

Fernanda Brasil Daura Jorge Boos

***ESTUDO COMPARATIVO DO PROCESSO DE REPARO
UTILIZANDO OSSO AUTÓGENO E BETA-TRICÁLCIO
FOSFATO EM LEVANTAMENTO DO ASSOALHO DO SEIO
MAXILAR EM HUMANOS. ANÁLISE TOMOGRÁFICA,
HISTOLÓGICA, HISTOMÉTRICA E IMUNOISTOQUÍMICA.***

Araçatuba

2014

Fernanda Brasil Daura Jorge Boos

**ESTUDO COMPARATIVO DO PROCESSO DE REPARO
UTILIZANDO OSSO AUTÓGENO E BETA-TRICÁLCIO
FOSFATO EM LEVANTAMENTO DO ASSOALHO DO SEIO
MAXILAR EM HUMANOS. ANÁLISE TOMOGRÁFICA,
HISTOLÓGICA, HISTOMÉTRICA E IMUNOISTOQUÍMICA.**

*Comparative Study of the Bone Repair Using Autogenous Bone and
Beta-Tricalcium Phosphate in Human Sinus Floor Augmentation.*

*A Tomographic, Histologic, Histometric and
Immunohistochemical Analysis.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira.

**Araçatuba
2014**

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

- | | |
|-------|---|
| B724e | <p>Boos, Fernanda Brasil Daura Jorge.</p> <p>Estudo comparativo do processo de reparo utilizando osso autógeno e beta-tricálcio fosfato em levantamento do assoalho do seio maxilar em humanos : análise tomográfica, histológica, histométrica e imunoistoquímica / Fernanda Brasil Daura Jorge Boos. - Araçatuba : [s.n.], 2014</p> <p>100 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba</p> <p>Orientador: Prof. Eduardo Hochuli Vieira</p> <p>1. Substitutos ósseos 2. Seio maxilar 3. Tomografia 4. Imunoistoquímica I. T.</p> <p>Black D7
CDD 617.64</p> |
|-------|---|

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação...

À Deus

por me amparar em todos os momentos e por me conceder saúde e força interior para continuar estudando.

À minha família,

por acompanhar meus passos, por sonhar comigo, pelas emoções e lágrimas pelas minhas conquistas, pela solidariedade nos momentos difíceis, pela doação incondicional e pelas muitas renúncias em meu favor. Vocês são o meu suporte, o meu porto seguro e a minha força em todos os momentos. Obrigada ao meu pai Murilo Daura Jorge Boos, minha mãe, Simone Brasil, minha madrastra Katia Virginia Veltrini Amud e meus irmãos Nathalia Brasil Daura Jorge Boos e Daniel Amud Zuin.

Ao meu noivo Sergio Monteiro Lima Junior,

pelo companheirismo, amor e cumplicidade na vida pessoal e profissional. Você é a mão dada, a palavra carinhosa e o sim que eu digo todos os dias. Obrigada por me ajudar, me apoiar, me entender e, principalmente, obrigada por me fazer tão feliz!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira,

por me ensinar a buscar sempre o que desejar, porque tudo se torna possível quando se tem vontade e coragem. Ao senhor, meu eterno reconhecimento e gratidão.

Ao Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior,

pelo carinho com que me recebeu na pós graduação e por tudo que me ensinou como professor, cirurgião e ser humano. O senhor é o responsável pelo surgimento do meu amor à pesquisa e à docência.

Ao Prof. Dr. Leandro Eduardo Klüppel,

pela amizade e pelo aceite em compor a banca examinadora. É um orgulho para mim poder contar com a sua presença.

Ao Prof. Dr. Nicolas Homsí,

pela amizade, gentileza e carinho com que sempre me recebeu e pelo aceite em compor a banca examinadora.

À Profa. Dra. Roberta Okamoto,

pela ajuda com a análise imunoistoquímica, pela disposição em ajudar sempre, pela alegria que surge em seus olhos quando falamos em pesquisa e por transmitir de forma tão leve, fácil e verdadeira esse amor aos seus alunos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP),

pela concessão do auxílio financeiro ao projeto de pesquisa (2012/10028-7) e pela concessão da minha bolsa de mestrado (2012/08628-6) que ajudaram a realização deste trabalho.

Ao meu colega de pesquisa e amigo Rodrigo dos Santos Pereira,

pela amizade, companheirismo e confiança. Se esta pesquisa hoje é uma realidade é porque antes de tudo surgiu uma grande parceria! Obrigada pela ajuda, carinho e paciência nestes dois anos de trabalho!

Ao colega Luis Fernando de Oliveira Gorla,

pela participação na análise tomográfica e pelo esforço em tentar fazer sempre o melhor.

AGRADECIMENTOS

Ao Reitor da Universidade Estadual Paulista (UNESP),

por permitir a utilização da infraestrutura da Universidade.

À Diretora da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA UNESP),

por permitir a utilização das clínicas e atendimento aos pacientes.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba (UNESP),

por ter me acolhido e me proporcionado crescimento pessoal e profissional.

Aos Professores do Departamento de Cirurgia da FOA,

Oswaldo Magro Filho, Francisley Ávila Souza, Alessandra Aranega, Ana Paula Bassi, Daniela Ponzoni, Wilson Roberto Poi e Celso Sonoda, pelos ensinamentos transmitidos nas clínicas e nos hospitais e pela amizade que se construiu além do ensino.

Aos Funcionários do Departamento de Cirurgia da FOA,

Cleide, Dirce, Paulo, Renato, Odair, Gilmar e Tina, pela disposição em ajudar sempre de forma tão carinhosa, nos recebendo muito mais como amigos do que como alunos.

À Patrícia Gonçalves, Michelle Marques e Franciane Gandolfi,

pela paciência, disponibilidade e simpatia com que sempre me ajudaram. Vocês são profissionais muito competentes e amigas que conquistei nestes dois anos. Obrigada por tudo!

À Secretaria da Pós Graduação,

Valéria, Cristiane e Lilian, por solucionarem dúvidas de forma tão gentil, alegre e carinhosa.

***Aos professores da Universidade Estadual de Maringá (UEM),
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Araraquara
(FOAR UNESP) e Universidade Estadual de Londrina (UEL),***

Liogi Iwaki Filho, Lilian Cristina Vessoni Iwaki, Edevaldo Tadeu Camarini, Ângelo José Pavan, Gustavo Jacobucci Farah, Vanessa Cristina Veltrini, Valfrido Antonio Pereira Filho, Eduardo Hochuli Vieira, Mário Francisco Real Gabrielli, Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli, José Roberto Pinto, Glaykon Alex Vitti Stabile, Cecília Luiz Pereira Stabile, Ricardo Matheus, Hedelson Odenir lecher Borges, Lígia Pozzobon Martins e Silvio de Oliveira Rodrigues, por terem me formado cirurgiã e terem despertado em mim a vontade de ir sempre um pouco mais além. Obrigada pela formação e incentivo!

As minhas queridas Amigas,

Mariane Lopes, Natália Ferlin, Sibila Pegoraro, Fernanda Herrera da Costa, Fernanda Böing, Letícia Miyabara e Carolina Lupi, pela amizade de tantos anos e pela alegria que vocês trazem à minha vida.

Aos amigos do curso de Mestrado em Cirurgia e Implantodontia,

Juliana Zorzi Coléte, André Fabris, Patrícia Bermejo, Giovanna Francisconi e Rodrigo dos Santos Pereira, pela amizade construída, pela confiança conquistada, pelo carinho sempre presente, pela alegria e pelas risadas que sempre acompanham nossos encontros e pelo companheirismo em todo o curso. Obrigada por tantos e tão bons momentos que passamos juntos. As lembranças ficarão para sempre em meu coração!

Aos amigos do curso de Doutorado em Cirurgia,

Pâmela dos Santos, Igor Mariotto Beneti, Cassiano Pereira, Lamis Meorin Nogueira, Maria Del Pilar Rodriguez, Leonardo Faverani, Gabriel Ferreira, Willian Moraes, Bianca Bravim e Carlos Alberto Timóteo, obrigada pelos ensinamentos durante os plantões e pela amizade que construímos além do hospital.

Aos Estagiários da Cirurgia,

Tárik Polo, Carolina Pires, Bruno Mendes, Lígia Kerche Vasconcelos e Igor Puttini, obrigada pela ação em conjunto, pela amizade dispensada, pelo carinho constante e por entenderem o significado deste trabalho.

E finalmente, a todos os ***Voluntários*** da pesquisa, pois nada disso teria sido possível sem vocês!

A todos que contribuíram para que este trabalho fosse hoje uma realidade, o meu sincero muito obrigada!

EPÍGRAFE

"Os que sonham de dia são conscientes de muitas coisas que escapam
àqueles que sonham apenas à noite."

(Edgar Allan Poe)

"O Mestre na arte da vida faz pouca distinção entre o seu trabalho e o seu
lazer, entre a sua mente e o seu corpo, entre a sua educação e a sua
recreação, entre o seu amor e a sua religião. Ele dificilmente sabe distinguir um
corpo do outro. Ele simplesmente persegue sua visão de excelência em tudo
que faz, deixando para os outros a decisão de saber se está trabalhando ou se
divertindo. Ele acha que está sempre fazendo as duas coisas
simultaneamente."

(Texto Zen-Budista)

SUMÁRIO

Resumo	01
Abstract	03
Lista de Figuras	05
Lista de Gráficos	07
Lista de Tabelas	08
Lista de Abreviaturas.....	09
Title Page	10
Introdução	12
Material e Método.....	16
Resultados	25
Discussão.....	37
Referências	44
Anexos	50
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética	50
Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	53
Anexo C – Normas do Periódico de Interesse.....	56

BOOS, F.B.D.J. Estudo comparativo do processo de reparo utilizando osso autógeno e beta-tricálcio fosfato em levantamento do assoalho do seio maxilar em humanos. Análise tomográfica, histológica, histométrica e imunoistoquímica. [Dissertação] Araçatuba – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2014.

RESUMO

Os autores tiveram como objetivo neste trabalho avaliar comparativamente o comportamento do beta-tricalcio fosfato (β -TCP) ChronOs® e do osso autógeno (OA) em seios maxilares por meio de análise tomográfica, histológica, histométrica e imunoistoquímica. Para o presente estudo foram realizados levantamento e preenchimento do assoalho do seio maxilar unilateralmente com OA em 12 seios e com β -TCP puro em 11 seios maxilares. Nos períodos de 07 dias e 06 meses, os pacientes foram submetidos à tomografia para análise quantitativa do volume residual de enxerto após reabsorção e remodelação. Previamente à instalação dos implantes, foram realizadas perfurações com broca trefina para coleta do material e envio para análises. Na análise volumétrica não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A análise histológica evidenciou presença de grânulos sendo absorvidos e substituídos e tecido ósseo maduro no grupo teste. A quantidade de tecido ósseo neoformado foi maior no grupo do biomaterial. A análise imunoistoquímica comprovou a capacidade osteoindutiva do osso autógeno, não presente no grupo teste. Em conclusão, o ChronOs®, é um material biocompatível e osteocondutor com resultados

clínicos similares ao osso autógeno neste modelo de estudo proposto, mesmo sem apresentar capacidade osteoindutiva.

PALAVRAS CHAVES

1. Substitutos ósseos;
2. Seio maxilar;
3. Tomografia;
4. Imunoistoquímica.

BOOS, F.B.D.J. Comparative Study of the Bone Repair Using Autogenous Bone and Beta-Tricalcium Phosphate in Human Sinus Floor Augmentation. A Tomographic, Histologic, Histometric and Immunohistochemical Analysis. [Dissertation] Araçatuba – Araçatuba School of Dentistry. State University of São Paulo – UNESP, 2014.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the behavior of the beta-tricalcium phosphate (β -TCP) ChronOs® and autogenous bone (AB) in maxillary sinus floor augmentation by comparing computed tomography (CT), histological, histometric and immunohistochemical analysis. For this study, grafting of the maxillary sinus was performed unilaterally with AB in 12 sinuses and with pure β - TCP in 11 maxillary sinuses. In periods of 07 days and 06 months, patients underwent CT for quantitative comparative analysis of residual volume after graft resorption and remodeling. Prior to implant placement, drilling with trephine for material collection and analyzes were performed. In CT volumetric analysis there was no statistically significant difference between groups. Histological analysis revealed the presence of granules being absorbed and substituted and mature bone in the β - TCP group. The amount of newly formed bone was also higher in the test group. Immunohistochemical analysis confirmed the osteoinductive capacity of AB group, not seen in the β - TCP group. In conclusion, Chronos® is a biocompatible and osteoconductive material with similar clinical results to the autogenous bone in this proposed model, even without osteoinductive properties.

KEY WORDS

1. Bone substitutes;
2. Maxillary sinus;
3. Tomography;
4. Immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Levantamento do assoalho do seio maxilar com ChronOs®. Note a incisão vertical na região do canino (seta azul) e a incisão horizontal no rebordo alveolar (seta preta).
- Figura 2.** Cálculo da área de cada fatia da tomografia. O contorno do enxerto na fatia da TC é delimitado (verde) e a área é avaliada automaticamente pelo programa OsiriX®.
- Figura 3.** Método utilizado para cálculo do volume do enxerto.
- Figura 4.** Aumento de 63x HE no grupo teste. Imagem da trefina evidenciando o interior do enxerto com grânulos de ChronOs® (seta amarela) sendo reabsorvidos e substituídos e tecido ósseo maduro (seta preta) envolvendo o biomaterial.
- Figura 5.** Aumento de 250x HE no grupo teste. Maior aumento de um grânulo sendo substituído por tecido ósseo do hospedeiro. Note-se o biomaterial (seta amarela) circunscrito por tecido ósseo maduro em camadas concêntricas (seta preta), revelando propriedades osteocondutoras do mesmo.

Figura 6. Aumento de 63x HE no grupo controle. Imagem da trefina do grupo controle, o interior do enxerto apresenta tecido ósseo maduro (seta azul) e tecido conjuntivo (seta preta).

Figura 7. Aumento de 250x HE no grupo controle. Tecido ósseo neoformado (seta azul) incorporado ao tecido ósseo do leito doador (seta preta).

Figura 8. Grupo teste (ChronOs®). Imunomarcações para 1. Osteocalcina; 2. RUNX2; 3. TRAP; 4. VEGF.

Figura 9. Grupo controle (Osso autógeno). Imunomarcações para 1. Osteocalcina; 2. RUNX2; 3. TRAP; 4. VEGF.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Relação T1/T2 Grupo controle (autógeno). T1: 07 dias, T2: 06 meses.

Gráfico 2. Relação T1/T2 Grupo teste (ChronOs®). T1: 07 dias, T2: 06 meses.

Gráfico 3. Reabsorção do Grupo Autógeno x ChronOs®.

Gráfico 4. Diferenças entre os principais tecidos observados nas lâminas coradas com HE.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias e diferenças estatísticas entre os principais grupos de tecidos observados nas lâminas coradas com HE.

Tabela 2. Escores da avaliação imunoistoquímica do grupo controle (OA) e do grupo teste (β -TCP).

LISTA DE ABREVIATURAS

OA	Osso autógeno
β-TCP	Beta-tricálcio fosfato
mm	Milímetros
HE	Hematoxilina e eosina
A	Área
H	Altura
V	Volume
TIFF	Tagged image file format
RUNX2	Runt-related transcription factor 2
VEGF	Vascular endothelial growth factor
TRAP	Tartrate-resistant acid phosphatase

TITLE PAGE

Comparative Study of the Bone Repair Using Autogenous Bone and Beta-Tricalcium Phosphate in Human Sinus Floor Augmentation. A Tomographic, Histologic, Histometric and Immunohistochemical Analysis.

Fernanda Brasil Daura Jorge Boos

Rodrigo dos Santos Pereira

Luis Fernando de Oliveira Gorla

Roberta Okamoto

Idelmo Rangel Garcia-Junior

Eduardo Hochuli Vieira

Authors' affiliations:

F.B.D.J Boos, R.S. Pereira, R. Okamoto; I.R. Garcia-Junior, E. Hochuli-Vieira, Post graduate program on Oral and Maxillofacial Surgery. Araçatuba School of Dentistry. State University of São Paulo – UNESP.

Rua José Bonifácio, 1193.

Zip code: 16.015-050

Araçatuba, São Paulo – Brazil.

L.F.O.Gorla, Graduate program. Araraquara School of Dentistry. State University of São Paulo – UNESP.

Corresponding Author:

Fernanda Brasil Daura Jorge Boos.

Rua Ilacir Pereira Lima, 267 apto 301 bloco 02

Belo Horizonte – Minas Gerais

Zip code: 31.140-540

Tel: +55 31 9261-8121

E-mail: fernandabrasilboos@hotmail.com

Key Words

Bone substitutes;

Maxillary sinus;

Tomography;

Immunohistochemistry.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Com a perda dentária, inicia-se um processo fisiológico de reabsorção e atrofia do rebordo alveolar, primeiramente, provocando o estreitamento da largura da crista óssea e, em seguida, a diminuição da altura. Essa redução do rebordo alveolar dificulta, em alguns casos, a instalação de implantes dentários. Em vista disso, para sobrepor essa limitação da anatomia, a elevação do assoalho do seio maxilar tem sido um procedimento cirúrgico comum visando a reabilitação da região posterior da maxila.^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}

O material de enxerto ideal deve ser osteogênico para estimular osteoblastos vivos a formar osso novo, osteocondutivo para servir como arcabouço para a invasão de vasos provenientes do osso circunjacente, além de ser osteoindutivo para estimular células mesenquimais pluripotenciais a se diferenciar em osteoblastos.⁸

Considerando-se estas três propriedades, dentre os tipos de materiais utilizados para enxertia, o osso autógeno (OA) é o mais compatível e o que mostra melhor resultado. Suas propriedades biológicas desencadeiam uma série de eventos que culminam na sua revascularização, incorporação e remodelação, o que permite a reabilitação com implantes osseointegráveis de forma mais previsível.⁹ Entretanto, apresenta como desvantagens a morbidade do sítio doador; que pode incluir hematoma, edema, infecção e lesões vasculo-nervosas; além do aumento do tempo cirúrgico.^{2, 6}

Outras opções de materiais para reconstrução são o osso alógeno, osso xenógeno e os materiais aloplásticos, o que consequentemente minimiza o grau de morbidade. No entanto, estes materiais não apresentam as propriedades osteogênicas dos enxertos autógenos.^{10, 6}

Os substitutos aloplásticos mais comumente utilizados são as hidroxiapatitas, o beta-tricálcio fosfato e os biovidros.^{11, 12, 6} O beta-tricálcio fosfato (β -TCP), material a base de cálcio e fósforo, surgiu na década de 70 e é utilizado na cirurgia maxilofacial como material para preenchimento de grandes defeitos, levantamento do assoalho do seio maxilar, reconstrução de defeitos causados por doença periodontal e preenchimento de alvéolos para manutenção da crista óssea vestibular pós-extração.^{13, 14, 15}

O β -TCP poroso foi desenvolvido para aumentar a sua capacidade de biodegradação. Os microporos permitem uma circulação biológica de fluidos, aumentam a área de contato e aceleram o processo de reabsorção. A interconectividade dos poros cria uma força capilar que orienta as células e os nutrientes para dentro dos grânulos do biomaterial. A macroporosidade facilita a vascularização e a neoformação óssea.¹

O ChronOs® (DePuy Synthes – Rio Claro/SP) apresenta estrutura de beta-tricálcio fosfato em forma de grânulos e é considerado um substituto ósseo sintético, poroso, radiopaco, biocompatível e osteocondutor, sendo reabsorvido e substituído por osso de 6 a 18 meses após a sua implantação.

Dentro deste contexto e em vista de suas propriedades, os autores tiveram como objetivo neste trabalho avaliar comparativamente o comportamento do β -TCP (ChronOs®) e do osso autógeno em seios maxilares de humanos por meio de análise tomográfica, histológica, histométrica e imunoistoquímica. A duração deste estudo foi de 6 meses por ser o tempo ideal padronizado para instalação de implantes após o levantamento e enxertia do assoalho do seio maxilar.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Esse estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação em Humanos, após ter sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana, via Plataforma Brasil, sob o número CAAE: 03416512.7.0000.5420.

Para o presente estudo foram recrutados, por meio de convite à participação, 23 voluntários para levantamento e enxertia do assoalho do seio maxilar unilateralmente.

Foi utilizada uma tomografia diagnóstica pré operatória para avaliação imaginológica dos critérios de inclusão e exclusão. Foram incluídos neste estudo pacientes que apresentavam ausência dentária com atrofia do rebordo alveolar remanescente da região posterior da maxila, com 05 mm de altura ou menos, e necessidade de reabilitação com implantes dentários. Foram excluídos da amostra: pacientes tabagistas; portadores de patologia sinusal; diabéticos, portadores de doenças ósseas e alterações ósseas por medicamentos, pacientes submetidos à radiação na área de cabeça e pescoço, em tratamento de quimioterapia além de problemas periodontais não controlados.

Foram realizados levantamento e preenchimento do assoalho do seio maxilar com OA em 12 seios, sendo este o grupo controle, e enxertia com β -TCP puro nos outros 11 seios maxilares restantes, sendo este o grupo teste. (Fig. 1)

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia local. Foi realizada uma incisão vertical na região distal ao canino e unida com uma incisão horizontal sobre a crista alveolar da região a ser enxertada. Após descolamento subperiosteal, os seios maxilares foram abordados através da parede lateral, com a osteotomia inferior realizada aproximadamente 02 mm superior ao assoalho do seio maxilar e as osteotomias laterais realizadas paralelas e, com bordas arredondadas, sendo a osteotomia superior parcial.¹⁶ Com um instrumento rombo fraturou-se para o interior do seio essa janela óssea, ocorrendo uma fratura em galho verde na borda superior, criando uma via de acesso com a dobradiça correspondente ao bordo superior. Após o descolamento e elevação da membrana sinusal, cada seio foi preenchido ou com osso autógeno ou com β -TCP puro (ChronOs® – Synthes – Rio Claro, São Paulo/Brasil) e o retalho suturado com fio reabsorvível vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, São Paulo/Brasil).

O osso autógeno foi coletado do ramo mandibular e triturado com particulador ósseo (Neodent, Curitiba, Paraná/Brasil). O β -TCP puro foi utilizado de acordo com o volume de enxerto necessário para cada reconstrução.

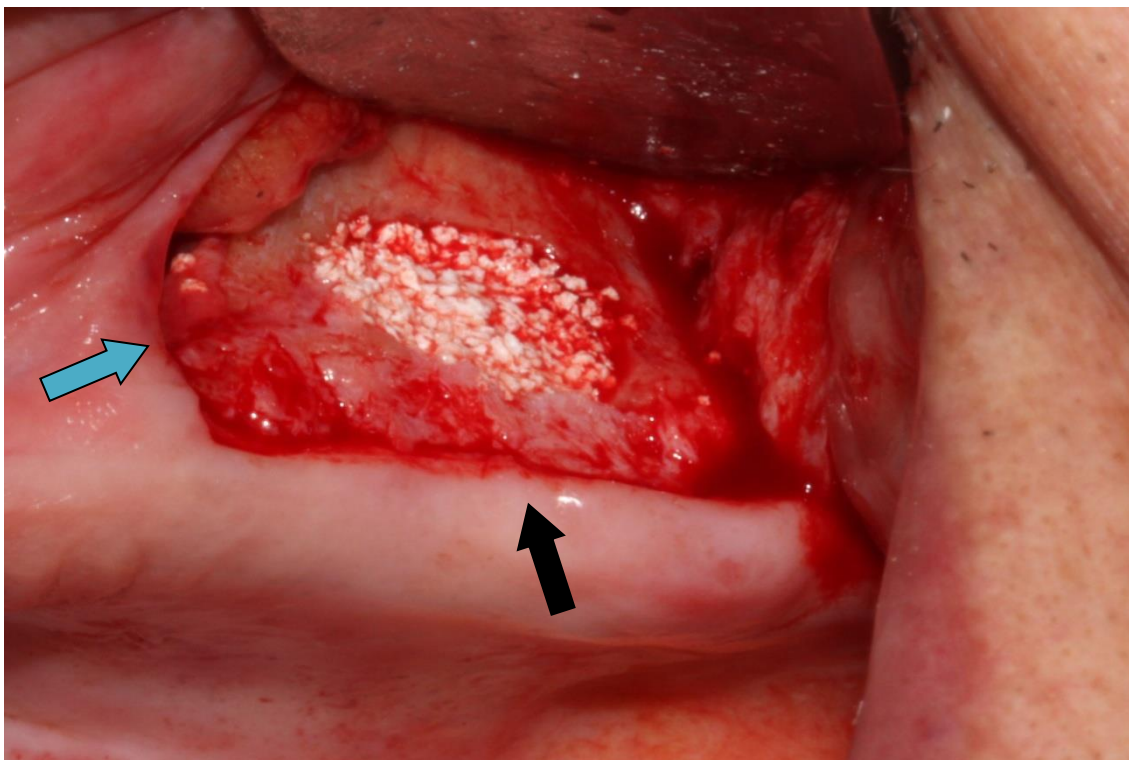


Figura 1. Levantamento do assoalho do seio maxilar com ChronOs®. Note a incisão vertical na região do canino (seta azul) e a incisão horizontal no rebordo alveolar (seta preta).

A medicação pós-operatória prescrita consistiu de antibiótico, antiinflamatório, analgésico, colutório e descongestionante nasal por 07 dias.

ANÁLISE TOMOGRÁFICA

Após 07 dias, os pacientes foram submetidos à nova tomografia para avaliação do volume enxertado. Após 06 meses, previamente à instalação dos implantes, uma terceira tomografia foi realizada para análise quantitativa do volume residual de enxerto após reabsorção e remodelação. As imagens foram obtidas no tomógrafo volumétrico para imagens dentofaciais (I-Cat; KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda., Joinville, Santa Catarina/Brasil).

Para realizar a análise tomográfica, o volume dos enxertos foi mensurado a partir do software OsiriX® (OsiriX Foundation, Genebra/Suíça). A área (A) do enxerto foi medida em fatias sagitais (cross-sections) da tomografia computadorizada com espessura de 01 mm.

O contorno do enxerto em cada fatia foi traçado manualmente por meio do *trackpad* do computador. Para facilitar a delimitação das estruturas, o contraste de exposição das imagens foi ajustado, e o nível de centro (L) e a largura de banda (W) foram definidas, (3086 W e L 667). (Fig. 2)

A área foi calculada automaticamente pelo software e para cada seção da TC, já com área determinada, foi gerada uma imagem TIFF (Tagged Image File Format).

Todas as Imagens TIFF geradas a partir de cada fatia foram agrupadas em pastas. A partir destas imagens, os valores das áreas foram transcritos para o programa iWork Numbers (Apple Inc., EUA). O volume do enxerto medido na tomografia computadorizada foi calculado pela multiplicação da área (A) e a altura (h), que equivale à distância entre as fatias sagitais.

O volume do enxerto inteiro (V) resultou da soma de todos os volumes medidos. (Fig. 3)

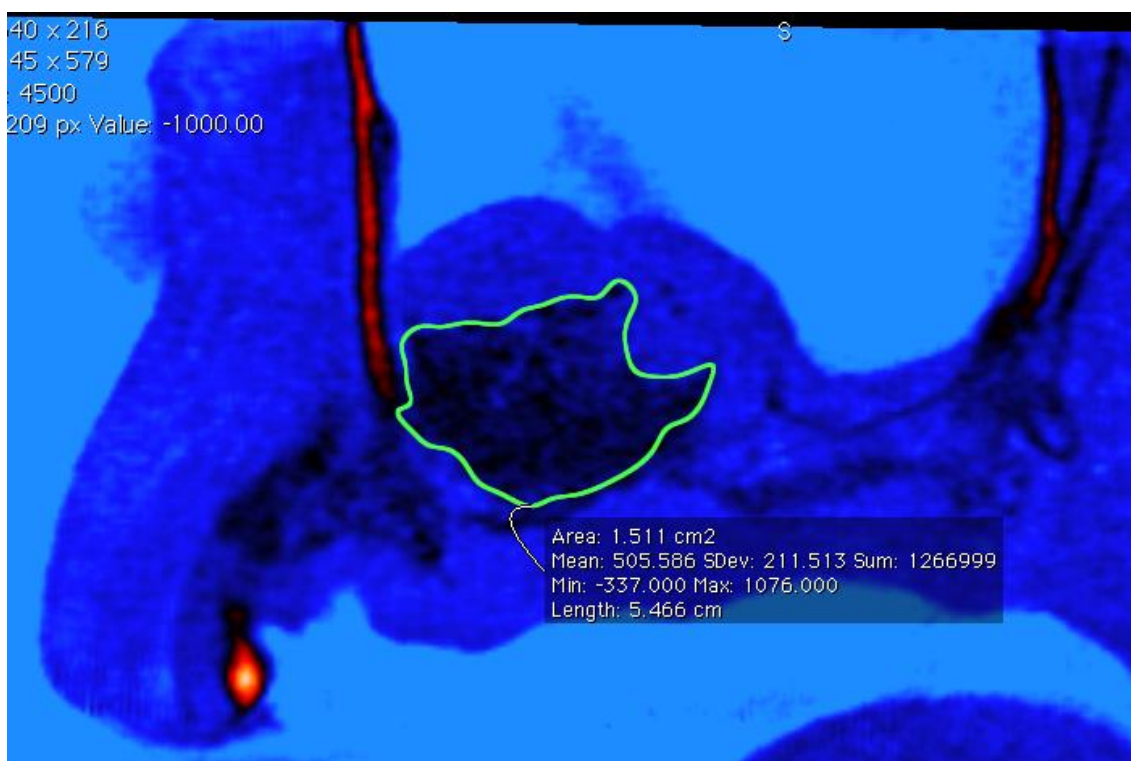


Figura 2. Cálculo da área de cada fatia da tomografia. O contorno do enxerto na fatia da TC é delimitado (verde) e a área é avaliada automaticamente pelo programa OsiriX®.

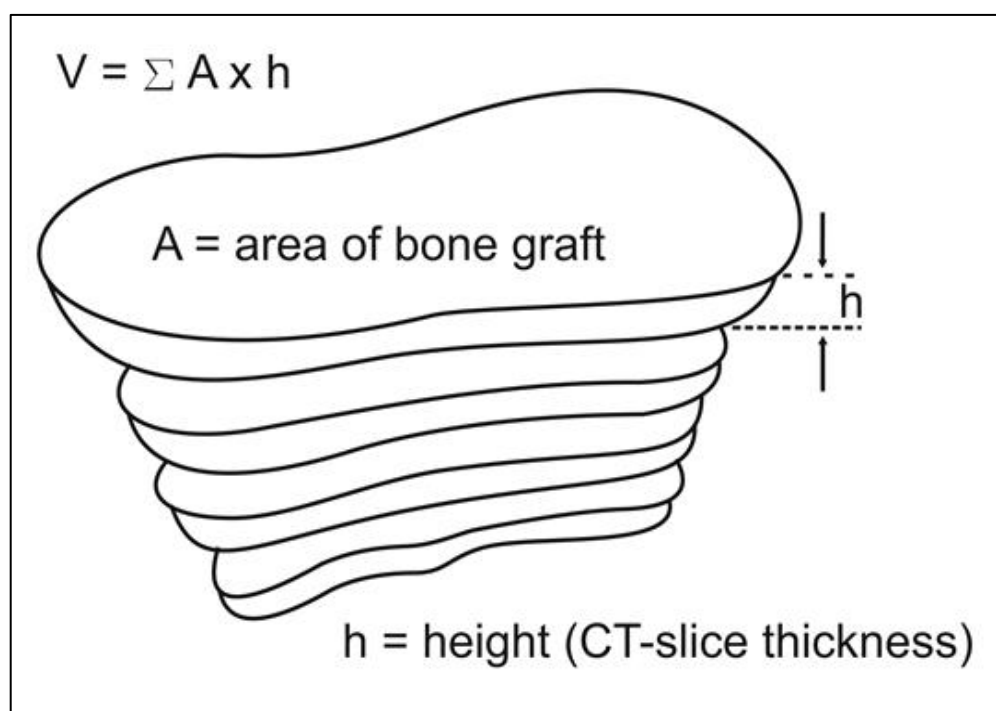


Figura 3. Método utilizado para cálculo do volume do enxerto.

ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA

Sob anestesia local, os pacientes foram submetidos à cirurgia para instalação dos implantes. Uma incisão linear na crista alveolar seguida de descolamento subperiosteal foi realizada na área de interesse. Previamente à instalação dos implantes foram realizadas perfurações cilíndricas com broca trefina de 03 mm (Mklife, Porto Alegre, Rio Grande do Sul/Brasil) para coleta do material e envio para análise histológica, histométrica e imunoistoquímica. Essas perfurações foram utilizadas como nicho para inserção dos implantes (Implalife Biotecnologia, Jales, São Paulo/Brasil). Todas as perfurações foram realizadas utilizando-se um guia de perfuração obtido por meio de um encerramento diagnóstico realizado previamente à cirurgia.

As peças coletadas foram encaminhadas ao laboratório para fixação, descalcificação e inclusão em parafina. Os cortes obtidos, com uma espessura de 06 micrometros, foram corados pela hematoxilina e eosina (H.E.) para análise histológica e histométrica. Os cortes utilizados para análise imunoistoquímica não foram corados neste momento.

Para a análise dos cortes histológicos, foi utilizado o microscópio óptico binocular JENAMED 2 (Carl-Zeiss, Alemanha), com objetivas de aumento 63x, 125x, e 250x. Para análise quantitativa foi utilizada a Grade de Merz para contagem de pontos sobre uma determinada estrutura histológica, considerando o número de pontos que se superpõem à estrutura analisada para avaliar a quantidade de tecido neoformado, presença de biomaterial ou

osso remanescente e tecido conjuntivo.

IMUNOISTOQUIMICA

Para análise imunoistoquímica, foi utilizado como método de detecção a imunoperoxidase. A atividade da peroxidase endógena foi inibida com peróxido de hidrogênio e em seguida realizada a recuperação antigênica com tampão fosfato citrato sob calor úmido. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com leite em pó desnatado e com albumina bovina.

Os anticorpos primários utilizados foram contra RUNX2, TRAP, VEGF e Osteocalcina (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas/EUA), com o objetivo de se analisar as respostas celulares quanto à osteoindução (RUNX2), reabsorção (TRAP), vascularização (VEGF), bem como ocorrência do processo de mineralização (Osteocalcina).

Foram utilizados os anticorpos secundários biotinilados (Jackson ImmunoResearch Laboratories, São Paulo, São Paulo/Brasil), o amplificador foi a Avidina Biotina (Vector Laboratories, Ontario/Canadá) e a diaminobenzidina (Sigma, São Paulo, São Paulo/Brasil) foi o cromógeno. Para cada um dos anticorpos utilizados, foi avaliada a expressão destas proteínas qualitativamente nas células do seio maxilar enxertado.

A análise foi realizada em microscópio óptico binocular JENAMED 2 (Carl-Zeiss, Alemanha) por meio da contagem manual das células marcadas

em áreas previamente determinadas, que sabidamente estão envolvidas na dinâmica do tecido ósseo. Foram consideradas positivas as marcações com diaminobenzidina.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise das amostras de tomografia e histometria, que constou de dados numéricos em grupos independentes e aleatórios, foi utilizado o teste t para os grupos com distribuição normal e com uma variância comum. Para aqueles grupos onde houve diferença na variância, foi utilizado o teste de Mann-Whitney-Wilcoxon. O teste D'Agostino Pearson foi utilizado para avaliação da normalidade da amostra.

RESULTADOS

RESULTADOS

ANÁLISE TOMOGRÁFICA

De acordo com o teste de normalidade D'Agostino Pearson, os dados mostraram uma curva normal de distribuição, portanto o teste T foi escolhido para proceder à avaliação daqueles grupos. Toda a análise estatística foi realizada com o BioEstat 5.3 para Windows (IDSM, Amazonas/Brasil).

De acordo com os testes houve diferença significativa do volume ($p < 0,0001$) entre os tempos T1/T2 do mesmo grupo, onde T1 foi a tomografia pós-operatória em 07 dias (gráfico 1), e T2 a tomografia pós operatória em 06 meses (gráfico 2).

Quando se comparou o nível de reabsorção entre os grupos após 06 meses (gráfico 3), observamos que o grupo controle apresentou uma média de reabsorção maior que o grupo teste, 45% de reabsorção no grupo de osso autógeno e 44% de reabsorção no grupo ChronOs®, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,15$).

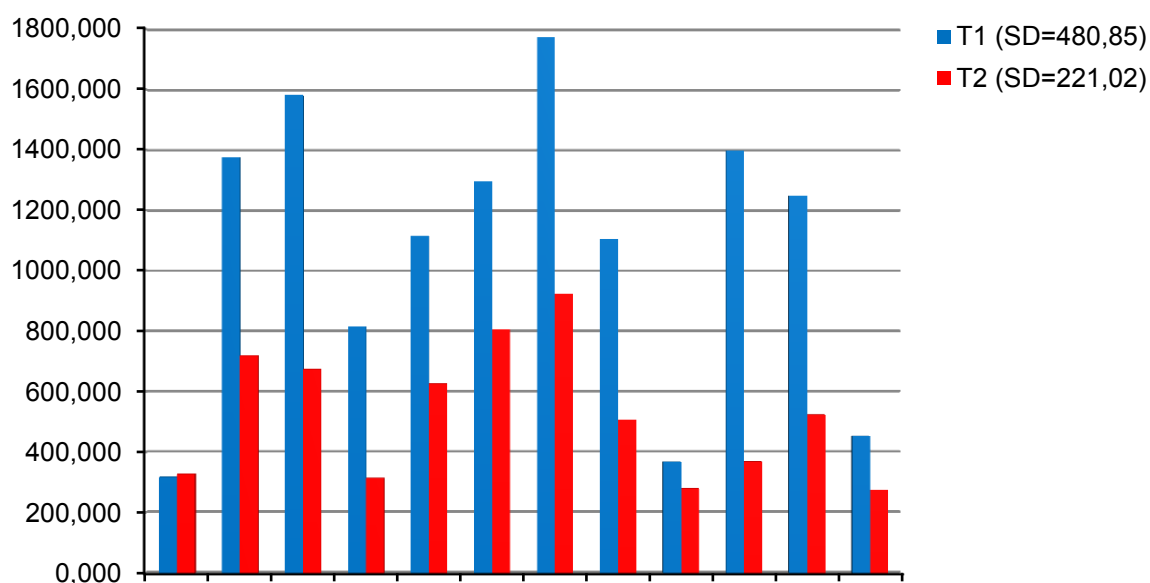


Gráfico 1. Relação T1/T2 Grupo controle (autógeno). T1: 07 dias, T2: 06 meses.

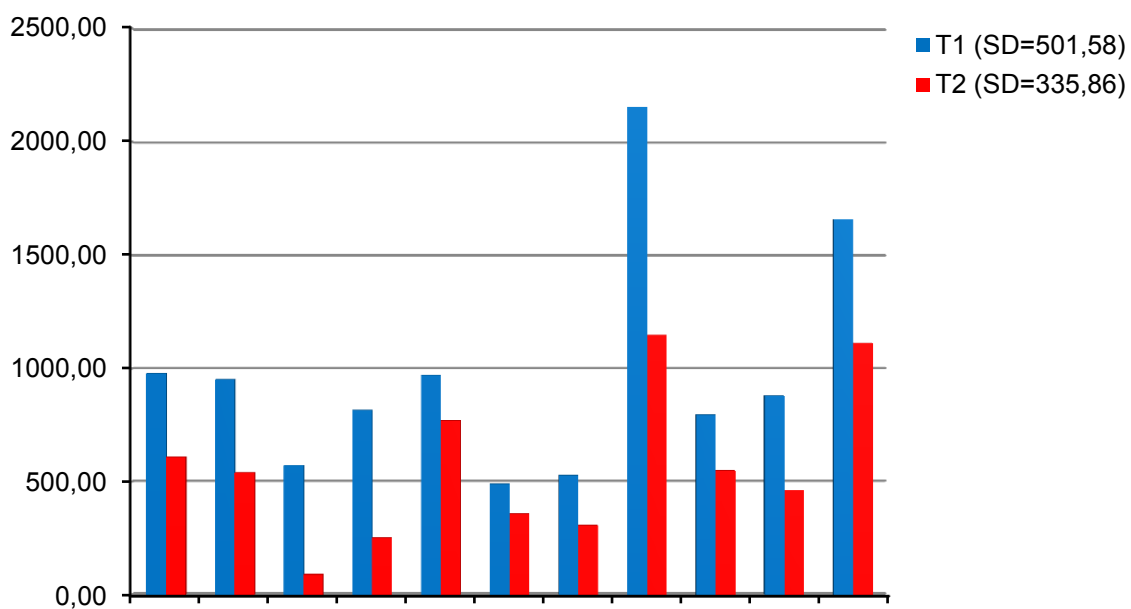


Gráfico 2. Relação T1/T2 Grupo teste (ChronOs®). T1: 07 dias, T2: 06 meses.

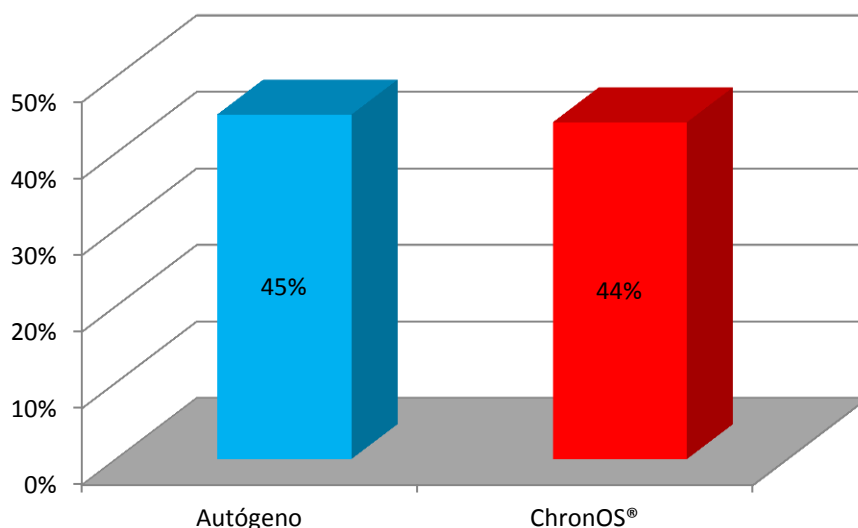


Gráfico 3. Reabsorção do Grupo Autógeno x ChronOs®.

ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA

No grupo teste (ChronOs®), pode-se observar a presença de grânulos de ChronOs® sendo absorvidos e substituídos, com discreto infiltrado inflamatório e poucas células gigantes. Foi observado também tecido conjuntivo, tecido adiposo e tecido ósseo maduro, lamelar, já com formação harvesiana, circunscrevendo o biomaterial, evidenciando a atividade osteocondutora do ChronOs®. Observou-se também completa integração do rebordo com o enxerto. (Fig. 4 e 5)

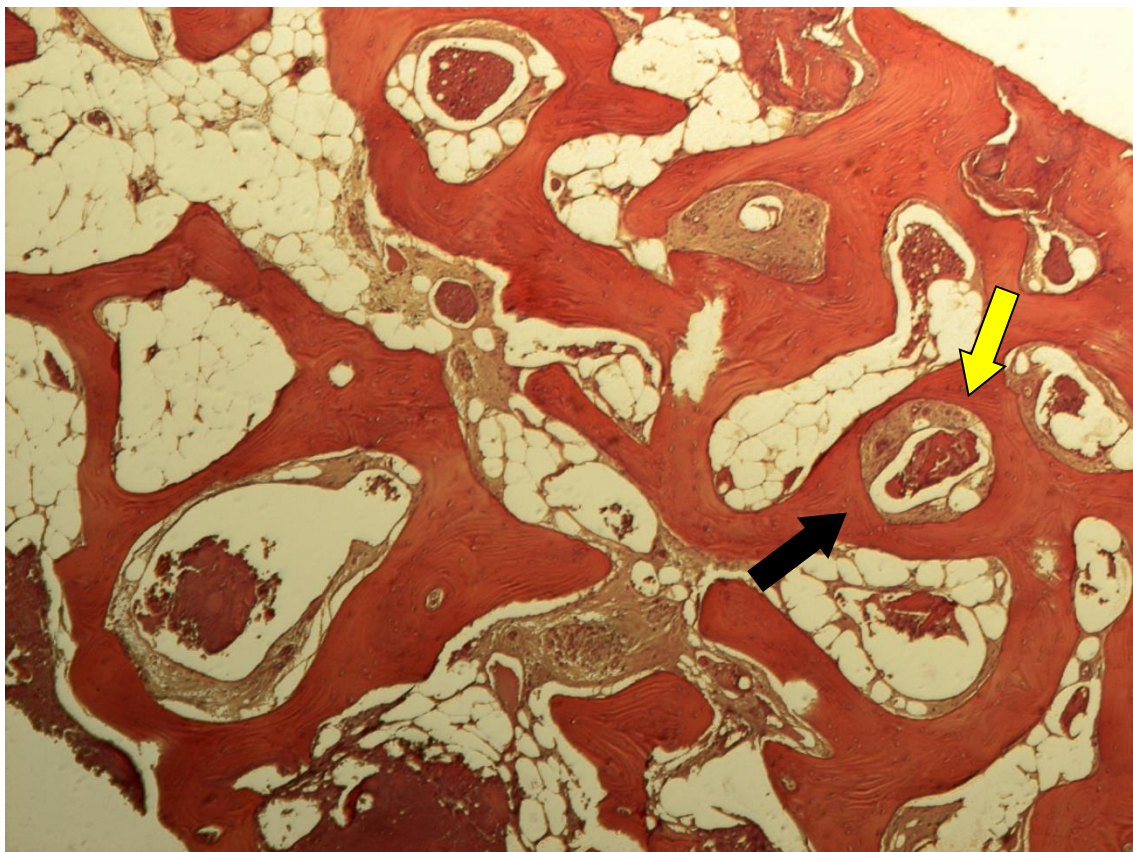


Figura 4. Aumento de 63x HE no grupo teste. Imagem da trefina evidenciando o interior do enxerto com grânulos de ChronOs® (seta amarela) sendo reabsorvidos e substituídos e tecido ósseo maduro (seta preta) envolvendo o biomaterial.



Figura 5. Aumento de 250x HE no grupo teste. Maior aumento de um grânulo sendo substituído por tecido ósseo do hospedeiro. Note-se o biomaterial (seta amarela) circunscrito por tecido ósseo maduro em camadas concêntricas (seta preta), revelando propriedades osteocondutoras do mesmo.

No grupo controle (Osso Autógeno), pode-se observar a presença de tecido ósseo maduro e tecido conjuntivo no interior do enxerto. O tecido ósseo do leito doador foi totalmente incorporado ao tecido ósseo neoformado no seio maxilar. (Fig. 06 e 07)

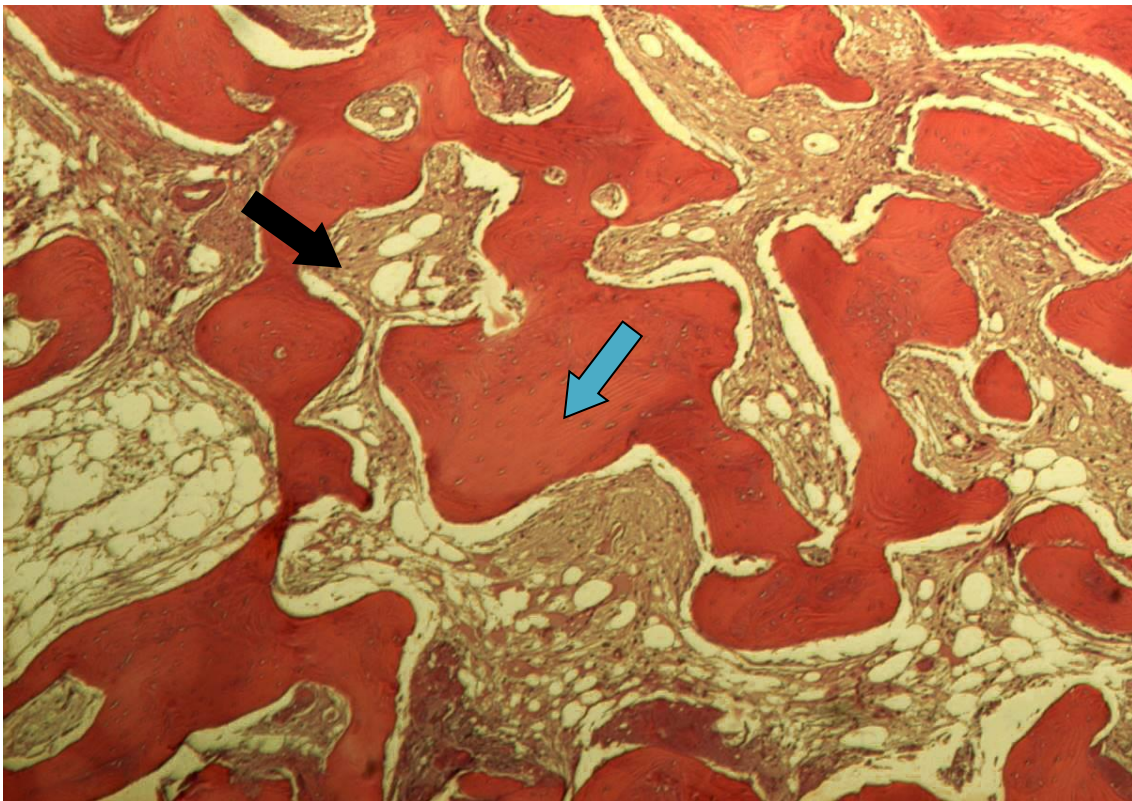


Figura 6. Aumento de 63x HE no grupo controle. Imagem da trefina do grupo controle, o interior do enxerto apresenta tecido ósseo maduro (seta azul) e tecido conjuntivo (seta preta).

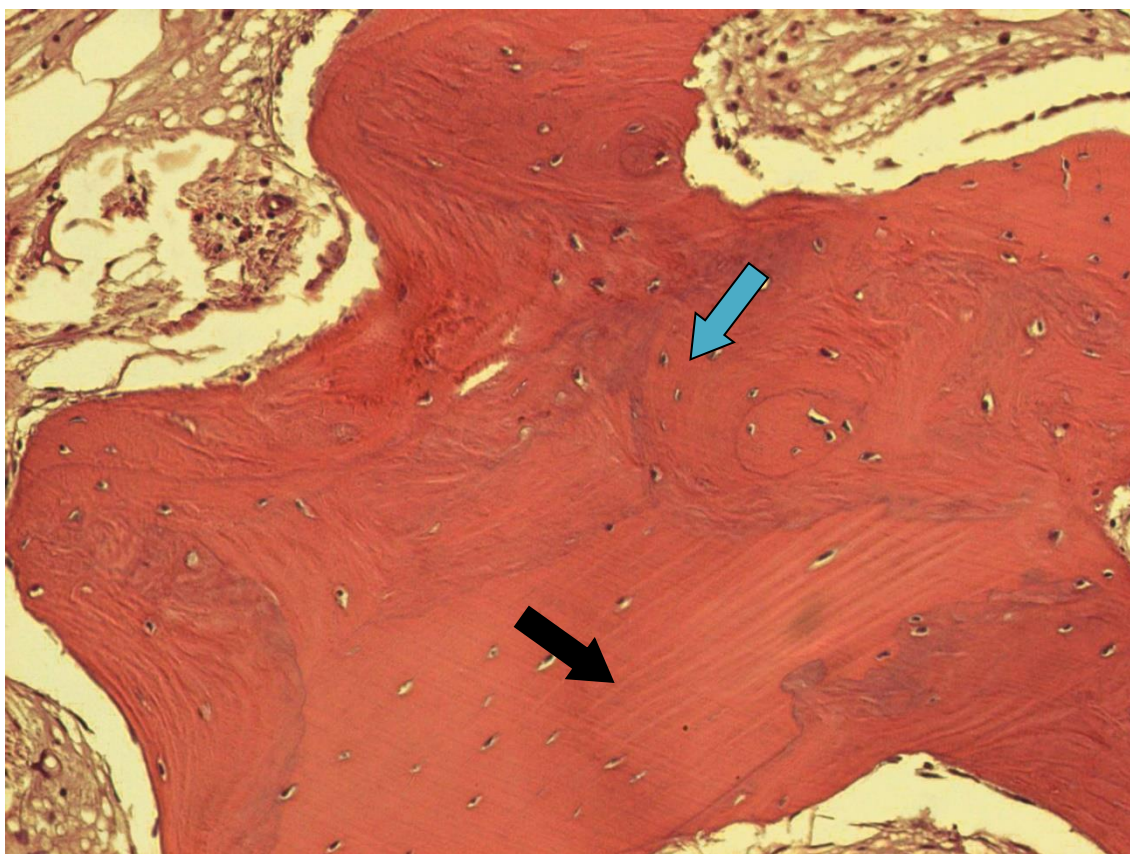


Figura 7. Aumento de 250x HE no grupo controle. Tecido ósseo neoformado (seta azul) incorporado ao tecido ósseo do leito doador (seta preta).

Os resultados da histometria são apresentados na Tabela 01. Nessa tabela são apresentadas as médias obtidas para a contagem de diferentes tecidos observados nos cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina.

	β - TCP	OA	P ≤ 0,05
Material de Enxerto	13,97%	4,94%	<0.0001
Osso Neoformado	51,58%	40,97%	0.0070
Vaso Sanguíneo	2,06%	0,14%	0.0069
Tecido Adiposo	1,97%	0,08%	0.1340
Tecido Conjuntivo	30,42%	34,92%	0.1199

Tabela 1. Médias e diferenças estatísticas entre os principais grupos de tecidos observados nas lâminas coradas com HE.

O número de grânulos de ChronOs® presente após 06 meses foi maior que a quantidade de OA enxertado, assim como a quantidade de osso neoformado e de vasos sanguíneos também foi maior no grupo teste, sendo essas diferenças estatisticamente significantes. Por outro lado, houve maior presença de tecido conjuntivo no grupo controle, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa.

O gráfico abaixo (Gráfico 4) revela as diferenças existentes entre os principais tecidos presentes nas lâminas avaliadas em ambos os grupos.

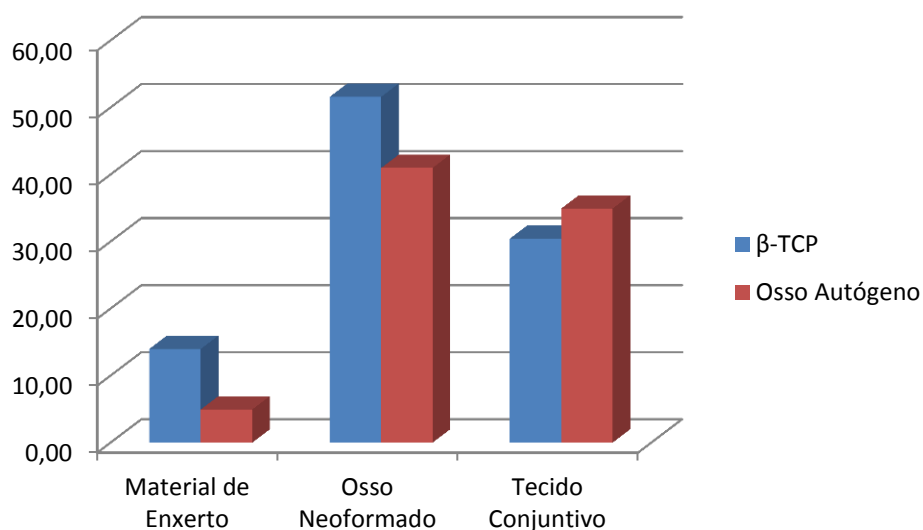


Gráfico 4. Diferenças entre os principais tecidos observados nas lâminas coradas com HE.

IMUNOISTOQUÍMICA

Amostras da marcação de cada proteína estão identificadas na Fig. 8 (Grupo Teste – ChronOs®) e na Fig. 9 (Grupo Controle – Osso Autógeno) e os escores dados para cada marcação na Tabela 02. Considera-se positivo marcações na cor marrom.

A Osteocalcina, proteína que caracteriza o processo de mineralização óssea, mostrou marcação intensa e similar em ambos os grupos. Foi possível observar o trabeculado ósseo, bem como osteócitos e osteoblastos com marcação positiva para esta proteína. Os osteoclastos, caracterizados pela marcação positiva para TRAP, apresentaram-se distribuídos em pequena quantidade e de maneira similar para ambos os grupos. O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) foi avaliado e mostrou-se marcado positivamente, especialmente no grupo teste (β -TCP). A marcação positiva foi observada principalmente em osteoblastos que expressaram positivamente a presença desta proteína. O fator de transcrição que marca a etapa de diferenciação osteoblástica, RUNX2, apresentou marcação intensa no grupo controle em relação ao grupo teste. As células marcadas positivamente para esta proteína são caracterizadas como pré-osteoblastos e mostram a capacidade osteoindutora observada no grupo osso autógeno.

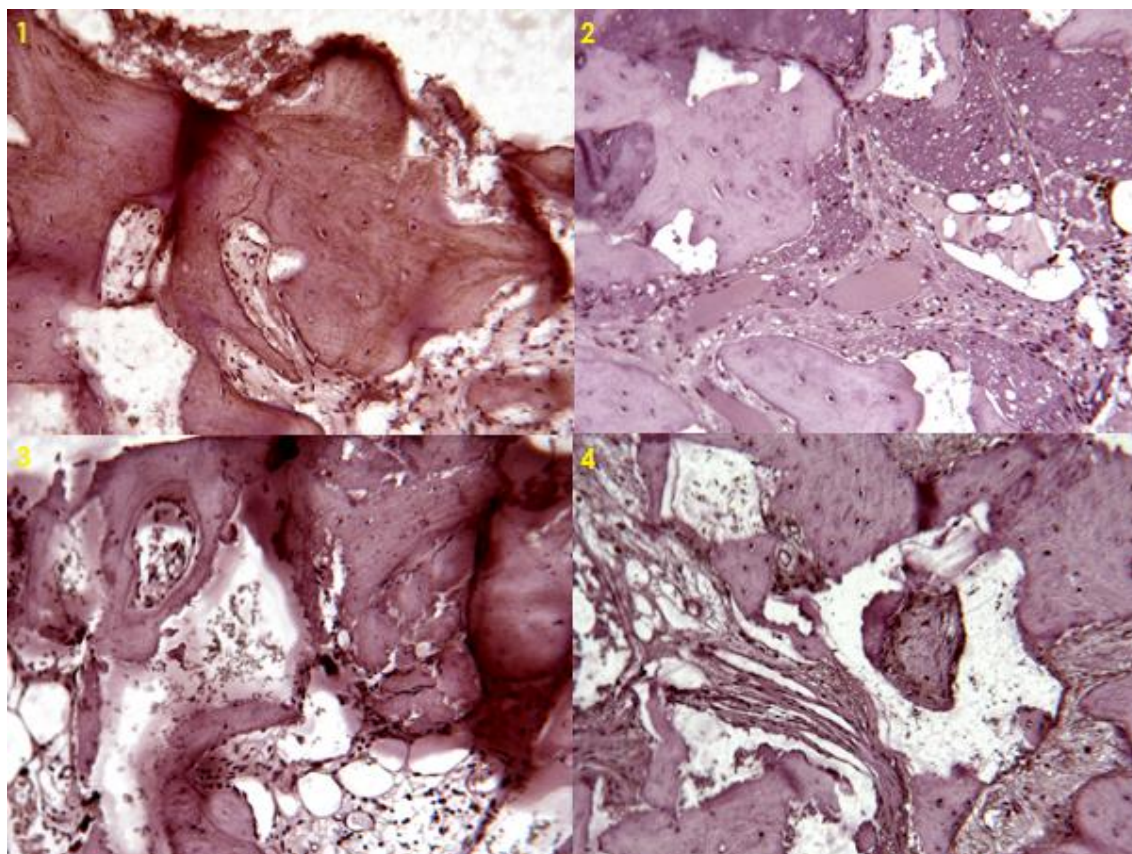


Figura 8. Grupo teste (ChronOs®). Imunomarcações para 1. Osteocalcina; 2. RUNX2; 3. TRAP; 4. VEGF.

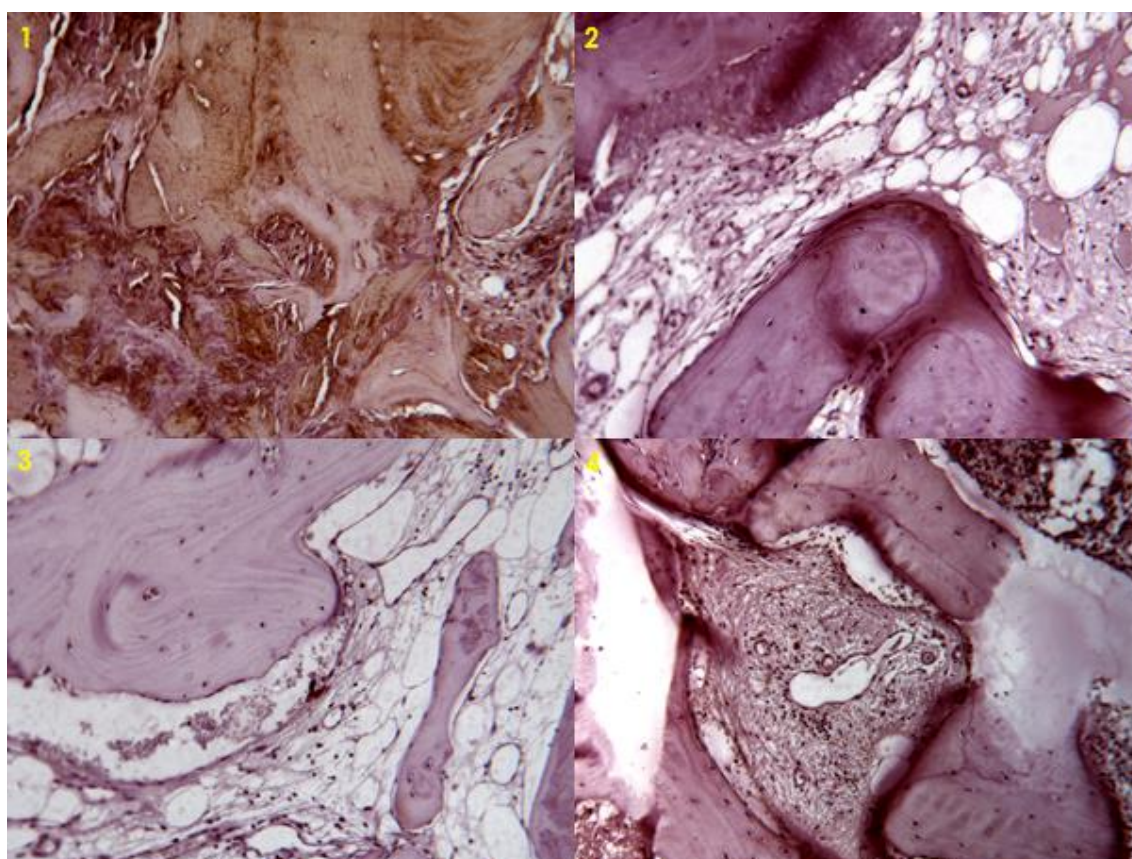


Figura 9. Grupo controle (Osso autógeno). Imunomarcações para 1. Osteocalcina; 2. RUNX2; 3. TRAP; 4. VEGF.

	OA			β -TCP		
Osteocalcina	3	3	3	3	3	3
RUNX2	2	2	2	1	1	1
TRAP	1	1	1	1	1	1
VEGF	1	2	2	2	2	2

Tabela 2: Escores da avaliação imunoistoquímica do grupo controle (OA) e do grupo teste (β -TCP).

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O entendimento da dinâmica do processo de incorporação e substituição dos biomateriais está em desenvolvimento. Ainda é consenso na literatura que o osso autógeno é o padrão ouro na enxertia dos ossos maxilares, principalmente devido às suas características de osteocondução, osteogênese e osteoindução, sendo esta última ainda pouco presente em substitutos ósseos.^{1, 5, 6, 17}

Em vista disso, o biomaterial ideal deve apresentar características similares ao osso humano, ser biocompatível sem induzir resposta imunológica adversa, promover aposição óssea, ser osteocondutor, osteogênico e osteoindutor, não necessitar de remoção do próprio doador e apresentando assim, por consequência, disponibilidade ilimitada.^{1, 17}

Os autores tiveram como objetivo neste trabalho comparar um substituto ósseo sintético poroso com o osso autógeno triturado e abranger quatro tipos de análise para um melhor entendimento das diferenças no processo de reparo.

A análise tomográfica mostrou um ligeiro aumento da taxa de reabsorção no grupo de osso autógeno (45%) quando comparado ao grupo teste (44%), porém essa diferença não foi estatisticamente significante. Este resultado nos mostra que o biomaterial deste estudo, neste modelo proposto, foi equivalente ao osso autógeno em perda de volume. Tais achados vão de

acordo ao estudo de Szabo *et al.* 2005¹⁸; que avaliou um biomaterial a base de β -TCP e buscaram também comparar a quantidade de osso neoformado versus utilização de osso autógeno. Tal estudo concluiu que a quantidade de osso neoformado foi similar e adequada para a instalação de implantes dentários.¹⁸

O β -TCP é um material caracterizado pela rápida reabsorção; característica que o difere das hidroxiapatitas, também consideradas materiais aloplásticos, porém com pouca ou nenhuma capacidade reabsortiva. A rápida reabsorção dos β -TCPs e do ChronOs®, especificamente neste estudo, favoreceu a atividade clástica inicial e a deposição óssea, fatos esses que se explicam também na análise histológica e imunoistoquímica.^{1, 6, 19}

O método de medição tomográfico usado neste trabalho também foi descrito em estudos anteriores. Johansson *et al.*, em 2001²⁰, defendem que embora a morfologia dos enxertos para a maxila muitas vezes é irregular dificultando a estimativa do volume, o uso de cortes tomográficos consecutivos torna fácil medir cada fatia, uma vez que não há sobreposição. Assim, o volume de cada enxerto pode ser determinado com boa precisão. Johansson *et al.*, 2001 e Uchida *et al.*, 1998^{20, 21} calcularam o volume do seio maxilar com um protocolo similar ao utilizado no presente estudo e, relataram precisão de mais de 95%.^{20, 21}

Os achados histológicos nos mostram que aos 06 meses de enxertia, o ChronOs® apresentava-se em processo de degradação e substituição, sem

intensa atividade inflamatória, com poucas células gigantes e neoformação óssea circundando os grânulos, formando lamelas concêntricas. Tais achados microscópicos evidenciam a biocompatibilidade e a boa atividade osteocondutora do material, propiciada pela sua estrutura química, porosidade e densidade.

Em estudo prévio do ChronOs® em tíbia de coelhos, foram realizados 3 defeitos e preenchidos com diferentes tipos de β -TCP. O ChronOs® apresentou-se como o β -TCP mais radiopaco, denso, com grânulos maiores e mais circulares, sendo descrito que a sua colocação no interior do defeito foi mais fácil em comparação com o Osferion® e o Vitoss®.²² Com relação às características clínicas observadas no nosso estudo, o ChronOs® demonstrou ser um material de fácil manipulação, indo de acordo ao estudo em coelhos de Walsh 2008²², e boa integração com o leito receptor.²²

A análise histométrica, evidenciou maior presença de material de enxerto no grupo teste (13,97%), porém esse aumento foi associado à maior formação de tecido ósseo. O grupo controle apresentou maior presença de tecido conjuntivo e menor quantidade de osso neoformado a despeito da menor presença de osso do leito doador (4,94%). O trabalho de Kurkcu 2012⁶ encontrou uma média de 34,05% de β -TCP residual após o mesmo período, porém com material de diferente fabricante.⁶

Nossos achados contrariam o trabalho de Zerbo, 2004²³ que contabilizou uma média de neoformação óssea de 41% no grupo autógeno,

proveniente de osso do mento, e 17% de neoformação óssea no grupo teste, sendo este grupo também um β -TCP de diferente fabricante. Em nosso trabalho foi observado 51,58% de tecido neoformado no grupo β -TCP e 40,97% de tecido neoformado no grupo autógeno.^{6, 23}

As marcações imunoistoquímicas nos mostram que ambos os grupos apresentaram intensa expressão de osteocalcina, proteína associada com a calcificação e maturação óssea, o que corrobora com os achados histológicos de neoformação óssea com tecido ósseo maduro envolvendo o biomaterial. Zerbo, 2004²³ descreve que onde foi utilizado o β -TCP o osso apresentava-se comparativamente menos maduro. Em nosso estudo observou-se presença de osso maduro, envolvendo o biomaterial, da mesma forma que no grupo controle em associação com tecido conjuntivo, compatível com o período do estudo e indo de acordo com Szabo 2005¹⁸; que também observou maior quantidade de osso lamelar.^{18, 23}

A TRAP, marcadora de osteoclastos relacionada ao processo de reabsorção, apresentou pouca e similar marcação em ambos os grupos. O estudo de Zerbo, 2005⁷, também avaliou a imunomarcação para TRAP, com a hipótese de que os osteoclastos teriam uma intensa atividade na quebra do β -TCP, porém a sua marcação foi baixa e similar ao nosso estudo. A biodegradação do β -TCP pode ocorrer por atividade osteoclástica ou por dissolução química.²⁴ Zerbo, 2005⁷ defende que devido à baixa expressão da TRAP a degradação do biomaterial se daria por dissolução, porém os autores do presente estudo acreditam que a baixa expressão da TRAP não descarta a

ação clástica, sugerindo que provavelmente a amostra encontra-se em um estágio mais avançado de remodelação e o período reabsortivo mais intenso já haver passado aos 06 meses, o que também se observa pelas poucas células gigantes observadas na análise histológica e pelo índice de reabsorção observado na análise tomográfica.⁷

A VEGF, relacionada ao processo de angiogênese, apresentou-se ligeiramente mais marcada no grupo teste do que no grupo controle, vascularização essa que corrobora com o índice de neoformação óssea maior no grupo teste.

O grupo controle apresentou marcação moderada de RUNX2 ao passo que o grupo teste apresentou baixa expressão desta proteína, demonstrando que o osso autógeno apresenta atividade osteoindutora ao passo que o biomaterial deste estudo apresenta apenas atividade osteocondutora.

Tal achado nos leva ao questionamento da real necessidade da capacidade de osteoindução em alguns modelos de estudo nos ossos maxilares. No seio maxilar, que foi o nosso modelo proposto, o biomaterial que se apresentar preferencialmente poroso, para favorecer a invasão de células sanguíneas e aumentar a área de contato com o leito hospedeiro, com previsibilidade do percentual de reabsorção e apresentar boa capacidade osteocondutora já é, por si só, um material ideal para reconstrução óssea neste sítio.

Os resultados apresentados nos levam à conclusão de que o ChronOs®, utilizado em levantamento do assoalho do seio maxilar, é um material biocompatível e osteocondutor, guiando a formação de tecido ósseo maduro ao redor dos grânulos do biomaterial, de reabsorção previsível e resultados clínicos similares ao osso autógeno neste modelo de estudo proposto, mesmo sem apresentar capacidade osteoindutiva.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Knabe C, Koch C, Rack A, Stiller M. Effect of β -tricalcium phosphate particles with varying porosity on osteogenesis after sinus floor augmentation in humans. *Biomaterials* 2008; 29: 2249-2258.
2. Miyamoto S, Shinmyozu K, Miyamoto I, Takeshita K, Terada T, Takahashi T. Histomorphometric and immunohistochemical analysis of human maxillary sinus floor augmentation using porous β -tricalcium phosphate for dental implant treatment. *Clin Oral Impl Res.* 2012; 00: 1–5.
3. Belser UC, Mericske-Stern R, Bernard JP, Taylor TD. Prosthetic management of the partially dentate patient with fixed implant restorations. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11: 126-145.
4. Winkler S. Implant site development and alveolar bone resorption patterns. *J Oral Implantol* 2002; 28: 226-229.
5. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontol* 2000. 1999; 19: 151-163.
6. Kurkcu M, Benlidayi ME, Cam B, Sertdemir Y. Anorganic Bovine-Derived Hydroxyapatite vs β -Tricalcium Phosphate in Sinus Augmentation: A

Comparative Histomorphometric Study. Journal of Oral Implantology 2012: 28: Special Issue No. One.

7. Zerbo IR, Bronckers ALJJ, Lange G, Burger EH. Localization of osteogenic and osteoclastic cells in porous b-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. Biomaterials 2005; 26: 1445–1451.

8. Haas R, Watzak G, Baron M. A preliminary study of monocortical bone grafts for oroantral fistula closure. Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol. Oral Radiol., Endod. 2003; 96: 3: 263-266.

9. Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. J Foot Ankle Surg 1996; 35: 413-417.

10. Young C, Sandsted P, Skogund A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. Int J Oral Maxillofac Implants 1999; 14: 72-76.

11. Zijdeveld SA, Schulten EA, Aartman IH, Bruggenkate CM. Long-term changes in graft height after maxillary sinus floor elevation with different grafting materials: radiographic evaluation with a minimum follow-up of 4.5 years. Clin Oral Implants Res 2009; 20: 7: 691-700.

12. Precheur HV. Bone graft materials. *Dent Clin North Am* 2007; 51: 3: 729-734.
13. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clinical Implant Dentistry & Related Research* 2007; 9: 166–177.
14. Klijn RJ, Meijer GJ, Bronkhorst EM, Jansen JA. A meta-analysis of histomorphometric results and graft healing time of various biomaterials compared to autologous bone used as sinus floor augmentation material in humans. *Tissue Engineering Part B Reviews* 2010; 16: 493–507.
15. Szabo G, Suba Z, Hrabák K, Barabás J, Németh Z. Autogenous Bone Versus B-Tricalcium Phosphate Graft Alone for Bilateral Sinus Elevations (2- and 3-Dimensional Computed Tomographic, Histologic, and Histomorphometric Evaluations): Preliminary Results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16: 681–692.
16. Tatum, H. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent. Clin. North. Am.* 1986; 30: 2: 207-229.
17. Zijdeveld SA, Zerbo IR, van den Bergh JP, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a b tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 432-440.

18. Szabo G, Huys L, Coulthard P, Maiorana C, Garagiola U, Barabas J A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 371-381.
19. Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb1) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2006; 35: 708–713.
20. Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Åberg P, Hirsch J-M. Volumetry of simulated bone grafts in the edentulous maxilla by computed tomography: an experimental study. *Dentomaxillofac Radiol* 2001; 30: 3: 153-156.
21. Uchida Y, Goto M, Katsuki T, Soejima Y. Measurement of maxillary sinus volume using computerized tomographic images. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; 13: 811-818.
22. William R. Walsh, Frank Vizesia, Dean Michael, Jason Auld, Andy Langdown, Rema Oliver, Yan Yu, Hiroyuki Irie, Warwick Bruce. β -TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model *Biomaterials* 2008; 29: 266–271.

23. Zerbo IR, Zijdeveld SA, de Boer A, Bronckers ALJJ, de Lange G, ten Bruggenkate CM, Burger EH. Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous β -tricalcium phosphate: a prospective study. Clin. Oral Impl. Res. 2004; 15: 724–732.
24. Lu JX, Gallur A, Flautre B, Anselme K, Descamps M, Thierry B, Hardouin P. Comparative study of tissue reactions to calcium phosphate ceramics among cancellous, cortical, and medullar bone sites in rabbits. J Biomed Mater Res 1998; 42: 357–367.

ANEXOS

Anexo A

Aprovação do Comitê de Ética

Anexo B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa **“Estudo Comparativo do Processo de Reparo Utilizando Osso Autógeno e Beta-Tricálcio Fosfato em Levantamento do Assoalho do Seio Maxilar em Humanos. Análise Tomográfica, Histológica, Histométrica e Imunoistoquímica”**, sob a responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira, a qual pretende avaliar comparativamente o processo de reparo do osso autógeno e do Beta-Tricálcio Fosfato isoladamente em seios maxilares de humanos.

Sua participação é voluntária e se dará por meio de cirurgia para levantamento do assoalho do seio maxilar com finalidade/benefício de reconstrução da região posterior da maxila para futura instalação de implantes dentários.

Os riscos decorrentes da cirurgia são infecção do seio maxilar operado, sinusite, absorção do material enxertado decorrente ou não do procedimento cirúrgico e dos cuidados pós operatórios.

Se o (a) Sr (a) aceitar participar, será realizada a elevação do assoalho do seio maxilar para posterior reabilitação oral com implantes dentários.

Se depois de consentir em sua participação o Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa.

O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo.

Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça – Araçatuba/SP CEP 16015-050 ou pelo telefone (18) 3636-3242.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____
_____, fui informado (a) sobre o que o pesquisador quer fazer, porque precisa da minha colaboração e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em três vias que serão assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via comigo, outra arquivada no prontuário e uma com o pesquisador.

Data: ____/____/____

Assinatura do participante



Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira

Anexo C

Normas do Periódico de Interesse:

International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery



Guide for Author

Would authors please note that the reference style for the journal has now changed. Please pay special attention to the guidelines under the heading "References" below

Authors wishing to submit their work to the journal are urged to read this detailed guide for authors and comply with all the requirements, particularly those relating to manuscript length and format. This will speed up the reviewing process and reduce the time taken to publish a paper following acceptance.

Online Submission

Submission and peer-review of all papers is now conducted entirely online, increasing efficiency for editors, authors, and reviewers, and enhancing publication speed. Authors requiring further information on online submission are strongly encouraged to view the system, including a tutorial, at <http://ees.elsevier.com/ijoms>. A comprehensive Author Support service is available to answer additional enquiries at authorsupport@elsevier.com. Once a paper has been submitted, all subsequent correspondence between the Editorial Office (ijoms@elsevier.com) and the corresponding author will be by e-mail.

Editorial Policy

A paper is accepted for publication on the understanding that it has not been submitted simultaneously to another journal, has been read and approved by all authors, and that the work has not been published before. The Editors reserve the right to make editorial and literary corrections. Any opinions expressed or policies advocated do not necessarily reflect the opinions and policies of the Editors.

Declarations

Upon submission you will be required to complete and upload this form ([pdf version](#) or [word version](#)) to declare funding, conflict of interest and to indicate whether ethical approval was sought. This information must also be inserted into your manuscript under the acknowledgements section with the headings

below. If you have no declaration to make please insert the following statements into your manuscript:

Funding: None

Competing interests: None declared

Ethical approval: Not required

Patient permission: Not required

PLEASE NOTE that all funding must be declared at first submission, as the addition of funding at acceptance stage may invalidate the acceptance of your manuscript.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data(2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content(3) final approval of the version to be submitted.

Normally one or two, and no more than three, authors should appear on a short communication, technical note or interesting case/lesson learnt. Full length articles may contain as many authors as appropriate. Minor contributors and non-contributory clinicians who have allowed their patients to be used in the paper should be acknowledged at the end of the text and before the references.

The corresponding author is responsible for ensuring that all authors are aware of their obligations.

Before a paper is accepted all the authors of the paper must sign the Confirmation of Authorship form. This form confirms that all the named authors agree to publication if the paper is accepted and that each has had significant input into the paper. Please download the form and send it to the Editorial Office. ([pdf version](#) or [word version](#)) It is advisable that to prevent delay this form is submitted early in the editorial process.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the main text, all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If an author has no conflict of interest to declare, this should be stated.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Open access

This journal offers you the option of making your article freely available to all via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication. The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges. In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Whatever access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Ethics

Work on human beings that is submitted to the International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki (Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983, and the 41st World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989). The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed and that subjects gave informed consent to the work. Studies involving experiments with animals must state that their care was in accordance with institution guidelines. Patients' and volunteers' names, initials, and hospital numbers should not be used.

Patient confidentiality

Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients' images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, The Editor and Publisher must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to the Editorial Office on request. Even where consent has been given, identifying details should be

omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. *If consent for publication has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.*

Language Editing Services

Papers will only be accepted when they are written in an acceptable standard of English. Authors, particularly those whose first language is not English, who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission should visit

<http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishing> or

contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note, Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising.

For more information please refer to our Terms and Conditions

http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions.

Article Types

The following contributions will be accepted for publication. *Please take careful note of the maximum length where applicable.* Overlength articles will be returned to the authors without peer review:

- editorials (commissioned by the editor)

- clinical papers: no more than 5000 words and 30 references
- research papers: no more than 6000 words and 40 references
- review papers - no limit on length or number of references
- technical notes (surgical techniques, new instruments, technical innovations) - no more than 2000 words, 10 references and 4 figures
- case reports - no more than 2000 words, 10 references and 2 figures
- book reviews
- letters to the editor - please see detailed guidelines provided at the end of the main guide for authors
- IAOMS announcements
- general announcements.

Please note: Case reports will be considered for publication only if they add new information to the existing body of knowledge or present new points of view on known diseases.

All authors must have contributed to the paper, not necessarily the patient treatment. Technical notes and case reports are limited to a maximum of 4 authors, in exceptional circumstances, 5.

Criteria for Publication

Papers that will be considered for publication should be:

- focused
- based on a sound hypothesis and an adequate investigation method analysing a statistically relevant series, leading to relevant results that back the conclusion

- well written in simple, scientific English grammar and style
- presented with a clear message and containing new information that is relevant for the readership of the journal
- Note the comment above relating to case reports.

Following peer-review, authors are required to resubmit their revised paper within 3 months; in exceptional circumstances, this timeline may be extended at the editor's discretion.

Presentation of Manuscripts

General points

Papers should be submitted in journal style. Failure to do so will result in the paper being immediately returned to the author and may lead to significant delays in publication. Spelling may follow British or American usage, but not a mixture of the two. Papers should be double-spaced with a margin of at least 3 cm all round.

Format

Papers should be set out as follows, with each section beginning on a separate page:

- title page
- abstract
- text
- acknowledgements
- references

- tables
- captions to illustrations.

Please note that the qualifications of the authors will not be included in the published paper and should not be listed anywhere on the manuscript.

Title page

The title page should give the following information:

- title of the article
- full name of each author
- name and address of the department or institution to which the work should be attributed
- name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence and to whom requests for offprints should be sent
- sources of support in the form of grants
- key words.

If the title is longer than 40 characters (including spaces), a short title should be supplied for use in the running heads.

Abstract

200 words maximum. Do not use subheadings or abbreviations; write as a continuous paragraph. Must contain all relevant information, including results and conclusion.

Text

Please ensure that the text of your paper conforms to the following structure: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion. There is no separate Conclusion section. There should be no mention of the institution where the work was carried out, especially in the Materials and Methods section.

Introduction

- Present first the nature and scope of the problem investigated
- Review briefly the pertinent literature
- State the rationale for the study
- Explain the purpose in writing the paper
- State the method of investigation and the reasons for the choice of a particular method
- Should be written in the present tense

Materials and Methods

- Give the full details, limit references
- Should be written in the past tense
- Include exact technical specifications, quantities and generic names
- Limit the number of subheadings, and use the same in the results section
- Mention statistical method
- Do not include results in this section

Results

- Do not describe methods
- Present results in the past tense

- Present representations rather than endlessly repetitive data
- Use tables where appropriate, and do not repeat information in the text

Discussion

- Discuss - do not recapitulate results
- Point out exceptions and lack of correlations. Do not try to cover up or 'fudge' data
- Show how results agree/contrast with previous work
- Discuss the implications of your findings
- State your conclusions very clearly

Headings: Headings enhance readability but should be appropriate to the nature of the paper. They should be kept to a minimum and may be removed by the Editors. Normally only two categories of headings should be used: major ones should be typed in capital letters; minor ones should be typed in lower case (with an initial capital letter) at the left hand margin.

Quantitative analysis: If any statistical methods are used, the text should state the test or other analytical method applied, basic descriptive statistics, critical value obtained, degrees of freedom, and significance level, e.g. (ANOVA, $F=2.34$; $df=3,46$; $P<0.001$). If a computer data analysis was involved, the software package should be mentioned. Descriptive statistics may be presented in the form of a table, or included in the text.

Abbreviations, symbols, and nomenclature: Only standardized terms, which have been generally accepted, should be used. Unfamiliar abbreviations must be defined when first used. For further details concerning abbreviations, see

Baron DN, ed. Units, symbols, and abbreviations. A guide for biological and medical editors and authors, London, Royal Society of Medicine, 1988 (available from The Royal Society of Medicine Services, 1 Wimpole Street, London W1M 8AE, UK).

The minus sign should be -.

If a special designation for teeth is used, a note should explain the symbols. Scientific names of organisms should be binomials, the generic name only with a capital, and should be italicised in the typescript. Microorganisms should be named according to the latest edition of the Manual of Clinical Microbiology, American Society of Microbiology.

Drugs: use only generic (non-proprietary) names in the text. Suppliers of drugs used may be named in the Acknowledgments section. Do not use 'he', 'his' etc where the sex of the person is unknown; say 'the patient' etc. Avoid inelegant alternatives such as 'he/she'. Patients should not be automatically designated as 'she', and doctors as 'he'.

References

The journal's reference style has changed. References should be numbered consecutively throughout the article, beginning with 1 for the first-cited reference. References should be listed at the end of the paper in the order in which they appear in the text (not listed alphabetically by author and numbered as previously).

The accuracy of references is the responsibility of the author. References in the text should be numbered with superscript numerals inside punctuation: for example "Kenneth and Cohen¹⁴ showed..."; "each technique has advantages and disadvantages⁵⁻¹³." Citations in the text to papers with more than two authors should give the name of the first author followed by "et al."; for example: "Wang et al³⁷ identified..."

All references cited in the text must be included in the list of references at the end of the paper. Each reference listed must include the names of all authors. Please see section "Article Types" for guidance on the maximum number of reference for each type of article.

Titles of journals should be abbreviated according to Index Medicus (see www.nlm.nih.gov.uk) . When citing papers from monographs and books, give the author, title of chapter, editor of book, title of book, publisher, place and year of publication, first and last page numbers. Internet pages and online resources may be included within the text and should state as a minimum the author(s), title and full URL. The date of access should be supplied and all URLs should be checked again at proof stage.

Examples:

Journal article: Halsband ER, Hirshberg YA, Berg LI. Ketamine hydrochloride in outpatient oral surgery. J Oral Surg 1971; 29: 472-476.

When citing a paper which has a Digital Object Identifier (DOI), use the following style: Toschka H, Feifel H. Aesthetic and functional results of

harvesting radial forearm flap. Int J Oral Maxillofac Surg 2001; 30: 45-51. doi: 10.1054/ijom.2000.0005

Book/monograph: Costich ER, White RP. Fundamentals of oral surgery. Philadelphia: WB Saunders, 1971: 201-220.

Book chapter: Hodge HC, Smith FA. Biological properties of inorganic fluorides. In: Simons JH, ed.: Fluorine chemistry. New York: Academic Press, 1965: 135.

Internet resource: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. ➡ <http://www.icmje.org> [Accessibility verified March 21, 2008]

Tables

Tables should be used only to clarify important points. Double documentation in the form of tables and figures is not acceptable. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. They should be double spaced on separate pages and contain only horizontal rules. Do not submit tables as photographs. A short descriptive title should appear above each table, with any footnotes suitably identified below. Care must be taken to ensure that all units are included. Ensure that each table is cited in the text.

Figures

All illustrations (e.g. graphs, drawings or photographs) are considered to be figures, and should be numbered in sequence with Arabic numerals. Each figure should have a caption, typed double-spaced on a separate page and

numbered correspondingly. The minimum resolution for electronically generated figures is 300 dpi.

Line illustrations: All line illustrations should present a crisp black image on an even white background (127 x 178 mm (5 x 7 in), or no larger than 203 x 254 mm (8 x 10 in). The size of the lettering should be appropriate, taking into account the necessary size reduction.

Photographs and radiographs: Photomicrographs should show magnification and details of any staining techniques used. The area(s) of interest must be clearly indicated with arrows or other symbols.

Colour images are encouraged, but the decision whether an illustration is accepted for reproduction in colour in the printed journal lies with the editor-in-chief. Figures supplied in colour will appear in colour in the online version of the journal.

Size of photographs: The final size of photographs will be: (a) single column width (53 mm), (b) double column width (110 mm), (c) full page width (170 mm). Photographs should ideally be submitted at the final reproduction size based on the above figures.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving

requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, which they are requested to correct and return within 48 hours. Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully

before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author will be provided, at no cost, with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Accepted Articles

For the facility to track accepted articles and set email alerts to inform you of when an article's status has changed, visit:

<http://authors.elsevier.com/TrackPaper.html> There are also detailed artwork guidelines, copyright information, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those related to proofs, are provided after registration of an article for publication.

Instructions for Letters to the Editor

The IJOMS welcomes Letters to the Editor. To facilitate submission of the highest quality of Letters to the Editor, the following guidelines should be followed:

1. Letters are meant to be focus pieces and, therefore, are limited to no more than 600 words, 6 references and a maximum of 2 figures. One reference should include a reference to the IJOMS article being addressed.
2. It is recommended that you limit your letter to one or two important and critical points to which you wish to provide a clear and precise discussion regarding the previously published article.
3. One should support all assertion by peer review literature which should be a primary research or large clinical studies rather than a case report.
4. Please include any financial disclosures at the end of the letter. This would include the potential conflicts of interest not just related to the specific content of your letter but also the content of the IJOMS article and other related areas.
5. Please recognize that letters that are essentially in agreement with the author's findings and offer no additional insights provide little new information for publication. Likewise, letters that highlight the writer's own research or are otherwise self-promotional will receive a low publication priority.
6. There may be a need for additional editing. Should editing be required the letter will be sent back to the author for final approval of the edited version.
7. It is important to use civil and professional discourse. It is not advisable that one adopt a tone that may be misconstrued to be in anyway insulting.
8. Finally, it is not advisable to provide a letter that is anecdotal. While personal experiences can have great value in patient care, it is generally not strong evidence to be placed in a letter to the editor.