camadas de células fibroblastoides, com características distintas a encontradas no tecido de granulação adjacente com discreto infiltrado histiocitário. (Figura 3D).

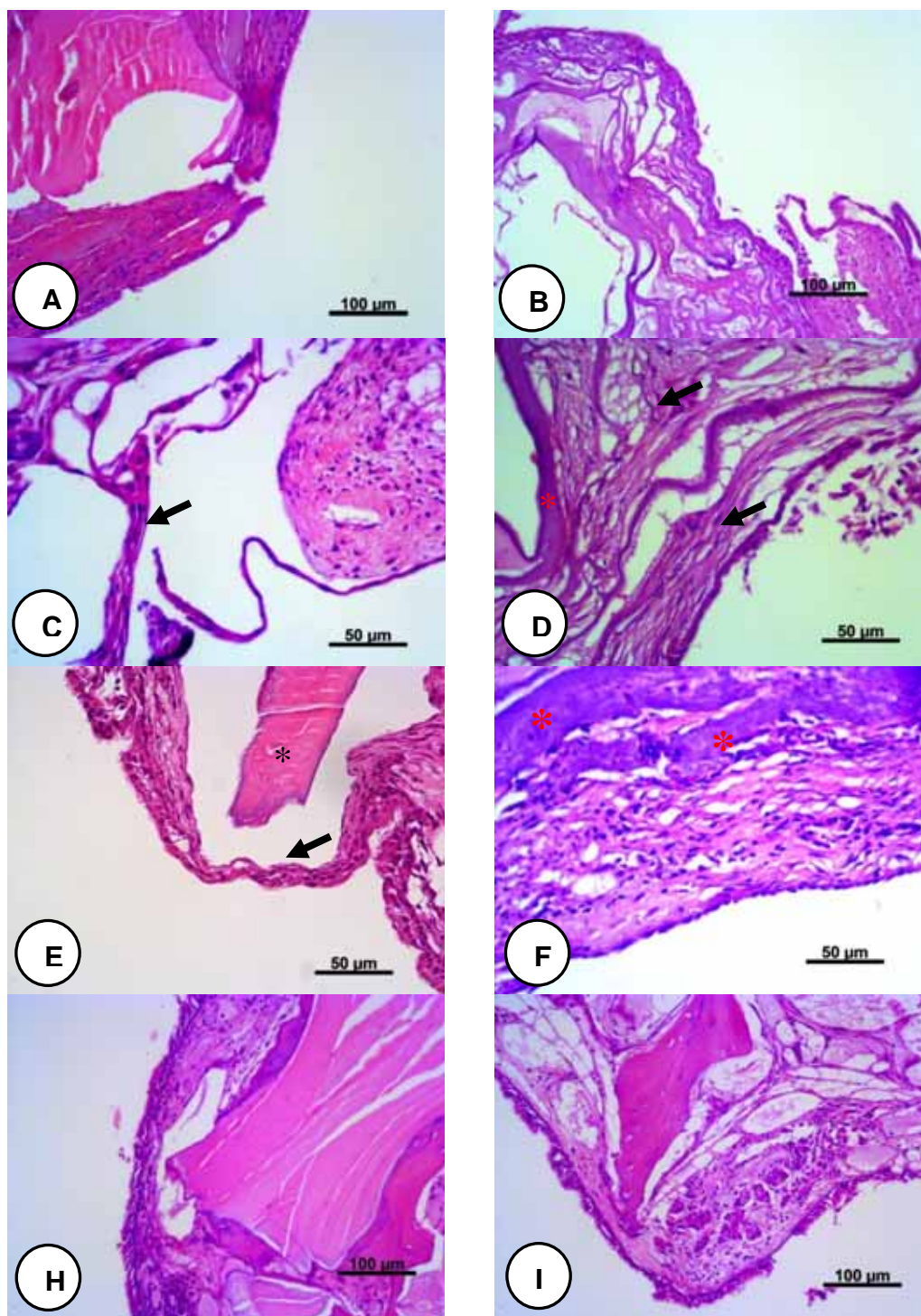
Aos 14 dias, no antímero direito observou-se tecido conjuntivo similar àquele encontrado aos 7 dias, entretanto as células apresentaram padrão diferente com núcleos arredondados sugerindo menor diferenciação celular. O tecido subjacente e próximo a ferida apresentou-se mais organizado, com ausência ou discreta presença de infiltrado de células inflamatórias (Figura 3E). No antímero esquerdo, a MC apresentava células fibroblastóides em toda sua extensão, sendo degradada e substituída por matriz de colágeno, embora

---

ainda, podendo ser observado seu remanescente em abundância. A camada superficial apresentou semelhante àquela observada aos 7 dias, porém mais organizado e sem sinal de inflamação. Também foi observado presença multifocal e coalescente de forma moderada de osso jovem, entre a MC e a membrana sinusal (Figura 3F).

Aos 30 dias de observação, ambos os antímeros apresentaram a membrana sinusal totalmente reparada, sendo difícil precisar o local exato da ferida cirúrgica. No antímero direito os grânulos apresentavam-se mais próximos da membrana sinusal, o epitélio ciliado se apresentou contínuo com glândulas serosas, e discreto infiltrado inflamatório linfo-histocitário (Figura 3G). No antímero esquerdo, foi observado continuidade do tecido sem sinais de inflamação e presença de epitélio ciliado e glândulas serosas, A MC foi quase completamente degradada, ainda deixando algumas áreas com remanescente, ainda com distanciamento entre os grânulos de Bio-Oss® e a MS (Figura 3H).

---



**Figura 3:** Reparo de lesão crítica da MS em seio maxilar de coelho de 6 meses. (A): Lesão crítica aproximada com SFPS. Antímero direito. 3 dias pós-cirúrgico. HE. 200X. (B): Interposição da ferida por Collatape<sup>®</sup>. Antímero esquerdo. 3 dias pós-cirúrgico. HE. 200X. (C): Fina camada de células fusiformes (→) obstruindo lesão. Antímero direito. 7 dias pós-cirúrgico. HE. 400X. (D): Tecido fibroblástico (→) entremeado pela MC (\*) em degradação. Antímero esquerdo. 7 dias pós-cirúrgico. HE. 400X. (E): Aumento de células fibroblásticas (→) na lesão crítica da MS ao redor dos grânulos de Bio-Oss<sup>®</sup> (\*). Antímero direito. 14 dias pós-cirúrgico. HE. 400X. (F): Tecido de granulação com degradação avançada da MC (\*). Antímero esquerdo. 14 dias pós-cirúrgico. HE. 400X. (G) e (H): Reparo consolidado em ambos os antímeros. 30 dias pós-cirúrgico. HE. 200X.

## 4. DISCUSSÃO

O reparo da membrana sinusal tem por objetivo conter fisicamente os grânulos de enxerto de migrarem para a cavidade sinusal e promoverem sinusite, seguida de infecção e perda do implante dentário<sup>2, 18 19</sup>. Desta forma, neste trabalho o novo selante de fibrina derivado de veneno de serpente foi comparado com a técnica mais utilizada atualmente para se efetuar esta contenção física. Este selante de fibrina tem sido amplamente avaliado, em diferentes tecidos, com excelentes resultados sem seres humanos e animais, pois promove a quimiotaxia celular e angiogênese, além de atuar como um scaffold tridimensional biodegradável<sup>20, 21 22</sup>.

A técnica experimental descrita por Asai et al. 2002 mostrou-se eficiente, sendo modificada para a possibilitar o rompimento da membrana sinusal e posterior avaliação de seu reparo. Nesta técnica, o material ósseo inserido superiormente a ruptura, exerce pressão positiva de forma constante sob a lesão crítica em função da força gravitacional, fato que não é observado em primatas devido a postura ereta.

O uso de Selante de Fibrina para a correção de lesão da membrana sinusal, devido ao fato de promover a união das bordas da lesão, evita a migração de grânulos ósseos para dentro do seio<sup>14,23</sup>. No caso da MC, com a acomodação do enxerto ósseo, pequenos extravasamentos podem ocorrer durante a manipulação<sup>8</sup>, pois a lesão ainda continua aberta. Nolan et al., (2014), demonstraram em estudo retrospectivo em seres humanos, que mesmo devidamente tratadas com membrana de colágeno reabsorvível, o surgimento da lesão na MS pode levar a maior incidência de complicações pós cirúrgicas,

---

falha nos implantes e conseqüentemente piora no prognóstico. De acordo com Proussaefs et al., (2004), acredita-se que a exposição do enxerto ósseo à cavidade sinusal contaminada, resulte na penetração de muco e bactérias na cavidade sinusal através da lesão da MS.

Neste estudo, observou-se que ambos os tratamentos foram capazes de obstruir a passagem de material enxertado do seio maxilar para a cavidade sinusal. Os enxertos que utilizaram o selante de fibrina derivado de peçonha de serpente proporcionaram a eficiente aproximação das bordas da lesão. Esta coaptação possibilitou a cicatrização por primeira intenção, potencialmente reduzindo a presença de agentes contaminantes para o interior do enxerto. A membrana sinusal é formada por três camadas a saber: a epitelial, contendo uma única camada de células colunares ciliadas, a lâmina própria que apresenta muitas glândulas serosas<sup>18</sup> e o periósteo, que é um tecido conectivo com fibras elásticas, e potencial de osteoindução<sup>24</sup>.

Na cicatrização do grupo que utilizou a MC, observou-se aos três e aos sete dias, que a MC foi colonizada por células do conjuntivo, sendo gradativamente absorvida e substituída por um tecido de granulação, preparando a região para a sua cicatrização. O selante de fibrina devido a aproximação inicial das bordas proporcionou inicialmente o reparo do epitélio para posterior resolução do processo cicatricial. Assim, não houve diferença no tempo de regeneração da camada epitelial, em ambos os casos.

Aos 14 dias de avaliação ambos os grupos apresentaram maturação celular no processo cicatricial comparada aos 7 dias ainda com ausência de células ciliadas e glândulas serosas.

---

Choi et al., (2006), compararam em cães o tratamento com selante de fibrina autólogo e com membrana de colágeno (MC) em lacerações de 2 cm. Em tratamentos com MC, aos 14 dias, observaram maior inflamação, fibrose e ausência de epitélio, sendo que a melhor cicatrização foi observada no grupo com uso de selante de fibrina autólogo.

As macrolacerações representam uma contra indicação para o uso de membranas de colágeno reabsorvíveis isoladas, pois permitem o deslocamento do enxerto e a migração de material para o seio maxilar<sup>5</sup> entretanto foi reportado seu uso em macrolacerações associados com tachas<sup>18</sup> e selante de fibrina. Desta maneira, o tamanho da laceração influencia diretamente no processo cicatricial da MS.

Hernandez-Alfaro, et al. (2008) avaliaram diferentes tamanhos de lacerações em estudo retrospectivo em humanos para verificação do sucesso de implantes ósseo-integráveis. Observaram o sucesso do implante tem relação direta com o tamanho da laceração da MS.

Aos 30 dias observou-se completa reparação tecidual com presença de cílios e glândulas serosas em ambos os grupos, apresentando padrão de cicatrização semelhante. A capacidade ciliar do seio é importante para manter sua fisiologia. Caso haja a falha desta estrutura a capacidade de remover muco pode ser comprometida e resultar em sinusite tardia<sup>25</sup>.

Nossos resultados corroboram Melgarejo-Moreno et al. 2004, pois estes mostraram que em grandes lesões na mucosa sinusal leva a deficiência no aparato mucociliar enquanto lesões menores levam a regeneração e reparação cicatricial total.

---

O uso da MC no reparo de MS está amplamente difundido pela facilidade de aplicação, custo e eficiência no tratamento. Alguns autores defendem o uso da membrana reabsorvível mesmo que nenhuma laceração tenha sido diagnosticada para criar uma barreira adicional e prevenir eventuais microlacerções<sup>27</sup>.

O selante de fibrina disponível atualmente, por sua vez, é caro e pouco acessível, apesar de apresentar excelentes resultados<sup>28</sup>. Como alternativa, alguns autores sugerem o uso do selante de fibrina autólogo<sup>14,15</sup>. Este possui menor custo, no entanto possui o inconveniente da necessidade de preparo prévio para a sua utilização. É sabido que, a laceração da MS é uma intercorrência cirúrgica, podendo muitas vezes não ser antecipada, inviabilizando o seu uso<sup>29</sup>. Diante disso, o novo selante de fibrina utilizado, por ser heterólogo e de baixo custo de produção, possui algumas vantagens.

Por fim, este estudo mostrou um novo protocolo cirúrgico em coelhos para estudar reparação de MS comparando duas formas eficazes de tratamento. O uso do novo selante de fibrina obteve resultados semelhantes à MC, podendo assim se apresentar como uma excelente alternativa, para lacerações mais extensas de membrana sinusal.

---

## 5. REFERÊNCIAS

- [1] Aimetti M, Massei G, Morra M, Cardesi DMDE, Romano F. Correlation Between Gingival Phenotype and Schneiderian Membrane Thickness. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23(6):2–7.
- [2] Oh E, Kraut RA. Effect of Sinus Membrane Perforation on Dental Implant Integration: A Retrospective Study on 128 Patients. *Implant Dent* 2011;20(1):13–9.
- [3] Kolerman R, Tal H, Moses O. Histomorphometric Analysis of Newly Formed Bone After Maxillary Sinus. *J Periodontol.* 2008;79(11):21–3.
- [4] Proussaefs P, Lozada MSJ, Kim DDSJ, Rohrer MD. Repair of the Perforated Sinus Membrane with a Resorbable Collagen Membrane : A Human Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(3):413–20.
- [5] Aimetti M, Romagnoli R, Ricci, Massei G. Maxillary sinus elevation: the effect of macrolacerations and microlacerations of the sinus membrane as determined by endoscopy. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 2001;21:581–589.
- [6] Becker ST, Terheyden H, Steinriede A, Behrens E, Springer I, Wiltfang J. Prospective observation of 41 perforations of the Schneiderian membrane during sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res* 2008 Dec;19(12):1285–9.
- [7] Katranji A, Fotek P, Wang H-L. Sinus augmentation complications: etiology and treatment. *Implant Dent.* 2008 Sep ;17(3):339–49.
-

- [8] Wallace SS, Froum SJ, Tarnow DP. Use of barrier membranes in sinus augmentation. In: Jensen O, editor: *The Sinus Bone Graft*, 2nd edition. Chicago, IL: Quintessence, 2006:229–39
- [9] Malkinson S, Irinakis T. The influence of interfering septa on the incidence of Schneiderian membrane perforations during maxillary sinus elevation surgery: a retrospective study of 52 consecutive lateral window procedures. *Oral Surg* 2009;2:19–25.
- [10] Nolan PJ, Freeman K, Kraut RA. Correlation Between Schneiderian Membrane Perforation and Sinus Lift Graft Outcome: A Retrospective Evaluation of 359 Augmented Sinus. *J Oral Maxillofac Surg* 2014;72(1):47–52.
- [11] Ardekian L, Oved-peleg E, Mactei EE, Peled M. The Clinical Significance of Sinus Membrane Perforation During. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:277–82.
- [12] Hernandez-Alfaro F, Torradeflot MM, Marti C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. *Clin Oral Impl Res.* 2008;19:91–8.
- [13] Vazquez JCM, Rivera A De, Gil HS, Mifsut RS. Complication Rate in 200 Consecutive Sinus Lift Procedures : Guidelines for Prevention and Treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72:892–901.
- [14] Sullivan SM, Bulard RA, Meaders R, Patterson M. The use of fibrin adhesive in sinus lift procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;48(6):616–9.
-

- [15] Choi B, Zhu S, Jung J, Lee S-H, Huh J-Y. The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during sinus lifts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:150-4. 2006;101(2):150–4.
- [16] Anavi Y, Allon DM, Avishai G, Calderon S. Complications of maxillary sinus augmentations in a selective series of patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(1):34–8.
- [17] Asai S, Shimizu Y, Ooya K. Maxillary sinus augmentation model in rabbits : effect of occluded nasal ostium on new bone formation. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:405–9.
- [18] Pikos MA. Maxillary Sinus Membrane Repair: Update Complete Perforations. *Implant Dent* 2008;17(1):24–31.
- [19] Pommer B, Unger E, Suto D, Hack N, Watzek G. Mechanical properties of the Schneiderian membrane in vitro. *Clin. Oral Impl. Res* 2009;20:633–8.
- [20] Gasparotto VP, Landim-Alvarenga FC, Oliveira AL, Simões GF, Lima-Neto JF, Barraviera, Ferreira-Jr RS. A new fibrin sealant as a three-dimensional scaffold candidate for mesenchymal stem cells *Stem Cell Research & Therapy* 2014; 5(3):78.
- [21] Barros LC, Ferreira RS Jr., Barravieira SRCS ,et al. A new fibrin sealant from crotalus durissus terrificus venom: applications in medicine. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 2009; 12:553 - 571.
- [22] Barbosa M, Gregh SLA, Passanezi E. Fibrin adhesive derived from snake venom in periodontal surgery. *J Periodontol* 2007 Oct;78(10):2026–31.
-

[23] Hassani A, Motamedi MHK, Saadat S, Moshiri R, Shahmirzadi S. Novel Technique to Repair Maxillary Sinus Membrane Perforations During Sinus Lifting. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70(11):e592–e597.

[24] Srouji S, Lotan R, Riminucci M, Livne E, Bianco P. The innate osteogenic potential of the maxillary sinus ( Schneiderian ) membrane: an ectopic tissue transplant model simulating sinus lifting. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg. International Association of Oral and Maxillofacial Surgery*; 2010;39(8):793–801.

[25] Bravetti P, Membre H, Marchal L, Jankowski R. Histologic changes in the sinus membrane after maxillary sinus augmentation in goats. *J Oral Maxillofac Surg* 1998;56:1170-6.

[26] Melgarejo-Moreno PJ, Hellin-Meseguer D, Galindo-Ortego J, Changes of Submucosal Glands and Globet Cells after Maxillary Sinus Surgery in Rabbits *Otolaryngology -- Head and Neck Surgery* 2004; 131: 195.

[27] Kolerman R, Tal H, Moses O. Histomorphometric Analysis of Newly Formed Bone After Maxillary Sinus. *J Periodontol* 2008;79(11):21–3.

[28] Fattahi T, Mohan M, Caldwell GT. Clinical applications of fibrin sealants. *J Oral Maxillofac Surg* 2004 Feb;62(2):218–24.

[29] Le Nihouannen D, Guehenec L Le, Rouillon T, et al. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006;27:2716–22.

---

*Anexos*

---

## Instructions to Authors

Updated January 2013

*This update removes the Case Reports section, as the Journal is no longer accepting these papers. Authors are encouraged to submit Case Reports to Clinical Advances in Periodontics. Figure guidelines have been replaced with a more extensive guide. Please see the Journal of Periodontology Digital Art Guidelines for more information. Other revisions and important items are highlighted in boldface type.*

Please see page 8 for requirements when submitting clinical trials to the *Journal of Periodontology*.

### CONTENT

The *Journal of Periodontology* publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

### MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the *Journal of Periodontology* should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format.

All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

### ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

#### Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

### Abstract

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- \* **Background:** Describes the problem being addressed.
- \* **Methods:** Describes how the study was performed.
- \* **Results:** Describes the primary results.
- \* **Conclusion(s):** Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

### Introduction

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

### Materials and Methods

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

### Results

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and supplemental material as appropriate.

### Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

### REVIEW ARTICLES

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. Authors should discuss clinical relevance and the impact on future understanding and practice. The review should be

## Instructions to Authors

based on a critical assessment of the literature and should use the format and methods of a "systematic review." Detailed descriptions of the systematic review methodology are available in the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*.<sup>1</sup> There are many excellent published examples of systematic reviews, including "Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-Analysis" by Humphrey et al.<sup>2</sup>

Authors of systematic reviews that include a meta-analysis should refer to the QUOROM statement.<sup>3</sup> Authors of systematic reviews without meta-analysis should refer to the reviews edited by Cook et al.<sup>4</sup> and Mulrow et al.<sup>5</sup>

1. Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* [serial on the Internet]. September 2008; version 5.0.1. Available at: [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org).
2. Humphrey L, Fu R, Buckley D, Freeman M, Helfand M. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: A systematic review and meta-analysis. *J Gen Intern Med* 2008;23:2079-2086.
3. Moher D, Cook D, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup D. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomized controlled trials: The QUOROM statement. *Lancet* 1999;354:1896-1900.
4. Cook D, Mulrow C, Haynes R. Systematic reviews: Synthesis of best evidence for clinical decisions. *Ann Intern Med* 1997;126:376-380.
5. Mulrow C, Langhorne P, Grimshaw J. Integrating heterogeneous pieces of evidence in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997;127:989-995.

### Format

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less. Systematic review articles should: define a clear and clinically relevant research question; retrieve and describe the limitations of previously published reviews on this topic; and justify the need for a systematic review. The review should then define the search strategy used to identify primary articles; describe the methods used to select primary studies; specify inclusion and exclusion criteria (criteria for selecting primary studies should be based on population studied, intervention or exposure, study outcomes, and study methodology); perform a blinded assessment of the quality of the selected articles; describe the reliability of this process in terms of agreement between two evaluators; account for all

studies identified by the search and justify exclusions; state their conclusions; compare their conclusions to the literature and current standard of care; outline the limitations of the review; and suggest areas for future research.

Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Tables and figures should be limited to those essential to convey the results of the review, and the total combined number of tables and figures should not exceed six. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should disclose financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

### COMMENTARIES

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentaries should be concise (2,000 to 3,000 words); however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused. Appropriate references should be cited.

### Format

#### Introduction

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

#### Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated.

#### Summary

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

#### Acknowledgment(s)

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

## Instructions to Authors

### CASE SERIES

*The Journal of Periodontology no longer publishes Case Reports. Authors are encouraged to submit Case Reports to Clinical Advances in Periodontics.* The *Journal of Periodontology* publishes selected Case Series that describe unusual case presentations, complex diagnoses, and novel approaches to treatment within the scope of practice of periodontology. These Case Series provide valuable information for clinicians and teachers in the field.

Case Series report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed Case Series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

The requirements for patient consent, privacy, and institutional approval are well defined for manuscripts describing research on human subjects. These basic requirements are described by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in their Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (available at: [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) and are interpreted in the instructions to authors of all peer-reviewed biomedical journals, including the *Journal of Periodontology*.

Due to the changing ethical and legal environment around the use of patient information, the editorial team has received multiple questions about the need for subject consent from patients described in Case Series submitted for publication.

The following applies to most Case Series. It should be noted that the Editors will determine whether specific Case Series require additional approvals beyond what is described below.

#### **Requirement for Ethics Board Approval**

Most Case Series are a retrospective description of clinical findings in cases or an observed course of events that document a new aspect of patient management during the normal course of clinical treatment.

Since there is no hypothesis testing, no systematic data collection beyond that which is part of routine clinical practice, no data analysis, and the work has already been done, Case Series do not usually qualify as "research" requiring approval from ethical boards designed to protect humans involved in clinical research.

(U.S. Fed. definition: "RESEARCH is any systematic investigation, including research development, testing and evaluation, designed to develop or contribute to generalizable knowledge.")

Example 1: Series of private practice implant cases in patients who have been taking bisphosphonates. Authors describe the findings in each case, which are collected and reported in a table format.

Example 2: Authors collect series of private practice implant cases in patients who have or have not been taking bisphosphonates. The sample size is sufficient for data analysis, and authors analyze and report the incidence of complications.

Example 1 does not qualify as "research," but example 2 does qualify and requires ethical approval.

Please see "Does My Case Series Need IRB Approval?" for more information.

#### **Privacy in Case Series**

No patient identifiers should be included in Case Series. If the authors choose to include any subject identifiers, the authors must include the patient's informed written consent to publish the information.

Our policy conforms to the Uniform Requirements, which states: "Patients have a right to privacy that should not be infringed without informed consent. Identifying information should not be published in written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that the patient be shown the manuscript to be published."

It should be noted that patients may have given a signed "consent to treat," but that does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript. Likewise, patient consent under government privacy rules, such as the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) in the United States, does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript.

Further information about the preparation of Case Series is provided below.

## Instructions to Authors

### Format

#### Abstract

Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- \* **Background:** Describes the clinical situation being discussed.
- \* **Methods:** Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.
- \* **Results:** Describes the clinical results.
- \* **Conclusions:** Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

#### Introduction

This section should include a critical review of the pertinent literature.

#### Case Description and Results

This section describes the cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

#### Discussion

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the cases should be emphasized in all sections.

### GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the *Journal*, or on other items of interest to the readership.

### LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the *Journal* and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 30 days to respond to the observations.

Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

Letters should be brief, focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals.

Citations should be handled as standard references.

### MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

The *Journal of Periodontology* accepts manuscript submissions online at: <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>.

Authors should prepare manuscripts in accordance with both the instructions below and the preceding instructions provided for each manuscript category.

Detailed instructions for online submission are described under "Web Uploading Policies and Instructions."

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Managing Editor, *Journal of Periodontology*, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3224; e-mail: [julie@perio.org](mailto:julie@perio.org).

### SUBMISSION

#### Authorship

Individuals identified as authors must meet the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, 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.

Once the *Journal* has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Jerry Eberle, Editorial Coordinator) or e-mailed to [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (described under "Acknowledgments and Conflicts of Interest").

**Conflict of Interest and Financial Disclosure Forms**  
A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted for each author.

The form can be found on ScholarOne Manuscripts (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." More information on conflicts of interest can be found under "Conflicts of Interest" below.

### PREPARATION

#### Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript:

- \* Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.

## Instructions to Authors

- \* The *Journal of Periodontology* does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, *e.g.*, or *i.e.*
- \* Use a block style; do not tabulate or indent material.
- \* Refer to the 4th edition of the *Glossary of Periodontal Terms* published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.
- \* Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the *Annals of Periodontology*, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions).

### FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom. Materials should appear in the following order:

Title Page  
 Abstract (or Introduction) and Key Words  
 Text  
 Footnotes  
 Acknowledgment(s)  
 References  
 Figure Legends  
 Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Please see the *Journal of Periodontology* Digital Art Guidelines for more information on submitting your figures.

Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

### TITLE PAGE

The title page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation, including department, for each (please use footnote symbols in the sequence \*, †, ‡, §, ||, ¶, #, \*\*, etc. to identify authors and their corresponding institutions); 3) disclaimers, if any; 4) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published); 5) word count and number of figures and tables in the manuscript; 6) a short running title of no more than 60 characters, including spaces; and 7) a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

### ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

### KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, to facilitate indexing should be listed below the abstract.

### TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

### ACKNOWLEDGMENT(S) AND CONFLICTS OF INTEREST

#### Acknowledgment(s)

Following the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

#### Conflicts of Interest

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the *Journal of Periodontology* requires that all authors declare potential competing interests relating to papers accepted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

- 1) A statement in the acknowledgments section of the manuscript that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose

## Instructions to Authors

as a result of publication. An example is shown below.

- 2) A conflict of interest and financial disclosure form for each author. This form can be found on ScholarOne Manuscripts (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." The form should be completed by each author and provided to the corresponding author. The corresponding author is responsible for submitting these forms from each author when the manuscript is submitted. These forms should be sent to Jerry Eberle, Editorial Coordinator, either via e-mail at [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org) or fax at 312/573-3225. These forms can also be uploaded in the cover letter area during the manuscript submission process.

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

### Example of Conflict of Interest Statement:

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, Massachusetts. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation. Drs. Able, Kim, and Bruce report no conflicts of interest related to this study.

### REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited.

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please search for the journal at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited and should include the manuscript's DOI, if known. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate

whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology's* preferred reference style.

### Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Kurita-Ochiai T, Seto S, Suzuki N, et al. Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *J Dent Res* 2008;87:51-55.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996; 12:152-157.

### Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loe H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased

## Instructions to Authors

gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

### Electronic Citations

Note: DOIs are preferred for journal articles. If a DOI is not available, please provide a URL and access date.

9. Online-only article. Rasperini G, Acunzo R, Limiroli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1:41-52. doi:10.1902/cap.2011.100002.
10. Ahead of print. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva. Results from a randomized, within-patient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. *J Periodontol*; doi:10.1902/jop.2011.100671.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Periodontal Disease. Available at: [http://www.cdc.gov/OralHealth/topics/periodontal\\_disease.htm](http://www.cdc.gov/OralHealth/topics/periodontal_disease.htm). Accessed September 29, 2010.

### TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules. The system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

### FIGURE LEGENDS

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Panel labels should be in capital letters. Legends should not appear on the same page as the actual figures.

### FIGURES

Please see the *Journal of Periodontology* Digital Art Guidelines for detailed instructions on submitting high quality images to the *Journal of Periodontology*.

### EQUATIONS

Create an equation as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the Symbol font.

### SUPPLEMENTAL MATERIAL

The *Journal of Periodontology* includes supplemental material in the online *Journal* ([www.joonline.org](http://www.joonline.org)). All supplemental material should be called out in the text.

#### Supplemental Figures and Tables

*Journal of Periodontology* articles are limited to a combined total of six figures and tables in the print publication. Any additional figures and tables should be submitted as supplemental files. Each supplemental figure or table should be submitted as a separate file. Please follow the guidelines regarding resolution, format, etc. for printed figures (see Digital Art Guidelines) and tables (see above) when preparing supplemental figures and tables. In summary, each figure, table, or multimedia file should be uploaded separately and the file names should clearly identify the file (i.e., SupplementalFigure1.tif, SupplementalTable1.xls, etc.). If file size limitations prevent you from uploading your supplemental material, please e-mail [bethanne@perio.org](mailto:bethanne@perio.org).

#### Supplemental Videos

The *Journal of Periodontology* publishes short videos to supplement a paper when appropriate. Most standard video formats are accepted. Videos should be edited to remove extraneous material. Authors should adhere to OSHA regulations when preparing their videos. Please e-mail [bethanne@perio.org](mailto:bethanne@perio.org) for information on how to submit videos. If your video is accepted for publication, all authors will need to submit a video copyright form. This form can be found on ScholarOne Manuscripts (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms."

### UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.

### STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance

## Instructions to Authors

on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

### CLINICAL TRIALS

If your manuscript is reporting a randomized clinical trial, you are required to submit a CONSORT checklist with your manuscript. More information can be found at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org).

All clinical trials must be registered prior to submission to the *Journal of Periodontology* at one of the registration sites listed below. The registration number should be included in the Materials and Methods section. Please see <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#Whats> for more information regarding clinical trials.

U.S. National Institutes of Health Clinical Trials Registry - <http://www.clinicaltrials.gov>

EU Clinical Trials Register - <https://www.clinicaltrialsregister.eu>

WHO International Clinical Trials Registry Platform - <http://www.who.int/ictrp/en>

### ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects AND that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the

Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

### FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliations; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment, medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: \*, †, ‡, §, ||, ¶, #, \*\*, ††, etc.

### IDENTIFICATION OF PRODUCTS

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

### REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

#### Peer Review

The *Journal of Periodontology* is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including Reviews, Commentaries, and Case Series are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

#### Copyright

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. A copyright form must be signed by all authors and returned to the Managing Editor. A file containing this form always accompanies the acceptance e-mail.

#### Reprints

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white. Electronic reprints are also available.

## Instructions to Authors

### Web Uploading Policies and Instructions

The following information will help in preparing and submitting your manuscript to the *Journal of Periodontology* Web-based peer-review system, ScholarOne Manuscripts. Also refer to the previous pages for guidelines on preparing and formatting manuscripts.

Submit manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. You will be able to monitor the progress of your manuscript through the peer-review process.

#### PREPARING AND FORMATTING ELECTRONIC MANUSCRIPTS

Submission of manuscripts must be in Microsoft Word (.doc). This applies to both Windows and Macintosh platforms. If you are using any other word processing program, you must save the text file as .rtf. Please see the *Journal of Periodontology* Digital Art Guidelines for figure format criteria and page 7 for table and supplemental material information.

#### SUBMITTING

For user account information, log on to ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. Here, you will be able to either create an account or enter an existing account. If you believe you may already have an account, enter your e-mail address in the Password Help area at the bottom of the log-in box. If the address you entered is found in the account records, an e-mail will be sent to you at that address containing your User ID and a temporary password.

If you do not have an account in the system, click "Register Here" in the "New User?" box to the right of the log-in box. Please fill in all fields accurately. All fields with "req" are required. If a required field does not apply to you, enter "none" or "N/A" in the space provided. When you are finished with a screen, click "Next" to continue to the next screen. When you reach the final screen and all information is entered, click "Finish" to submit your information.

**Author Center:** To start the submission process, go to the Author Center and click "Click here to submit a new manuscript." The following are explanations of the seven steps required to submit a manuscript:

**Screen 1 – Type, Title, & Abstract.** Select a manuscript type from the pull-down menu. Enter the title, running head, and abstract for your manuscript in the appropriate boxes. You can either copy-and-paste your information from your manuscript text file into

the box or type it directly into the box. Use the "Special Characters" button for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or super-script. For example, when you click on the lowercase alpha, the appropriate code for the character appears where your cursor was placed on the previous screen. You can also use the "Preview" button to make sure all the codes are placed in the correct locations. If you are submitting a manuscript that does not require an abstract, please type "N/A" in the abstract box.

Under "Scope of Practice" and "Study Type," please select the categories that describe your paper from the drop-down menus. If you select "other" under "Scope of Practice," please include a description in the box provided.

Click "Save and Continue" when you are finished with this screen.

**Screen 2 – Attributes.** Select a minimum of three or a maximum of 15 key words from the box. Highlight the key word you wish to include and click the "+ Add" button. These words are used in the review process and should not be included in your manuscript file. A maximum of six key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, should be included in your manuscript file.

Click "Save and Continue" when you are finished with this screen or "Save and Go Back" to return to the previous screen.

**Screen 3 – Authors & Institutions.** Your name and institution should be completed and located at the top of the page. Click "Edit" if you need to make any changes to your information. Once your information is correct, you may add co-authors to the paper. **All authors should be listed here.** Fill in the information under "Add a New Author" for each co-author. After typing in an e-mail address, you may search to see if that person's information is already in the database by clicking "Find." If an e-mail is matched, the information for that author will be displayed. You may make any necessary changes to the institutional information and click "Add to My Authors" to add this author to your paper. If an incorrect author is found, click the "Clear" button to search again. If a match is not found, fill in the required information and click "Add to My Authors." If a specific author has more than one affiliation, follow the link at the bottom of the "Add a

## Instructions to Authors

New Author” box to add more affiliations. You must click the “+ Add” button for each affiliation. Make sure to click the “Save” checkmark before closing the “Add More Affiliations” screen. Once all authors have been added to the manuscript, click “Save and Continue” to proceed to the next screen or “Save and Go Back” to return to the previous screen.

**Screen 4 – Reviewers.** This step requests you to identify preferred or non-referred reviewers but is not a mandatory part of the submission process. Fill in the required information and select “Designate as Preferred Reviewer” or “Designate as Non-Preferred Reviewer” as applicable. Once you have entered all information about reviewers, click “Save and Continue” to proceed to the next screen or “Save and Go Back” to return to the previous screen.

**Screen 5 – Details and Comments.** In the box provided, you should either copy-and-paste your cover letter/comments or type them directly into the field. Also, you can upload your cover letter/comments by clicking the “Browse” button and selecting a file on your computer. Click the “Attach this Cover Letter” button to attach it to your manuscript. You may also upload your conflict of interest and financial disclosure forms here. Do not attach any files from your manuscript itself in this section.

In the boxes provided, fill in the total number of figures and tables. If there are no figures or tables in your manuscript, please enter “0” in the appropriate box. Your word count should also be entered in this area.

If your manuscript is a study reporting a randomized controlled trial, there will be a link here to download the CONSORT checklist. Please save this to your computer. Using Adobe Reader, fill in the required information and save the file. Upload your completed form in the box provided. If you do not have Adobe Reader, you may download it for free at <http://get.adobe.com/reader>. The CONSORT checklist can also be found at <http://www.consort-statement.org>.

Be sure to read the submission statement and select “yes” from the pull-down menu.

The *Journal of Periodontology* also requires the signatures of all authors on the conflict of interest and financial disclosure form as part of the submission process. If these forms were not uploaded in the previous cover letter area, they may be e-mailed to [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org) or faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Jerry Eberle, Editorial Coordinator). You must check the box next to this explanation to acknowledge that you have read it and will provide conflict of interest

and financial disclosure forms for each author. This form can be found on ScholarOne Manuscripts (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under “Instructions & Forms.”

Click “Save and Continue” to proceed to the next screen or “Save and Go Back” to return to the previous screen.

**Screen 6 – File Upload.** When you upload your manuscript in Microsoft Word format (.doc), the file will automatically be converted to both PDF and HTML formats. Any figure or illustration will also be converted to PDF and HTML. A PDF and HTML proof will be created, combining your document and images.

Follow steps 1 through 4 to upload your manuscript files:

1. Browse to find the desired file.
2. Select the file designation: image file (includes color and grayscale figures; color, and black & white line art); main document (includes title page, abstract, key words, text, footnotes, acknowledgments, references, figure legends, and tables); or supplemental file (videos, supplemental figures and tables, or other necessary documents).
3. You may upload as many as five files at a time. Repeat steps 1 and 2 for each file.
4. Click “Upload Files.” You will see a “file details” window for each file that you have uploaded. On this screen, you are able to write a file tag or caption (if it is an image). Please note that if you have uploaded an image in EPS, TIFF, or JPEG format, it is recommended to place “Fig. 1, Fig. 2,” etc. in the captions area for ease of viewing. Once you have done this, click “Save.”

You will be brought back to the File Upload (Screen 6), where you can continue uploading files. When you have no additional files to upload, click “Save and Continue” to proceed to the final screen or “Save and Go Back” to return to the previous screen.

**Screen 7 – Review & Submit.** Please verify that all screens have been completed (a green checkmark will appear if all required information is completed). You must also preview your PDF proof before submitting your manuscript. Click the PDF button at the bottom of the page (Screen 7) to preview your manuscript. An option to preview your submission in HTML is also available, but not required. After you have confirmed that all information is correct and have previewed your PDF proof, click “Submit.” Confirmation of your submission will be displayed. Please note your

## Instructions to Authors

manuscript ID number and include this number on any correspondence you send to the editorial office.

If for any reason you exit the system before completing any screen, you can continue where you left off by logging in, going to the Author Center, and clicking the "Continue Submission" button under "Unsubmitted Manuscripts."

### FINALIZING SUBMISSION

If you did not upload a conflict of interest and financial disclosure form for each author during the online submission process, please fax these forms to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Jerry Eberle, Editorial Coordinator) or e-mail them to [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org).

### CHECKING THE STATUS OF YOUR MANUSCRIPT

You can return to your Author Center at any time to check the status of your manuscript (click "Submitted Manuscripts"). Once a decision has been made, you will be notified by e-mail. No hard copy letters will be mailed.

### SUBMITTING REVISED MANUSCRIPTS

To submit a revised paper, log on to ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. Select Author Center, then "Manuscripts with Decisions." Under the Actions column, click "create a revision" to begin your revision. The manuscript will now be moved to the "Revised Manuscripts in Draft" queue.

Once you have begun your revision, you will be prompted through the following screens:

**Screen 1 – View and Respond to Decision Letter.** Here you will be able to view the decision letter and comments from the reviewers. In the box below, please place a detailed response to each reviewer comment for the original manuscript. Your response to reviewers

should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.

**Screens 2 – 5** – Please see the above explanations under "Submitting."

**Screen 6** – Please upload your revised manuscript files. All files uploaded with your original submission will be included on this screen. Include only the latest set of files. If you have updated a file, please delete the original version and upload the revised file. **Please upload a version of your manuscript with your changes highlighted or track changes enabled. This should be uploaded as a supplemental file.** Please note that even if your figures have not been revised, they should be resubmitted with your revised manuscript.

**Screen 7** – Please confirm that all information is correct and that you have previewed your PDF proof before submitting.

Once you have submitted your revised manuscript, you will receive a confirmation e-mail message from the system when your revised paper has been successfully uploaded and received in the editorial office.

### MANUSCRIPTS ACCEPTED FOR PUBLICATION

If your manuscript is accepted for publication, all authors must complete a copyright form, which can be found at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio> under "Instructions & Forms" in the upper right-hand corner of the screen. A file containing this form also accompanies the acceptance e-mail. Please fax this form to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Jerry Eberle, Editorial Coordinator) or e-mail it to [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org). **Once all forms are received by the editorial office, your unedited manuscript will appear online ahead of print at <http://www.joponline.org/toc/jop/0/0>.** You will be notified about a print publication date by the Managing Editor.