

**Rodrigo dos Santos Pereira**

**Estudo Comparativo do Vidro Bioativo e Osso Autógeno em  
Aumento do Assoalho de Seios Maxilares de Humanos**

Araçatuba  
2016

**Rodrigo dos Santos Pereira**

**Estudo Comparativo do Vidro Bioativo e Osso Autógeno em  
Aumento do Assoalho de Seios Maxilares de Humanos**

Tese 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 Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli-Vieira.

Araçatuba  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

P436e      Pereira, Rodrigo dos Santos.  
              Estudo Comparativo do vidro bioativo e osso autógeno  
              em aumento do assoalho de seios maxilares de humanos /  
              Rodrigo dos Santos Pereira. - Araçatuba, 2016  
              166 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

              Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
              Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
              Orientador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli-Vieira

              1. Seio maxilar 2. Substitutos ósseos 3. Tomografia  
Computadorizada de feixe cônico espiral 4. Imuno-histoquímica I. T.

Black D7  
CDD 617.64

*DEDICATÓRIA*

## *Dedicatória*

Eu dedico esta conquista aqueles que são meu alicerce como ser humano, que me ensinaram e, até hoje ensinam, o valor da vida: **a minha família.**

**Ao meu pai, Pascoal Alves Pereira,** um exemplo de homem e cidadão. Que me ensinou a ser idôneo em todas as áreas da minha vida e a nunca desistir das dificuldades. Pai eu te amo.

**À minha mãe, Lídia Maria Góes dos Santos Pereira,** uma mulher guerreira, batalhadora e temente à Deus. Me ensinou a ter paciência durante minhas lutas, sempre com muito amor e dedicação. Você e meu Pai foram alicerces fundamentais nesta longa caminhada na pós graduação. Jamais teria conseguido sem o suporte de ambos. Eu agradeço à Deus todos os dias por ter você na minha vida. Eu te amo com todo meu coração.

**À minha irmã, Renata Góes dos Santos Pereira,** por todos os dias em que esteve presente em minha vida. Mesmo com todas as adversidades presentes leva a vida com alegria. Obrigado por todo carinho. Eu te amo!

**À alegria da nossa casa, Maria Luíza,** minha sobrinha querida! Você é minha princesa. Depois que você nasceu não teve um dia sequer que não acorde pensando em você. Obrigado por me fazer sorrir todos os dias.

## *Agradecimentos Especiais*

## *Agradecimentos Especiais*

Meu maior prazer é a busca pelo conhecimento. Esta dádiva foi-me dada pelo autor da vida, **Deus**. Eu O agradeço por todo seu infinito amor e por estar presente em todos os momentos da minha vida. Agradeço, também, por tudo que tens feito na vida da minha família, pelos meu amigos, por todos os dons que me deste e pelos relacionamentos que me proporcionam um crescimento diário. Muito obrigado pelo dom da vida e por colocar pessoas tão especiais na minha vida.

**Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Hochuli-Vieira.** Muito obrigado por sempre acreditar em mim. Tudo que conquistei durante a pós graduação agradeço à sua orientação. És um exemplo a ser seguido como docente e pai de família. Tenho o maior orgulho de poder ter convivido com o Sr. durante esses anos. Deus abençoe o Sr. e sua família maravilhosa. Muito obrigado de todo o meu coração.

**Ao Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior.** Nada engrandece mais ao homem do que ajudar ao próximo. O senhor me mostrou que a humildade, paciência e dedicação são requisitos primordiais não somente para ser Mestre ou Doutor mas, também, ser mais **humano**. Este é seu dom, ser professor. Muito obrigado pela oportunidade e pela confiança que o senhor depositou em mim. Seu coração realmente não cabe no peito de tão grande que é. Jamais esquecerei de seus conselhos, muito obrigado.

**À Prof. Dra. Roberta Okamoto.** Peça fundamental desta pesquisa. Muito obrigado pelo convívio e pelos ensinamentos diários. Sua serenidade e paciência são exemplos de como ser professor.

**Ao Prof. e amigo Dr. Nicolas Homsí.** Em 2006, eu ainda acadêmico, me proporcionou conhecer a Cirurgia Maxilofacial e seus conhecimentos. Amizade que perpetua até hoje e ainda sempre disposto a ensinar. Meu muito obrigado por todos os conselhos acadêmicos e profissionais. O Sr. é parte desta conquista.

**Ao Prof. Dr. e amigo querido Leonardo Perez Faverani.** Uma das pessoas mais amáveis que pude conhecer na Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Desde a minha entrada jamais negou uma ajuda ou ensinamento sequer. O convite para ser membro da minha banca é a forma de agradecer por tudo que você conviveu comigo nesta jornada. De coração, muito obrigado.

**Ao Prof. Dr. Joel Ferreira Santiago Júnior.** Seus conhecimentos e carisma falam por você e ultrapassam as paredes da FOA. Muito obrigado pelo aceite de ser membro avaliador da minha banca.

**Aos professores da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho, Prof. Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Prof. Dra. Daniela Ponzoni, Prof. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi, Prof. Dr.**

**Francisley Ávila Campos.** Meu muito obrigado por todos os momentos de conhecimento que foram compartilhados no departamento. Vocês têm a minha admiração.

**Ao Diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Dr. Wilson Roberto Poi.** Obrigado por confirmar a minha escolha na carreira de docente. Seus conselhos e conhecimentos engrandeceram a minha formação durante esses anos e me fizeram descobrir o professor que há em mim. Ao senhor meu muito obrigado.

**À colega Juliana Dreyer Menezes.** Esse trabalho não teria fundamento sem sua grandeza e ajuda na condução das análises tomográficas. Muito obrigado com toda a minha alma e coração.

**Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial Dirce, Cleide, Gilmar, Renato, Odair, Paulo e Marcos.** Meu muito obrigado pelo acolhimento que tive dentre vocês. Que Deus abençoe a vida de cada um imensamente.

**Ao técnico do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica João Batista Vieira.** Excelente pessoa e extremamente prestativa quando solicitado. Meu muito obrigado por todos os ensinamentos e pelo convívio.

**Ao amigo João Paulo Bonardi.** Sempre disposto na ajuda e condução de diversas análises deste trabalho. Ainda teremos muitas

pesquisas para conduzirmos juntos, tenha certeza disso. Sua carreira é extremamente promissora. Meu mais profundo agradecimento por tudo. Deus abençoe a você, sua esposa e filho.

**Ao amigo André Luis da Silva Fabris.** Tenha certeza que nossa amizade será por toda a vida. Muito obrigado pelo convívio nesses anos de pós graduação.

**Ao colega e mestrando em cirurgia Igor Puttini.** Muito obrigado pelo tratamento realizado nas imagens deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos. Deus te abençoe nas suas escolhas.

**Ao meu “irmão” Fernando Isquierdo de Souza.** Não há palavras para descrever o grande ser humano que és. A pessoa que posso dizer sem sombra de dúvidas que é meu irmão. Conte comigo para o restante de nossas vidas. Deus te guie em sua infinita sabedoria na sua jornada. Muito obrigado por tudo.

**Ao amigo Prof. Dr. Geraldo Luís Griza.** Uma das pessoas mais alegres e prestativas que pude conhecer. Sem sua ajuda e conhecimento este trabalho não seria possível. Pode contar comigo pra todas as horas. Meu muito obrigado.

**Ao amigo Prof. Dr. Ricardo Conci.** Muito obrigado pela receptividade e acolhimento nos períodos em que estive em Cascavel-PR. Uma pessoa incrível e com imenso prazer em ajudar ao próximo.

**Aos colegas da residência em Cirurgia Bucomaxilofacial da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Maicon Pavelski, Bruna Resende, Neto Sirena, Aline Alves, Kaoh Thaís e Bruno Sbardelotto.** Muito obrigado pelo convívio, ajuda e amizade.

**Aos colegas do curso de especialização em Implantodontia da ABO de Cascavel-PR, Thiago Cassol, Jedryel Zarth, Matheus Loris, Maurício Bilibill, Luciano Spessatto, Cristian Speroto, Jean Teixeira, Karin Schirmer, Nayara Bagatino e Kelcilene.** Muito obrigado pelo convívio, ajuda e amizade.

**Ao Dr. Claudio Gomes e a CEDOC em Cascavel-PR pela imensa ajuda nas análises tomográficas desta pesquisa.** Minha eterna gratidão ao Sr.

**Aos colegas de pós graduação do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada Tarik Polo, Sabrina Ferreira, Juliana Zorzi, Ana Paula Simões, Igor Beneti, Jonathan Ribeiro, Járede Carvalho, Carulina Moraes, Gustavo Grossi, Heldo Cesar, Julierme Ferreira, Júlio Cesar Oliveira, Gabriel Ramalho, Willian Moraes, Mônica Palacio, Pedro Henrique Ferreira, Carolina Danieletto, Gustavo Momesso, Leonardo**

**Freitas, Fábio Batista, Eduardo Dias Ribeiro, Sormani Queiroz, Erik Neiva, Willian Ricardo, Ciro Dualibe, Ricardo Mureb, Gabriel Mulinari, Cristian Statkiewicz, Igor Putini, Lamis Meorin, Valthierre Nunes, Maria del Pilar, Juciléia Maciel, Bianca Bravim, Patrícia Bermejo, Fernanda Boos, Flávia Pereira, Carlos Timóteo, Júlio Maciel.** Todos vocês têm minha admiração, amizade e carinho. Muito obrigado por cada conhecimento compartilhado, ajuda e momentos incríveis que passamos. Levo vocês no meu coração.

**Ao Amigo Dr. Gustavo Latini.** Muito obrigado pelas oportunidades e pela confiança que depositaste em mim e pela oportunidade de crescimento dentro da especialidade. Deus abençoe você e sua maravilhosa família.

**Aos colegas do Hospital Geral de Nova Iguaçu Gustavo Latini, Fabrício Albieri, Luís Fernando Magacho, Roger Tochio, Marcio Arruda, Paulo Piloto, Paulo Roberto Júnior, João Marques Camargo, José Emílio Polinati, Jonathan Ribeiro e Alexandra Homsí.** Muito obrigado a todos por todo esse tempo compartilhado. Muitos de vocês me conheceram quando ainda era acadêmico e desde então aprendi muito. Tenham o meu total agradecimento pela ajuda durante meu ciclo profissional.

**Aos amigos da disciplina de Anatomia Bucal e Cirurgia Oral da Faculdade São José Rodrigo Resende, Carlos Mourão, Rosângela Varela, Rafael Meira e Jonathan Ribeiro.** Os momentos ao lado de vocês

têm sido maravilhosos. Muito obrigado pela confiança que depositaram em mim e pela amizade maravilhosa.

**À minha namorada Juliani Boque.** Vamos juntos colher os frutos dessa conquista. Obrigado por estar na minha vida e me fazer um homem melhor. Eu te amo

**Aos colegas do Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Dr. Dr. Alexander Gröbe, Dr. Dr. Henning Hanken, Dr. Dr. Robert Köhnke, Dr. Dr. Alexandre Assaf, Dra. Dra. Benedicta Beck-Broichsitter, Dr. Dr. Kilian Kreutzer, Dr. Marcus Freytag, Dra. Julia Obermeyer e especialmente a figura do Prof. Dr. Dr. Max Heiland.** Muito obrigado pela receptividade e toda a ajuda prestada durante meu *fellowship*.

**Aos residentes de Cirurgia Oral do Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Dr. Sam Bajunaid, Dr. Badr Alhamzi, Dr. Abdalmalik Ghandourah, Dr. Talal Alqahtani e Dr. Ammar Alkahtani.** Sou eternamente grato pela receptividade, ajuda prestada e amizade que vocês me deram durante meu período em Hamburg-Alemanha. Espero revê-los em breve.

**As estagiárias do Departamento de Ciências Básicas, Leticia Pitol, Fernanda Costa, Danila Oliveira, Ana Claudia Ervolino e Jaqueline Hassumi,** muito obrigado pela ajuda nas imunomarcações desta pesquisa.

**À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro mediante a bolsa doutorado indispensável à realização da minha pesquisa.**

## *Agradecimientos*

## *Agradecimentos*

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba na figura de sua diretora Professor Titular Wilson Roberto Poi que me deu a oportunidade de cursar o Mestrado e o Doutorado em Odontologia. Meu maior orgulho é dizer que faço parte desta instituição que tanto preza pelo ensino e pesquisa. Muito obrigado.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” na pessoa do Prof. Adj. André Luís Fraga Briso.

Aos Professores do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese na figura dos Professores Dr. Wirley Assunção, Eduardo Passos Rocha e Paulo Henrique dos Santos.

Aos funcionários da pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba pela disponibilidade nas etapas do meu curso de Mestrado e Doutorado.

Aos colegas da pós-graduação em odontologia da área de prótese dentária Adara Smith, Caroline Cantieri, Aljomar Vechiato, Agda Marobo, Regis Melo, Mariana Vilela, Rodrigo Medeiros e da área de Dentística

Restauradora Laura Molinar. Muito obrigado por todos os momentos de alegria e conhecimento compartilhado.

Aos pacientes, pela confiança depositada em mim durante todo o tratamento realizado. Obrigado por me proporcionar melhorar minhas habilidades cirúrgicas e aprender constantemente com vocês. Serei eternamente grato.

*Επίγραφε*

*“Se quiser ter uma vida plena, prenda-se a um objetivo, não às pessoas nem  
às coisas.”*

*Albert Einstein*

## *LISTAS E SUMÁRIO*

## *Lista de Figuras*

**Figura 1** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando a redução das séries para 1 mm entre os cortes. 80

**Figura 2** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando os ajustes do "center level" e "bandwidth". 81

**Figura 3** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando o corte no plano sagital após ativação do filtro "flow" para melhor visualização. 82

**Figura 4** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 1. Observa-se um osso de arquitetura lamelar envolto em tecido conjuntivo bem celularizado e lacunas referentes a fragmentos do vidro bioativo. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 83

**Figura 5** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 1. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar, com a presença de regiões de osso imaturo envolto a um tecido conjuntivo celularizado. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 84

**Figura 6** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 1. É possível observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar, áreas de

medula e a presença de uma lacuna referente a um fragmento de vidro bioativo  
(Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 85

**Figura 7** – Imagem demonstrando que o osso do grupo 1 apresenta-se com arquitetura lamelar e a presença de uma camada periférica com osteoblastos depositando novo osso. (Tricrômio de Masson, aumento x25) 86

**Figura 8** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 2. Observa-se um osso de arquitetura imatura com áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo celularizado e medula óssea. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 87

**Figura 9** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 2. Observa-se diversas áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo celularizado e a presença de uma partícula de osso autógeno remanescente com formação óssea por osteogênese na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 88

**Figura 10** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 2. Observa-se diversas áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo bem celularizado, com lacunas referentes a partículas de vidro bioativo e a presença de uma partícula de osso autógeno remanescente com formação óssea por osteogênese na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 89

**Figura 11** – Imagem demonstrando que o osso do grupo 2 apresentando-se com arquitetura óssea imatura. O tecido corado em azul indica a presença de fibras colágenas. (Tricrômio de Masson, aumento x25) 90

**Figura 12** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 3. Observa-se um osso de arquitetura lamelar envolto em tecido conjuntivo celularizado e vascularizado. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 91

**Figura 13** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 3. Apresenta arquitetura lamelar e a presença de áreas de *woven bone* ao redor de osso maduro (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 92

**Figura 14** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 3. Arquitetura óssea madura com a presença de formação óssea lamelar e linhas de osteoblastos na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 93

**Figura 15** – Imagem demonstrando osso do grupo 3 com arquitetura óssea madura e linha de osteoblastos na periferia. (Tricrômio de Masson, aumento x25) 94

**Figura 16** – Gráfico mostrando os resultados da formação óssea no seio maxilar dos grupos avaliados. Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente. 95

**Figura 17** – Gráfico mostrando os resultados da formação do tecido conjuntivo no seio maxilar dos grupos avaliados. Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente ( $p < 0.05$ ) 96

**Figura 18** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 1. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 97

**Figura 19** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 98

**Figura 20** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 99

**Figura 21** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 2. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 100

**Figura 22** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 2. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 101

**Figura 23** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 102

**Figura 24** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 3. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 103

- Figura 25** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 3.  
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 104
- Figura 26** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 3.  
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 105
- Figura 27** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 1.  
Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 106
- Figura 28** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 1.  
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 107
- Figura 29** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 1.  
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 108
- Figura 30** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 2.  
Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 109
- Figura 31** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 2.  
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 110
- Figura 32** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 2.  
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 111

- Figura 33** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 3. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 112
- Figura 34** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 113
- Figura 35** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 3. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 114
- Figura 36** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 1. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 115
- Figura 37** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 116
- Figura 38** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 117
- Figura 39** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 2. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 118
- Figura 40** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 2. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 119

<b>Figura 41</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	120
<b>Figura 42</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 3. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	121
<b>Figura 43</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	122
<b>Figura 44</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 3. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	123
<b>Figura 45</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 1. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	124
<b>Figura 46</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	125
<b>Figura 47</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	126
<b>Figura 48</b> – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 2. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)	127

- Figura 49** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 2.  
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 128
- Figura 50** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 2.  
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 129
- Figura 51** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 3.  
Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 130
- Figura 52** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 3.  
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 131
- Figura 53** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para TRAP do grupo 3.  
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 132

## *Lista de Tabelas*

Tabela 1. Resultados histométricos da formação do tecido ósseo após 6 meses do reparo ósseo no seio maxilar dos grupos 1, 2 & 3.	134
Tabela 2. Resultados histométricos da formação do tecido conjuntivo após 6 meses do reparo ósseo no seio maxilar dos grupos 1, 2 & 3.	135
Tabela 3. Scores das imunomarcações para RUNX2	134
Tabela 4. Scores das imunomarcações para VEGF	135
Tabela 5. Scores das imunomarcações para Osteocalcina	135
Tabela 6. Scores das imunomarcações para TRAP	135
Tabela 7. Volume ósseo enxertado após 14 dias (T1) e após 6 meses de reparo (T2) nos seios maxilares com a taxa de reabsorção do grupo 1.	136
Tabela 8. Volume ósseo enxertado após 14 dias (T1) e após 6 meses de reparo (T2) nos seios maxilares com a taxa de reabsorção do grupo 2.	136
Tabela 9. Volume ósseo enxertado após 14 dias (T1) e após 6 meses de reparo (T2) nos seios maxilares com a taxa de reabsorção do grupo 3.	137

## *Lista de Abreviaturas*

SiO <sub>2</sub>	= Dióxido de silício
CaO	= Óxido de cálcio
NaO <sub>2</sub>	= Óxido de sódio
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	= Pentóxido de fósforo
Runx2	= Fator de Transcrição 2 / <i>Runt-related transcription factor 2</i>
VEGF	= Fator de crescimento vascular Endotelial / <i>Vascular endothelial growth factor</i>
TRAP	= Proteína tartarato de osteoclastos fosfatase ácida resistente / <i>Tartrate-resistant acid phosphatase</i>
Osteocancin	= Osteocalcina
IgG	= Imunoglobulina G
TC	= Tomografia computadorizada cone beam
3D	= Terceira dimensão
T1	= Tempo referente a 14 dias após a primeira enxertia no seio maxilar
T2	= Tempo referente a 6 meses após a cirurgia de enxerto no seio maxilar
DICOM	= Comunicação de imagens digitais em medicina / <i>Digital imaging and communications in medicine</i>
W	Largura / <i>Width</i>

L	Comprimento / <i>Lenth</i>
TIFF	= <i>Tagged Image File Format</i>
V	= Volume do enxerto ósseo
h	= Altura entre as fatias
A	= Soma das áreas das fatias
EDTA	= Ácido etilenodiamino tetra-acético/ <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
NaOH	= Hidróxido de sódio
µm	= Micrômetro
g	= Grama
pH	= Potencial Hidrogeniônico
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Peróxido de hidrogênio
PBS	= Tampão fosfato-salino/ <i>Phosphate buffered saline</i>
mm	= milímetro
mm <sup>2</sup>	= milímetro quadrado
mm <sup>3</sup>	= milímetro cúbico
β-TCP	= Beta tricálcio-fosfato

# Sumário

1.0	Resumo	35
1.1	Abstract	37
2.0	Introdução	40
3.0	Objetivo	45
4.0	Material e Método	47
4.1	Procedimento cirúrgico	48
4.2	Coleta do enxerto ósseo	48
4.3	Elevação do soalho sinusal	49
4.4	Análise histomorfométrica	50
4.5	Análise imuno-histoquímica	51
4.6	Análise tomográfica	52
4.7	Análise estatística	53
5.0	Resultados	55
5.2	Análise histomorfométrica	55
5.3	Análise imuno-histoquímica	56
5.4	Análise tomográfica	57
6.0	Discussão	59
7.0	Conclusão	66
8.0	Referências	68
9.0	Figuras	80
10.0	Tabelas	134
11.0	Anexos	139
11.1	Aprovação no comitê de ética e pesquisa	139

11.2 Termo de consentimento livre e esclarecido	142
11.3 Processamento histológico	145
11.4 Normas para publicação	148

*Estudo Comparativo do Vidro Bioativo e Osso Autógeno em Aumento do Assoalho de  
Seios Maxilares de Humanos*

\*Este trabalho foi formatado de acordo com as normas do periódico International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery (Ver anexo 4).

*Resumo e Abstract*

Pereira, R.S. Estudo Comparativo do vidro bioativo e osso autógeno em aumento do assoalho de seios maxilares de humanos. [Tese] Araçatuba – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2016.

## **1.0 - Resumo**

A deficiência óssea vertical do seio maxilar impossibilita a instalação de implantes dentais necessários para a reabilitação protética contudo, técnicas cirúrgicas para a elevação da membrana sinusal e o uso dos biomateriais para enxertia óssea permitiram alterar esta condição. O osso autógeno é considerado o mais previsível e o padrão ouro para tal finalidade porém, biomateriais como o vidro bioativo, amplamente utilizado na odontologia, permitem substituí-lo. O objetivo deste estudo foi avaliar formação óssea, o comportamento celular e a taxa de reabsorção do vidro bioativo em 2 proporções: puro (grupo 1); adicionado ao osso autógeno 1:1 (grupo 2), comparando com o osso autógeno (grupo 3) em seios maxilares de humanos. Com 15 dias de operados os pacientes realizaram um tomografia computadorizada (TC) cone beam para determinar o volume inicial do enxerto (T1). Após 6 meses uma nova TC foi realizada determinando o volume ósseo final (T2) e também, a coleta das biópsias com a instalação simultânea de implantes dentais. As amostras foram divididas em 3 áreas: leito, intermediária e apical onde foram avaliadas a histomorfometria e imunomarcações para Runx2, VEGF, osteocalcina e TRAP. No grupo 1 os resultados foram de 42.6%, 44.5% e 48% de formação óssea no leito, intermediária e apical respectivamente. No grupo 2 as taxas encontradas

foram de 36.6% no leito, 33.2% na intermediária e 45.8% na apical. No grupo 3 foi de 34.4% para o leito, 35.0 na intermediária e 42.0% na apical. ( $p>0.05$ ) Os 3 grupos apresentaram-se com comportamento semelhante nas imunomarcações realizadas mostrando estar maturado e calcificado o suficiente para receber implantes dentais. As taxas de reabsorção também mostraram-se semelhantes com 44.2% para o grupo 1, 37.9% para o grupo 2 e 45.7% no grupo 3. ( $p>0.05$ ) Assim, podemos concluir que o vidro bioativo possui resultados equiparados ao osso autógeno.

Palavras Chave: Seio Maxilar, Substitutos Ósseos, Implantes Dentais, Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico Espiral, Imuno-histoquímica.

Pereira, R.S. Comparative Study of Bioactive Glass and Autogenous Bone Graft in Human Maxillary Sinus Augmentation. [Thesis]

Araçatuba – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2016.

### **1.1 - Abstract**

Vertical bone deficit due maxillary sinus pneumatization forbid the dental implants placement required for prosthetic rehabilitation however, surgical techniques to elevate maxillary sinus membrane and studies about biomaterials, allows repair these situation. Autogenous bone graft is considered the most predictable and the gold standard for this nevertheless, biomaterials as bioactive glass, has been widely used in dental surgery and allows substitute it. The aim of this study was evaluate the bone formation, the cellular behavior and the resorption rates of bioactive glass in 2 proportions: pure (group 1); add to autogenous bone graft (group 3), comparing then with autogenous bone graft in human maxillary sinus. Post-operative cone beam computed tomography (CT) was used to measure the initial graft volume after 15 days (T1). Six months later, another CT was performed to evaluate the final graft volume (T2) and determine the graft resorption rate and the harvest of biopsies with dental implants placement simultaneously. The samples were divided in 3 areas: bed, intermediately and apical which were evaluated to histomorphometric and immunostaining to Runx2, VEGF, osteocalcin and TRAP. In group 1 the bone formation were 42.6%, 44.5 and 48.0% for bed, intermediately and apical respectively. In group 2 the rates were 36.6% in bed, 33.2% in intermediately and 45.8% in apical. In group 3 were 34.4% in

bed, 35.0% in intermediately and 42.0% in apical. ( $p>0.05$ ) the 3 groups had the same behavior for the 4 proteins showing be matured and calcified to receive dental implants. The resorption rates were similar for the 3 groups with 44.2% % for group 1, 37.9% for group 2 and 45.7% for group 3. ( $p>0.05$ ) In conclusion, the bioactive glass is a good substitute to autogenous bone graft in both proportions evaluated.

Keywords: Maxillary Sinus, Bone Substitute, Dental Implants, Cone Beam Computed Tomography, Immunohistochemistry.

## *Introdução*

## 2.0 - Introdução

A reabilitação dos pacientes edêntulos na região maxilar posterior com implantes osseointegrados foi, durante muito tempo, um desafio aos cirurgiões dentistas (1). O motivo, especificamente, deve-se à uma possível deficiência horizontal e vertical do remanescente ósseo, qualidade óssea desfavorável ou pneumatização do seio maxilar (2, 3). O procedimento cirúrgico de elevação da membrana sinusal e as exaustivas pesquisas sobre substitutos ósseos vieram proporcionar o reestabelecimento da altura óssea local para a futura instalação dos implantes dentais.

A primeira técnica cirúrgica descrita para o aumento do soalho sinusal foi descrita por Tatum (4) onde, por uma via crestal, acessava-se a membrana sinusal. Boyne & James (5) desenvolveram o acesso lateral ao seio com o uso do osso autógeno como material de enxertia e a instalação imediata ou posterior dos implantes dentais. Uma alternativa menos invasiva foi preconizada por Summers onde, também por via crestal, acessava o seio maxilar. Esta técnica é realizada com brocas e osteótomos onde a enxertia é realizada juntamente com a instalação dos implantes osseointegrados (6).

Vários materiais têm sido utilizados como substituto ósseo no seio maxilar como o osso autógeno, osso alógeno, os materiais aloplásticos e a combinação destes (7, 8). Mesmo que de baixo risco, os enxertos alógenos e os xenoenxertos podem apresentar rejeição imunológica, infecção e sequestro ósseo (9). O biomaterial ideal deve ser: biocompatível, bioativo, promover a atração de células osteogênicas, aderir ao osso do hospedeiro, possuir poros com interconectividade permitindo a migração celular e formação vascular, ser degradável, compartilhar carga mecânica com o osso

do hospedeiro durante o processo de remodelação e não ser antigênico (10-13).

O osso autógeno é o mais previsível e favorável pois é osteocondutor, osteoindutor e osteogênico (14-17). Isto porque possui osteoblastos, células mesenquimais indiferenciadas, osteoclastos e fatores de crescimento (18). Os sítios doadores na cavidade oral são os mais utilizados nesses procedimentos, pois possuem vantagens de estar na mesma região e serem coletados sob anestesia local na maioria dos casos (15, 17). Contudo, a quantidade de osso necessária para a cirurgia pode ser insuficiente além de possuir reabsorção imprevisível (19, 20). Visto isso, a literatura demonstra que o uso dos biomateriais são promissores na reconstrução maxilar posterior (6, 8, 12, 13, 17, 21-24).

Dentre os substitutos ósseos podemos destacar o vidro bioativo. Criado pelo Prof. Larry Hench na Universidade da Flórida em 1969, este material possui a capacidade de se aderir ao osso e, desde então, têm sido aplicado no reparo de defeitos ósseos (10). Uma das formas comerciais utilizadas deste material é o Biogran<sup>®</sup> (Biomet 3i – São Paulo – Brasil), um vidro bioativo reabsorvível com partículas com tamanho de 300 a 355  $\mu\text{m}$  e composto de 45% de dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ); 24.5% de óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ); 24.5% de óxido de sódio ( $\text{NaO}_2$ ) e 6% de pentóxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) (25, 26).

O Biogran<sup>®</sup> é um material osteocondutor utilizado com sucesso em estudos clínicos e experimentais para aumentos ósseos, ressecção apical, alvéolos pós extração, sinus lift e defeitos ósseos periodontais (27-32). Quando implantado *in vivo*, o vidro bioativo forma uma camada de gel rico em sílica em sua superfície e acima desta, uma camada de cálcio e fósforo. Este fenômeno promove a adesão de fibras colágenas com células osteopromissoras à superfície do vidro bioativo (33-35). A camada de cálcio e fósforo é considerada essencial para adesão química com o osso e promover diferenciação osteoblástica (36-38). Como o Biogran é degradado ainda não se sabe contudo, acredita-se que por meio de uma dissolução química se inicia a quebra das partículas (22). Essa quebra é gradual e a escavação das partículas é seguida por uma invasão de células mesenquimais (24).

Alguns estudos têm proposto avaliar a neoformação óssea no seio maxilar com o vidro bioativo (23-25, 38) porém, ainda não há pesquisas que avaliem o comportamento celular e o padrão de reabsorção óssea. Imunomarcações de proteínas específicas podem ajudar a entender a atividade destas no período de reparação do enxerto.

A Runx2 (Runt-related transcription factor 2) é uma proteína responsável por regular os genes que executam o processo de formação óssea e a diferenciação dos osteoblastos (39, 40). A VEGF (Vascular endothelial growth factor) está associada ao mecanismo de angiogênese e osteogênese que ocorrem durante o reparo ósseo, exercendo, inclusive, efeito quimiotático nos osteoblastos (41, 42). A osteocalcina é uma proteína associada à calcificação do enxerto e sua expressão indica maturação óssea (43, 44) e, a TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase), que é responsável

pela marcação dos osteoclastos na superfície óssea, indica o processo de remodelação no enxerto (21).

Este estudo se justifica pela relevância do assunto abordado e da necessidade de esclarecimentos sobre o comportamento celular do vidro bioativo puro e misturado ao osso autógeno na proporção 1:1 em seios maxilares de humanos visto que, não há na literatura odontológica, estudos relacionando a histologia, imuno-histoquímica e a alteração volumétrica destes enxertos.

*Objetivo*

### **3.0 - Objetivo**

O objetivo deste estudo foi avaliar a neoformação e a reabsorção óssea do Biogran<sup>®</sup> puro e misturado ao osso autógeno na proporção de 1:1 comparando com o enxerto osso autógeno em seio maxilar de humanos. A análise da reabsorção destes enxertos foi realizada por meio de tomografias computadorizadas cone beam (TC) avaliando a alteração volumétrica dos materiais enxertados em 2 períodos. A neoformação óssea foi determinada através da análise histométrica e o comportamento celular por meio de imunomarcações para as proteínas Runx2, VEGF, Osteocalcina e TRAP.

## *Material e Método*

#### **4.0 - Material e Método**

Este estudo foi realizado na Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" com aprovação do comitê de ética e pesquisa em humanos número 47711015.4.0000.5420 e com auxílio financeiro da CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior) através de uma bolsa doutorado. Foram incluídos neste estudo os pacientes que apresentassem edentulismo maxilar posterior, com altura óssea menor que 5 mm e que necessitassem de aumento ósseo para instalação de implantes dentais. Foram excluídos aqueles que apresentassem problemas sistêmicos não controlados ou problemas locais assim como periodontite ou patologias sinusais não controladas. Fumantes e aqueles que foram submetidos a radiação na região de cabeça e pescoço também foram excluídos. Tomografias computadorizadas cone beam foram realizadas para avaliar o seio maxilar assim como a região retromandibular e a sínfise mandibular, determinando o volume ósseo de onde iria coletar o enxerto ósseo autógeno. Baseados nessas determinações, 32 pacientes foram convidados a participar deste estudo. Quarenta seios maxilares foram operados e divididos da seguinte forma: Grupo 1 com 10 pacientes e 14 seios maxilares operados com Biogran<sup>®</sup>; Grupo 2 com 12 pacientes e 14 seios maxilares operados com Biogran<sup>®</sup> + osso autógeno 1:1 e Grupo 3 com 10 pacientes e 12 seios maxilares operados com osso autógeno somente.

#### 4.1 - Procedimento cirúrgico

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados na clínica de cirurgia oral da Faculdade de Odontologia de Araçatuba sob anestesia local com lidocaína 2% com adrenalina 1:1000.000 (Alphacaine – DFL/Brasil) e por meio de um rigoroso protocolo asséptico, incluindo esterilização de todo material cirúrgico, delimitação da área a ser operada com campos estéreis e uso de aventais e luvas estéreis.

#### 4.2 - Coleta do enxerto ósseo autógeno

O osso da região sinfisária foi acessado através de uma incisão na mucosa labial com extensão de canino a canino até o músculo mental. Em seguida, a lâmina foi direcionada para o osso incisando músculo e periósteo. O retalho foi descolado com um descolador de Molt No. 9 (Golgran; São Caetano do Sul, SP, Brazil) expondo a região. A osteotomia foi realizada com uma broca 701 (KG Sorensen; Cotia, SP, Brazil) sob constante irrigação com solução salina a 0.9% (Darrow; Rio de Janeiro, RJ, Brazil). A região retromolar foi acessada através de um acesso intra-oral similar ao da osteotomia sagital, osteotomizado com uma broca 701 e removido com um cinzel. Os blocos ósseos foram triturados por um particulador ósseo (Neodent; Curitiba-PR, Brazil).

#### 4.3 - Elevação do soalho sinusal

Os seios maxilares foram enxertados de acordo com o procedimento de Boyne e James (5) sob anestesia local. Com uma lâmina n° 15 (Solidor® - Barueri/SP) acoplada a um cabo de bisturi, uma incisão crestal foi realizada no osso maxilar para exposição da parede óssea lateral. Com uma broca diamantada esférica n° 6 (KG Sorensen – Cotia/SP) e sob irrigação copiosa com soro fisiológico 0.9% (ADV – Nova Odessa/SP), uma fenestração foi feita para acesso à membrana do seio maxilar. Elevadores de membrana sinusal (Neodent – Curitiba/Brasil) foram utilizados para o cuidadoso processo de elevação da mesma onde, a seguir, se enxertou com a seguinte forma: 14 seios maxilares com Biogran® referente ao grupo 1; 14 seios maxilares enxertados com Biogran® + osso autógeno 1:1 sendo este o grupo 2 e 12 seios enxertados com osso autógeno somente sendo caracterizado como grupo 3. Os seios maxilares com altura menor que 5 mm foram enxertados com o enxerto composto ou com osso autógeno puro, devido ao menor aporte nutricional que estes leitos oferecem (45). As feridas foram suturadas com fio absorvível de poligalactina 4.0 Ethicon (Johnson & Johnson – São Paulo/Brasil). Durante a primeira semana os pacientes foram medicados com 500 mg de dipirona sódica (EMS; São Paulo, SP, Brasil) 4 vezes ao dia para analgesia, se necessário e, 500 mg de amoxicilina (EMS; São Paulo-SP/Brasil) 3 vezes ao dia para reduzir as chances de infecção.

Após os procedimentos cirúrgicos da primeira etapa, 2 pacientes (2 seios maxilares) do grupo 1 desistiram da pesquisa não retornando para as tomadas tomográficas nem para a instalação dos implantes dentais restando então 12 seios maxilares. Um seio maxilar do grupo 2 infectou no pós

operatório e foi excluído da pesquisa. Ao final de 6 meses 2 pacientes (4 seios maxilares) do mesmo grupo não realizaram a segunda tomada tomográfica contudo, foram realizadas as biópsias para as análises histomorfométrica e imunoistoquímica de 13 seios maxilares. Assim, somente 9 seios maxilares foram avaliados no estudo de alteração volumétrica.

#### 4.4 - Análise histométrica

Após 6 meses do reparo ósseo, biópsias foram coletadas com uma broca trefina de 3 mm de diâmetro (MK Life – Porto Alegre/Brasil) no mesmo lugar programado para receber os implantes dentais. Foram obtidos 4 cortes de cada biópsia. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina para a análise histomorfométrica da neoformação do tecido ósseo e do tecido conjuntivo no seio maxilar dos pacientes estudados. As lâminas foram codificadas em 3 áreas da amostra: leito (próxima ao leito receptor); intermediária e apical (próxima a membrana do seio maxilar). Estas foram examinadas através de um microscópio de luz com objetiva de 12,5X por um único avaliador. Não foram avaliadas os leitos receptores das amostras. As imagens foram obtidas com uma câmera digital (JVC TK1270 Color Vídeo Câmera) acoplada ao microscópio e analisadas por meio da grade de Merz. As 3 imagens, com a grade anexada, foram montadas no programa PowerPoint for Mac (Microsoft<sup>®</sup>, Redmond-WA, EUA) onde se contou os pontos referentes a analisados para, enfim, obter o percentual de osso neoformado e de tecido conjuntivo de cada região da amostra.

#### 4.5 - Análise imuno-histoquímica

Para o processamento imuno-histoquímico foram utilizados anticorpos primários policlonais produzidos em cabras para osteocalcina (osteocalcin, Goat anti-osteocalcin - Santa Cruz Biotechnology, SC18319), a Runx2 (Goat anti-Runx2 - Santa Cruz Biotechnology, SC8566), TRAP (Goat anti-trap - Santa Cruz Biotechnology, SC30832) e VEGF (Goat anti-VEGF - Santa Cruz Biotechnology, SC1881). Como anticorpos secundários, foram utilizados os anticorpos contra IgG de cabra biotinilado (anti-Goat IgG-HRP, PIERCE). O método de detecção foi efetuado por imunoperoxidase e a 3,3 diaminobenzidina (DAB, Sigma, St. Louis, MO, USA) utilizada como cromógeno seguido pela contra-coloração nuclear com Hematoxilina de Harri's. Os procedimentos de controle foram feitos pela omissão dos anticorpos primários (controle negativo). Secções longitudinais de 5µm das peças anatômicas foram colocadas em lâminas histológicas e desparafinizadas de acordo com protocolo padrão. O bloqueio da atividade da peroxidase endógena foi realizado com água oxigenada 3% (Perhidrol 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - MERCK) por 45 minutos. As secções sofreram recuperação antigênica por tampão citrato (pH 6,0 – 55°C) e posteriormente foram incubadas por 18h a 4°C com anticorpos primários específicos para as proteínas a serem analisadas e em concentrações previamente testadas e padronizadas. Após 18h as lâminas foram lavadas com PBS (3 banhos) e incubados com um segundo anticorpo biotinilado, por mais 1h à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram novamente lavadas em PBS e re-incubadas com o complexo Avidina-biotina (Strept ABCComplex/HRP-Vector) por 45 min. As áreas avaliadas das amostras seguiram o mesmo padrão da

análise histomorfométrica sendo elas leito, intermediária e apical. O padrão de distribuição da imunocoloração foi analisado qualitativamente como relatado por Hawthorne et al. (46), atribuindo-se os scores 0 (sem marcação), 1 (fraca/difusa), 2 (moderada) e 3 (intensa), a fim de avaliar a expressão das proteínas. A análise foi realizada em microscópio óptico convencional e os scores foram atribuídos por um único observador, previamente calibrado.

#### 4.6 - Análise tomográfica

As tomografias computadorizadas foram realizadas 15 dias após o primeiro procedimento cirúrgico para obter o volume inicial do enxerto (T1) e após 6 meses para obter o volume final (T2). As imagens foram realizadas em um tomógrafo I-Cat com 0.25 mm de espessura (KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda - Joinville/SC), arquivadas na forma DICOM e avaliadas pelo software Osirix<sup>®</sup> (Osirix Foundation – Genebra/Suíça). Para padronizar a geração das imagens e a orientação espacial, todas as imagens foram reorientadas no plano sagital usando a ferramenta presente no software para tal. Para determinar o volume (V) do enxerto ósseo, a área (A) foi mensurada em todos os cortes. Para isso, os cortes foram reduzidos usando a ferramenta “*Reduce series*” aplicando um intervalo 4 que equivale a 1 mm de espessura entre os cortes (Fig. 1). Para facilitar o delineamento das estruturas, o contraste e exposição foram ajustados para o “*center level*” (L= 667) e “*bandwidth*” (W= 3086) de acordo com Spin-Neto et al. e Gorla et al. (47, 48) (Fig. 2). Na ferramenta “*CLUT*”, o filtro de imagem “*flow*” foi selecionado para facilitar a visualização (Fig. 3). A demarcação do enxerto do enxerto em cada corte foi realizado manualmente traçando com o *trackpad*

do computador através da ferramenta “*pencil*” que também gerava a área do enxerto no corte em  $\text{mm}^2$ . Cada corte foi salvo em formato TIFF (Tagged Image File Format) no disco rígido do computador. O volume do enxerto ósseo foi mensurado através da soma de todas as áreas multiplicado pela altura (h) como recomendado por Uchida *et al.* (49), o que equivale a distância entre os cortes sagitais como na equação  $V = \sum A \times h$ . A alteração volumétrica dos grupos avaliados foram expressas em porcentagem de reabsorção pelo cálculo T1-T2.

#### 4.7 - Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para determinar se as amostras possuíam distribuição normal nas análises histométrica e de alteração do volume ósseo (T1-T2). A comparação para a formação óssea, do tecido conjuntivo e da reabsorção dos enxertos foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey (SigmaPlot 12.3 – Systat Software; San José, CA, USA). A relação entre as alterações volumétricas dos enxertos e o tempo decorrido foi avaliado pelo teste de correlação de Pearson. O nível de significância adotado para p foi de  $< 0.05$ .

## *Resultados*

## 5.0 - Resultados

### 5.1 - Análise histomorfométrica

A taxa de formação óssea no grupo 1 foi de  $42.6 \pm 7.2\%$  na região do leito,  $44.5 \pm 18.4\%$  na intermediária e  $48.0 \pm 15.2\%$  na apical. O tecido ósseo formado apresenta-se com características lamelar nas 3 regiões contudo, a parte intermediária demonstra haver mais áreas de *woven bone*. O tecido conjuntivo formado é bem celularizado e segue o mesmo padrão nas regiões do leito e intermediária porém, a parte apical possui mais medula (Fig. 4, 5 & 6). A característica histológica deste grupo demonstra um osso maduro já com a presença de deposição óssea periférica (Fig. 7). No grupo 2, a taxa de formação óssea foi de  $36.6 \pm 12.9\%$  no leito,  $33.2 \pm 13.3\%$  na intermediária e  $45.8 \pm 13.8\%$  na apical. O padrão ósseo para as 3 regiões apresenta-se com diversas áreas de *woven bone*, formação trabecular característico de osso tipo IV e um tecido conjuntivo bem celularizado (Fig. 8, 9 & 10). Este grupo demonstra um característica histológica imatura com um grande número de osteócitos em uma matriz ainda em organização (Fig. 11). O grupo 3 obteve uma taxa de formação óssea de  $34.4 \pm 14.4\%$ ,  $35.0 \pm 13.9\%$  e  $42.0 \pm 16.6\%$  para o leito, intermediária e apical respectivamente. Após 6 meses de reparo ósseo possui uma matriz lamelar em sua grande maioria com pequenas áreas de osso imaturo nas regiões avaliadas (Fig. 12, 13 & 14). É um osso maduro, com uma matriz organizada e a presença e osteoblastos na periferia (Fig. 15). Não houve diferença estatística na formação óssea entre as regiões de cada grupo e nem entre os grupos avaliados ( $p > 0.05$ ). (Tabela 1) (Fig. 16)

A taxa de tecido conjuntivo formado no grupo 1 foi de  $54.4 \pm 10.0\%$  para o leito,  $51.8 \pm 21.5\%$  na intermediária e  $46.0 \pm 13.0\%$  na apical. No grupo 2 obteve-se no leito uma taxa de  $60.0 \pm 13.7\%$ , na intermediária formou  $62.5 \pm 14.7\%$  e na apical  $48.8 \pm 17.7\%$ . A quantidade de tecido conjuntivo encontrado no grupo 3 foi  $59.3 \pm 13.5\%$ ,  $61.3 \pm 14.9\%$  e  $55.8 \pm 16.6\%$  nas regiões do leito, intermediária e apical respectivamente. Não houve diferença estatística na formação do tecido conjuntivo entre as regiões de cada grupo e nem entre os grupos avaliados ( $p > 0.05$ ). (Tabela 2) (Fig. 17)

## 5.2 - Análise imuno-histoquímica

Um único avaliador conferiu *scores* para cada uma das 4 proteínas estudadas. A imunomarcção positiva de células pré-osteoblásticas para RUNX2 foi de forma fraca (“1”) em todas as regiões de todos os grupos (Tabela 3). O padrão visto nos grupos 1, 2 e 3 apresentou-se com poucas células no tecido conjuntivo marcadas para esta proteína assim como no tecido ósseo (Fig. 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 & 26). As imunomarcções para a VEGF foi de forma moderada (“2”) para todas as regiões do grupo 1 e grupo 2. No grupo 3 as imunomarcções foram fracas (“1”) para a região do leito e moderada (“2”) para as regiões intermediária e apical (Tabela 4). As células marcadas para esta proteína encontram-se predominantemente no tecido conjuntivo e na periferia óssea (Fig. 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 & 35). As marcações para osteocalcina no grupo 1 foram de forma moderada (“2”) nas regiões do leito e intermediária porém, na região apical apresentou-se da forma intensa (“3”). No grupo 2 a imunomarcção foi de forma intensa (“3”) em todas as suas regiões e no 3 moderada (“2”) no leito e apical e

intensa (“3”) na intermediária. (Tabela 5) Esta proteína apresenta-se marcada na superfície óssea (Fig. 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 & 44). Para a TRAP houve imunomarcagem da forma fraca (“1”) em todas as regiões de todos os grupos (Tabela 6). Esta proteína marcou células multinucleadas na superfície óssea ou na periferia (Fig. 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 & 53).

### 5.3 - Análise tomográfica

Todos os volumes foram calculados em  $\text{mm}^3$ . A taxa de reabsorção variou de 15.6% a 75% no grupo 1 ( $44.2 \pm 16.0$ ) (Tabela 7), no grupo 2 a taxa variou de 32.4% a 63.0% e em um caso houve 5.8% de volume aumentado ( $37.9 \pm 18.9\%$ ). (Tabela 8) No grupo 3 foi de 3.3% a 73.6% ( $45.7 \pm 18.5\%$ ) (Tabela 9). Não houve diferença estatística das alterações volumétricas entre os grupos avaliados ( $p > 0.05$ ). O coeficiente de relação das alterações volumétricas no tempo decorrido foi de  $r = 0.81$  para o grupo 1,  $r = 0.88$  para o grupo 2 e  $r = 0.82$  para o grupo 3. Esta forte correlação indica que a reabsorção dos enxertos foi progressiva (teste de correlação de Pearson).

## *Discussão*

## 6.0 - Discussão

O material mais confiável e previsível para a reconstrução óssea é ainda o osso autógeno (8). O vidro bioativo é um biomaterial osteoconductor capaz de se ligar ao osso através de uma adesão química (18). Este fenômeno ocorre por meio de uma corrosão química da superfície do vidro pelos fluídos teciduais promovendo uma camada de cálcio rica em fósforo e uma subcamada rica em sílica que se aderem firmemente aos cristais de apatita do osso (38). Devido a estas características, estudos têm demonstrado resultados promissores utilizando este material em defeitos periodontais (28-30, 35) e em enxertia de seios maxilares (23-25, 38, 50).

Apesar disso, um estudo prospectivo e comparativo do vidro bioativo puro em seios maxilares de humanos é escasso na literatura. Tadjoeidin *et al.* (24) propuseram um estudo com design *split mouth* em 3 pacientes utilizando vidro bioativo em um seio maxilar e osso autógeno no outro como controle. Os resultados encontrados para a formação óssea do vidro bioativo foram de 26.9% após 4 meses de reparo ósseo, 35.6% após 6 meses e 38.8% após 15 meses. Na avaliação histológica, foi encontrado um osso com característica mais imatura aos 4 meses seguido de maturação óssea até aos 15 quando apresentou-se mais lamelar. No presente estudo prospectivo, as taxas de formação de osso encontradas foram de 42.6% para o leito, 44.5% na intermediária e 48.0% na apical quando utilizado o vidro bioativo como substituto ósseo no seio maxilar.

Estes resultados propõem que, ao final de 6 meses de reparo ósseo, o osso formado a partir do enxerto com vidro bioativo está apto a receber implantes dentais para reabilitação oral. Isto corrobora com os resultados

encontrados por Klongnoi *et al.* (50) em que um estudo experimental em minipigs avaliou-se o BIC (bone interface contact) usando vidro bioativo obtendo 46.6% de contato.

A adição do osso autógeno aos biomateriais visa obter, além do maior volume, a melhora da qualidade do osso através da adição de características osteoindutoras do mesmo (51, 52). Porém, ao usar enxerto composto de BioOss com osso autógeno no seio maxilar de humanos, Yildirim *et al.* (8) encontraram apenas 18.9% de osso formado com 29.6% de biomaterial ainda restante. Em outro estudo, utilizando o beta-tricálcio fosfato ( $\beta$ -TCP) adicionado ao osso autógeno para reconstruir seios maxilares, Miyamoto *et al.* (53) encontraram em suas biopsias 42% de osso na região próxima da parede lateral do seio maxilar e 34% na região próxima da membrana sinusal.

Turunen *et al.* (38) obtiveram resultados satisfatórios usando o vidro bioativo misturado ao osso autógeno encontrando 34.0% de osso em contato com partículas de vidro bioativo remanescente e 28.8% de osso formado. Cordioli *et al.* (25) avaliaram esta mesma mistura em uma proporção 4:1 e encontraram uma taxa de tecido ósseo de 30.6%. Tadjedin *et al.* (23) avaliando a proporção de 1:1 com osso autógeno de íliaco, obtiveram uma taxa de 38% de osso após 6 meses. Estes resultados corroboram com os achados do presente estudo onde se encontrou uma taxa de formação óssea de 36.6% no leito, 33.2% na intermediária e 45.8% na apical.

Os estudos prévios com vidro bioativo não respondem completamente seu comportamento durante o período de reparação em seios maxilares. Neste estudo procurou-se avaliar, por meio de imunomarcações, a

diferenciação osteoblástica, a formação vascular, a atividade clástica e a calcificação do vidro bioativo puro e adicionado ao osso autógeno após 6 meses de reparo. Além disso, avaliamos também a alteração volumétrica que estes sofreram neste mesmo período por meio de tomografias computadorizadas cone beam.

A expressão da proteína Runx2 nas células do tecido conjuntivo indica que está ocorrendo a diferenciação osteoblástica ou quando há transcrição do gene para formação do colágeno tipo 1 (54, 55). Estudos avaliando as imunomarcações para Runx2 em seios maxilares de coelhos usando  $\beta$ -TCP e BioOss, em períodos iniciais do reparo, verificaram que o uso da hidroxiapatita bovina apresentou-se com marcações variando de moderadas (56) a intensas enquanto o  $\beta$ -TCP mostrou-se fraco (57). Quando utilizado em seios maxilares de humanos, o  $\beta$ -TCP apresentou melhores resultados na expressão da Runx2 após 6 meses de reparo (55). Neste estudo, os autores encontraram um abundante número de células imunomarcadas ao redor do tecido ósseo e das partículas do biomaterial e, assim, concluíram que este material é osteogênico.

Quando o BioOss é adicionado ao osso autógeno para aumentar o volume ósseo do seio maxilar de humanos, tende a ser mais osteoindutor do que o BoneCeramic após 4 meses de reparo contudo, após 8 meses, tende a se igualar (58). No caso do  $\beta$ -TCP mais osso autógeno 1:1, a literatura sugere que este apresenta um curso de diferenciação osteogênica além das partículas do biomaterial ter um papel importante na osteocondução.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que após 6 meses de reparo, o uso do vidro bioativo puro ou quando adicionado ao osso autógeno 1:1, são semelhantes a respeito da imunoposição da Runx2. Esta fraca marcação indica que os mesmos já estão em fase final do reparo e tendem à fase de remodelação.

Tanto o processo de reparo quanto de remodelação óssea ocorre somente na presença de vascularização adequada (56) e a expressão da VEGF estimula diretamente a formação de capilares a partir dos leitos ósseos circundantes (59). Boëck-Neto *et al.* (60) avaliaram a imunoposição desta proteína utilizando osso autógeno e hidroxapatita em seios maxilares de humanos encontrando uma maior intensidade nas áreas de osso recente, ao passo que esta diminuía ao redor de osso lamelar. Isto indica que a expressão da VEGF tende a diminuir conforme o osso amadurece. Nos resultados encontrados do presente estudo, não houve diferença da expressão desta proteína nos 3 grupos avaliados contudo, como ainda foram encontradas áreas de *woven bone* nos grupos 1 e 2, acredita-se que esta marcação moderada irá enfraquecer ao passar do tempo.

A formação óssea a partir do vidro bioativo é realizada com quebra das partículas e a deposição de osso novo através das trincas em um processo contínuo, levando a crer que essas subpartículas desaparecem virtualmente com o tempo (24). Isto propõe que não há atividade clástica para este biomaterial subentendendo-se que, em nossa pesquisa, a fraca imunomarcação para a TRAP para os 3 grupos testados indicam que a presença de células multinucleadas é decorrente da fase de remodelação que estes materiais se encontram.

A expressão da osteocalcina presente nos grupos estudados propõe que todos estão calcificados o suficiente para receber implantes osseointegrados, indicando que tanto o enxerto de vidro bioativo puro quanto aquele misturado ao osso autógeno são bons substitutos para o osso autógeno.

O uso do osso autógeno no aumento da altura óssea do seio maxilar apresenta uma reabsorção progressiva com o decorrer do tempo. *Arasawa et al.* (61) verificaram isso ao estudar este biomaterial em 2 tempos distintos: 3 meses após a enxertia óssea (T1) e 1 ano depois (T2). *Cosso et al.* (62) estudaram as taxas de reabsorção da hidroxiapatita misturada ao osso autógeno 80:20 comparando com o osso autógeno em seios maxilares de humanos. O material testado apresentou uma taxa de alteração e o osso autógeno 42.3%. essa diferença pode ser explicada em razão que a hidroxiapatita apresenta um reabsorção muito lenta (63).

Seguindo a mesma metodologia, *Gorla et al.* (48) compararam a reabsorção do  $\beta$ -TCP puro,  $\beta$ -TCP adicionado ao osso autógeno 1:1 com o osso autógeno puro em seios maxilares de humanos. Seus resultados demonstraram que, o uso  $\beta$ -TCP puro quanto a sua mistura ao osso autógeno, apresentam o mesmo comportamento de alteração volumétrica que o osso autógeno após 6 meses de reparo. Esses resultados corroboram com o presente estudo indicando que o vidro bioativo em ambas as proporções, 100% ou 50% adicionado ao osso autógeno, possuem o mesmo comportamento que o osso autógeno quanto com outros os biomateriais já consagrados.

Com esses resultados podemos observar que o uso do vidro bioativo em seios maxilares apresenta resultados satisfatórios podendo ser um substituto do enxerto de ósseo autógeno. Para os casos de pouca altura de rebordo maxilar, a proporção 1:1 também é uma alternativa pois poderia colher menor quantidade osso autógeno causando assim, menor morbidade.

*Conclusão*

## **7.0 - Conclusão**

Neste estudo verificou-se que o vidro bioativo é um bom substituto do osso autógeno em ambas as proporções avaliadas. Suas características histomorfométricas, celulares e de reabsorção são semelhantes demonstrando assim, ser uma boa alternativa para as reconstruções maxilares posteriores.

## *Referências*

## 8.0 - Referencias

1. Somanathan RV, Simunek SA. Evaluation of the success of beta-tricalciumphosphate and deproteinized bovine bone in maxillary sinus augmentation using histomorphometry: A Review. *Act Med* 2006;49:87-89.
2. Moon JW, Sohn DS, Heo JU, Shin HI, Jung JK. New bone formation in the maxillary sinus using peripheral venous blood alone. *J Oral Maxillofac Surg* 2011;69:2357-2367.
3. Smiler DG, Johnson PW, Lozada JL, Misch C, Rosenlicht JL, Tatum OH, Wagner JR. Sinus lift grafts and endosseous implants. Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dent Clin North Am* 1992;36:151-186
4. Tatum HJ. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am*. 1986;30:207-229.
5. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg*. 1980;38:613-616.
6. Abdulkarim HH, Miley DD, McLeod DE, Garcia MN. Short-Term Evaluation of Bioactive Glass Using the Modified Osteotome Sinus Elevation Technique. *Implant Dent*. 2013;22:491-498.

7. Moy PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary Sinus Augmentation - Histomorphometric Analysis of Graft Materials for Maxillary Sinus Floor Augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51:857-862.
8. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: A histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:23-33.
9. Kirker-Head CA, Nevins M, Palmer R, Nevins ML, Schelling SH. A new animal model for maxillary sinus floor augmentation: evaluation parameters. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12:403-411.
10. Jones JR. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomater* 2013;9:4457-4486.
11. Neamat A, Gawish A, Gamal-Eldeen AM. Beta-Tricalcium phosphate promotes cell proliferation, osteogenesis and bone regeneration in intrabony defects in dogs. *Arch Oral Biol* 2009;54:1083-1090.
12. Wheeler SL. Sinus augmentation for dental implants: The use of alloplastic materials. *J Oral Maxil Surg* 1997;55:1287-1293.

13. Zijdeveld SA, Zerbo IR, van den Bergh JP, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a beta-tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;20:432-440.
14. Hirsch JM, Ericsson I. Maxillary sinus augmentation using mandibular bone grafts and simultaneous installation of implants. A surgical technique. *Clin Oral Implants Res*. 1991;2:91-96.
15. Misch CE. Maxillary sinus augmentation for endosteal implants: Organized alternative treatment plans. *Int J Oral Implantol* 1987;4:49-58.
16. Raghoobar GM, Brouwer TJ, Reintsema H, Vanoort RP. Augmentation of the maxillary sinus floor with autogenous bone for the placement of endosseous implants: A preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993;51:1198-1203.
17. Wood RM, Moore DL. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988;3:209-214.
18. Rickert D, Slater JJRH, Meijer HJA, Vissink A, Raghoobar GM. Maxillary sinus lift with solely autogenous bone compared to a combination of autogenous bone and growth factors or (solely) bone substitutes. A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41:160-167.

19. Block MS, Kent JN, Kallukaran FU, Thunthy K, Weinberg R. Bone maintenance 5 to 10 years alter sinus grafting. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:706-715.
20. Kingsmill VJ, Boyde A, Jones SJ. The resorption of vital and devitalized bone in vitro: significance for bone grafts. *Calcif Tissue Int.* 1999;64:252-256.
21. Chappard D, Guillaume B, Mallet R, Pascaretti-Grizon F, Basle MF, Libouban H. Sinus lift augmentation and beta-TCP: A microCT and histologic analysis on human bone biopsies. *Micron.* 2010;41:321-326.
22. Furusawa T, Mizunuma K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. *Implant Dent.* 1997;6:93-101.
23. Tadjedin ES, de Lange GL, Holzmann PJ, Kuiper L, Burger EH. Histological observations on biopsies harvested following sinus floor elevation using a bioactive glass material of narrow size range. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11:334-344.
24. Tadjedin ES, de Lange GL, Lyaruu DM, Kuiper L, Burger EH. High concentrations of bioactive glass material (BioGran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:428-436.

25. Cordioli G, Mazzocco C, Schepers E, Brugnolo E, Majzoub Z. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12:270-278.
26. Schepers EJ, Ducheyne P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *J Oral Rehabil.* 1997;24:171-181.
27. Clozza E, Pea M, Cavalli F, Moimas L, Di Lenarda R, Biasotto M. Healing of fresh extraction sockets filled with bioactive glass particles: histological findings in humans. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16:145-153.
28. Dybvik T, Leknes KN, Boe OE, Skavland RJ, Albandar JM. Bioactive ceramic filler in the treatment of severe osseous defects: 12-month results. *J Periodontol* 2007;78:403-410.
29. Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol* 1998;69:698-709.
30. Nevins ML CM, Nevins M, King CJ, Oringer RJ, Schenk RK, Fiorellini JP. Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of

periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20:458-467.

31. Suzuki KR, Misch CE, Arana G, Rams TE, Suzuki JB. Long-term histopathologic evaluation of bioactive glass and human-derived graft materials in *Macaca fascicularis* mandibular ridge reconstruction. *Implant Dent* 2011;20:318-322.

32. Thronson RR, Sexton SB,. Grafting Mandibular Third Molar Extraction Sites: A Comparison of Bioactive Glass to a Nongrafted Site. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94:413-419.

33. Greenspan DC. Bioactive Ceramic Implant Materials. *Curr Opin Solid State Mat Sci* 1999;4:389-393.

34. Kinnunen I, Aitasalo K, Pollonen M, Varpula M. Reconstruction of Orbital Floor Fractures Using Bioactive Glass. *J Craniomaxillofac Surg*. 2000;28:229-234.

35. Low SB, King CJ, Krieger J. An Evaluation of Bioactive Ceramic in the Treatment of Periodontal Osseous Defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:358-367.

36. Gatti AM, Valdre G, Andersson OH. Analysis of the in vivo reactions of a bioactive glass in soft and hard tissue. *Biomaterials* 1994;15:208-212.

37. Hench LL. Bioactive Ceramics. *Ann NY Acad Sci.* 1988;9:4457-4486.
38. Turunen T, Peltola J, Yli-Urpo A, Happonen RP. Bioactive glass granules as a bone adjunctive material in maxillary sinus floor augmentation. *Clin Oral Implants Res* 2004;15:135-141.
39. Afzal F, Polak, J., Buttery, L. Endothelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity. *J Pathol.* 2004;202:503-510.
40. Franceschi RT, Xiao G, Jiang D, Gopalakrishnan R, Yang S, Reith E. Multiple signaling pathways converge on the Cbfa1/Runx2 transcription factor to regulate osteoblast differentiation. *Connect Tissue Res.* 2003;523:54-71.
41. Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther K-P, Dehio C, Puhl W, Brenner RE. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone.* 2002;30:472-477.
42. Street J, Bao M, de Guzman L, Bunting S, Peale FV, Jr., Ferrara N, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2002;99:9656-9661.

43. Hughes SS, Hicks DG, Okeefe RJ, Hurwitz SR, Crabb ID, Krasinskas AM, et al. Shared Phenotypic-Expression of Osteoblasts and Chondrocytes in Fracture Callus. *J Bone Miner Res.* 1995;10:533-544.
44. Schroeder TM, Westendorf JJ. Histone deacetylase inhibitors promote osteoblast maturation. *J Bone Miner Res.* 2005;20:2254-2263.
45. de Oliveira GR, Olate S, Cavalieri-Pereira L, Pozzer L, Asprino L, de Moraes M, de Albergaria-Barbosa JR. Maxillary sinus floor augmentation using blood without graft material. Preliminary results in 10 patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1670-1675.
46. Hawthorne AC, Xavier SP, Okamoto R, Salvador SL, Antunes AA, Salata LA. Immunohistochemical, tomographic, and histological study on onlay bone graft remodeling. Part III: allografts. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24:1164-1172.
47. Spin-Neto R, Stavropoulos A, Pereira LAVD, Marcantonio E, Wenzel A. Fate of autologous and fresh-frozen allogeneic block bone grafts used for ridge augmentation. A CBCT-based analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24:167-73.
48. Gorla LF, Spin-Neto R, Boos FB, Pereira R dos S, Garcia-Junior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in

maxillary sinus lifting: a prospective, randomized, volumetric computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44:1486-1491.

49. 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.

50. Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Thorwarth M, Wiltfang J, Schlegel KA. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17:312-320.

51. Block MS, Kent JN. Sinus augmentation for dental implants: The use of autogenous bone. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55:1281-1286.

52. Rickert D, Vissink A, Slot WJ, Sauerbier S, Meijer HJ, Raghoobar GM. Maxillary sinus floor elevation surgery with BioOss mixed with a bone marrow concentrate or autogenous bone: test of principle on implant survival and clinical performance. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014;43:243-247.

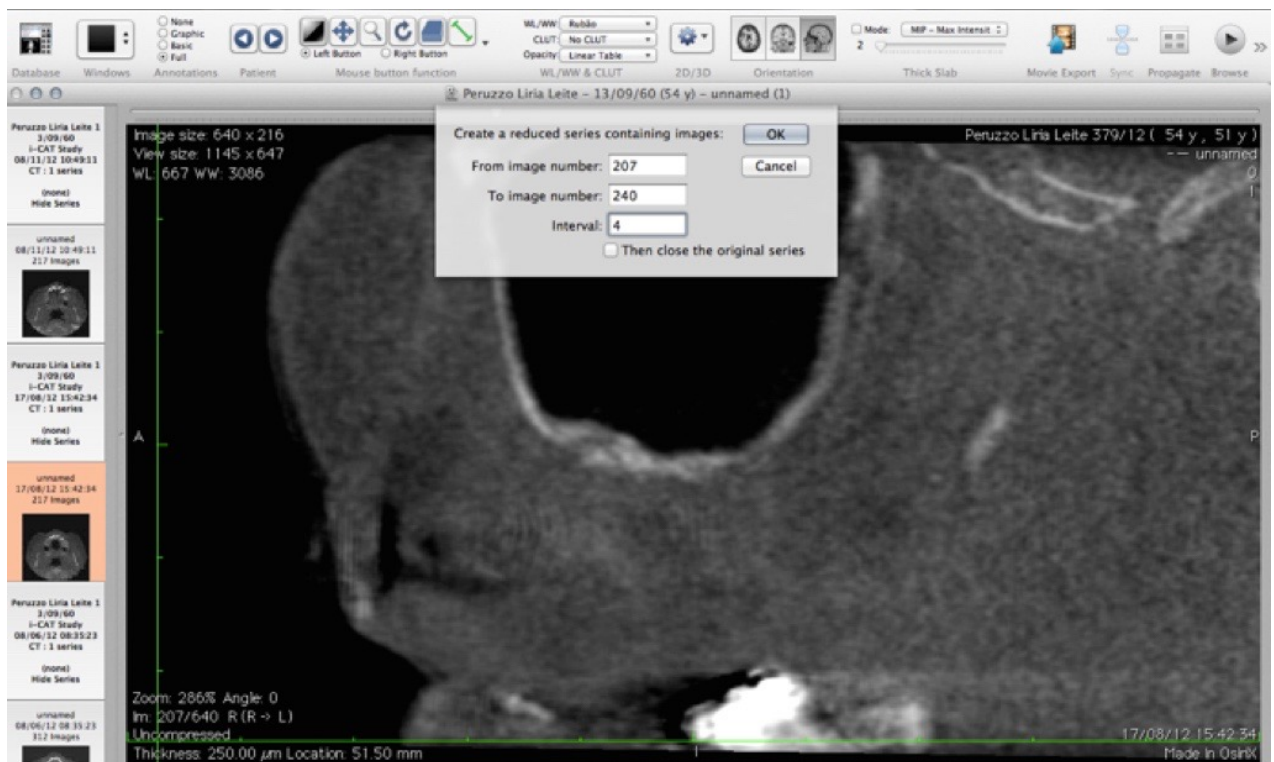
53. Miyamoto S SK, Miyamoto I, Takeshita K, Terada T, Takahashi T. Histomorphometric and immunohistochemical analysis of human maxillary sinus-floor augmentation using porous b-tricalcium phosphate for dental implant treatment. *Clin Oral Implants Res.* 2012;24:134-38.

54. Pratap J, Galindo M, Zaidi SK, Vradii D, Bhat BM, Robinson JA, et al. Cell growth regulatory role of Runx2 during proliferative expansion of preosteoblasts. *Cancer Res.* 2003;63:5357-5362.
55. Zerbo IR, Bronckers ALJJ, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials.* 2005;26:1445-1451.
56. De Souza Nunes LS, De Oliveira RV, Holgado LA, Nary Filho H, Ribeiro DA, Matsumoto MA. Immunoexpression of Cbfa-1/Runx2 and VEGF in sinus lift procedures using bone substitutes in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:584-590.
57. de Souza Nunes LS, de Oliveira Rv, Holgado L, Nary Filho H, Ribeiro DA, Matsumoto MA. Use of bovine hydroxyapatite with or without biomembrane in sinus lift in rabbits: histopathologic analysis and immune expression of core binding factor 1 and vascular endothelium growth factor. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:1064-1069.
58. Caubet J, Ramis JM, Ramos-Murguialday M, Morey MA, Monjo M. Gene expression and morphometric parameters of human bone biopsies after maxillary sinus floor elevation with autologous bone combined with Bio-Oss or BoneCeramic. *Clin Oral Implants Res* 2015;26:727-735.

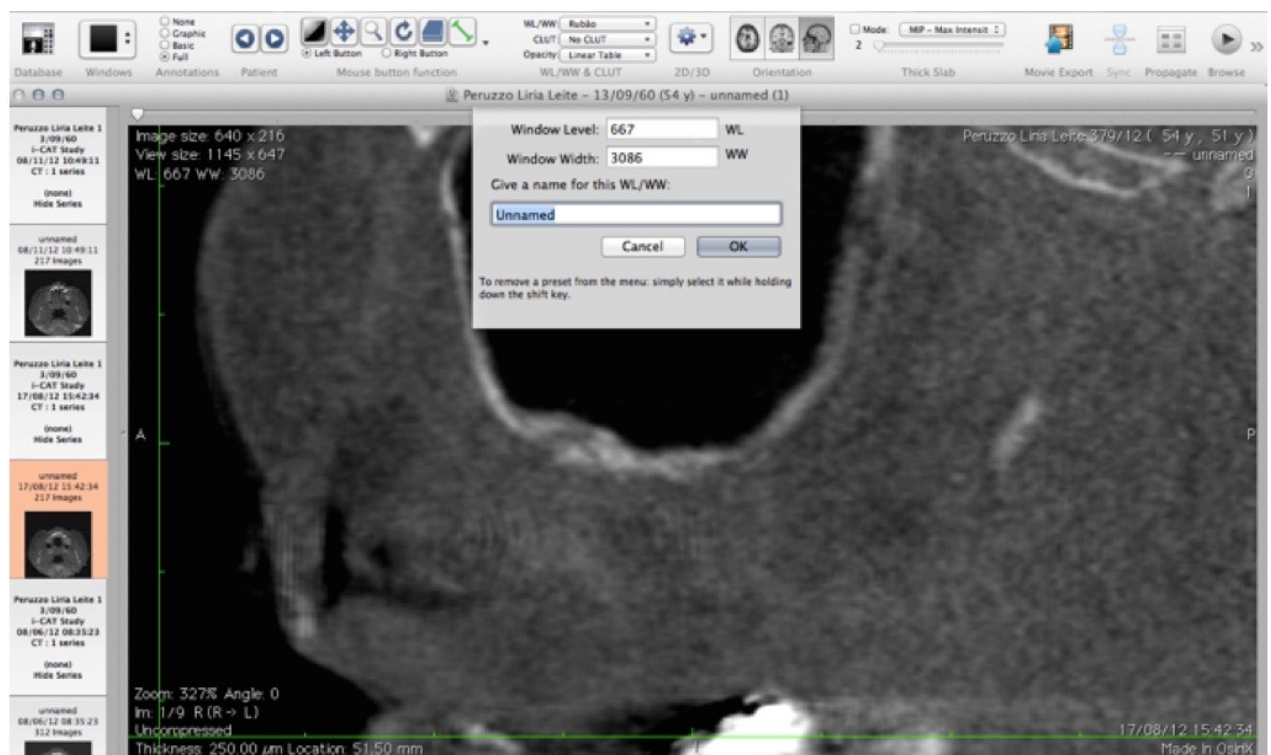
59. Hsiong SX, Mooney DJ. Regeneration of vascularized bone. *Periodontology* 2000. 2006;41:109-22.
60. Boeck-Neto RJ, Artese L, Piattelli A, Shibli JA, Perrotti V, Piccirilli M, Marcantonio Jr E. VEGF and MVD expression in sinus augmentation with autologous bone and several graft materials. *Oral Dis.* 2009;15:148-154.
61. Arasawa M, Oda Y, Kobayashi T, Uoshima K, Nishiyama H, Hoshina H, et al. Evaluation of bone volume changes after sinus floor augmentation with autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012;41:853-857.
62. Cosso MG, de Brito RB, Piattelli A, Shibli JA, Zenobio EG. Volumetric dimensional changes of autogenous bone and the mixture of hydroxyapatite and autogenous bone graft in humans maxillary sinus augmentation. A multislice tomographic study. *Clin Oral Implants Res* 2014;25:1251-1256.
63. Nagahara K, Isogai M Fau - Shibata K, Shibata K Fau - Meenaghan MA, Meenaghan MA. Osteogenesis of hydroxyapatite and tricalcium phosphate used as a bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1992;7:72-79

*Figuras*

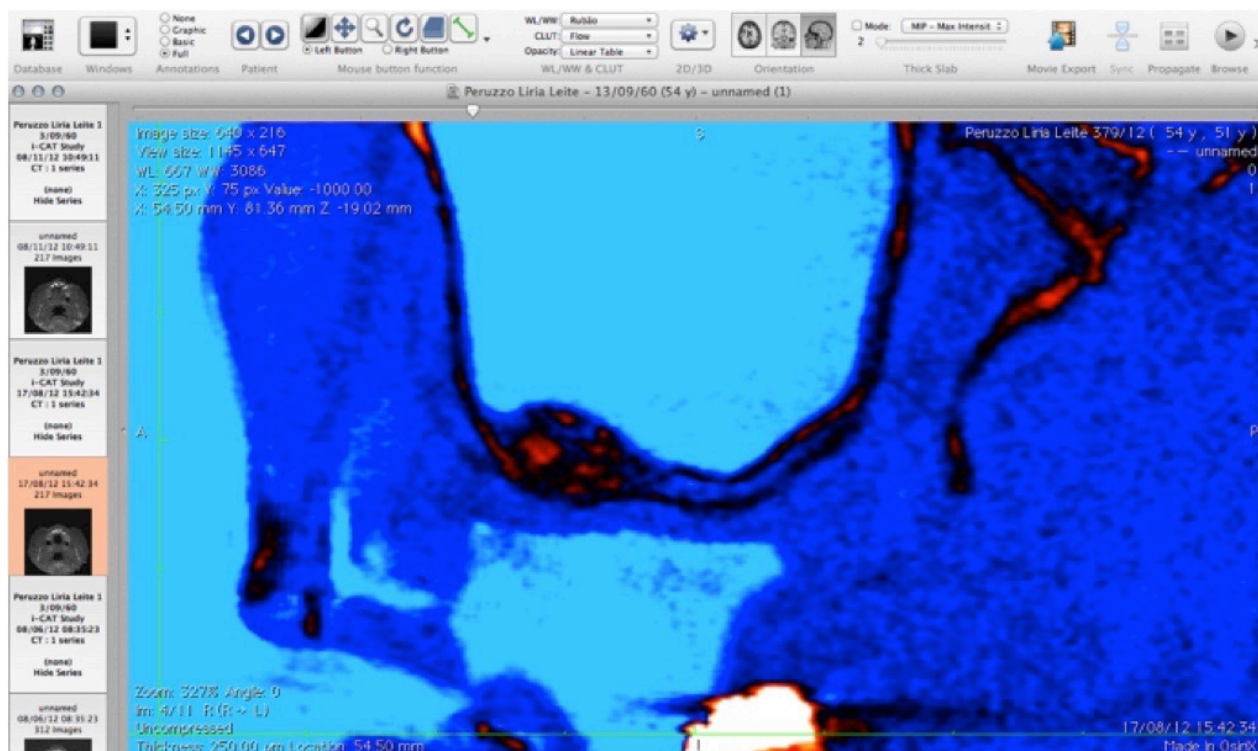
## 9.0 - Figuras



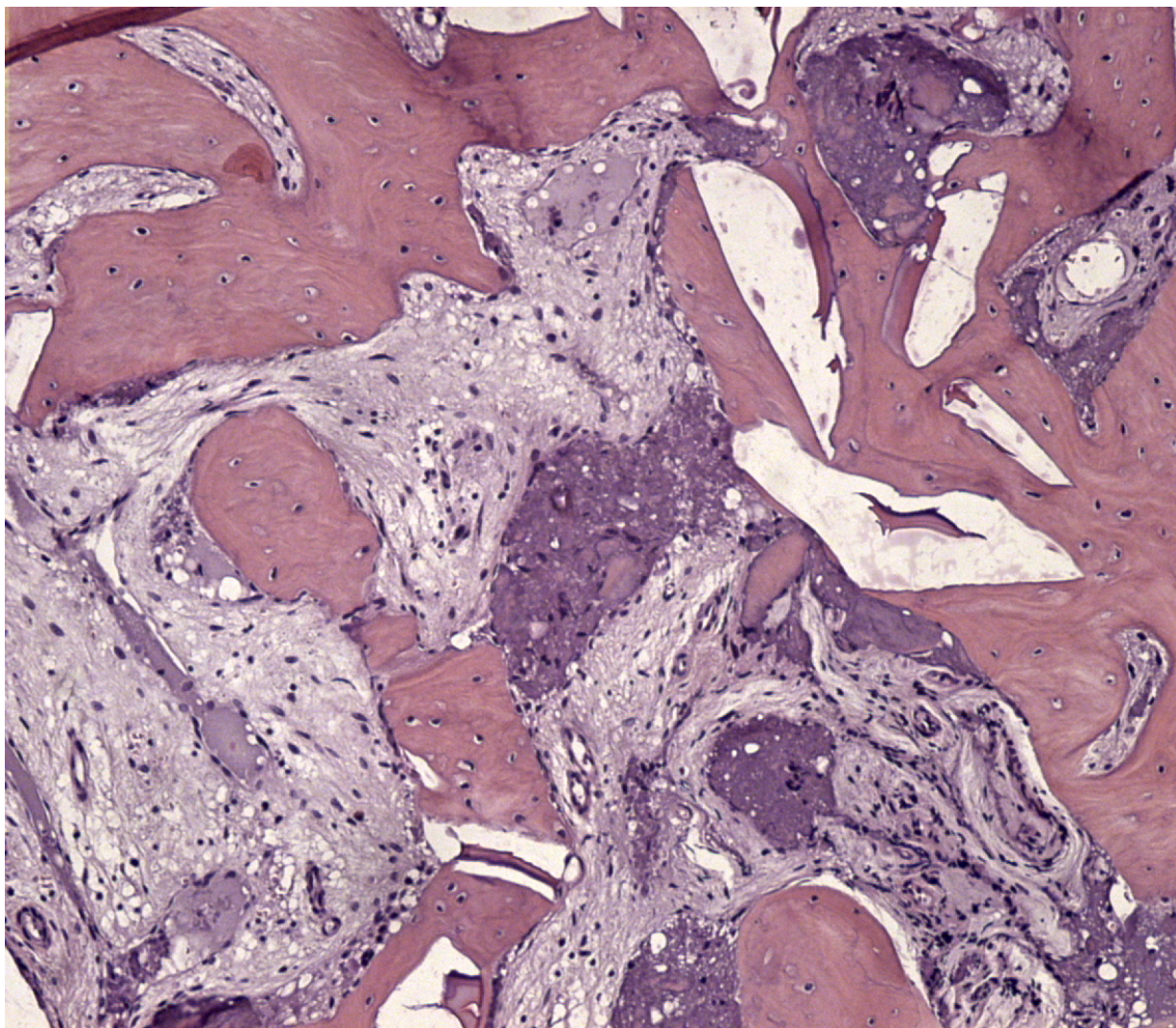
**Figura 1** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando a redução das séries para 1 mm entre os cortes.



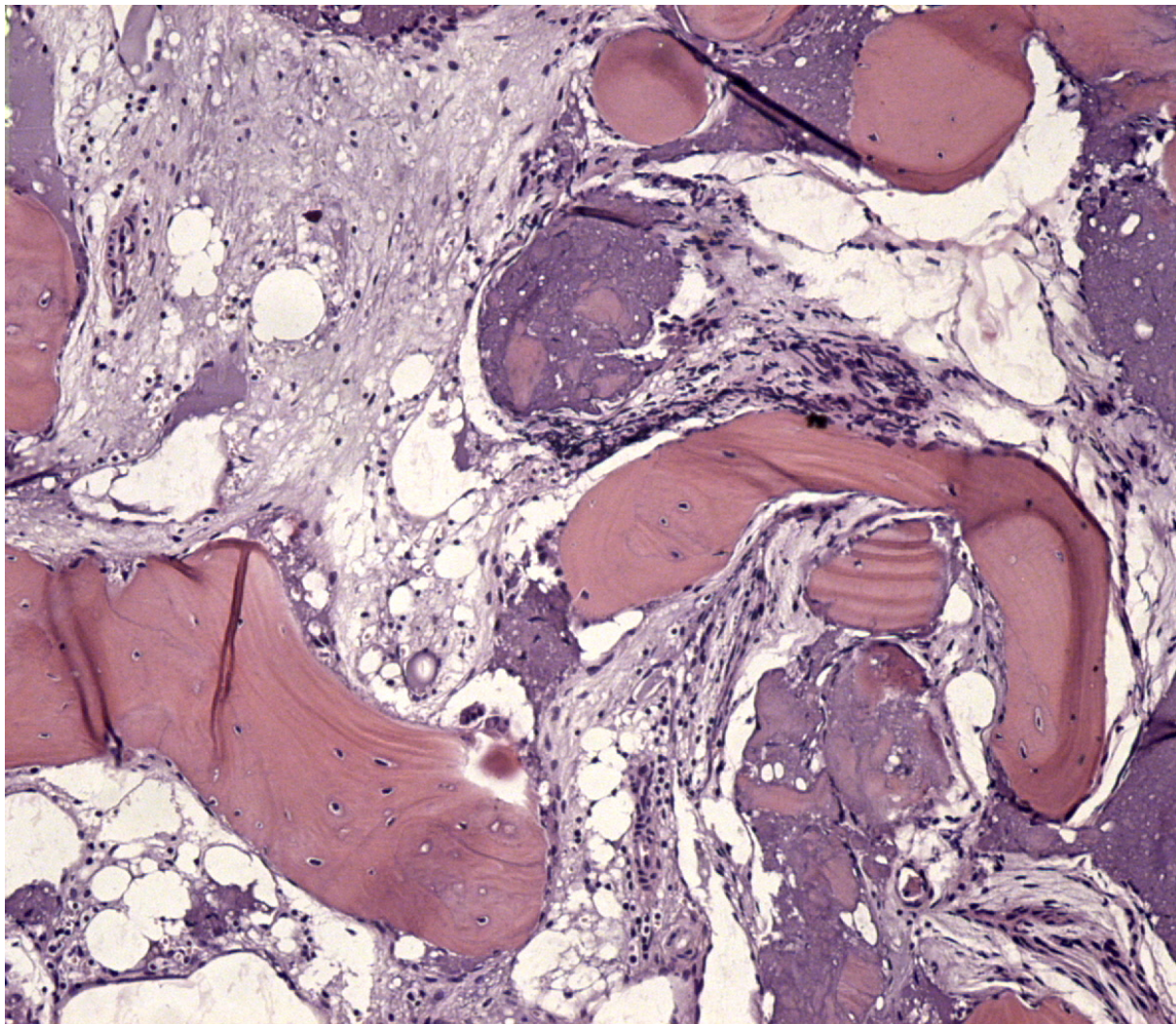
**Figura 2** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando os ajustes do "center level" e "bandwidth".



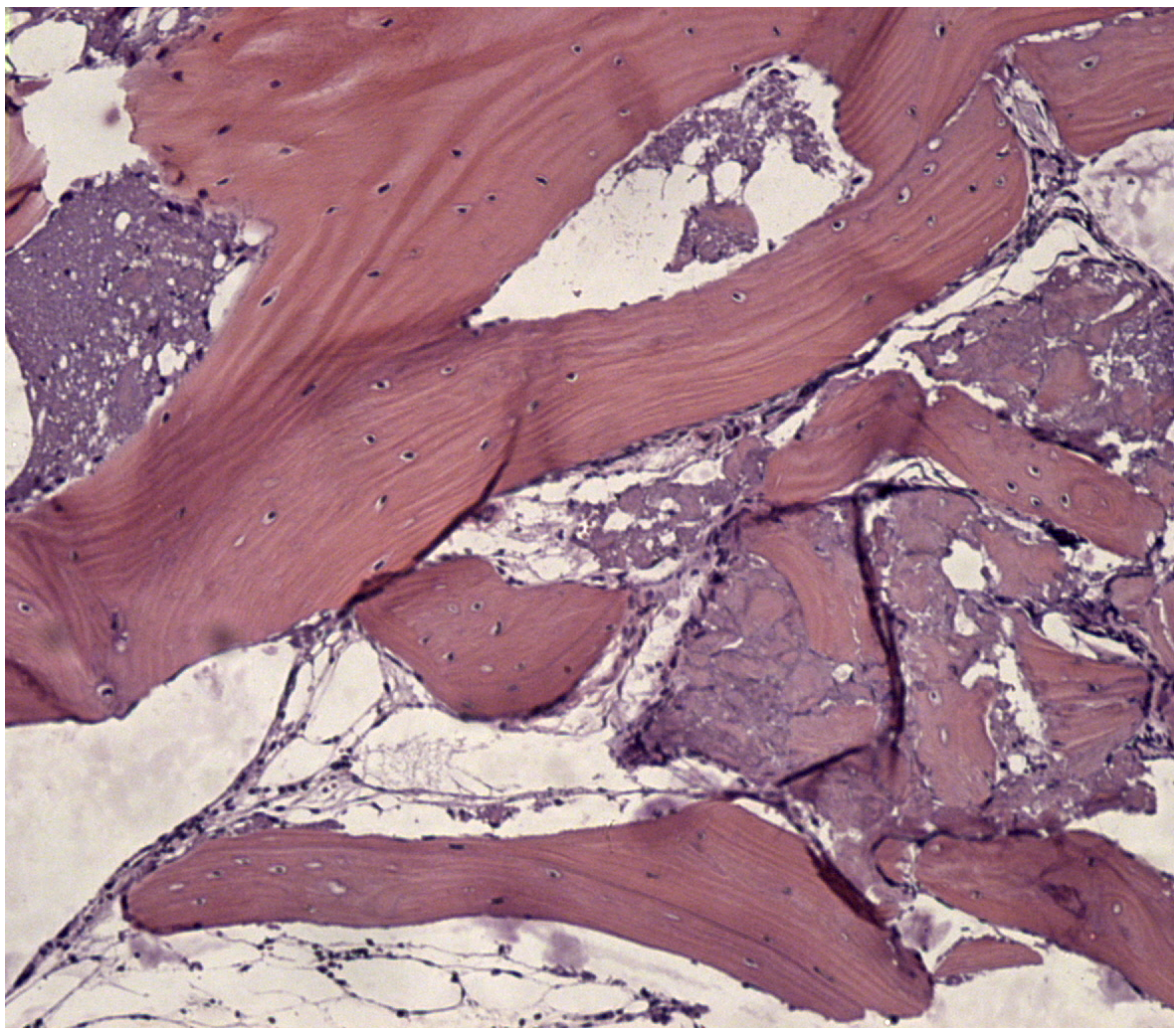
**Figura 3** – Imagem de tomografia computadorizada demonstrando o corte no plano sagital após ativação do filtro “flow” para melhor visualização.



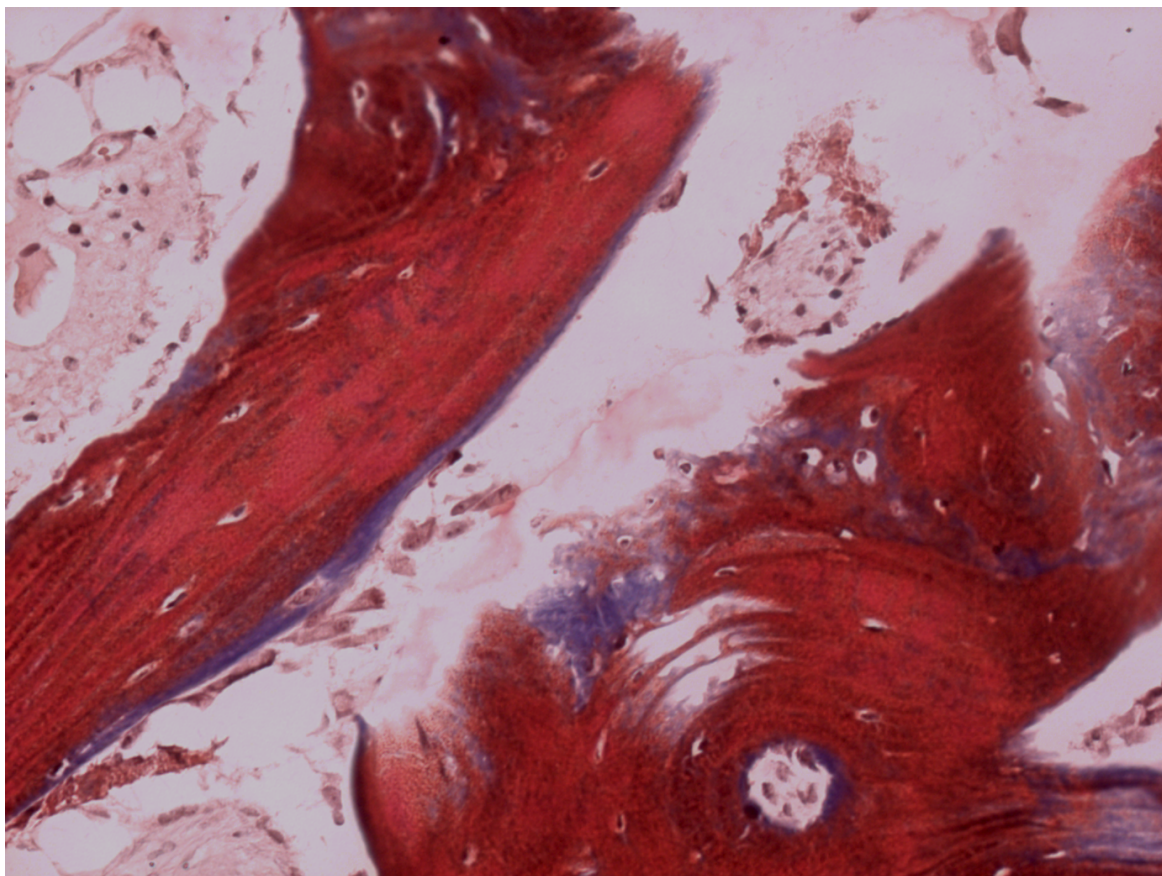
**Figura 4** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 1. Observa-se um osso de arquitetura lamelar envolto em tecido conjuntivo bem celularizado e lacunas referentes a fragmentos do vidro bioativo. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



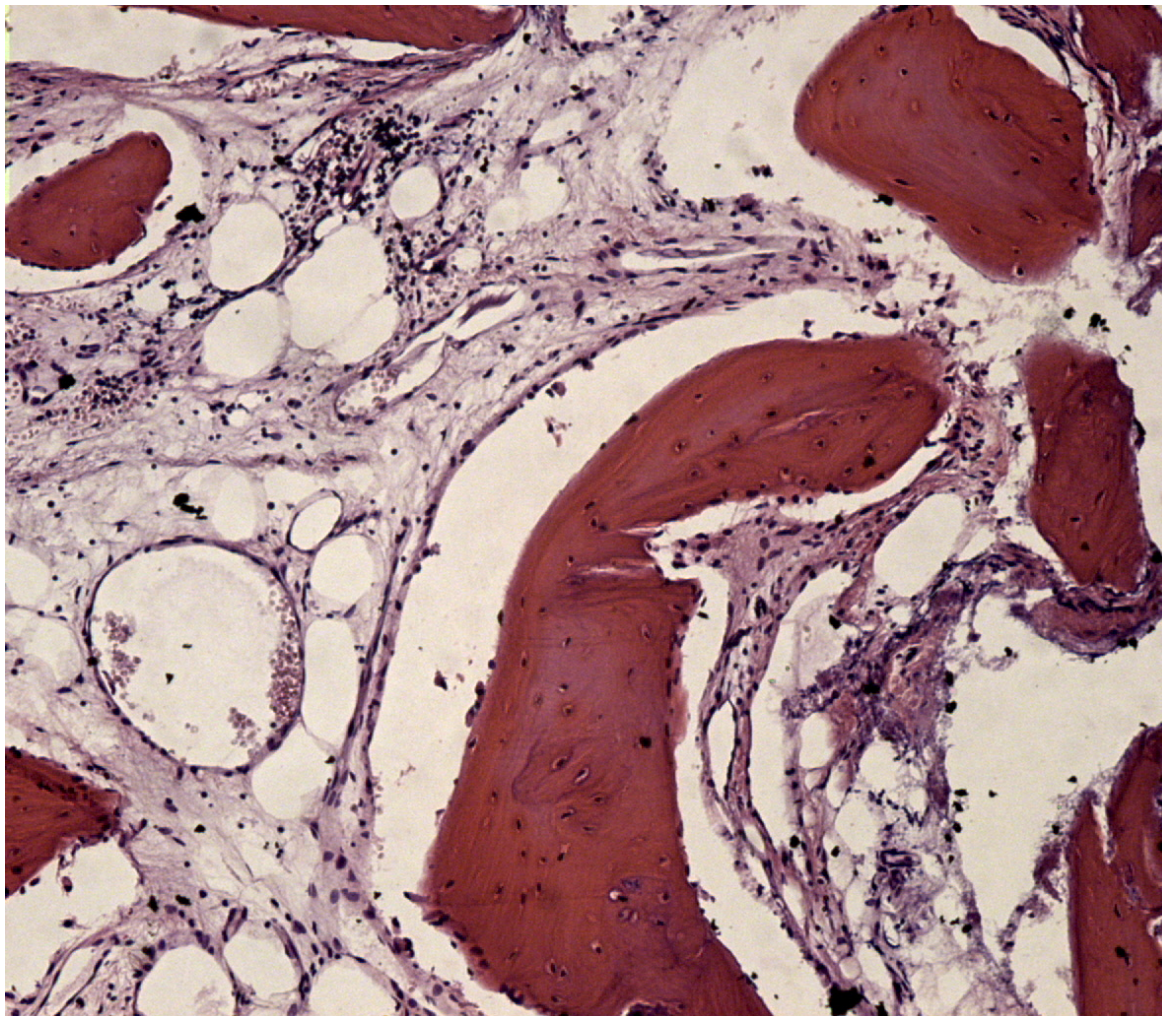
**Figura 5** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 1. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar, com a presença de regiões de osso imaturo envolto a um tecido conjuntivo celularizado. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



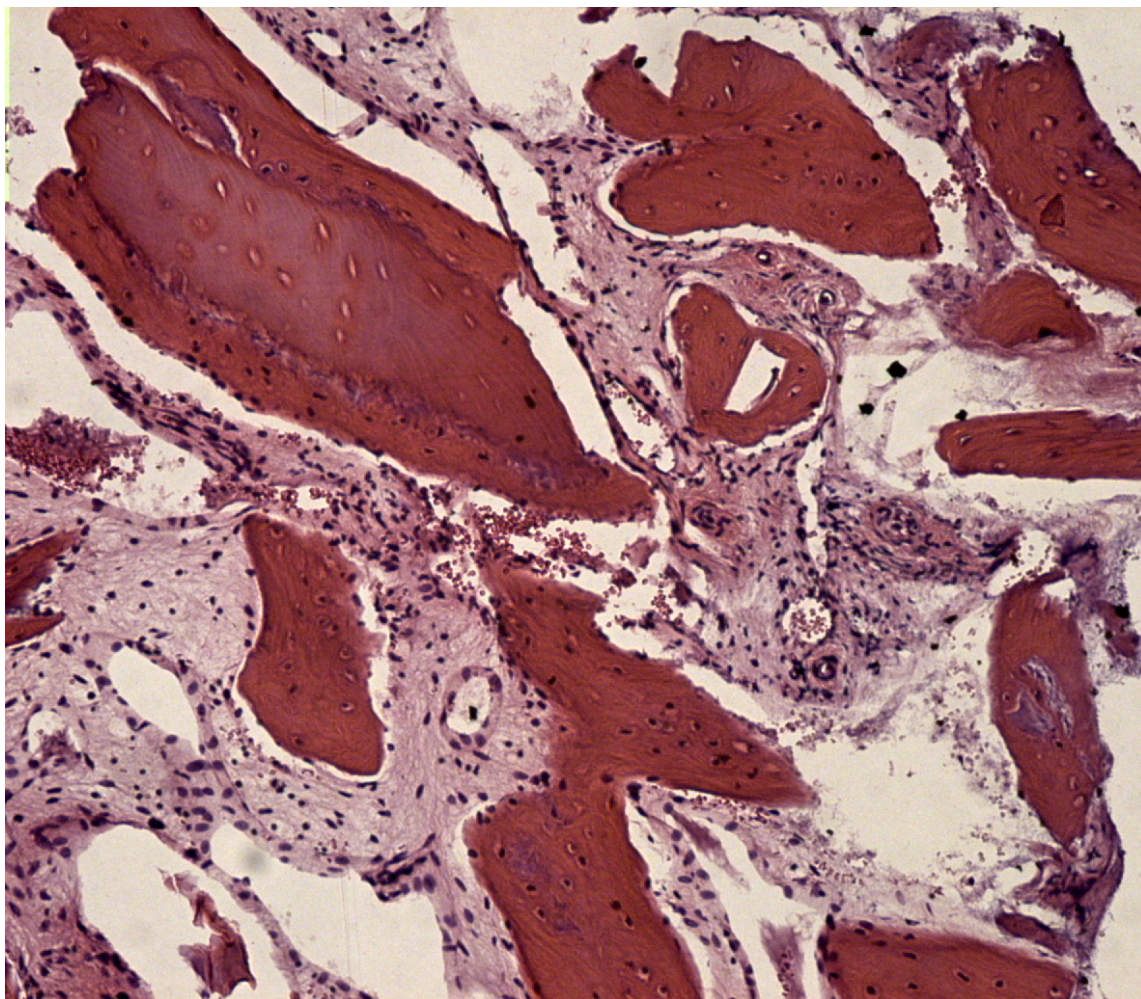
**Figura 6** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 1. É possível observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar, áreas de medula e a presença de uma lacuna referente a um fragmento de vidro bioativo (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



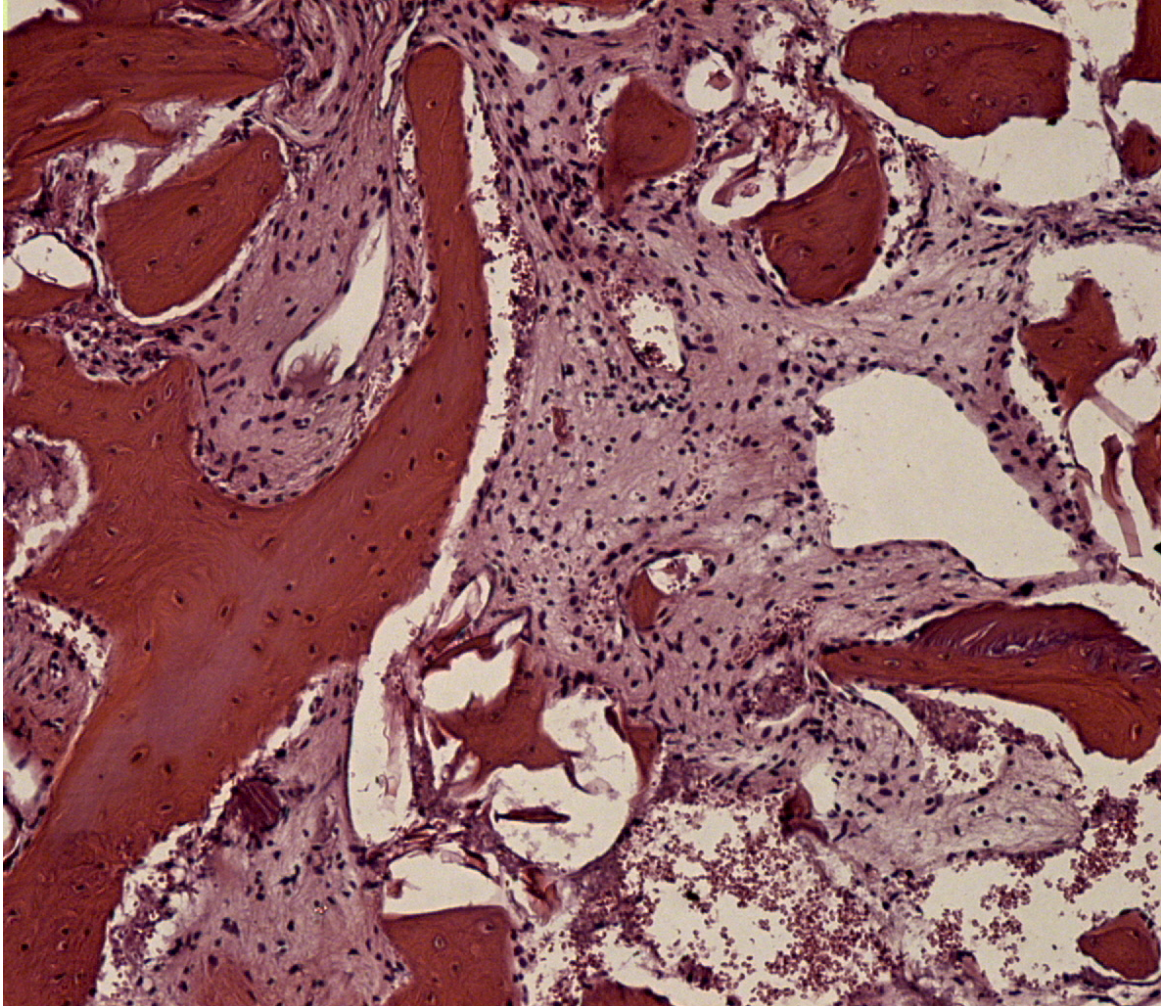
**Figura 7** – Imagem demonstrando que o osso do grupo 1 apresenta-se com arquitetura lamelar e a presença de uma camada periférica com osteoblastos depositando novo osso. (Tricrômio de Masson, aumento x25)



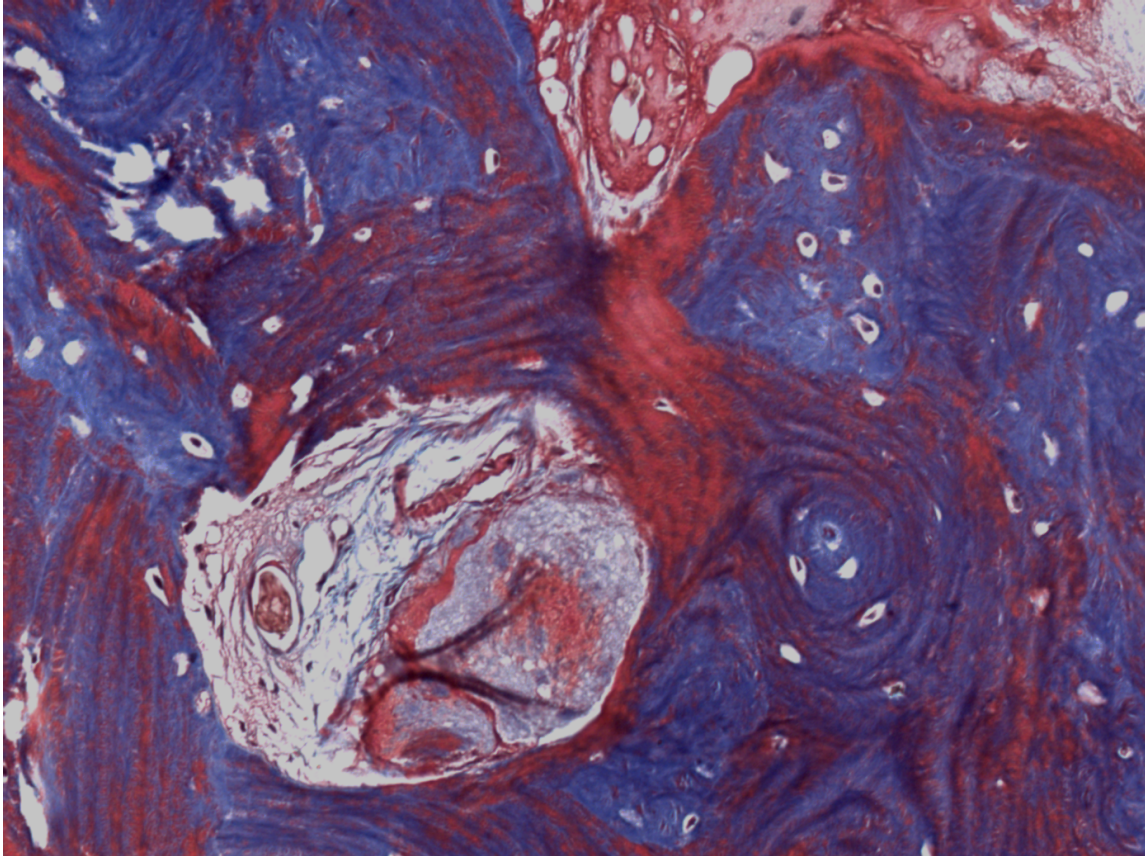
**Figura 8** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 2. Observa-se um osso de arquitetura imatura com áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo celularizado e medula óssea. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



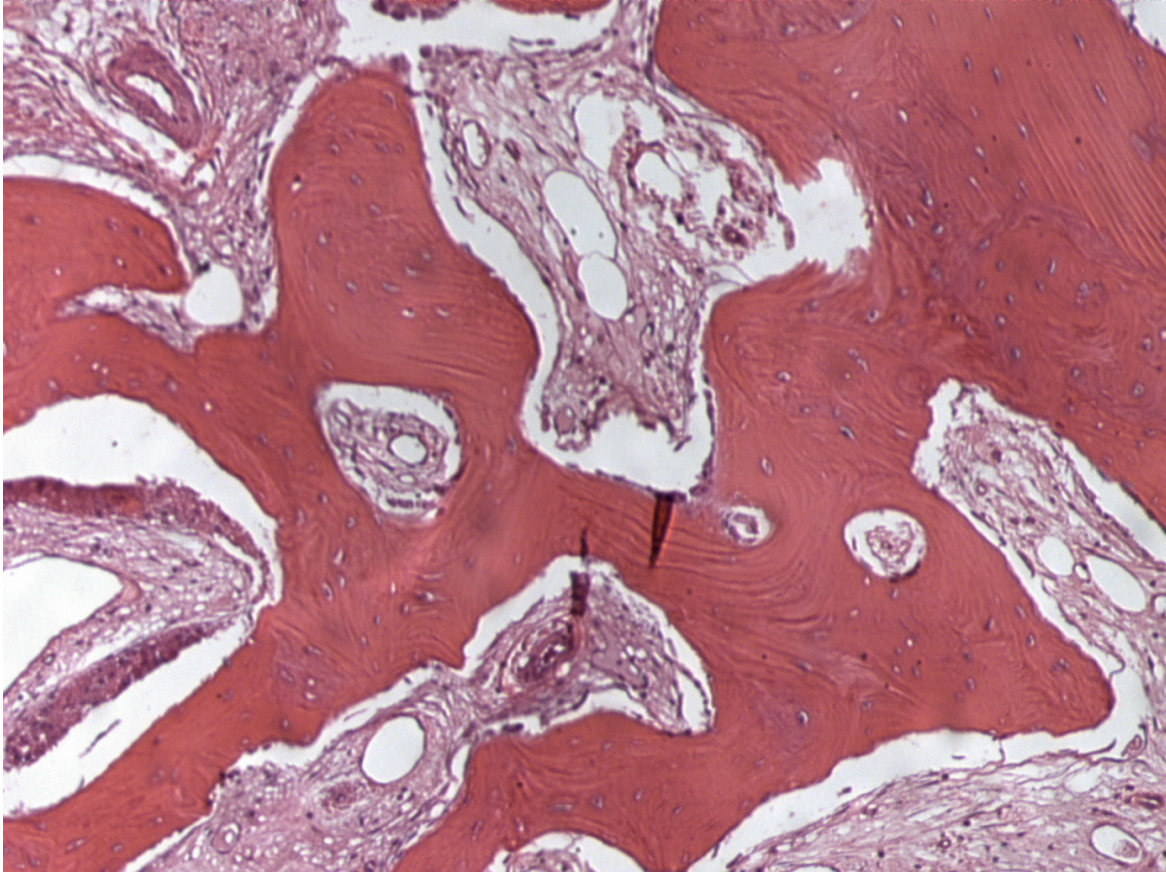
**Figura 9** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 2. Observa-se diversas áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo celularizado e a presença de uma partícula de osso autógeno remanescente com formação óssea por osteogênese na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



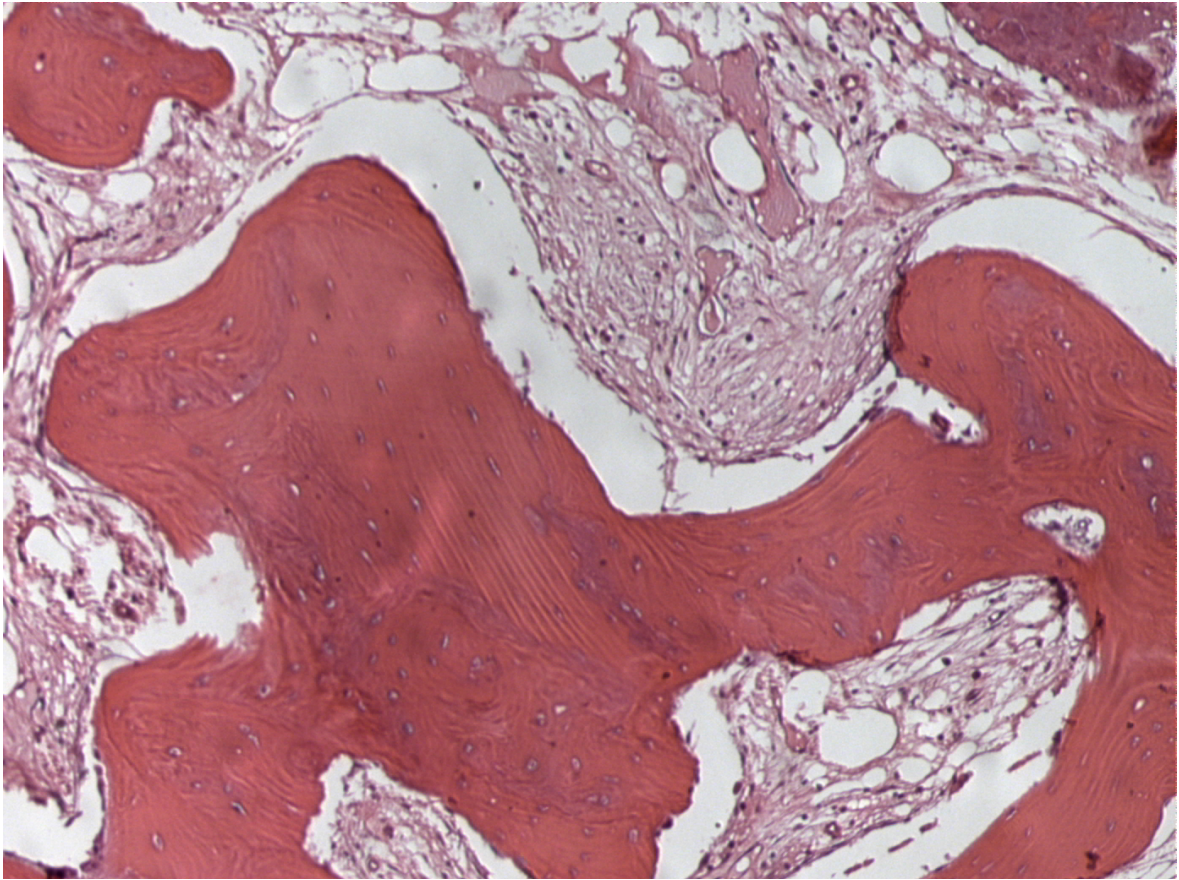
**Figura 10** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 2. Observa-se diversas áreas de *woven bone* em um tecido conjuntivo bem celularizado, com lacunas referentes a partículas de vidro bioativo e a presença de uma partícula de osso autógeno remanescente com formação óssea por osteogênese na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



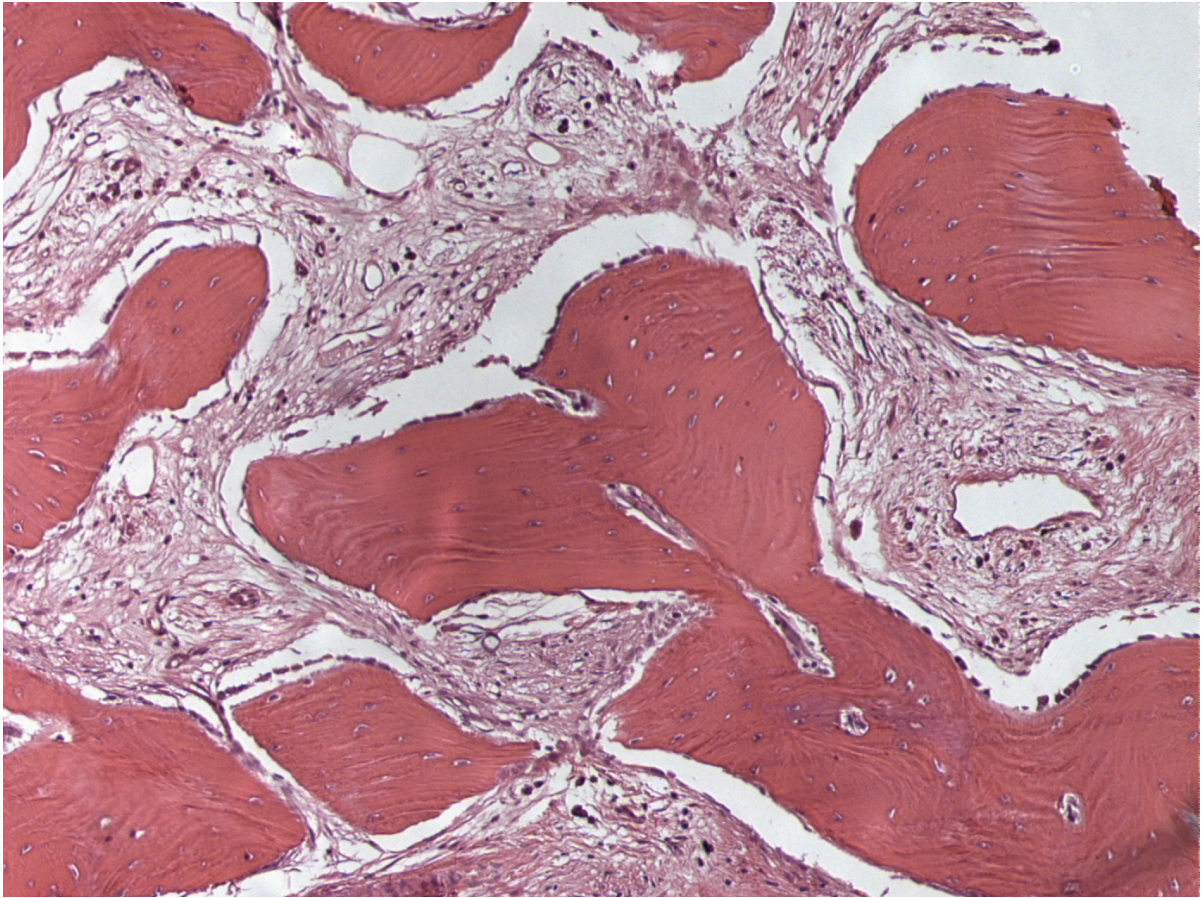
**Figura 11** – Imagem demonstrando que o osso do grupo 2 apresentando-se com arquitetura óssea imatura. O tecido corado em azul indica a presença de fibras colágenas. (Tricrômio de Masson, aumento x25)



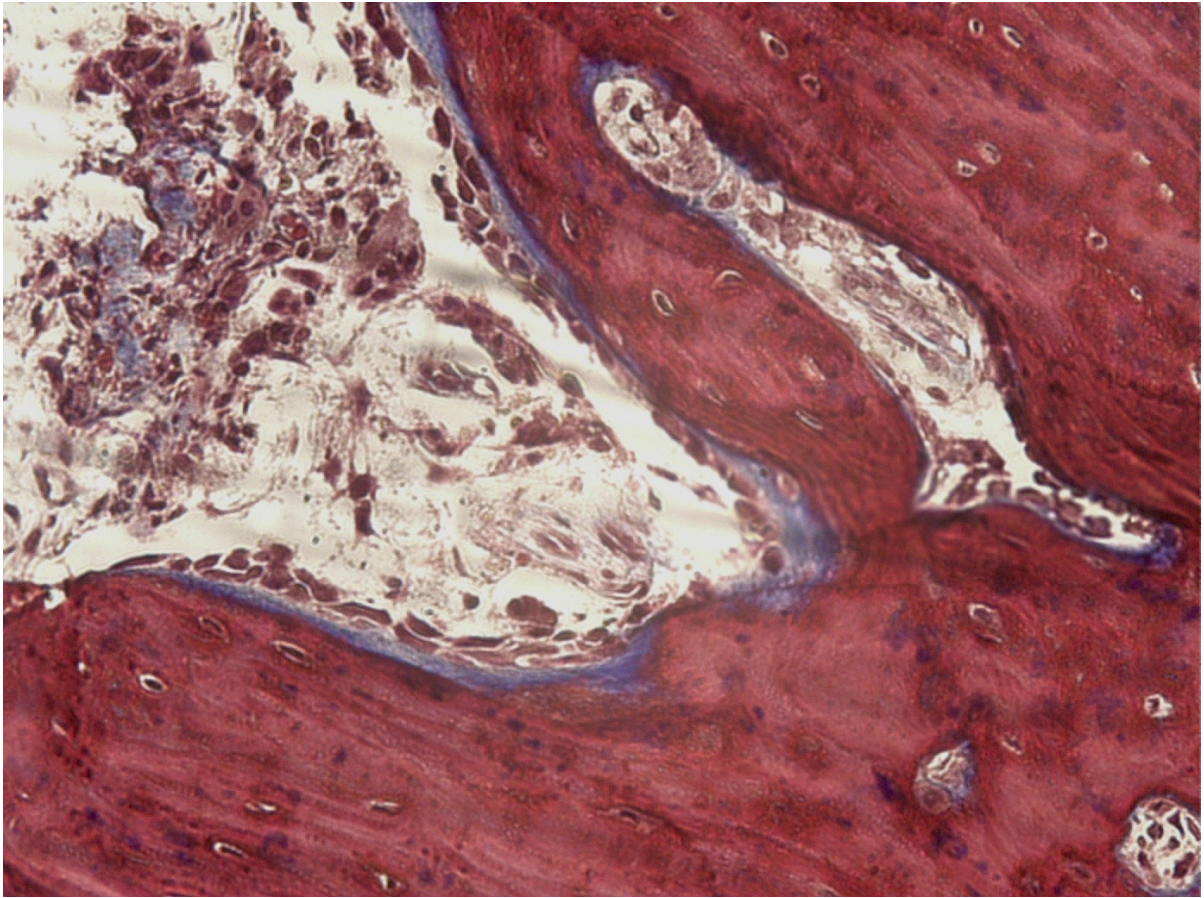
**Figura 12** – Fotomicrografia do corte histológico para a região do leito do grupo 3. Observa-se um osso de arquitetura lamelar envolto em tecido conjuntivo celularizado e vascularizado. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



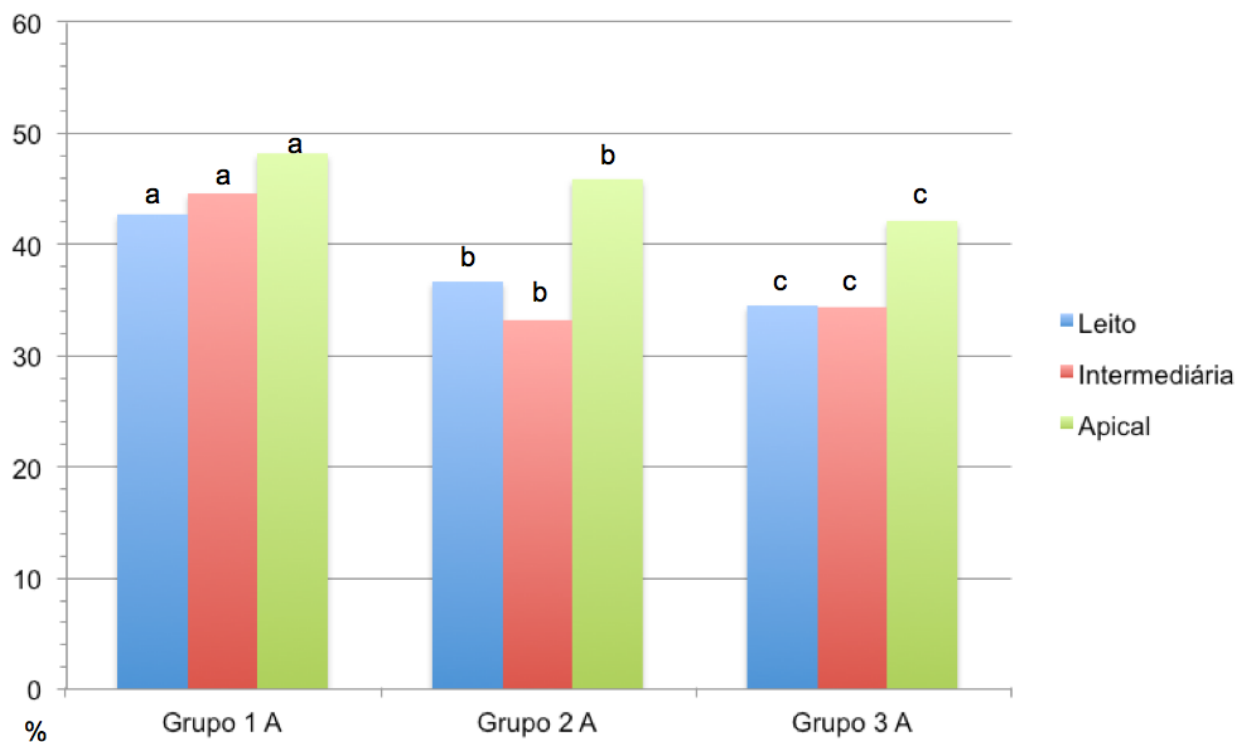
**Figura 13** – Fotomicrografia do corte histológico para a região intermediária do grupo 3. Apresenta arquitetura lamelar e a presença de áreas de *woven bone* ao redor de osso maduro (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



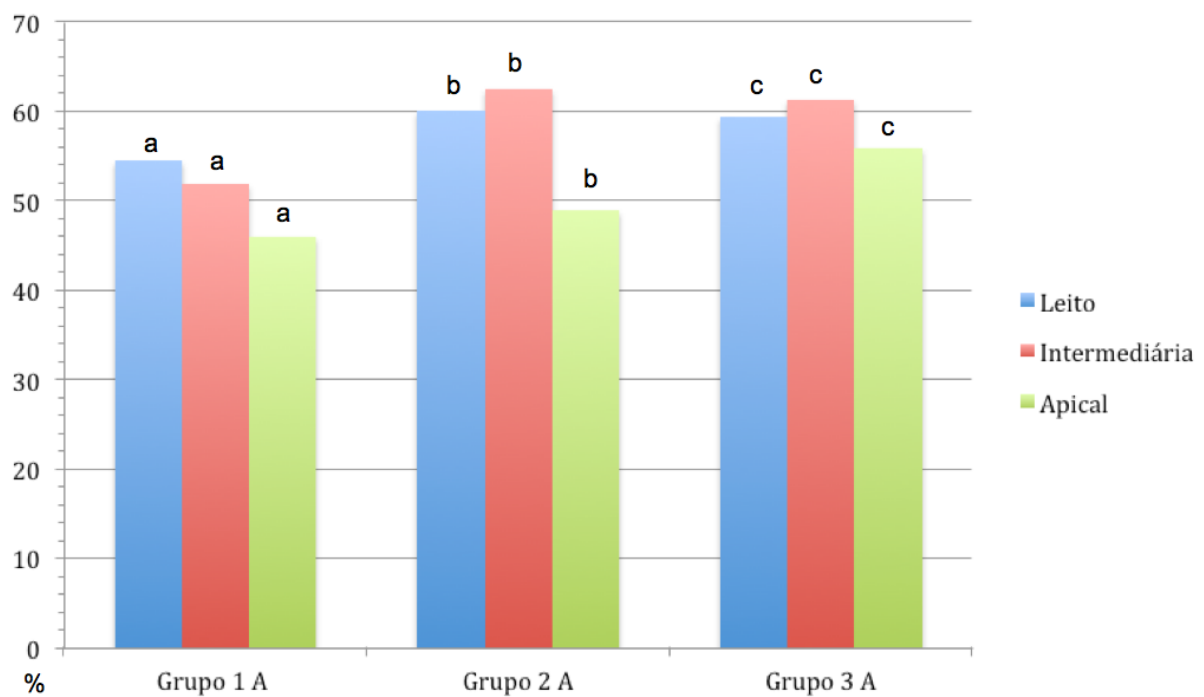
**Figura 14** – Fotomicrografia do corte histológico para a região apical do grupo 3. Arquitetura óssea madura com a presença de formação óssea lamelar e linhas de osteoblastos na periferia. (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)



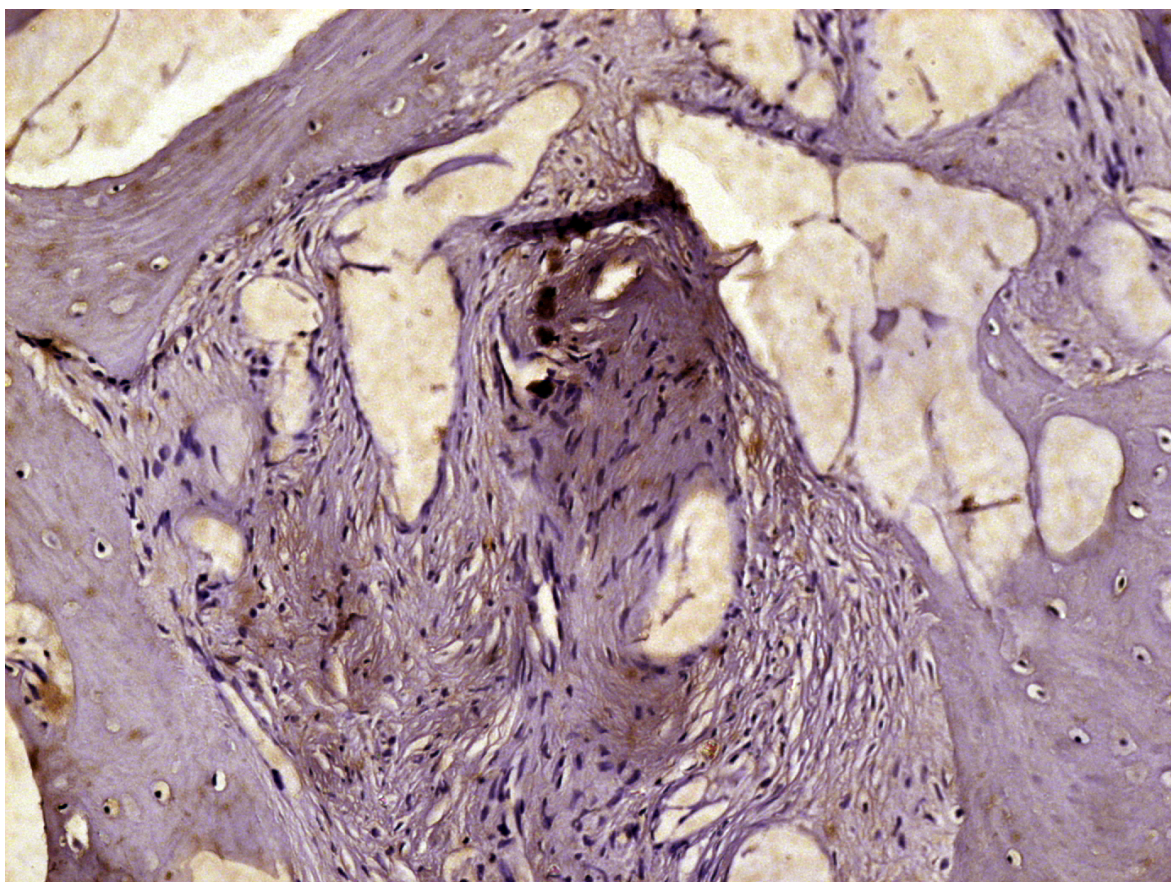
**Figura 15** – Imagem demonstrando osso do grupo 3 com arquitetura óssea madura e linha de osteoblastos na periferia. (Tricrômio de Masson, aumento x25)



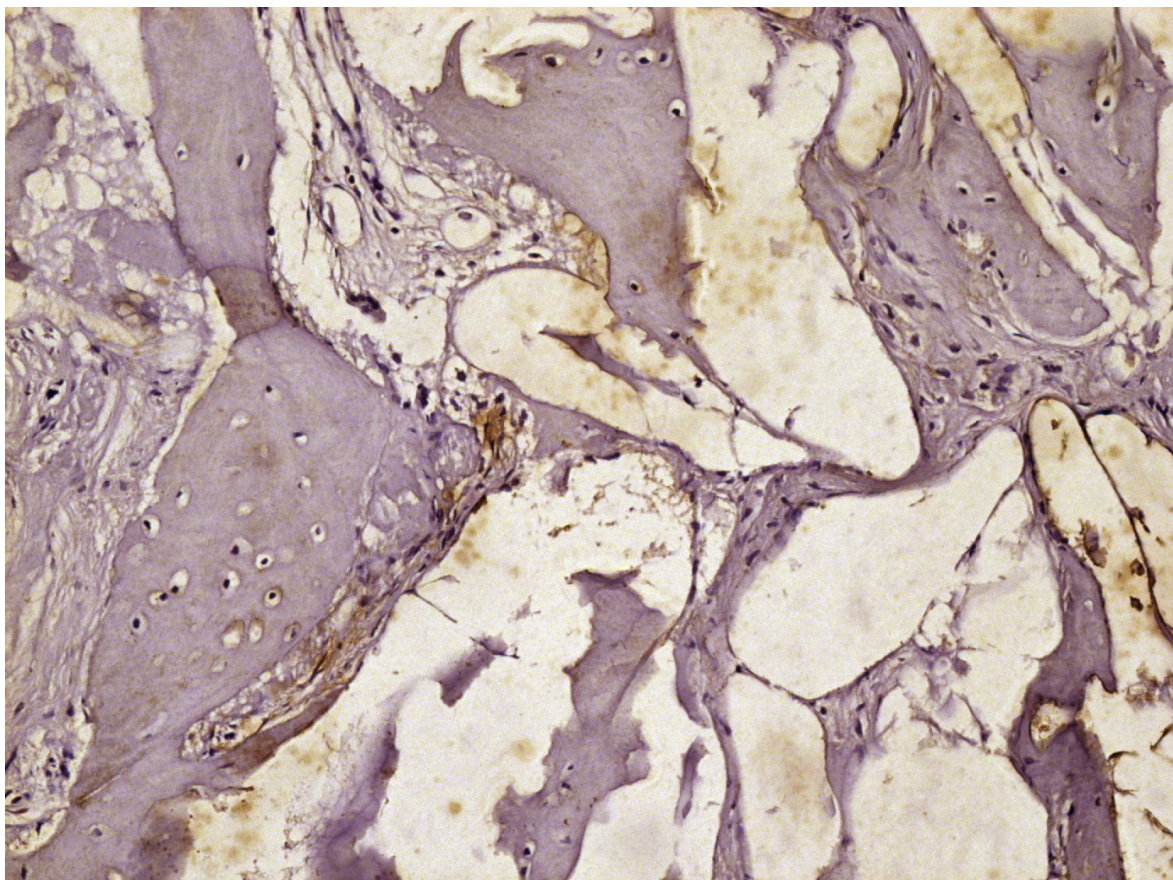
**Figura 16** – Gráfico mostrando os resultados da formação óssea no seio maxilar dos grupos avaliados. Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente ( $p > 0.05$ )



**Figura 17** – Gráfico mostrando os resultados da formação do tecido conjuntivo no seio maxilar dos grupos avaliados. Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente ( $p > 0.05$ )

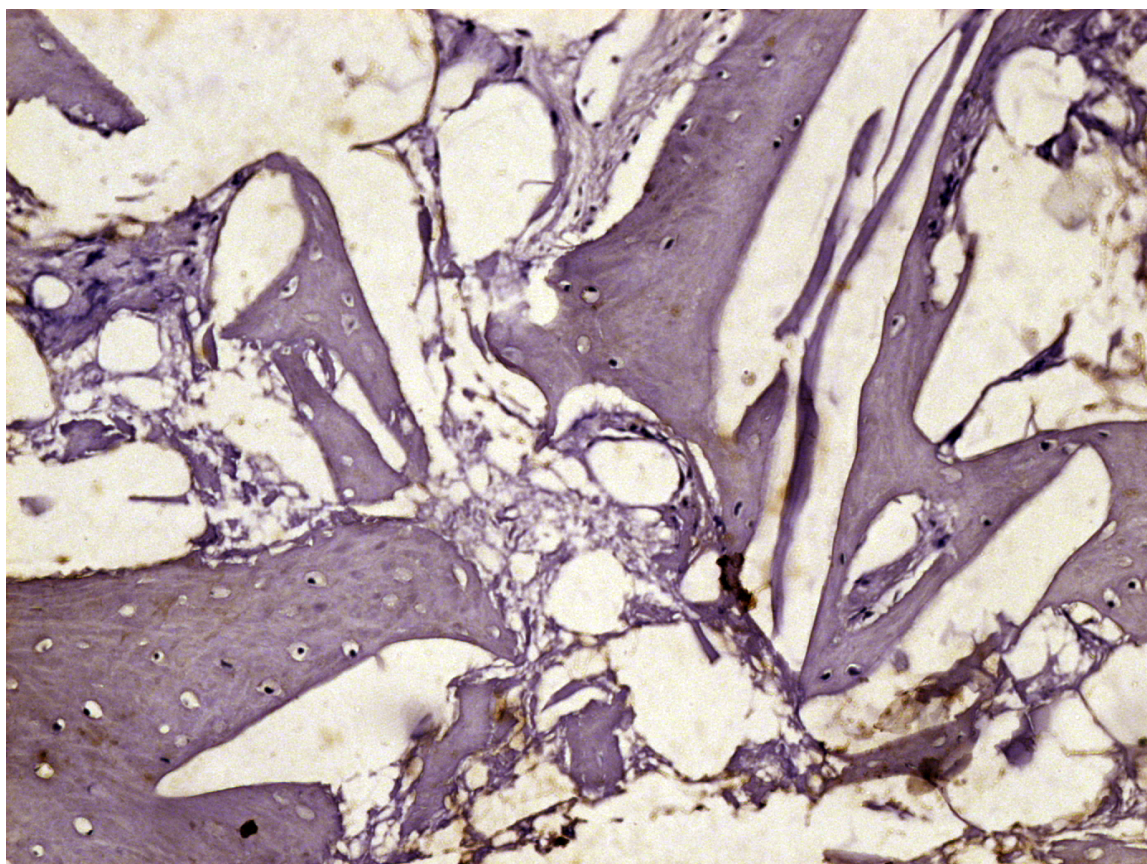


**Figura 18** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 1. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

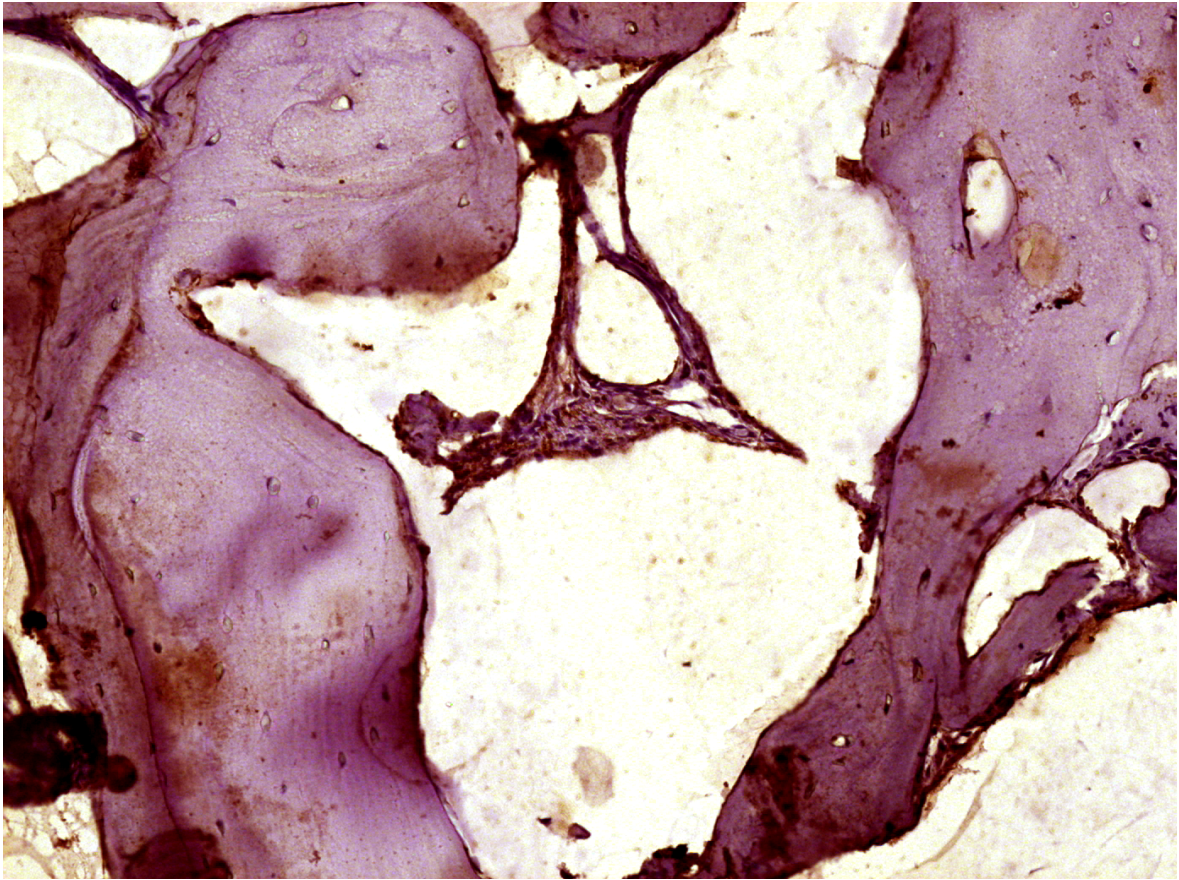


**Figura 19** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 1.

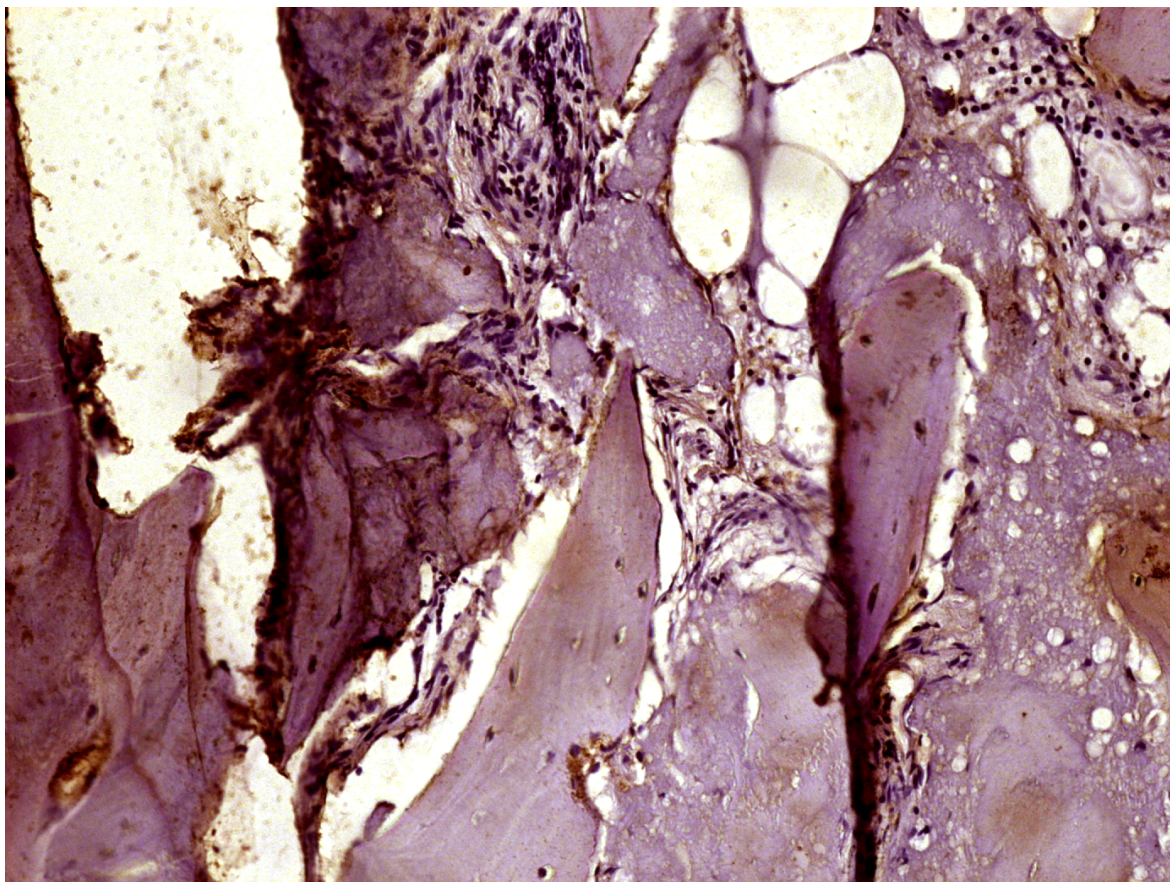
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



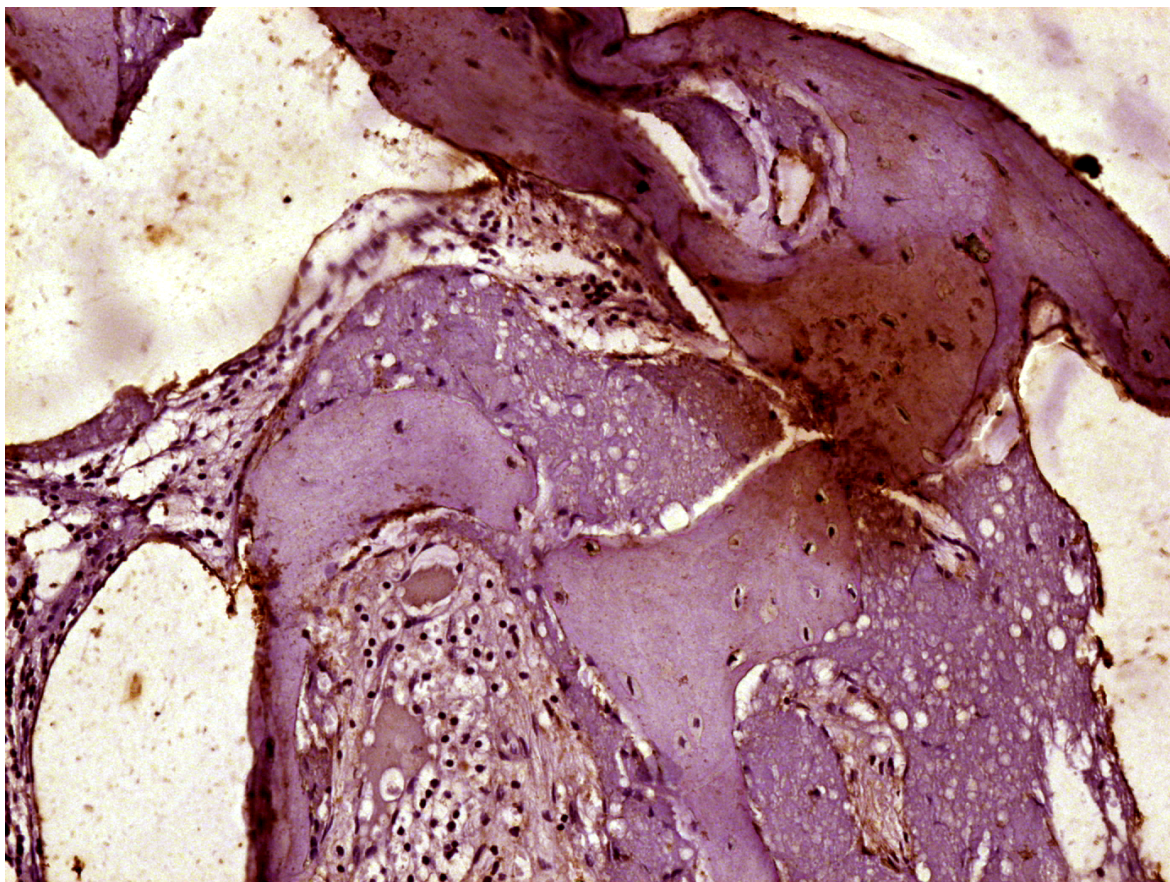
**Figura 20** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para Runx2 do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



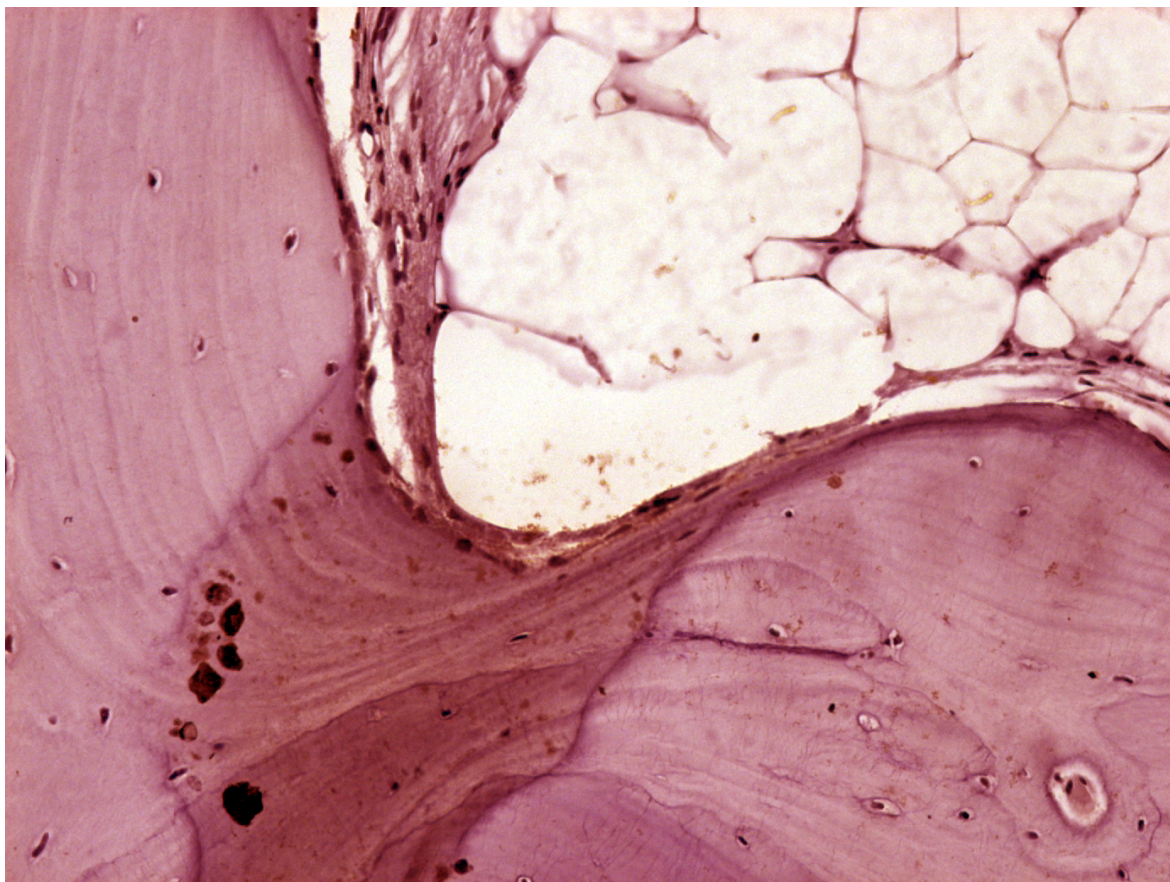
**Figura 21** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para Runx2 do grupo 2. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



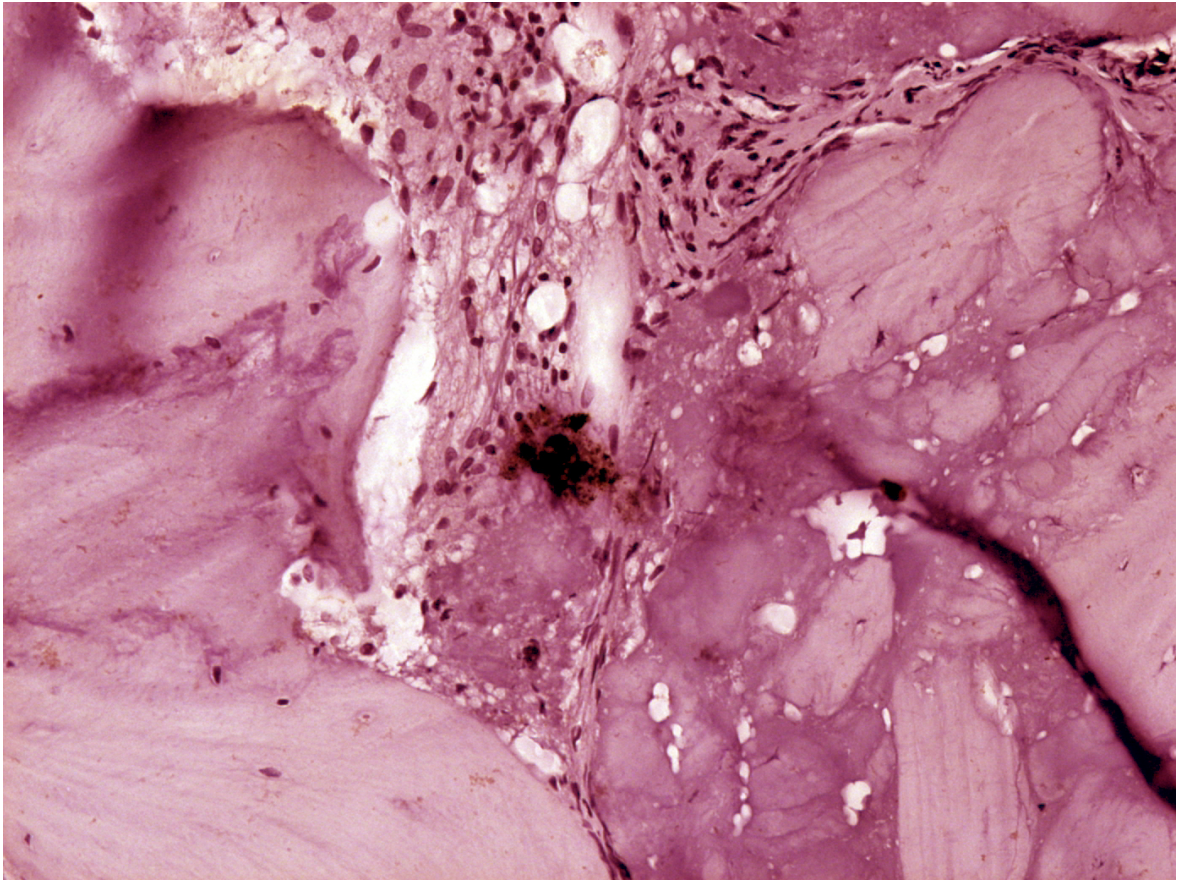
**Figura 22** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 2. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



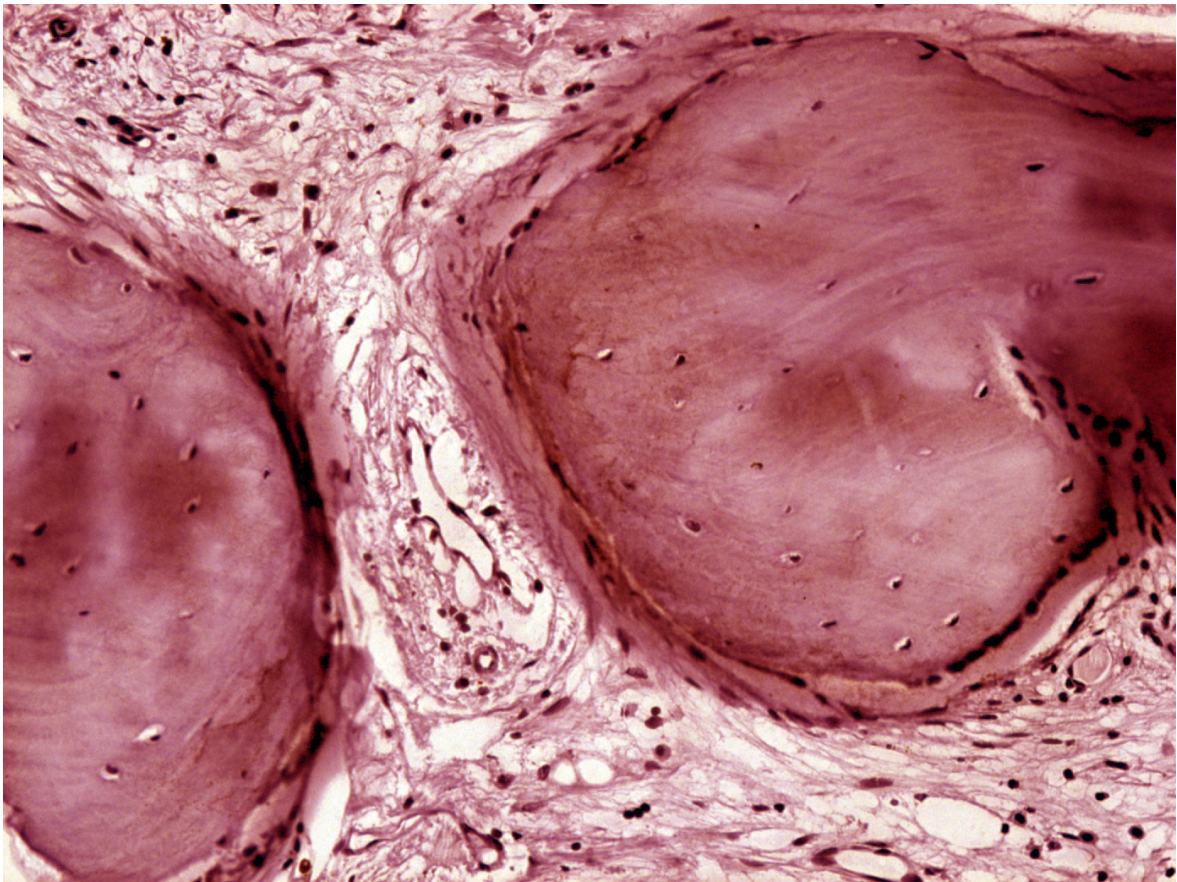
**Figura 23** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



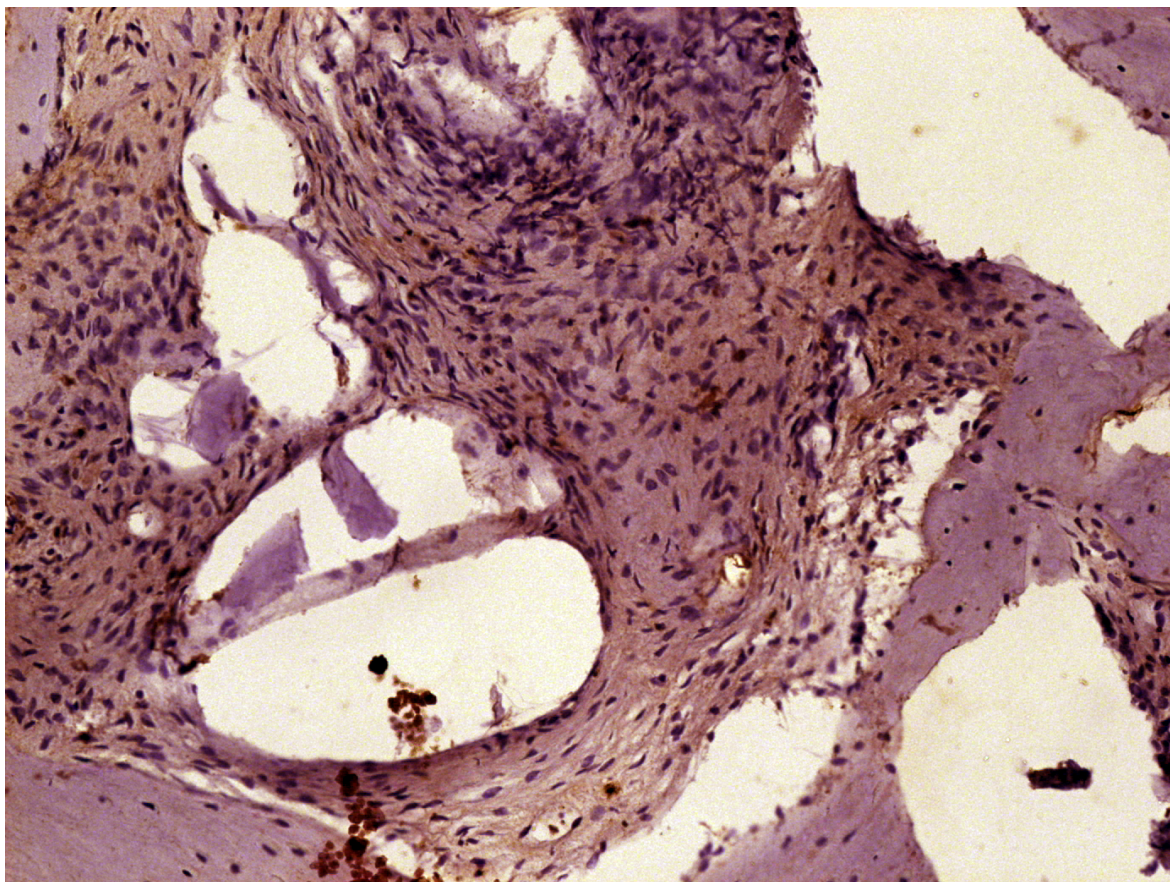
**Figura 24** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para Runx2 do grupo 3. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



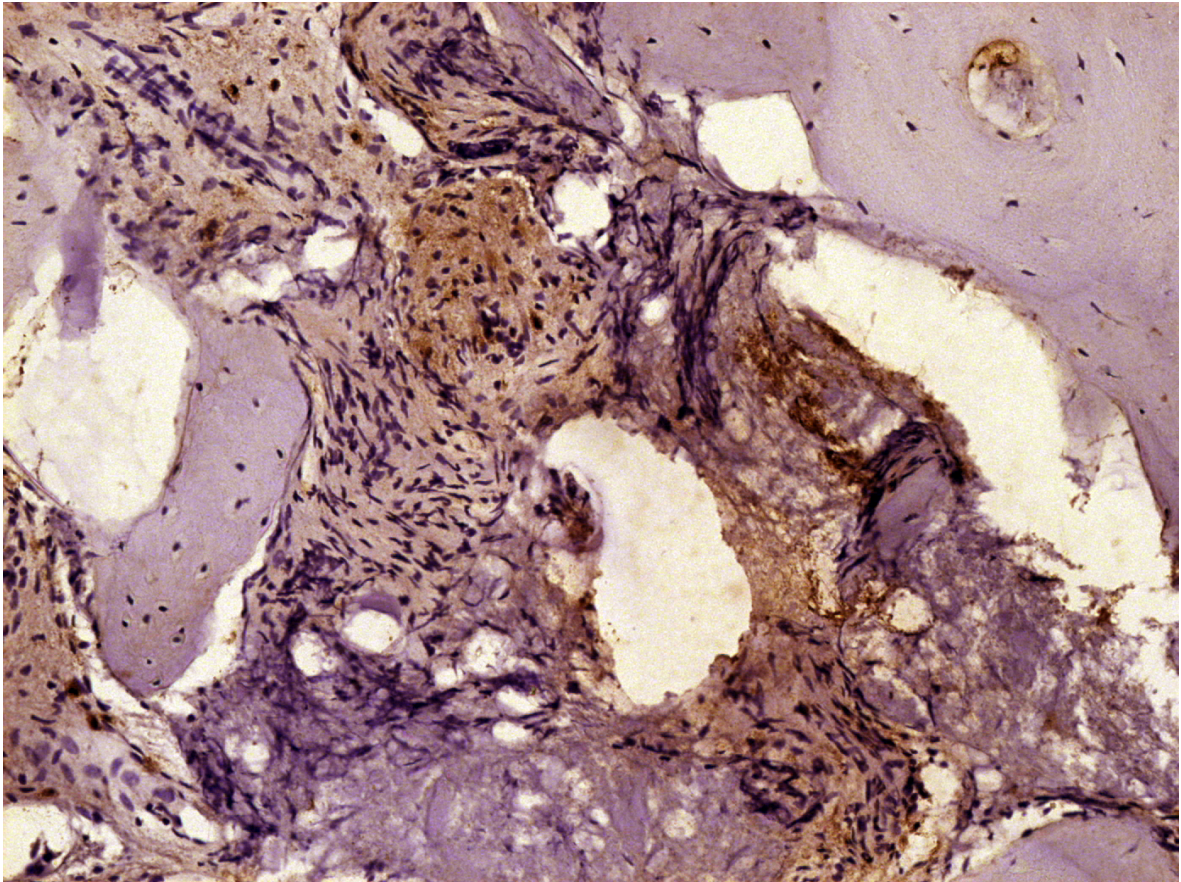
**Figura 25** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para Runx2 do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



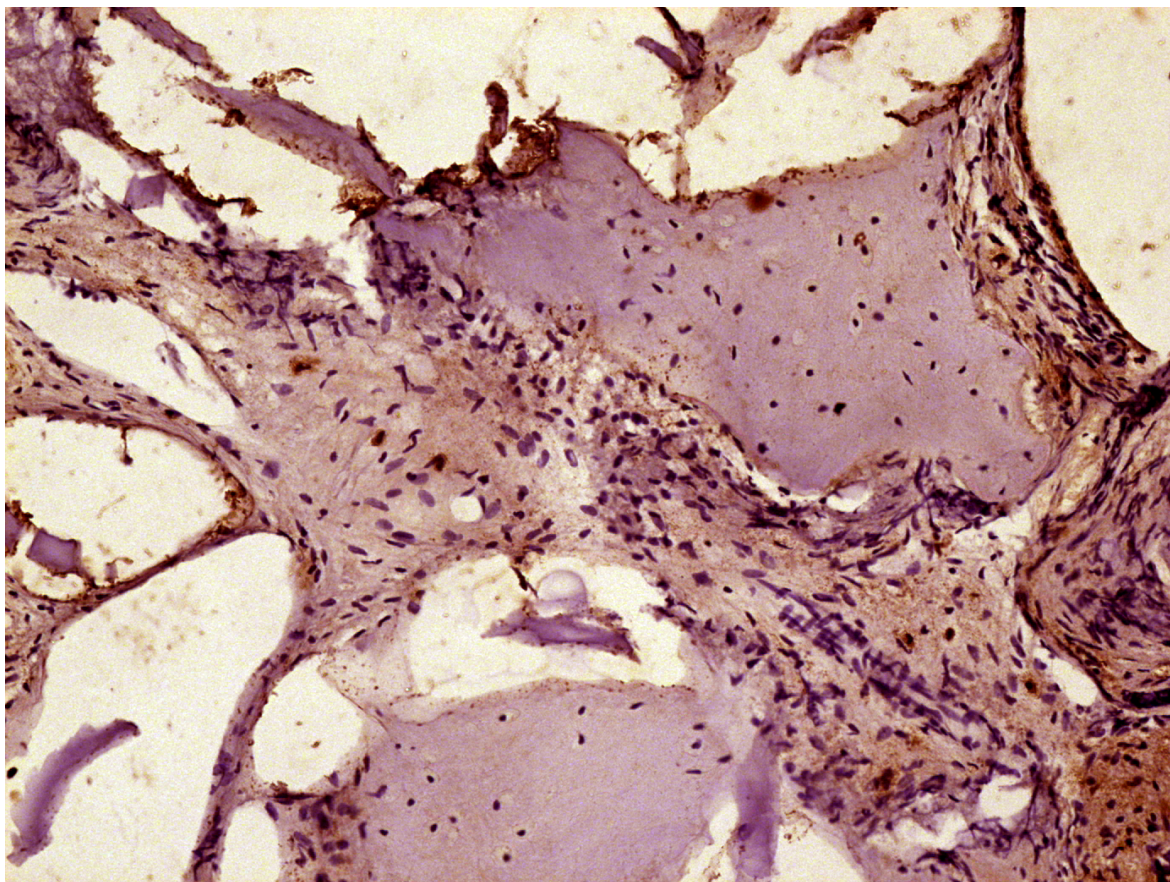
**Figura 26** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para Runx2 do grupo 3. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



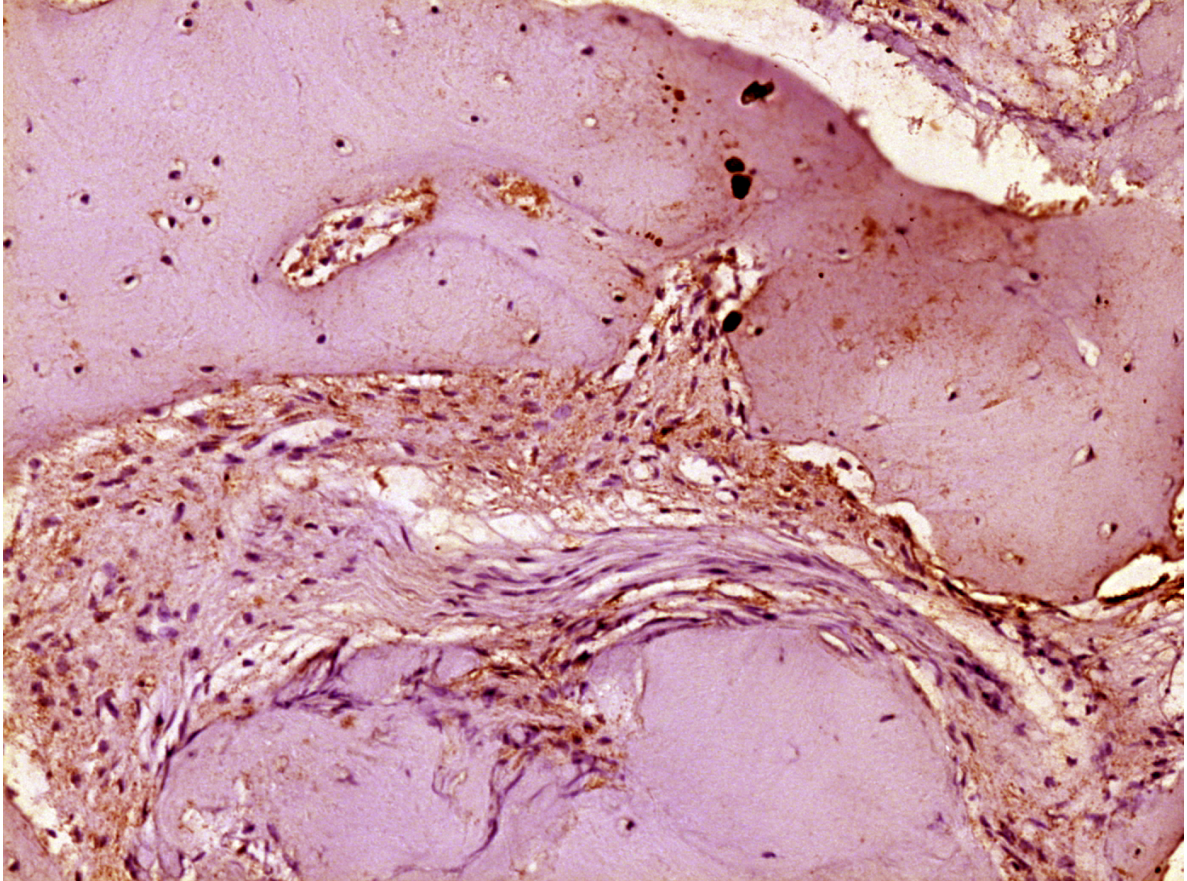
**Figura 27** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 1. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



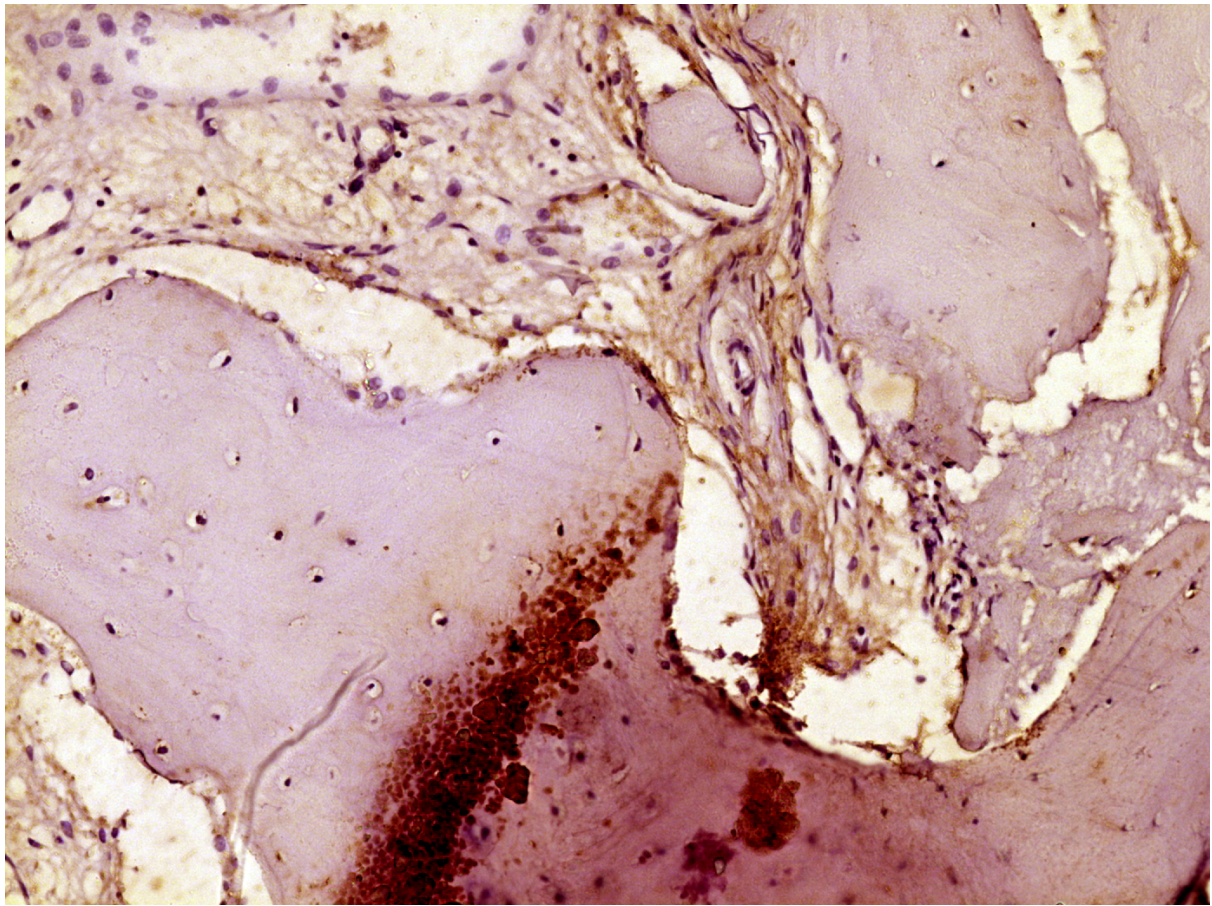
**Figura 28** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



**Figura 29** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

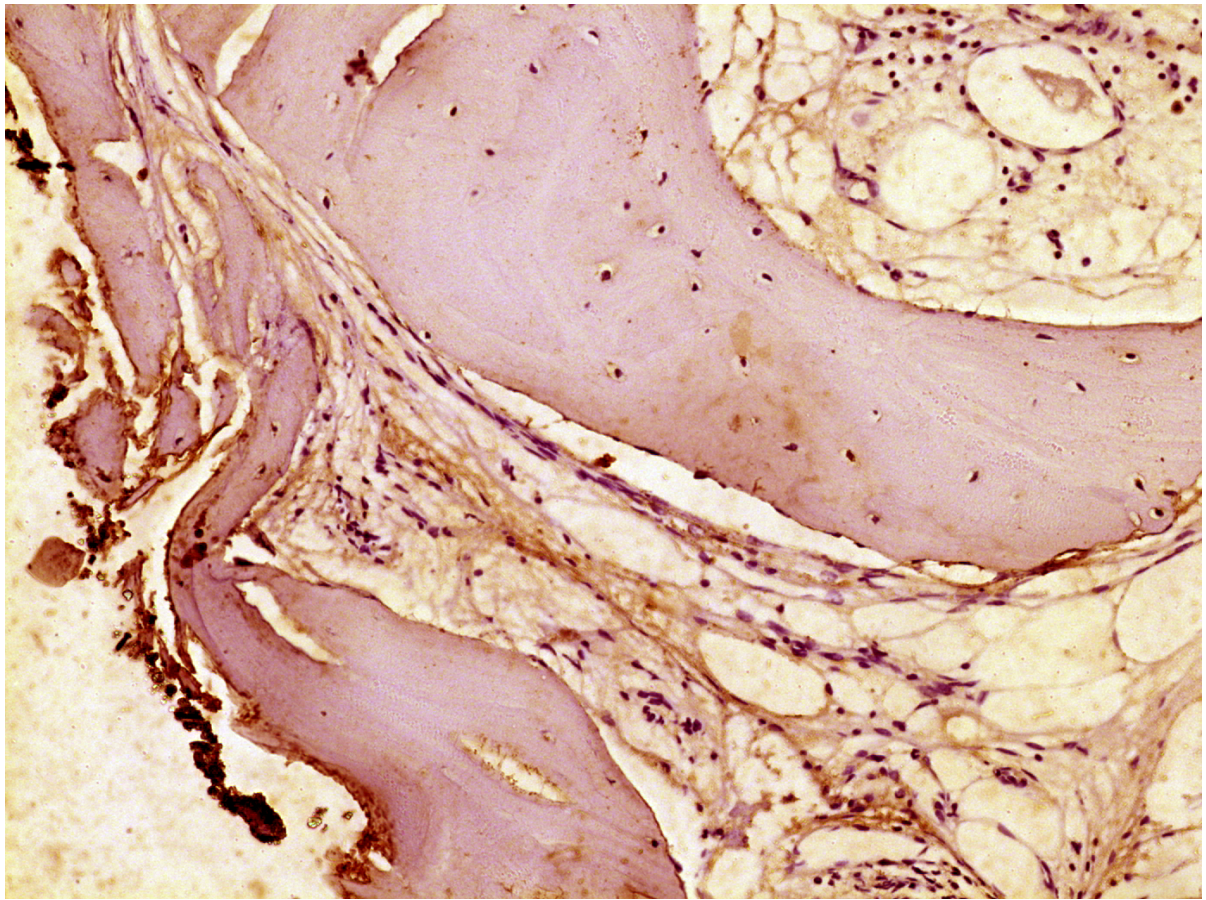


**Figura 30** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 2. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

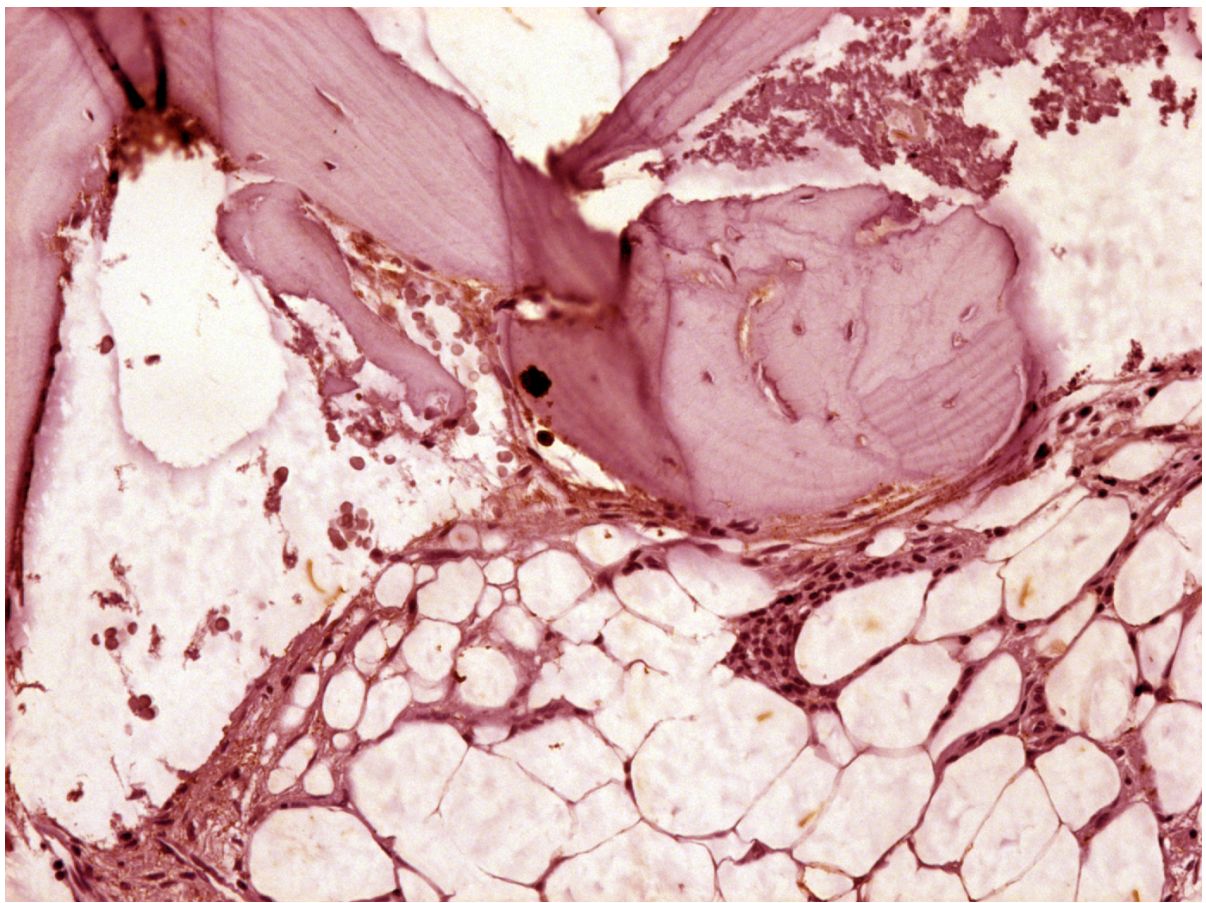


**Figura 31** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 2.

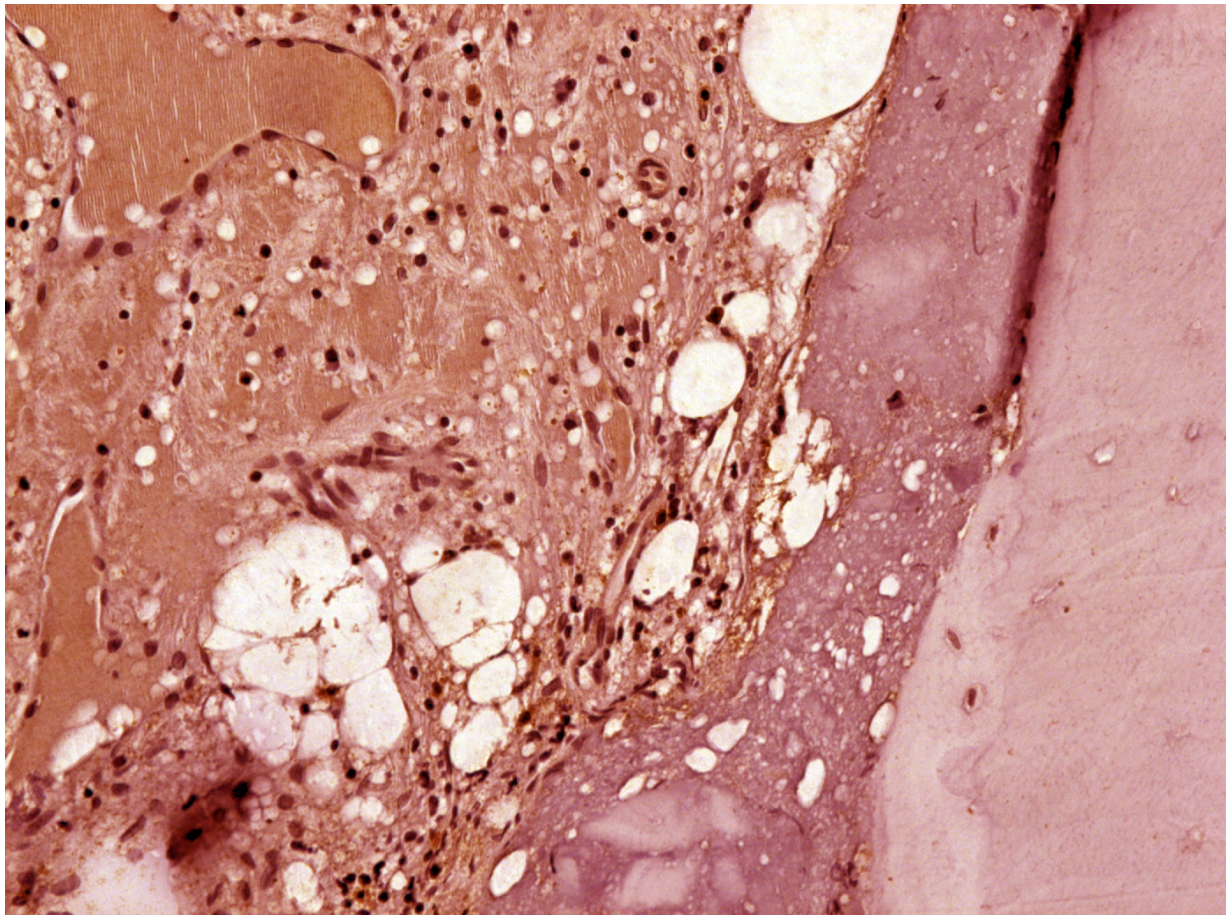
Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



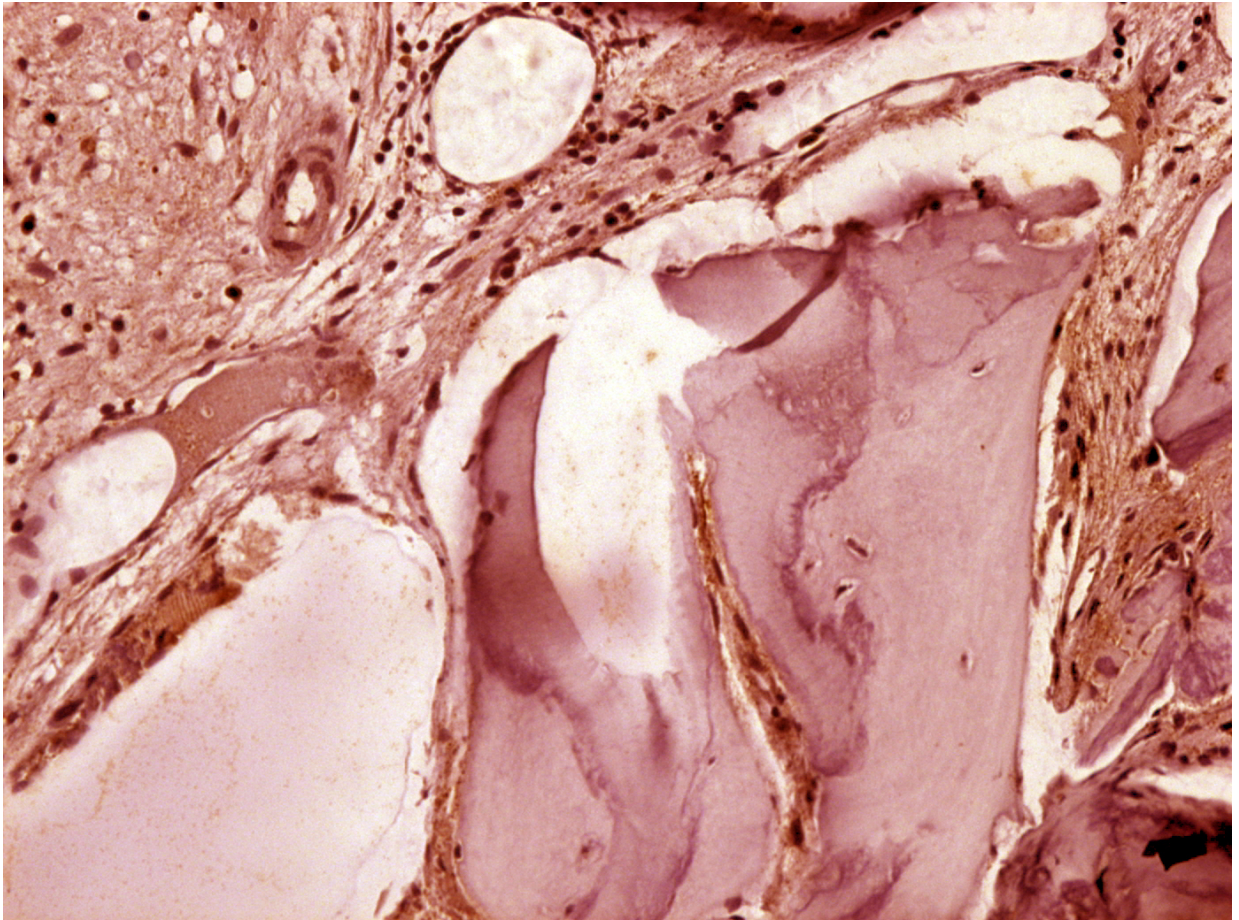
**Figura 32** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



**Figura 33** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 3.  
Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

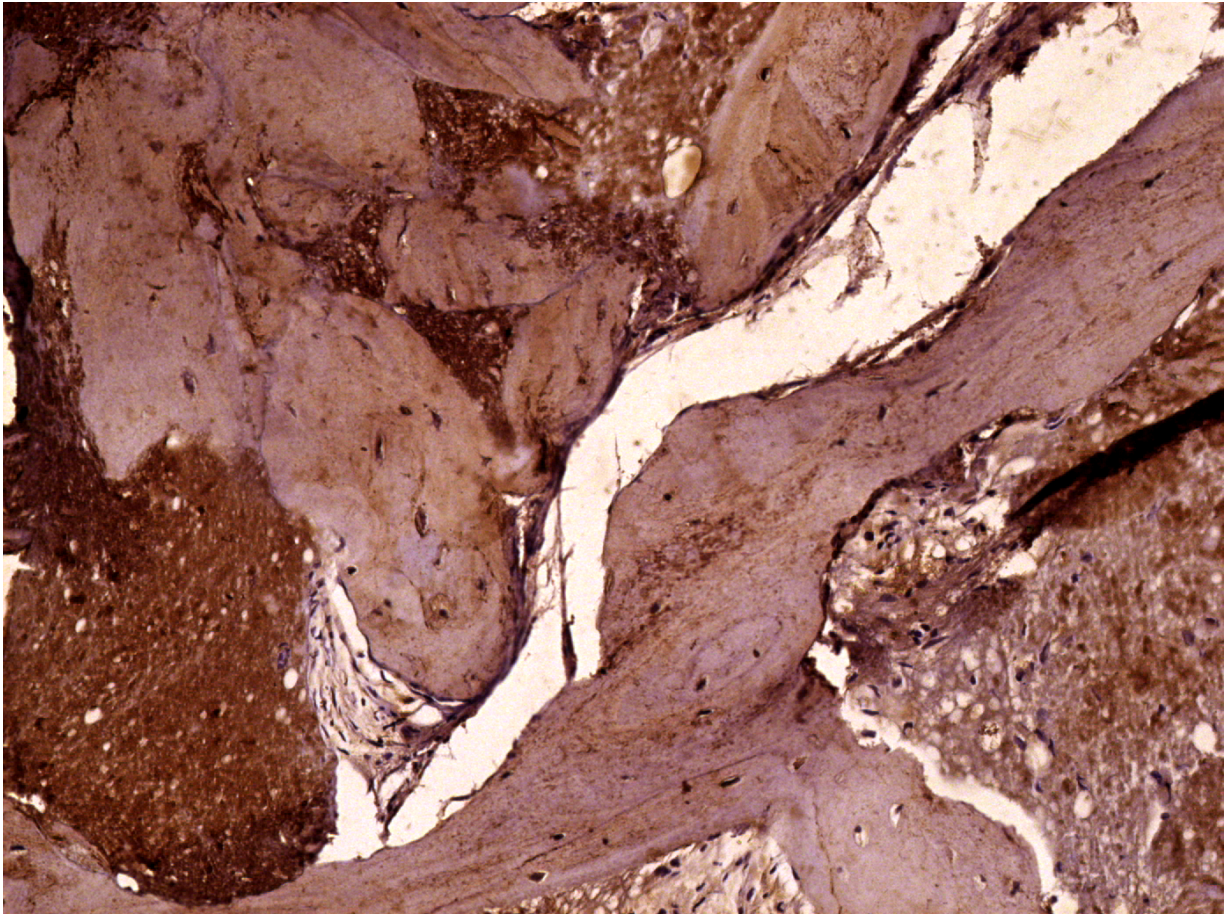


**Figura 34** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para VEGF do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

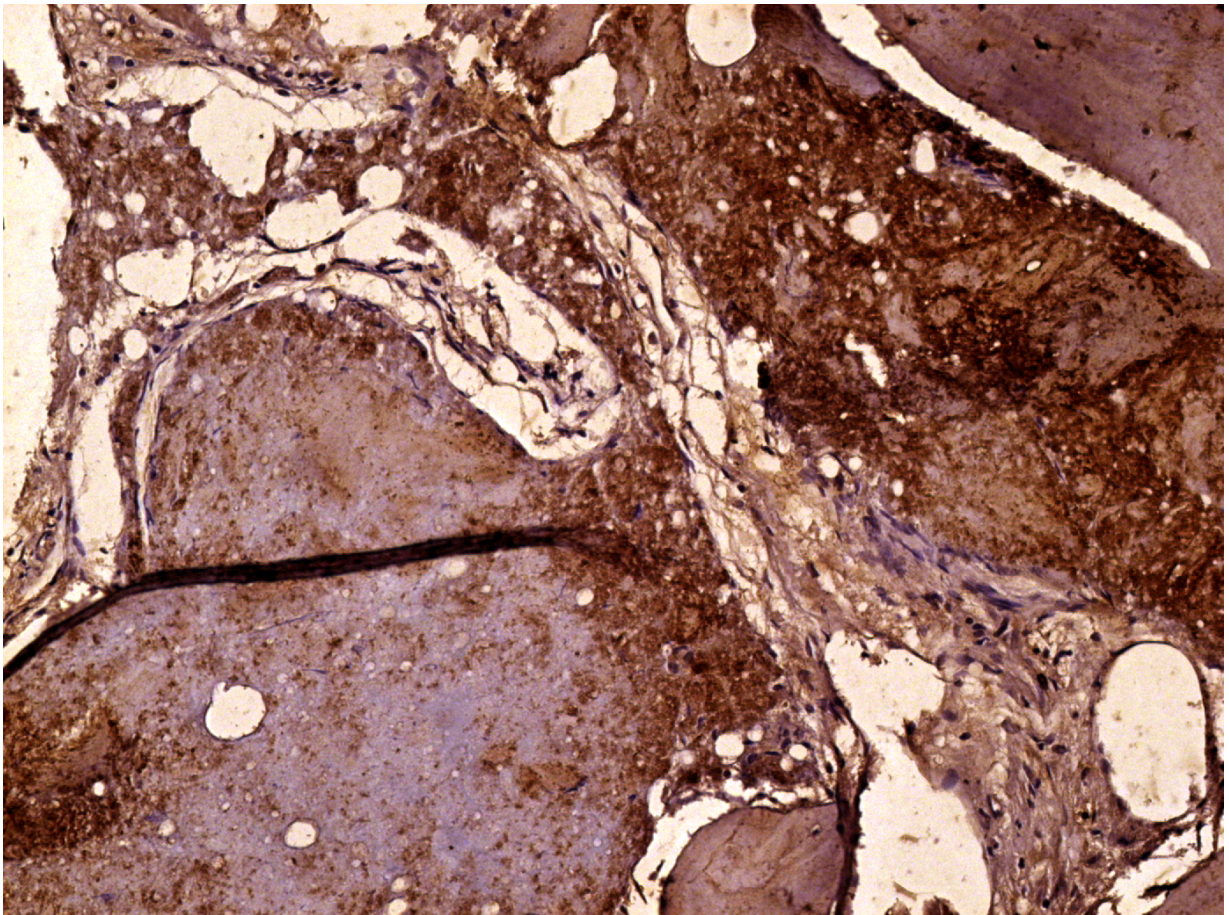


**Figura 35** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para VEGF do grupo 3.

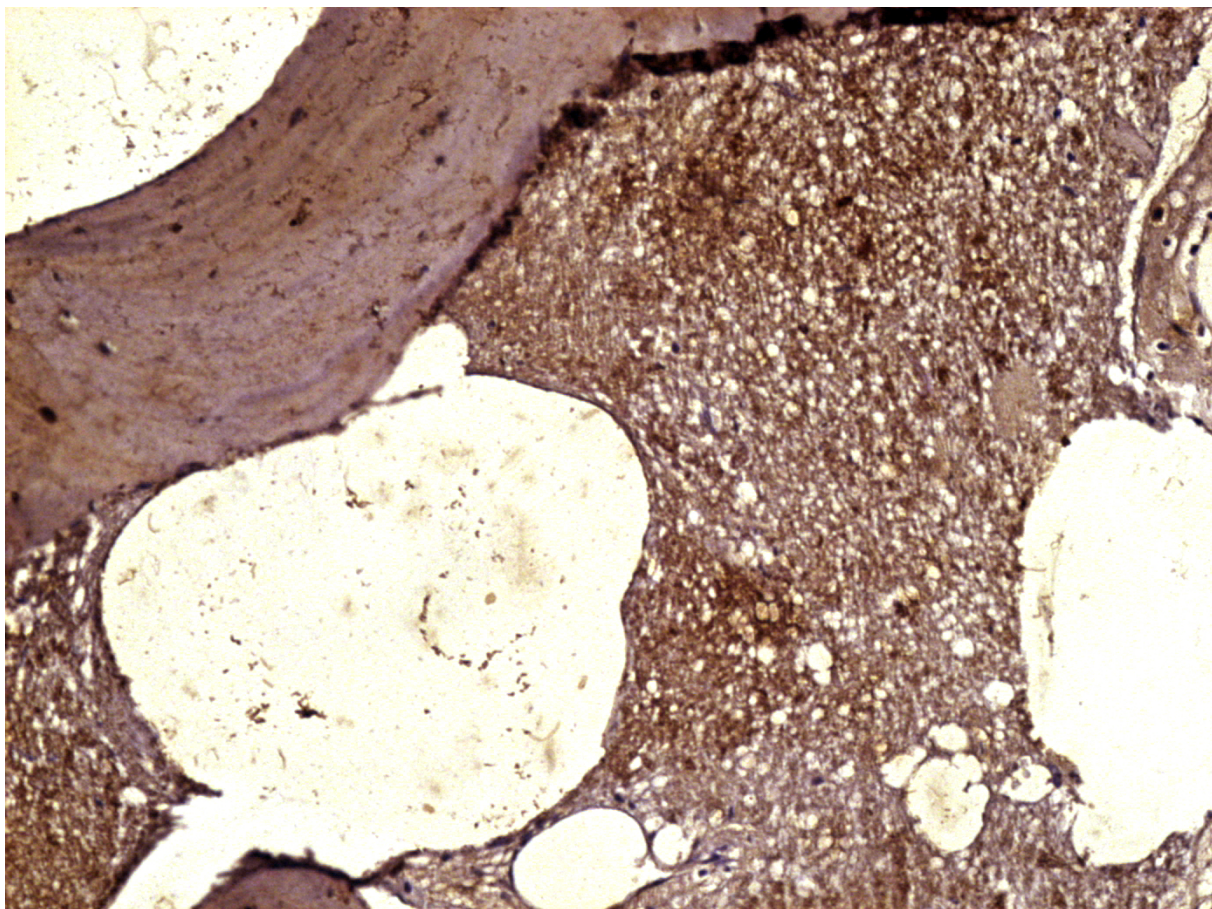
Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



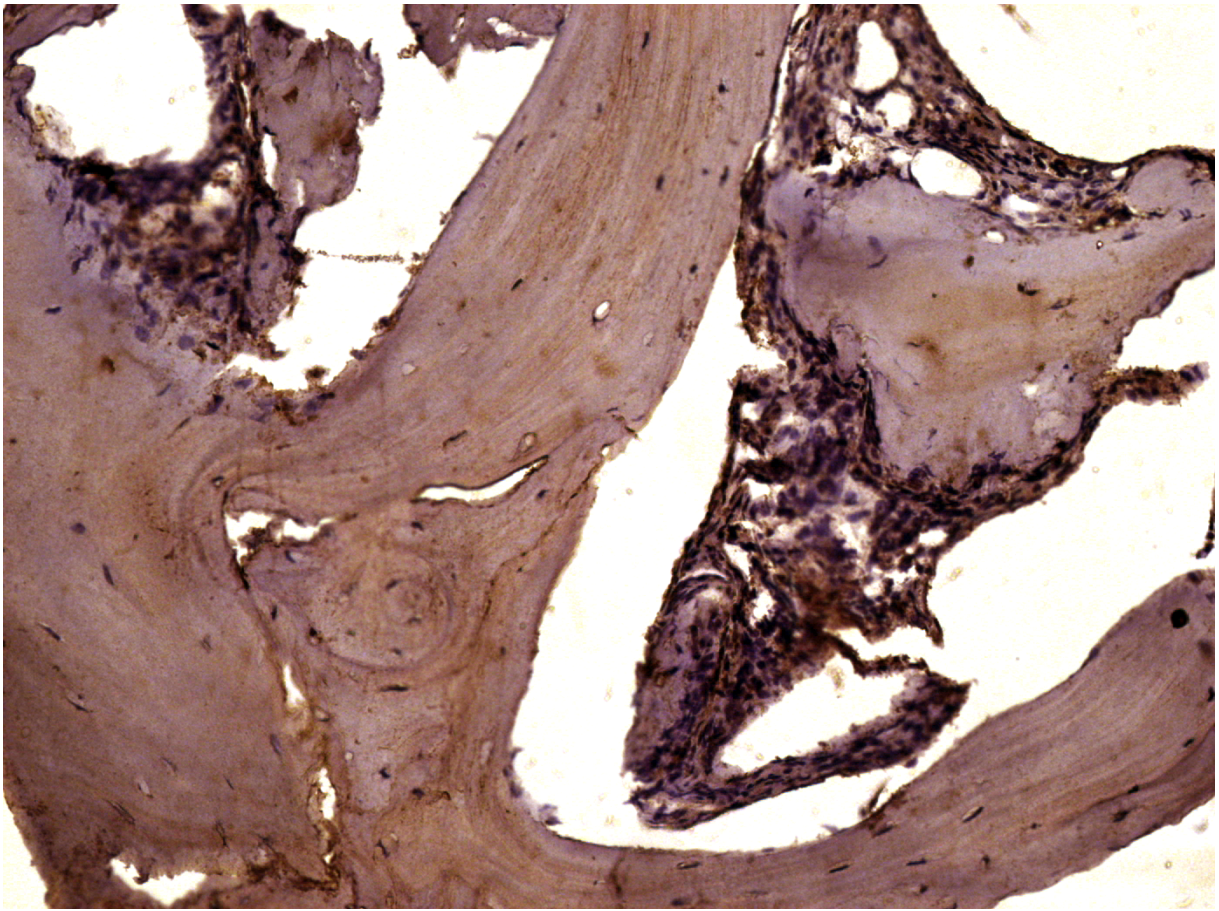
**Figura 36** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 1. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



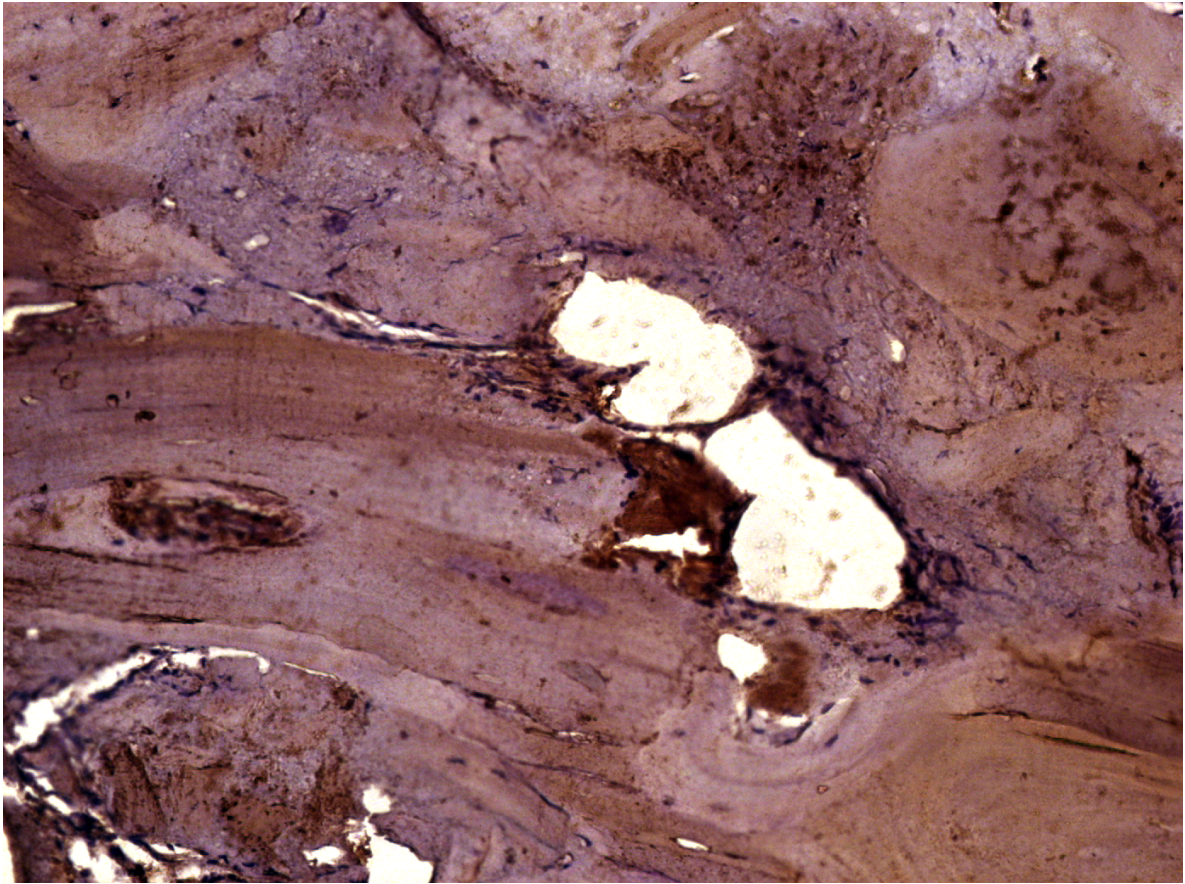
**Figura 37** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



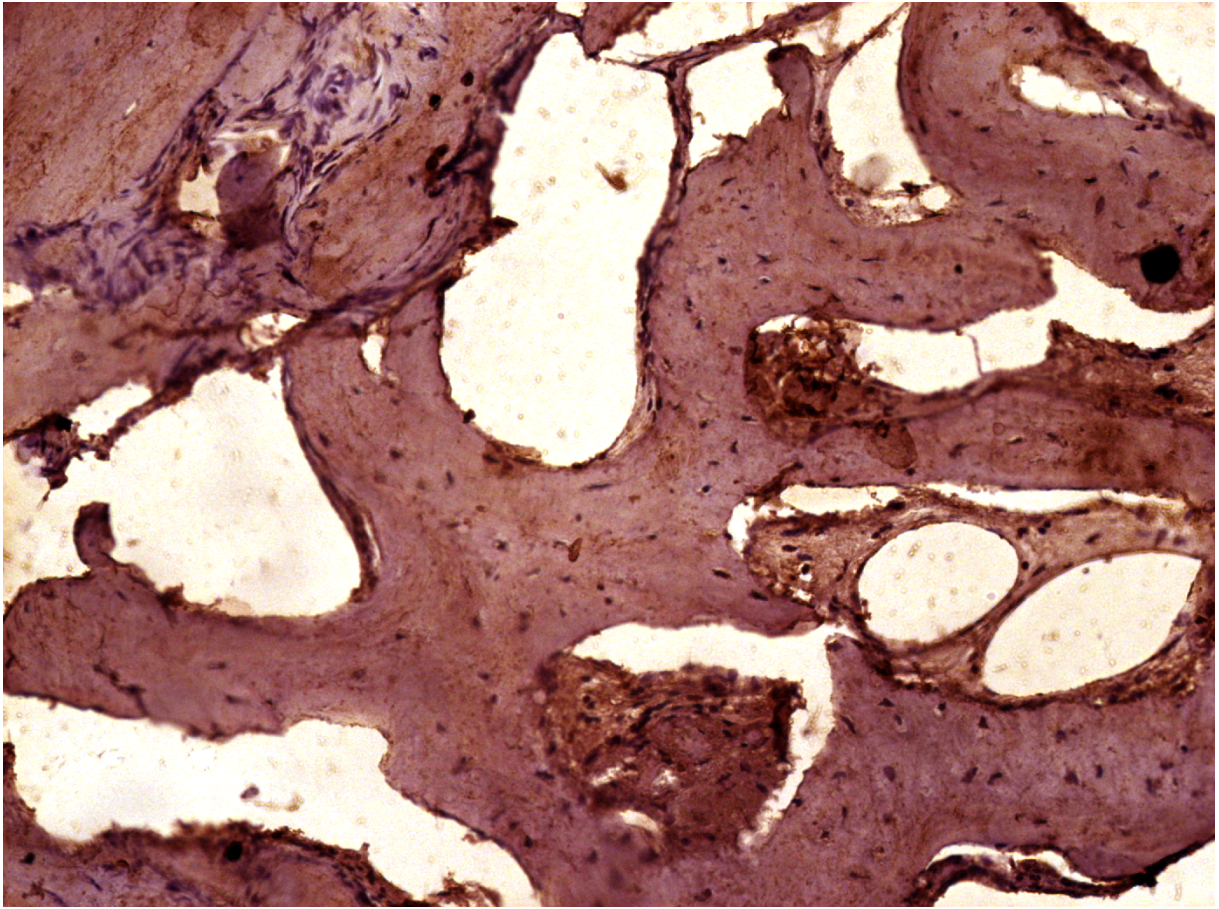
**Figura 38** – Fotomicrografia da imunomarcaco positiva para osteocalcina do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



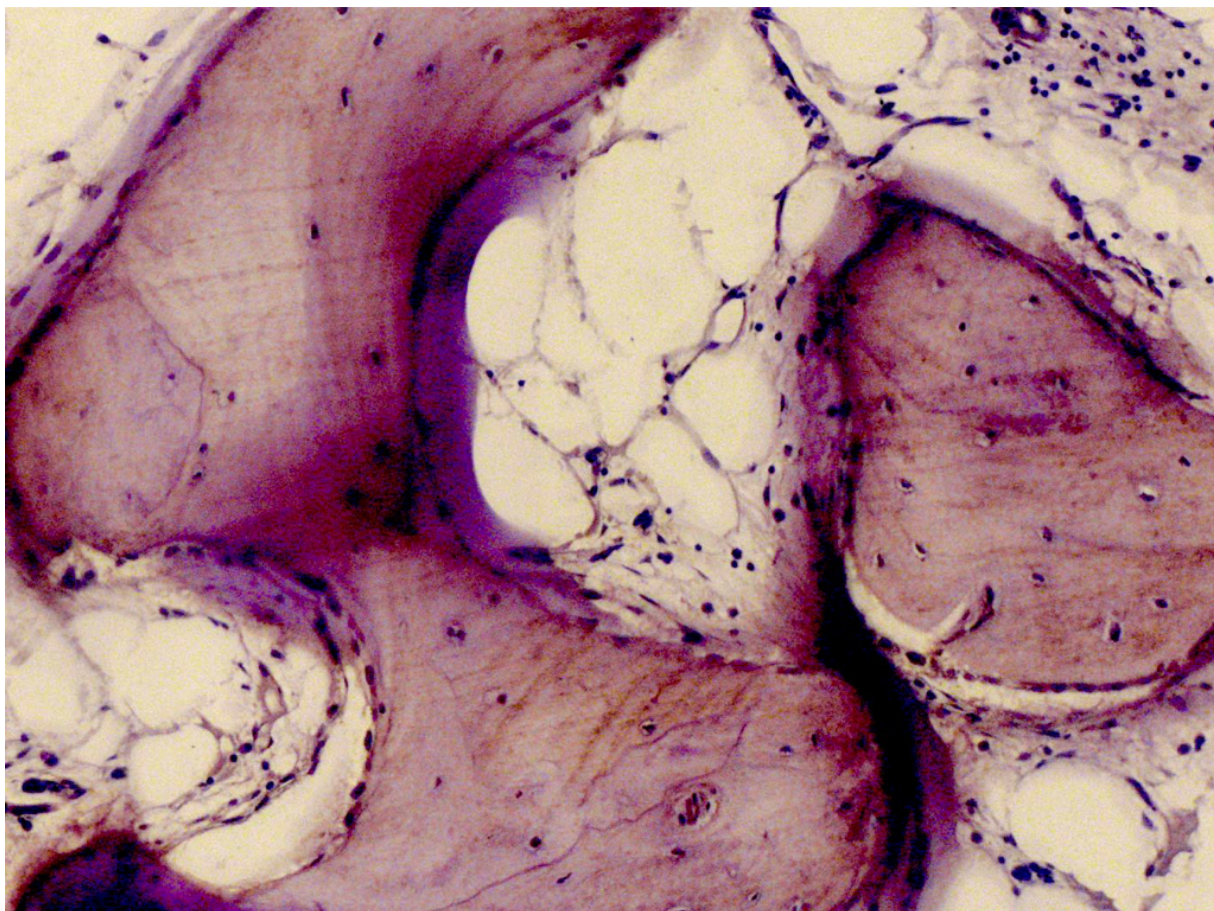
**Figura 39** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 2. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



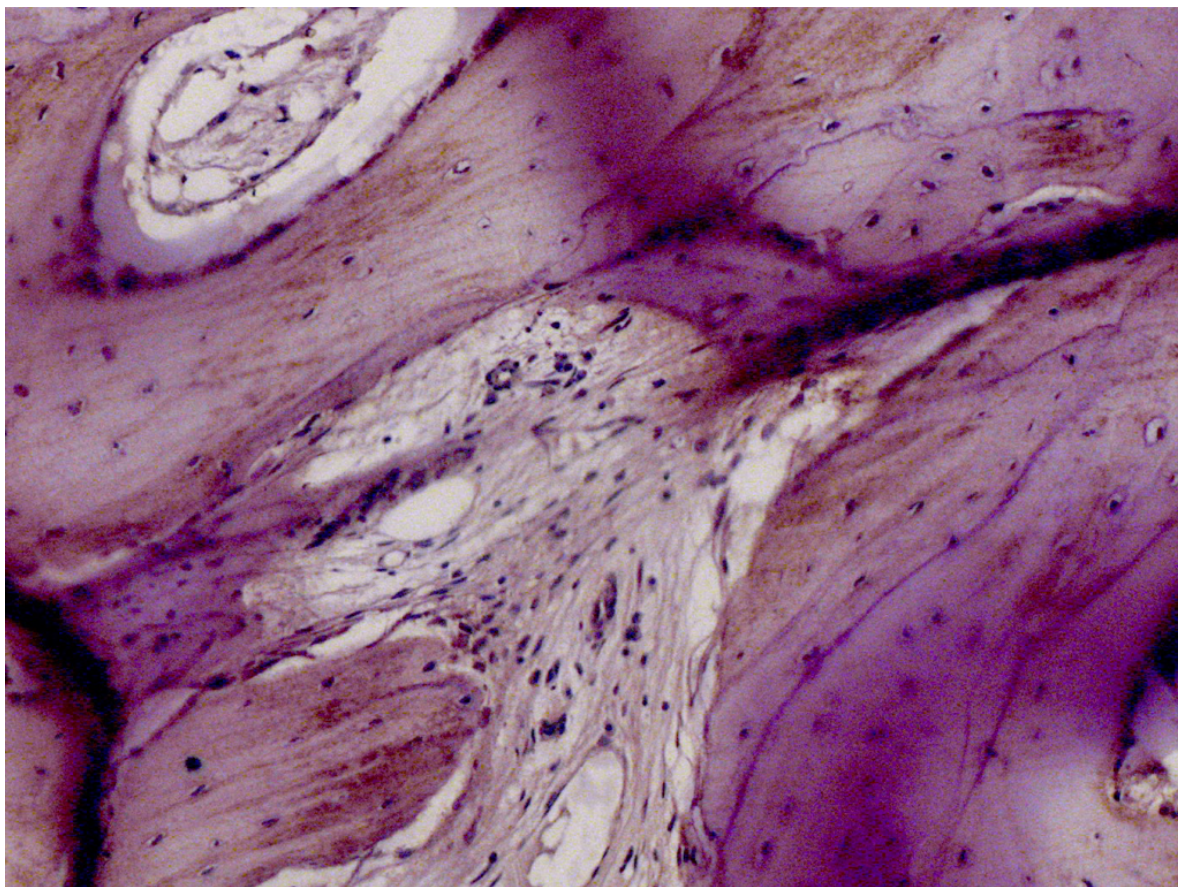
**Figura 40** – Fotomicrografia da imunomarcação positiva para osteocalcina do grupo 2. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



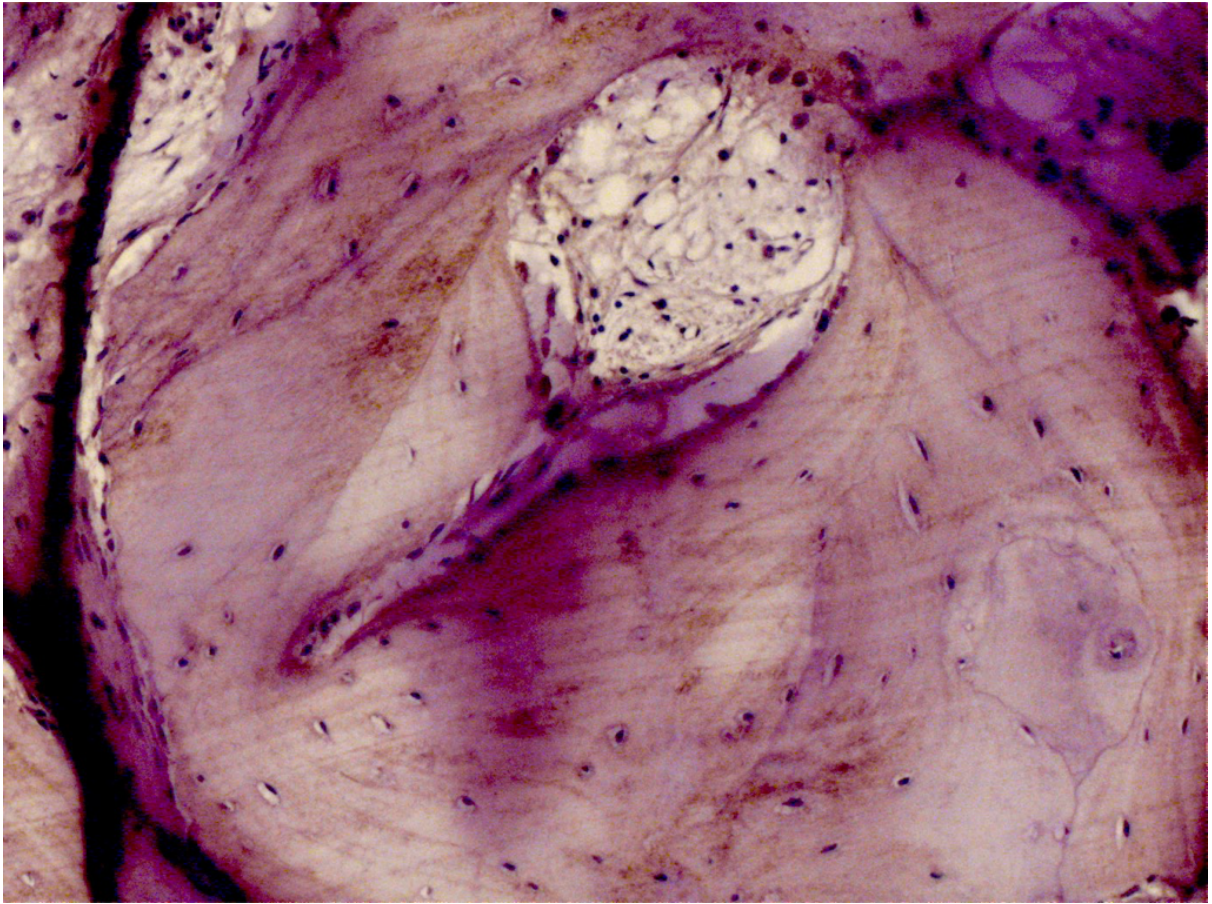
**Figura 41** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



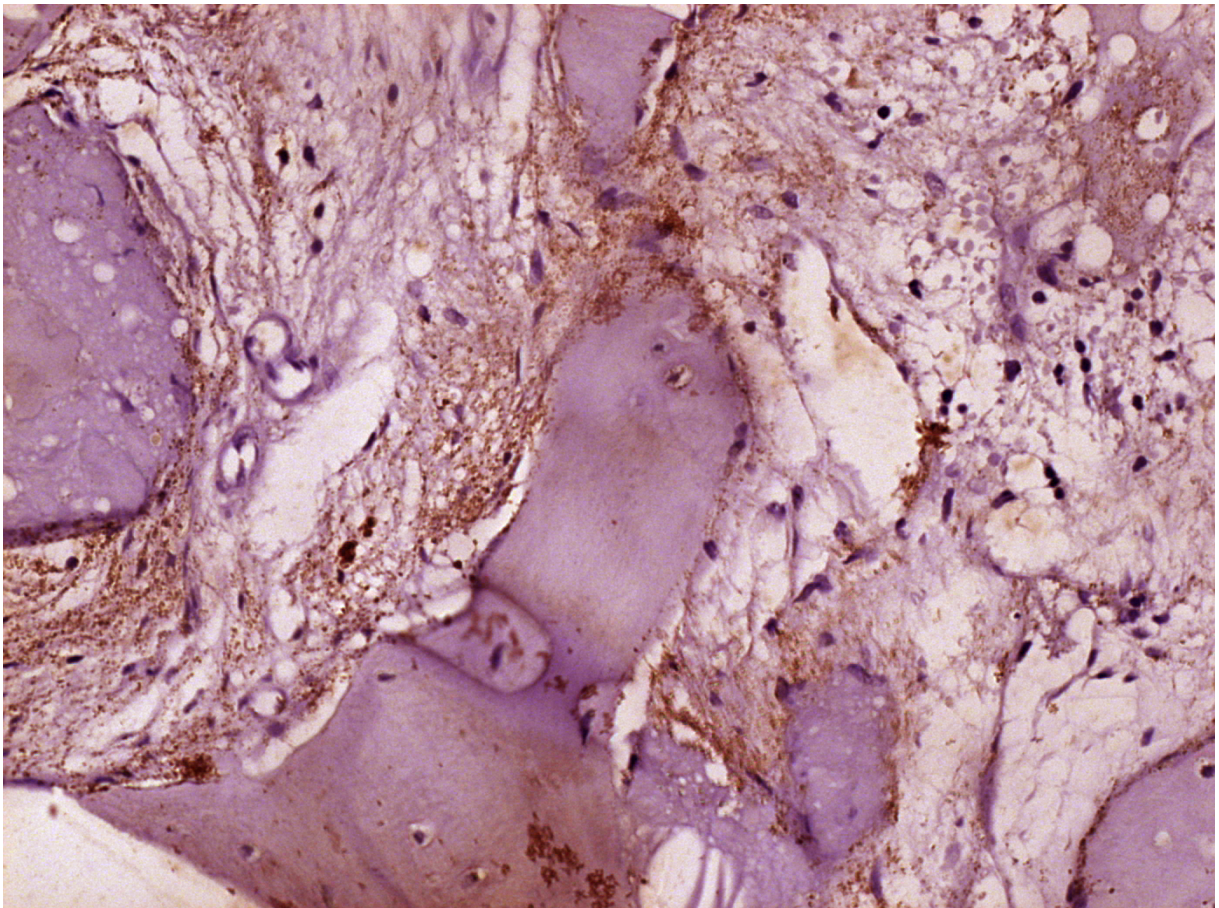
**Figura 42** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 3. Região do leito. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



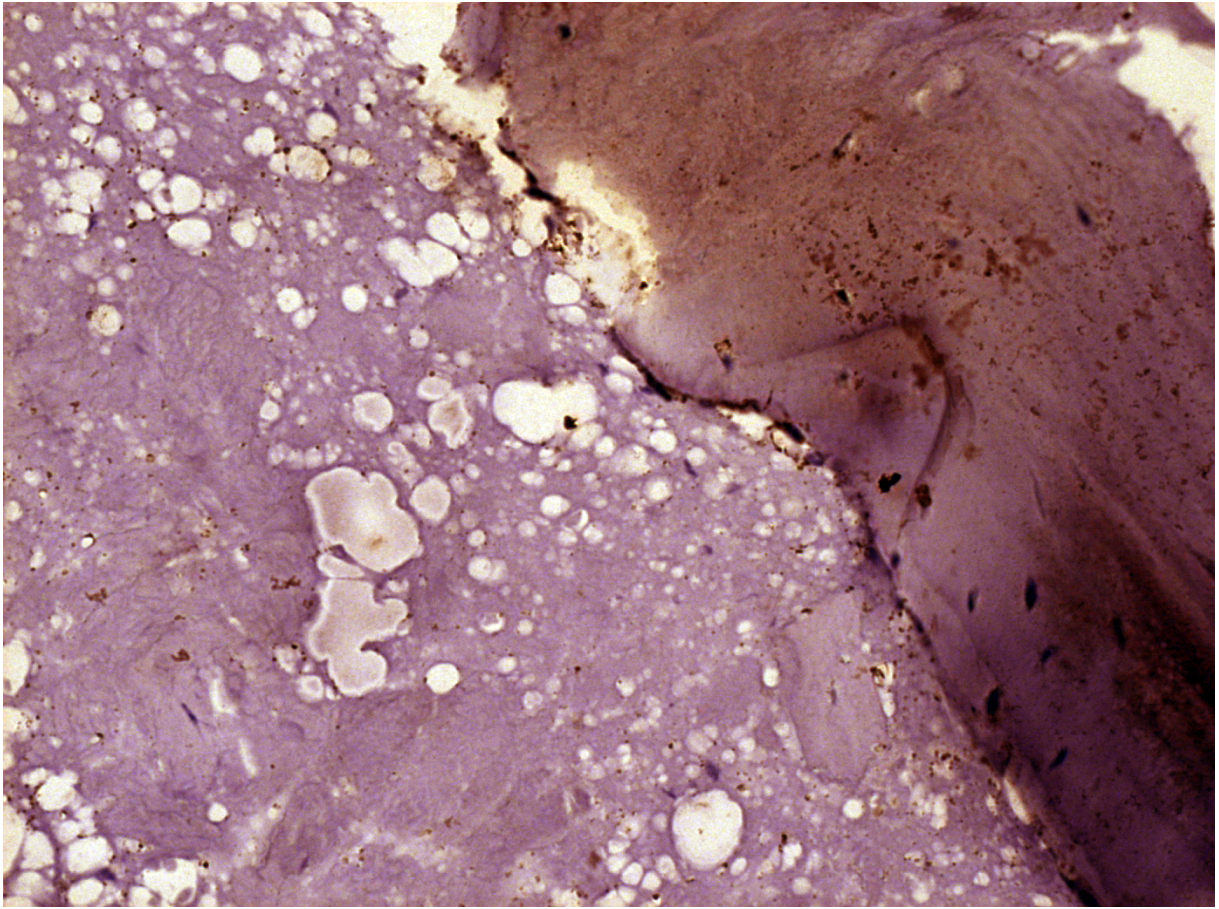
**Figura 43** – Fotomicrografia da imunomarcagem positiva para osteocalcina do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



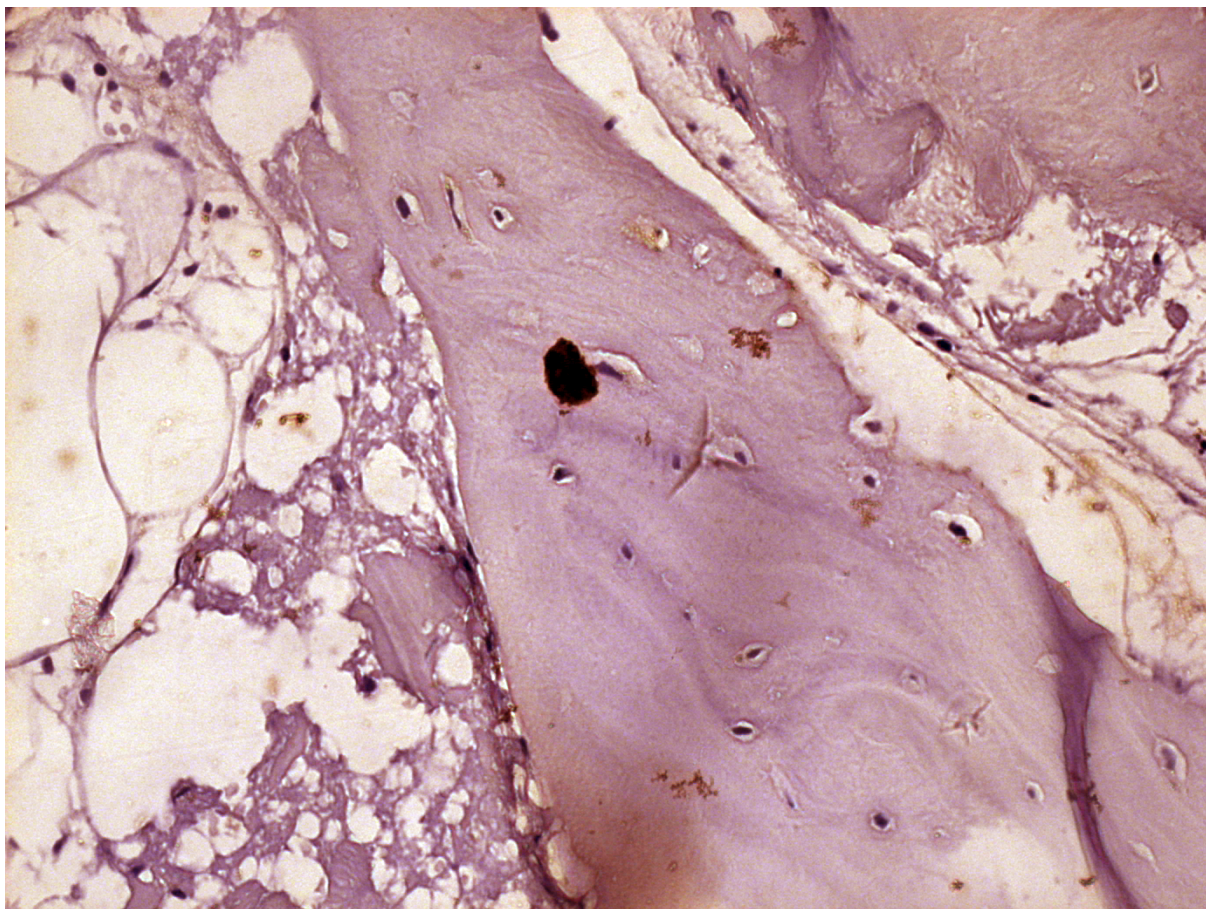
**Figura 44** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para osteocalcina do grupo 3. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



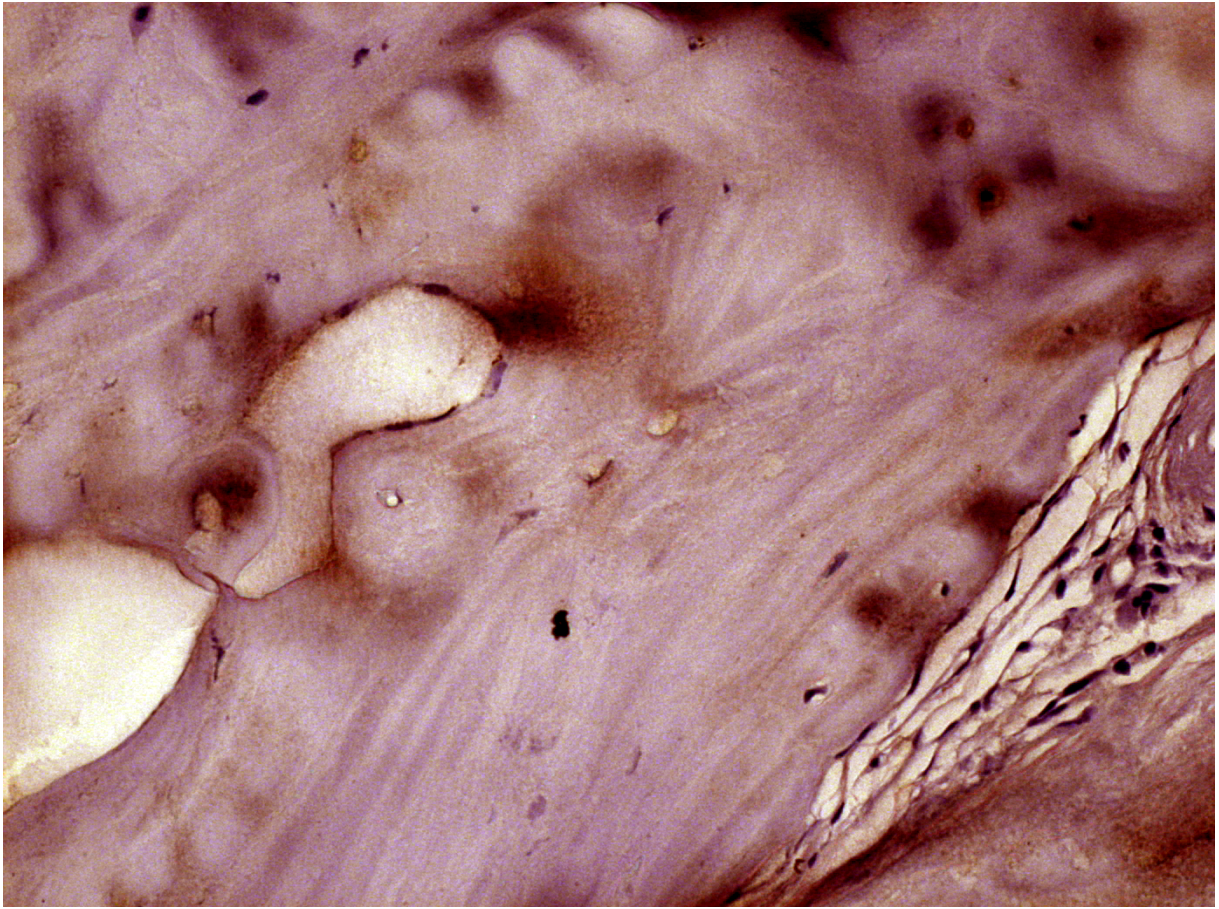
**Figura 45** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 1. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



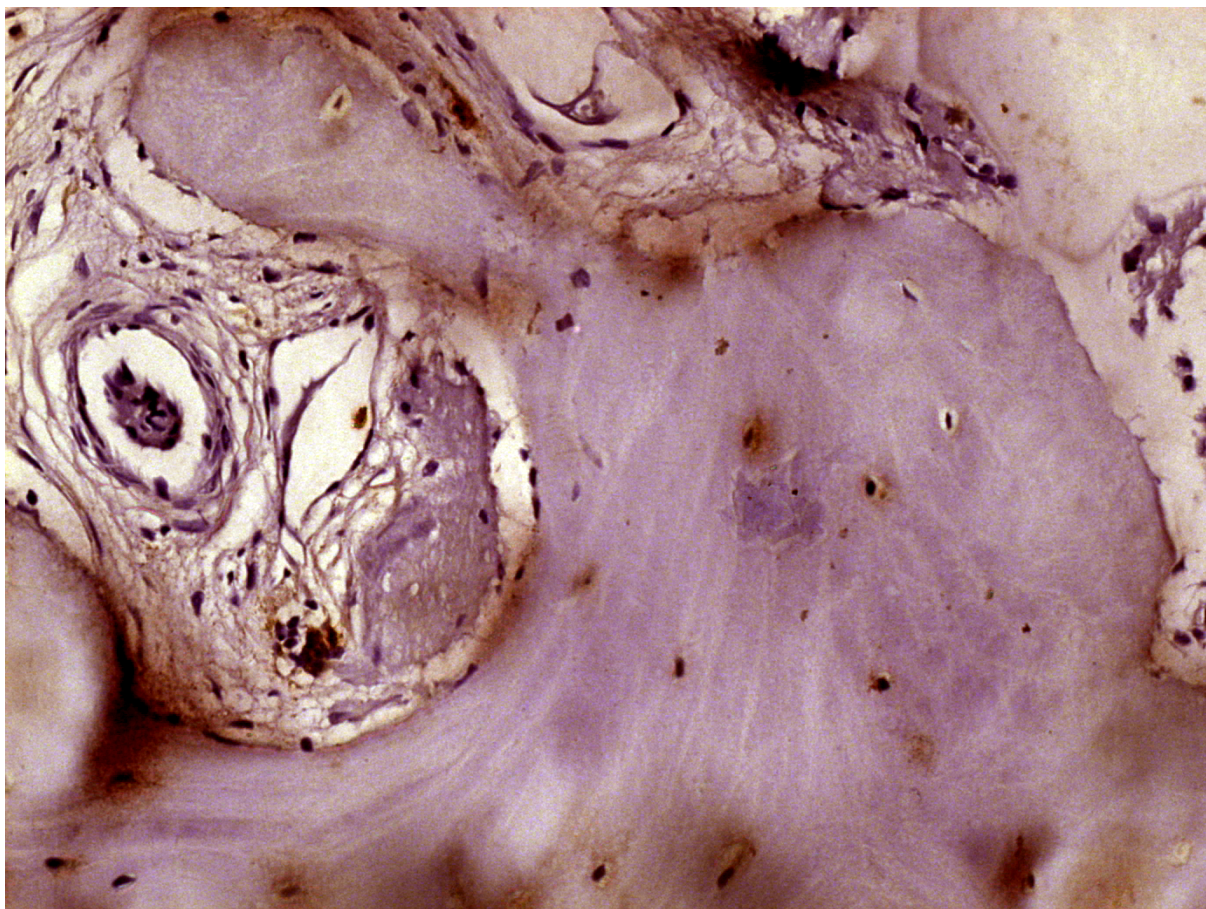
**Figura 46** – Fotomicrografia da imunomarcagem positiva para TRAP do grupo 1. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



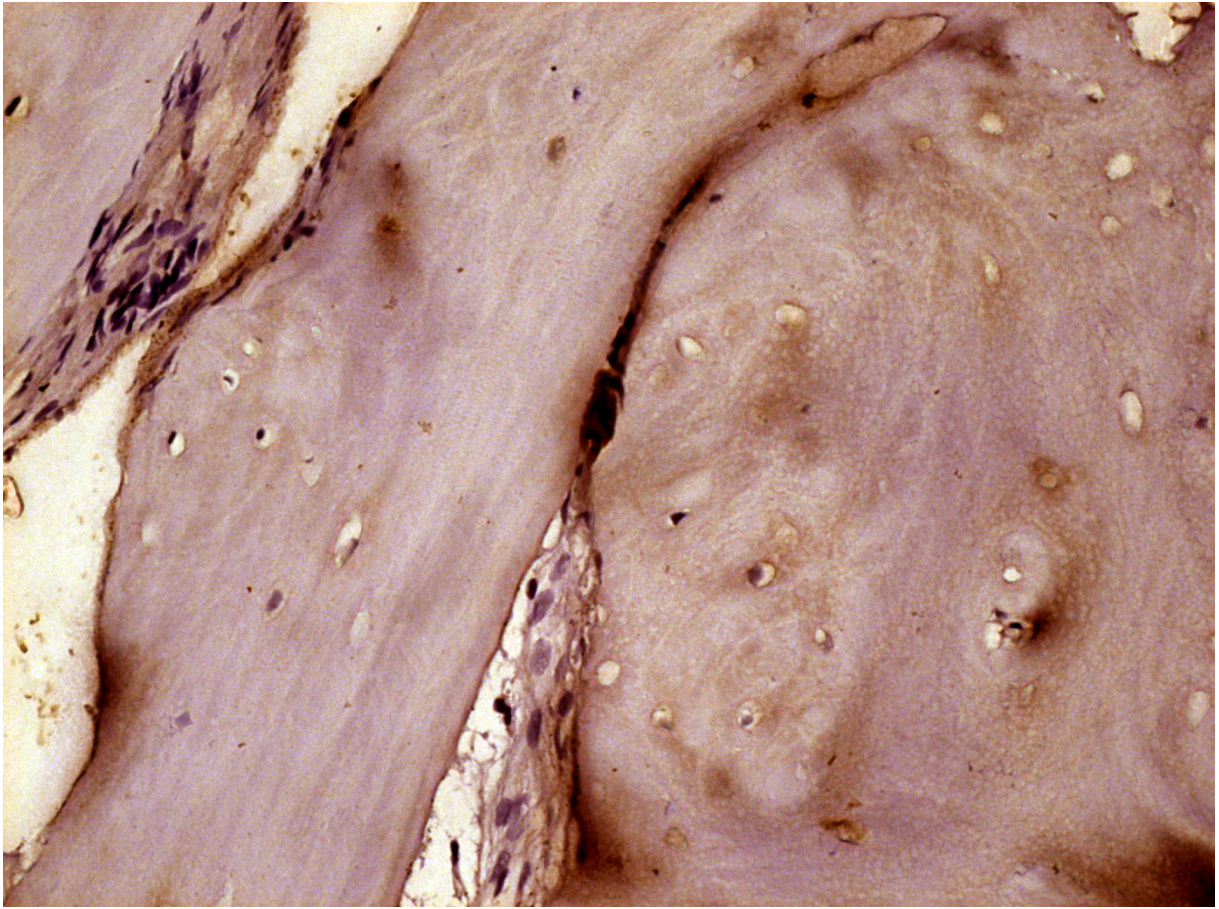
**Figura 47** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 1. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



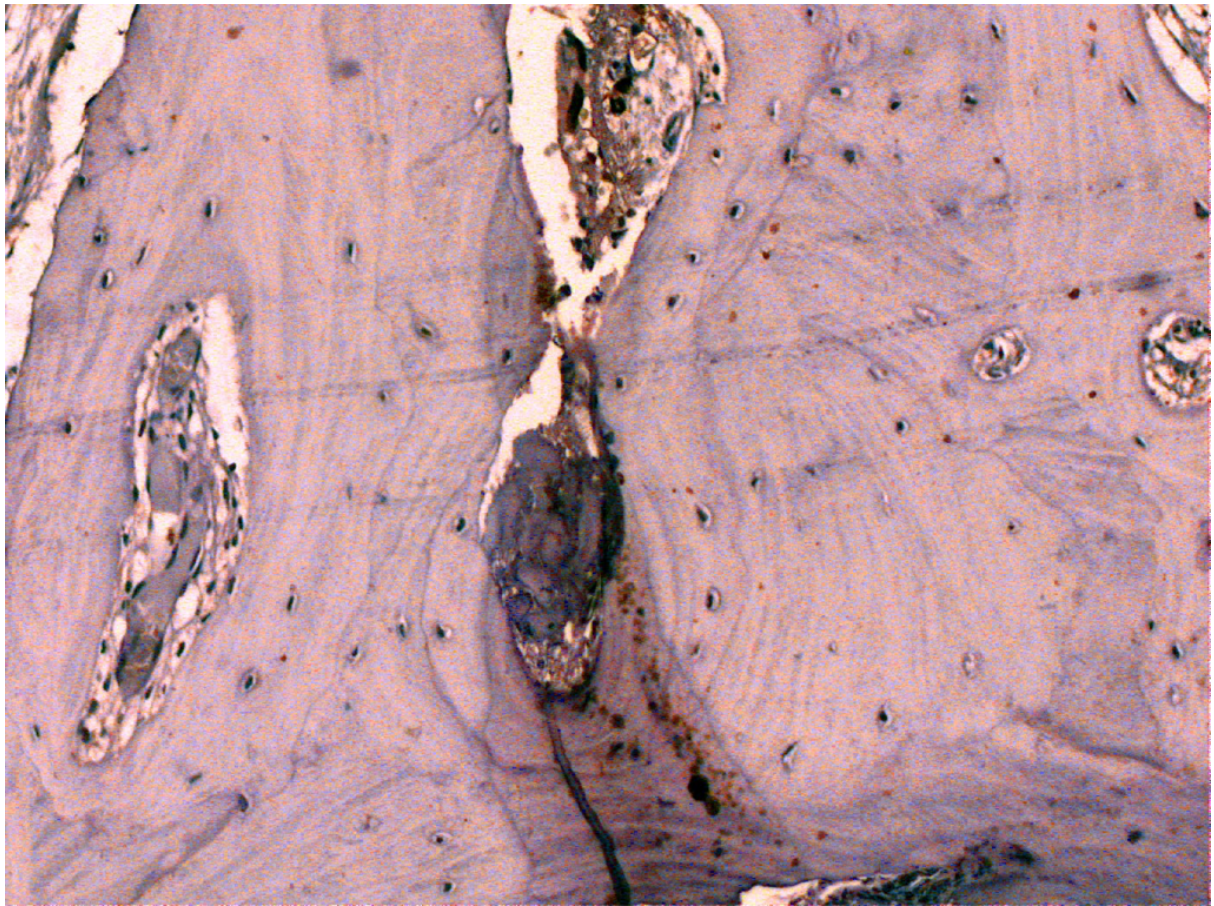
**Figura 48** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 2. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



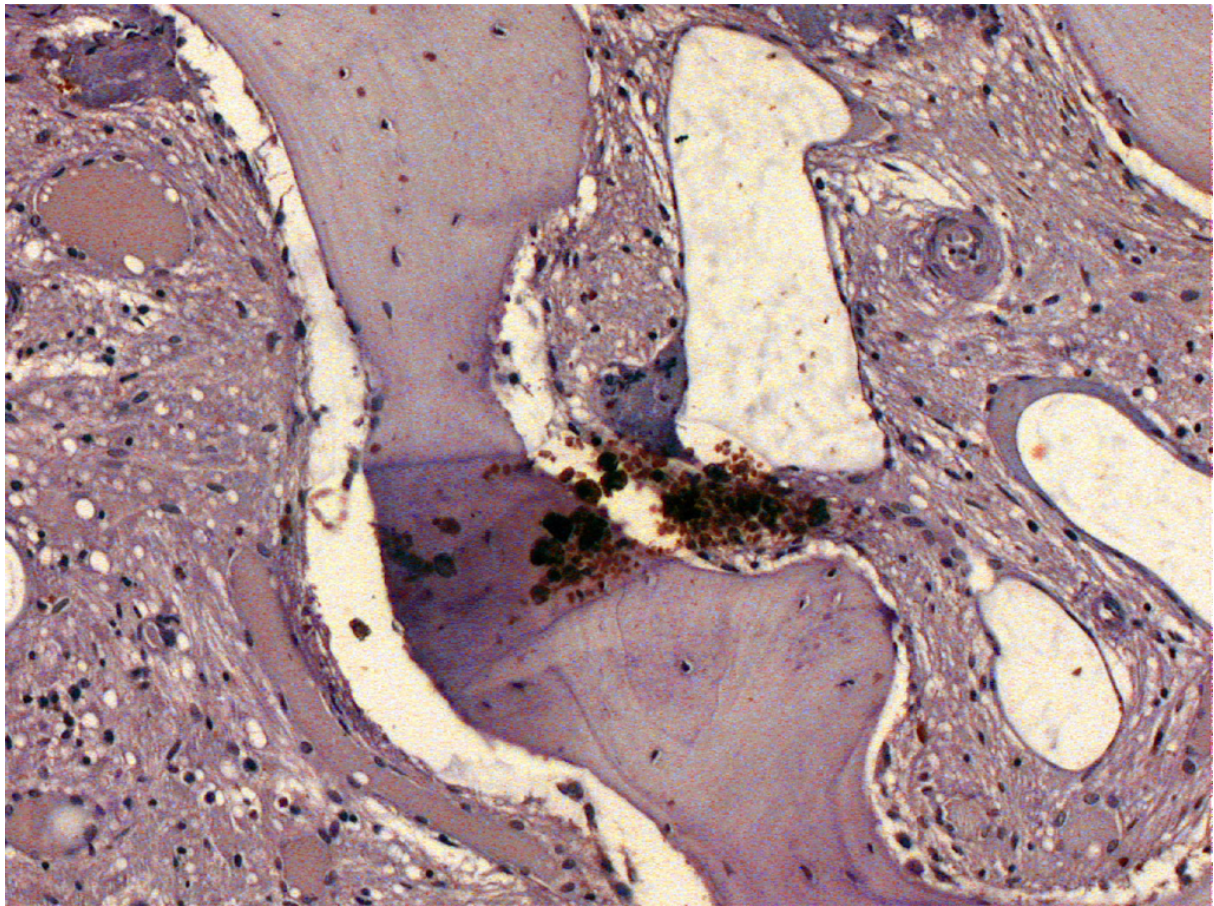
**Figura 49** – Fotomicrografia da imunomarcagem positiva para TRAP do grupo 2. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



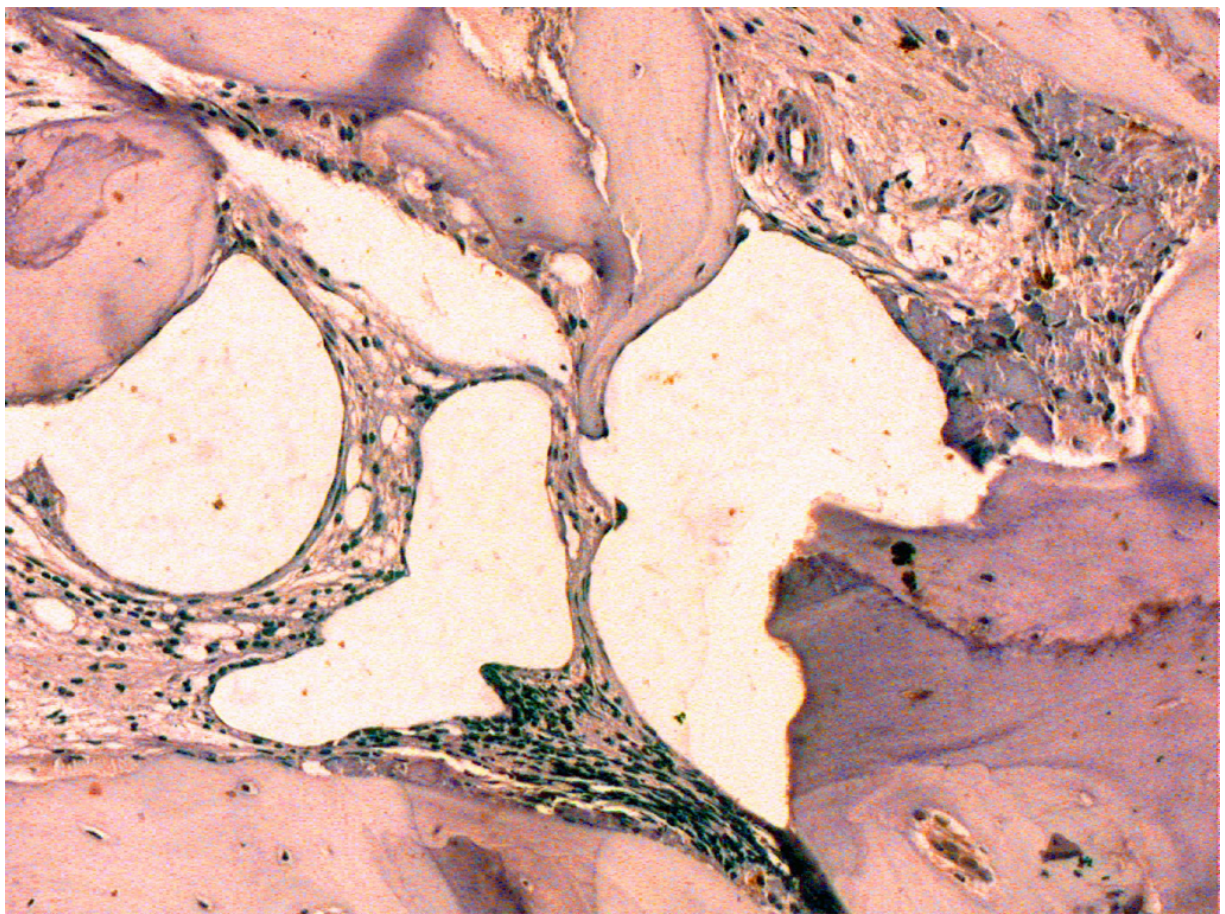
**Figura 50** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 2. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



**Figura 51** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 3. Região do leite. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



**Figura 52** – Fotomicrografia da imunomarcção positiva para TRAP do grupo 3. Região intermediária. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)



**Figura 53** – Fotomicrografia da imunomarcaco positiva para TRAP do grupo 3. Região apical. (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

*Tabelas*

## 10.0 – Tabelas

Tabela 1. Resultados histométricos da formação do tecido ósseo após 6 meses do reparo ósseo no seio maxilar com os 3 materiais avaliados

Regiões	Grupo 1 (%) A	Grupo 2 (%) A	Grupo 3 (%) A
Leito	42.6 ± 7.2 <sup>a</sup>	36.6 ± 12.9 <sup>b</sup>	34.4 ± 14.4 <sup>c</sup>
Intermediária	44.5 ± 18.4 <sup>a</sup>	33.2 ± 13.3 <sup>b</sup>	35.0 ± 13.9 <sup>c</sup>
Apical	48.0 ± 15.2 <sup>a</sup>	45.8 ± 13.8 <sup>b</sup>	42.0 ± 16.6 <sup>c</sup>

Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente. ( $p < 0.05$ )

Tabela 2. Resultados histométricos da formação do tecido conjuntivo após 6 meses do reparo ósseo no seio maxilar com os 3 materiais avaliados

Regiões	Grupo 1 (%) A	Grupo 2 (%) A	Grupo 3 (%) A
Leito	54.4 ± 10.0 <sup>a</sup>	60.0 ± 13.7 <sup>b</sup>	59.3 ± 13.5 <sup>c</sup>
Intermediária	51.8 ± 21.5 <sup>a</sup>	62.5 ± 14.7 <sup>b</sup>	61.3 ± 14.9 <sup>c</sup>
Apical	46.0 ± 13.0 <sup>a</sup>	48.8 ± 17.7 <sup>b</sup>	55.8 ± 16.6 <sup>c</sup>

Dados com mesmas letras (maiúsculas para colunas, minúsculas para linhas) não são diferentes estatisticamente. ( $p < 0.05$ )

Tabela 3. Scores das imunomarcações para RUNX2

Regiões	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Leito	1	1	1
Intermediária	1	1	1
Apical	1	1	1

Tabela 4. Scores das imunomarcações para VEGF

Regiões	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Leito	2	2	1
Intermediária	2	2	2
Apical	2	2	2

Tabela 5. Scores das imunomarcações para Osteocalcina

Regiões	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Leito	2	3	2
Intermediária	2	3	3
Apical	3	3	2

Tabela 6. Scores das imunomarcações para TRAP

Regiões	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Leito	1	1	1
Intermediária	1	1	1
Apical	1	1	1

Tabela 7. Volume ósseo enxertado nos seios maxilares após 15 dias (T1) e após 6 meses (T2) com as taxas de reabsorção do grupo 1.

Seio Maxilar	T1 (mm3)	T2 (mm3)	Diferença (mm3)*	Reabsorção (%)*
3E	1563.8	697.0	-866.8	-55.4
4E	1473.0	867.7	-605.3	-41.1
5E	1435.9	710.0	-725.9	-50.6
7D	394.6	333.1	-61.5	-15.6
7E	346.9	194.2	-152.7	-44.0
8D	483.4	249.6	-235.8	-48.6
8E	958.5	396.9	-561.6	-58.6
9D	727.9	545.5	-182.4	-25.1
10D	269.6	188.2	-81.4	-30.2
12D	1087.2	692.3	-394.9	-36.3
13E	1339.3	329.3	-1010.0	-75.4
14D	834.2	423.4	-410.8	-49.2
Média ± SD	909.7 ± 472.0	469.2 ± 228.1	-440.8 ± 315.6	-44.2 ± 16.0

\* Os valores negativos significam perda volumétrica do material

Tabela 8. Volume ósseo enxertado nos seios maxilares após 15 dias (T1) e após 6 meses (T2) com as taxas de reabsorção do grupo 2.

Seio Maxilar	T1 (mm3)	T2 (mm3)	Diferença (mm3)*	Reabsorção (%)*
1E	2204.9	1353.3	-851.6	-38.6
2D	951.18	581.0	-370.18	-38.9
2E	3539.4	1973.5	-1565.9	-44.2
3D	1358.2	877.4	-480.8	-35.4
6E	1586.3	1678.0	91.7	5.8
11D	1908.9	1290.5	-618.4	-32.4
13D	799.7	374.1	-425.6	-53.2
15D	1074.5	398.1	-676.4	-63.0
15E	897.4	529.1	-368.3	-41.0
Média ± SD	1591.2 ± 874.0	1006.1 ± 589.7	-585.1 ± 451.3	-37.0 ± 18.9

\* Os valores negativos significam perda volumétrica do material

Tabela 9. Volume ósseo enxertado nos seios maxilares após 15 dias (T1) e após 6 meses (T2) com as taxas de reabsorção do grupo 3.

Seio Maxilar	T1 (mm3)	T2 (mm3)	Diferença (mm3)*	Reabsorção (%)*
16D	367.7	280.3	-87.4	-23.8
17E	336.1	325.1	-11.0	-3.3
18D	1294.2	804.8	-489.4	-37.8
18E	1374.8	718.5	-656.3	-47.7
19E	1579.9	673.7	-906.2	-57.4
20D	1770.6	923.2	-847.4	-47.9
21D	1247.1	523.9	-723.2	-58.0
22D	1396.4	368.2	-1028.2	-73.6
23D	1103.1	507.1	-596.0	-54.0
23E	1115.1	626.3	-488.8	-43.8
24D	453.4	274.8	-178.6	-39.4
25E	816.1	313.7	-502.4	-61.6
Média ± SD	1071.2 ± 477.8	528.3 ± 221.2	-542.9 ± 321.7	-45.7 ± 18.5

\* Os valores negativos significam perda volumétrica do material

*Anexos*

## 11.0 - Anexos

### 11.1 - Anexo 1: Aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos

FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE  
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo prospectivo da reparação óssea no seio maxilar de humanos.

**Pesquisador:** Eduardo Hochuli Vieira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 47711015.4.0000.5420

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.285.562

##### Apresentação do Projeto:

A reabilitação de pacientes edêntulos em região posterior da maxila apresentou-se, por muito tempo, como um desafio aos cirurgiões dentistas. A deficiência óssea vertical proveniente da pneumatização do seio maxilar impossibilita a instalação de implantes dentais necessários para a reabilitação protética. Técnicas cirúrgicas para a elevação da membrana sinusal e biomateriais para enxertia óssea permitiram que essa deficiência pudesse ser reparada. Dentre os materiais utilizados para este fim destaca-se, até a atualidade, o enxerto ósseo autógeno. Considerado o mais previsível, é o padrão ouro nas reconstruções maxilofaciais. Dentre os substitutos ósseos podemos destacar o vidro bioativo, um material osteocondutor amplamente utilizado em defeitos ósseos como os periodontais, alvéolos pós exodontia e sinus lift desde a sua criação em 1969. Porém, ainda não há estudos relevantes a nível molecular e de reabsorção com este material. O objetivo deste estudo é avaliar o comportamento biológico do enxerto ósseo com vidro bioativo puro e misturado ao osso autógeno 1:1 em seios maxilares de humanos comparado com o enxerto ósseo autógeno puro. As análises a serem realizadas serão com o intuito de avaliar a neoformação

**Endereço:** JOSE BONIFACIO 1193

**Bairro:** VILA MENDONÇA

**CEP:** 16.015-050

**UF:** SP

**Município:** ARACATUBA

**Telefone:** (18)3636-3200

**Fax:** (18)3636-3332

**E-mail:** anaomsn@foa.unesp.br

FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE  
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 1.285.562

ossea a nível histomorfométrico e por micro tomografias computadorizada; o comportamento molecular por imunomarcações com RUNX2, VEGF, TRAP e Osteocalcina; e as alterações volumétricas 3D por meio de tomografias computadorizadas cone beam.

**Objetivo da Pesquisa:**

O trabalho proposto tem o intuito de procurar entender melhor o que ocorre com os enxertos autógenos associados a biomaterial a base de vidrobioativo e o mesmo usado isoladamente como substituto ósseo ao osso autógeno puro para o levantamento de assoalho de seio maxilar em humanos, uma vez que esta é uma intervenção de rotina na odontologia e poucos trabalhos relacionam o histológico com a micro tomografia, a imunistoquímica e os achados tomográficos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Risco Moderado

riscos decorrentes da cirurgia classificados como moderados, pois serão realizados procedimentos de nível ambulatorial e exames imaginológicos com finalidade de diagnóstico. Para tanto, todas as medidas preventivas durante os procedimentos serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo. Contudo, infecção do seio maxilar operado, sinusites, absorção do material enxertado decorrente ou não do procedimento cirúrgico e dos cuidados pós operatórios podem ocorrer. Caso aconteça, o pesquisador tomará todas as medidas necessárias para sanar os problemas e refazer todo o procedimento.

Benefícios:

Aumento da altura óssea maxilar posterior para reabilitação protética oral dos pacientes com implantes osseointegrados

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

projeto interessante e elaborado em fatos científicos

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

todos os protocolos forma apresentados adequadamente

FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE  
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 1.285.562

**Recomendações:**

não há

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

não há

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/04/2016.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_524065.pdf	20/09/2015 18:47:26		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	20/09/2015 18:46:29	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	20/09/2015 18:45:26	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
Folha de Rosto	Plataorma Brasil.pdf	23/07/2015 14:10:00		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

ARACATUBA, 19 de Outubro de 2015

Assinado por:  
André Pinheiro de Magalhães Bertoz  
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193  
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050  
UF: SP Município: ARACATUBA  
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

## 11.2 - Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da Pesquisa: “Estudo Prospectivo da reparação óssea no seio maxilar de humanos”

Nome do (a) Pesquisador (a): Rodrigo dos Santos Pereira

Nome do (a) Orientador (a): Eduardo Hochuli Vieira

1. **Natureza da pesquisa:** o(a) sr.(a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar comparativamente o processo de reparo do osso autógeno, osso autógeno misturado com Vidro bioativo na proporção de 1:1 e do Vidro bioativo isoladamente em seios maxilares de humanos.
2. **Participantes da pesquisa:** Serão realizados 30 reconstruções de seios maxilares em pacientes com pneumatização dos mesmos. Estes serão divididos em 3 grupos de 10 seios maxilares cada um. Em um grupo será realizado o enxerto de vidro bioativo, no outro será usado vidro bioativo com osso autógeno e por último, um grupo usando somente osso autógeno.
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o (a) pesquisador (a) realize cirurgia para aumento da altura óssea de seio maxilar com Vidro bioativo e/ou Vidro bioativo com osso autógeno ou somente osso autógeno. O(a) sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas tendo como riscos decorrentes da cirurgia classificados como moderados, pois serão realizados procedimentos de nível ambulatorial e exames imaginológicos com finalidade de diagnóstico.

Para tanto, todas as medidas preventivas durante os procedimentos serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo. Contudo, infecção do seio maxilar operado, sinusites, absorção do material enxertado decorrente ou não do procedimento cirúrgico e dos cuidados pós operatórios podem ocorrer. Caso aconteça, o pesquisador tomará todas as medidas necessárias para sanar os problemas e refazer todo o procedimento. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

5. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e seu (sua) orientador (a) (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.
6. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa o(a) sr.(a) terá nenhum benefício direto de obter a altura óssea necessária para a instalação dos implantes dentais. Entretanto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre a forma da reparação óssea do Vidro bioativo em reconstruções de seios maxilares, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa viabilizar uma alternativa para as reconstruções sinusais, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
7. **Pagamento:** o(a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

## Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

---

Nome do Participante da Pesquisa

---

Assinatura do Participante da Pesquisa

---

Assinatura do Pesquisador

---

Assinatura do Orientador

**Pesquisador: Rodrigo dos Santos Pereira Tel: (21) 96937-5841**

**Orientador: Eduardo Hochuli Vieira Tel: (16) 3301-6385.**

**Coordenador(a) do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. André Pinheiro de M. Bertoz**

**Vice-Coodenador(a): Prof. Dr. Aldiéres Alves Pesqueira**

**Telefone do Comitê: (18) 3636-3234**

**E-mail [cep@foa.unesp.br](mailto:cep@foa.unesp.br)**

### 11.3 - Anexo 3: Processamento histológico

Após o período de 48 horas de acondicionamento em formaldeído 10%, as biópsias foram lavadas em água corrente por 24 horas e então foi iniciada a descalcificação das mesmas por meio solução de EDTA 4,13% (Preparo da solução de EDTA: em um litro de tampão fosfato, pH 7,2, diluir os solutos EDTA (41,3 g) e NaOH (4,4 g). Foram colocadas individualmente em frascos plásticos com solução de EDTA e mantidos sob refrigeração a 4°C. A solução de EDTA foi trocada semanalmente durante todo o período de descalcificação (aproximadamente sete semanas) até que fosse identificada a descalcificação necessária. Esta identificação foi feita por método mecânico simples (penetração, sem resistência, de uma agulha anestésica odontológica na peça anatômica).

Em seguida, as peças descalcificadas passaram pelo processo de diafanização, realizado seguindo a seqüência de álcoois e xilol descrita a seguir: álcool 70% - 1 hora, álcool 80% - 1 hora, álcool 90% - 13 horas, álcool 95% - 1 hora, álcool 100% (primeira etapa) – 1 hora, álcool 100% (segunda etapa) – 1 hora, álcool 100% (terceira etapa) – 1 hora; álcool associado à xilol – 20 minutos; xilol (passo I) – 20 minutos, xilol (passo II) – 20 minutos, e na seqüência foram incluídas em parafina.

Os cortes foram feitos com uma espessura de 5µm com navalhas de aço 18 cm (Leica) e corados em hematoxilina e eosina seguindo metodologia descrita a seguir: Inicialmente foram dissolvidos a hematoxilina (5g) em 50ml de álcool absoluto e 100g de alúmen de potássio em um litro de água destilada quente. Ambas as soluções foram misturadas entre si e, posteriormente, acrescentou-se 2,5g de óxido vermelho de mercúrio até a

solução final obter coloração púrpura escura. Depois de preparada, a solução de hematoxilina 0,5% foi rapidamente resfriada e filtrada, estando, assim, própria para o uso. Para o preparo da eosina foi realizado o mesmo procedimento substituindo-se a hematoxilina por 10g de eosina, obtendo-se, ao final, uma solução de eosina a 1%. Para a coloração das lâminas com HE (hematoxilina e eosina) realizaram-se as seguintes etapas na seqüência de 1 a 20:

- 1- Xilol I por 10 minutos;
- 2- Xilol II por 10 minutos;
- 3- Álcool 100% I por 1 minuto;
- 4- Álcool 100% II por 1 minuto;
- 5- Álcool 100% III por 1 minuto;
- 6- Álcool 95% por 1 minuto;
- 7- Álcool 75% por 1 minuto;
- 8- Água corrente rapidamente;
- 9- Hematoxilina por cerca de 5 minutos;
- 10- Água corrente até clarear;
- 11- Eosina por cerca de 30 segundos;
- 12- Água corrente rapidamente;
- 13- Álcool 95% I rápido;
- 14- Álcool 95% II rápido;
- 15- Álcool 100% I por 30 segundos;
- 16- Álcool 100% II por 30 segundos;
- 17- Álcool 100% III por 30 segundos;
- 18- Xilol I por 5 minutos;

19- Xilol II por 5 minutos;

20- Montagem da lâmina (1 ou 2 gotas de bálsamo "Permout" sobre a lâmina e sobreposição da lamínula).

## 11.4 Anexo 4: Normas para Publicação no Periódico International Journal of Oral & 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](mailto:authorsupport@elsevier.com). Once a paper has been submitted, all subsequent correspondence between the Editorial Office ([ijoms@elsevier.com](mailto: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 organisations 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](mailto: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](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 Cohen<sup>14</sup> showed..."; "each technique has advantages and disadvantages<sup>5-13</sup>." 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 al<sup>37</sup> 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](http://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 selfpromotional 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.