

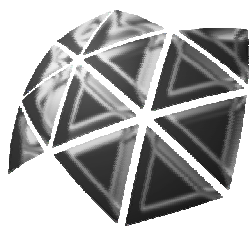
UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Sérgio Ricardo de Oliveira

*"Estudo da influência de corticóides no
processo inicial de Osseointegração de
implantes de titânio instalados em
maxilas de ratos".*

ARAÇATUBA/SP

2008



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Sérgio Ricardo de Oliveira

*"Estudo da influência de corticóides no processo
inicial de Osseointegração de implantes de
titânio instalados em maxilas de ratos".*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho",
Campus de Araçatuba, como requisito parcial para a
obtenção do título de "Doutor em Odontologia" – Área de
Concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Gouveia Garcia

Araçatuba/SP

2008

Dedicatória

A **DEUS**, pelo dom da vida e pela sua presença em todos os momentos de minha vida mostrando e guiando-me em todos os meus caminhos.

Aos meus queridos pais, **Jurandir e Gilda**, exemplos de humildade e superação, pelo amor, carinho, dedicação, incentivo, constante apoio, aprendizado de vida e esforço realizado para a minha educação.

Aos meus irmãos **Cláudio e Alessandra**, pelo imenso amor, companheirismo, incentivo e por todos os momentos que passamos juntos.

À minha querida namorada **Luciana**, pelo carinho e amor transmitido e demonstrado a cada novo dia de nossas vidas. Obrigado por ser esse "Anjo" que nosso Senhor me enviou.

Ao meu Orientador e Professor Dr. **Valdir Gouveia Garcia**, por sua orientação, competência, visão e confiança a mim depositada que, sem ao menos conhecer-me, sempre procurou me ajudar sem questionar o motivo. Indiscutivelmente, dedico este trabalho a você. Minha eterna gratidão.

Agradecimentos

Ao Professor **Álvaro Francisco Bosco**, pela amizade, companheirismo, agradável convívio e pelos valiosos ensinamentos transmitidos, minha eterna gratidão.

À Professora **Maria José Hitomi Nagata** – Docente e pesquisadora exemplar que sempre procurou transmitir seus conhecimentos. Meu muito obrigado pelos ensinamentos, carinho, apoio e amizade.

À **Faculdade de Odontologia de Aracatuba – UNESP**, pela oportunidade concedida, contribuindo para meu crescimento profissional.

Aos **Professores** da Faculdade de Odontologia de Aracatuba-UNESP, pelos ensinamentos durante todo o decorrer do curso.

À amiga e professora **Roberta Okamoto**, pesquisadora admirável. Meu muito obrigado pelos ensinamentos transmitidos e conselhos proporcionados ao longo desta jornada.

Ao meu grande mestre da Odontologia, **Dr. Odilon Ferreira Rezende**. Palavras não conseguem traduzir meus sentimentos de gratidão pelo Senhor. Agradeço a Deus por

Agradecimentos

cruzar nossos caminhos e rezo para que tudo isso perdure pela eternidade de nossas vidas. Muito Obrigado por tudo!!!!!!

Aos amigos, em especial, *Alex Semenoff Segundo e Thiago Marchi Martins*, pelos grandes momentos compartilhados e pela cumplicidade adquirida, pela confiança e amizade que tanto enriquecem minha vida.

Ao grande amigo *Roberto Sales e Pessoa (Baiano)*, companheiro de longa data e da nossa incansável jornada. Meus agradecimentos são pequenos diante de nossa amizade que se fortalece a cada obstáculo vencido.

Ao grande amigo *Sr. Antonio (técnico Fisiologia/UFU)*, incondicional companheiro e sempre disposto a nos ajudar, colaborar e nos enriquecer diariamente com sua experiência e seu modo de viver.

Aos funcionários do Departamento de Periodontia, em especial ao *Odair e Claudiomiro*, sempre dispostos a nos ensinar e ajudar quando precisamos, fazendo com que nosso ensino se tornasse mais divertido.

Agradecimentos

Às funcionárias da seção de Pós-graduação *Marina Midori Sakamoto Hawaço, Valéria Queiroz Marcondes Zagatto e Diogo Reatto*, pela convivência, competência, disponibilidade e paciência.

Aos demais pós-graduandos do Curso de Pós-graduação em Odontologia – Área Periodontia - *Danielle, Flávia, Juliano, Leandro, Luís Gustavo, Michel, Samara, Tatiana e Valmir* pelos momentos que passamos juntos e pelo aprendizado que compartilhamos.

A todos os funcionários e estimados amigos da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, *Ana Claudia Grieser Mangatti, Cláudio Hideo Matsumoto, Cláudio Marciel Júnior, Fernando Fukunishi, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini e Maria Cláudia de Castro Benez* pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

A todos os demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia da Araçatuba – UNESP, pela ajuda e atenção que me dispensaram durante esta jornada.

Agradecimentos

A empresa SIN – Sistema de Implante Nacional, na pessoa do Dr. Ariel Lenharo e Neide Pólos Plaza Lenharo, pelo incondicional apoio a essa pesquisa.

E a todos aqueles que, de alguma forma, passaram pela minha vida e colaboraram para o meu crescimento pessoal e profissional.

MEU MUITO OBRIGADO, HOJE E SEMPRE!!!!

Somente os fortes alcançam a vitória, porque os fracos logo se deixam vencer pelo desânimo..... Somente os fortes conquistam os altos cumes, porque sabem escalar a montanha passo a passo e lentamente vencer os percalços Toda subida exige esforços, perseverança e coragem. Aqueles que temem os desafios ou que já antecipam o fracasso são vencidos pelo descrédito em si mesmos e serão, na certa, derrotados..... Pois, antes de tudo, é a força interior que nos faz capazes de vencer!!!

Autor desconhecido

Resumo

As modalidades terapêuticas que envolvem implantes dentais têm se expandido gradativamente, sendo implantados em uma variedade de estruturas ósseas. Dessa forma, o propósito do presente trabalho foi estudar a influência de corticóides no processo inicial de osseointegração de implantes de titânio instalados em maxilas de ratos. Foram utilizados implantes de titânio c.p., grau II, cônico de 1,4mm de diâmetro e 2,7mm de comprimento, com superfície tratada. Trinta e oito ratos wistar tiveram seus primeiros molares superiores esquerdo e direito extraídos. Após 30 dias de reparo alveolar, dois animais foram sacrificados para confirmar o fim desse processo. Os demais animais tiveram os implantes instalados bilateralmente e foram divididos randomicamente em três grupos: Controle (Ctr/n=12) que não receberam nenhum tipo de tratamento; Placebo (Pl/n=12) e Tratado (Tra/n=12), que receberam injeções diárias de 1 ml de solução salina e corticosterona na dosagem de 5mg/kg, respectivamente. Trinta dias após a implantação, todos os animais foram eutanasiados e tiveram a concentração plasmática do corticóide mensurada: Ctr ($101,31 \pm 26,7$ ng/ml), Pla ($95,22 \pm 25,36$ ng/ml) e Tra ($281,37 \pm 64,72$ ng/ml); e o contato osso-implante determinado: Ctr (96,67%), Pla (82,22%) e Tra (15,73%), nos quais o grupo Tra apresentou-se estatisticamente diferente dos demais grupos ($p < 0,05$). Assim, diante da metodologia empregada, foram evidenciadas menor formação óssea e conseqüente redução da área de tecido ósseo neo-formado na interface osso-implante.

Unitermos: 1.Implantes Dentários; 2.Osseointegração; 3.Corticosterona; 4.Glicocorticóides.

Abstract

The therapeutic modalities which involves dental implants has been gradually expanded, being implanted in a variety of bone structures. In this way, the aim of the present work was to study the corticoid influence at the initial process of bone integration of titanium implants installed in rat jaws. It were used titanium implants c.p.; grade II, conic with 1,4mm diameter and 2,7mm length, with treated surface. Thirty eight wistar rats had their first upper left and right molars extracted. After 30 days of alveolar repair, two animals were sacrificed to confirm the end of this process. The others had their implants installed bilaterally and they were splited randomly in three groups: Control (Ctr/n=12) which did not receive any kind of treatment; Placebo (Pla/n=12) and Treated (Tre/n=12) which received 1ml daily shots of salt solution and corticosterone at a dosage of 5mg/Kg, respectively. Thirty days after the implantation, all the animals were euthanasiated and the plasmatic concentration of corticoid was measured: Ctr ($101,31 \pm 26,7$ ng/ml), Pla ($95,22 \pm 25,36$ ng/ml) and Tre ($281,37 \pm 64,72$ ng/ml); and the bone implant contact was determined: Ctr (96,67%), Pla (82,22%) and Tre (15,73%), in which the Tre group presented statistically different from the other groups ($p < 0,05$). Thus, front the employed methodology it was shown lesser bone formation and consequent reduction of the bone tissue area neo-formed at bone-implant interface

Keywords: 1.Dental Implants; 2.Osseointegration; 3.Corticosterone; 4.Glucocorticoid; 5.Bone repair.

Lista de Figuras

Manuscrito para Publicação

- Fig. 1. Características dos mini-implantes. A. Dimensões longitudinais; 53
B. Dimensões transversais; C. visão geral através do MEV (50x).
- Fig. 2. Caracterização dos mini-implantes através do MEV. A. 54
Superfície maquinada e tratada com distinção entre a crista e o sulco das roscas (200x); B. Superfície do pico da rosca micro-texturizada resultante do duplo ataque ácido (500x). C. Superfície micro-texturizada do vale uniformemente condicionado (500x).
- Fig. 3. Caracterização dos mini-implantes pela interferometria a laser. 55
A. Imagem bruta (composta pela ondulação da forma e a rugosidade da superfície); B. Ondulação; C. rugosidade.
- Fig. 4. Fotomicrografias do reparo do alvéolo de extração dental do 56
primeiro molar superior decorrido o período de 30 dias. Cortes longitudinais: A. Visão geral da porção anterior a raiz mesial do segundo molar (62,5x); B. Aumento 100x; C. Aumento 160x. Cortes transversais: D. Neoformação óssea próxima às raízes do segundo molar (62,5x); E. Neoformação óssea mais distante às raízes do segundo molar (62,5x). Coloração H.E.
- Fig. 5. Técnica de implantação utilizada no presente estudo. A. 57
Cavidade bucal com todos os molares presentes; B. Aspecto clínico 30 dias após exodontia do primeiro molar direito e

esquerdo (notar presença apenas de segundo e terceiro molares de cada lado); C. Ostectomia; D. Instalação manual do mini-implante; E. Mini-implantes instalados.

Fig. 6.	Fotomicrografias ilustrando a interface osso-implante em tecido não-descalcificado no (a) grupo Controle, (b) grupo Placebo e (c) grupo Tratado (Coloração Azul de Steven's associada a Alizarina vermelha; magnificação 62,5x); (* área de osso neoformado).	58
Fig. 6A.	Fotomicrografia do grupo Controle em maior aumento (100x).	59
Fig. 6B.	Fotomicrografia do grupo Placebo em maior aumento (100x).	59
Fig. 6C.	Fotomicrografia do grupo Tratado em maior aumento (100x).	60
Fig. 7.	Fotomicrografias ilustrando o reparo ósseo próximo ao alvéolo do implante em tecido descalcificado no (a) grupo Controle, (b) grupo Placebo (c) grupo Tratado (Coloração Hematoxilina e Eosina; magnificação 50x).	61

Lista de Tabelas

Manuscrito para Publicação

Tabela 1	Valores numéricos dos parâmetros de rugosidade analisados: Sa (Rugosidade Média), Sq (Rugosidade Média Quadrática), Ssk (Skewness), Sku (Kurtosis) e Svk (Altura Reduzida dos Vales).	63
Tabela 2	Valores médios $\pm$ Desvio Padrão dos comprimentos totais dos implantes e aqueles em contato com o tecido ósseo (mm).	63
Tabela 3	Percentual da área de contato entre osso-implante dos grupos estudados: Ctr (96,67%); Pla (82,22%); Tra (15,73%).	63

Lista de Gráfico

Manuscrito para Publicação

Gráfico 1 - Variação da concentração plasmática da corticosterona no período de 24h. Valores são médias do período de sacrifício (n=2/grupo/período).	65
---	----

Lista de Abreviaturas

c.p.	comercialmente puro
Ctr	Grupo Controle
Pla	Grupo Placebo
Tra	Grupo Tratado
mm	Milímetro
Fig	Figura
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Kv	Kilovolts
Sa	Rugosidade média
Sq	Rugosidade media quadratic
Ssk	Skewness
Sku	Kurtosis
Svk	Altura reduzida dos vales
h	Hora
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
ml/kg	mililitro/kilograma
µm	Micrometro
HE	Hematoxilina e eosina
Rpm	rotações por minute
ml	Mililitro
%	Porcentagem
mg/kg	miligrama/kilograma
Graf	Gráfico
s	Segundo
g	Força gravitacional
°C	Graus Celsius
ng/ml	nanograma/mililitro
NDesc	Sem descalcificação
Desc	Descalcificação
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético

Lista de Abreviaturas

CT	Comprimento Total
CC	Comprimento em Contato
HPA	Hipotálamo Pituitário Adrenal

Lista de Anexos

Manuscrito para Publicação

Anexo A -	Revisão de Literatura*	67
Anexo B -	Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA)	75
Anexo C -	Normas de publicação da Revista Journal of Periodontology. Instructions to Authors.	76

Sumário

MANUSCRITO PARA PUBLICAÇÃO	25
RESUMO.....	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
Preparação dos implantes experimentais	30
Características da topografia superficial dos implantes experimentais	30
Animais	32
Procedimento Cirúrgico.....	32
Instalação dos implantes experimentais	33
Eventos clínicos	34
Grupos Experimentais.....	34
Administração da corticosterona e da solução salina.....	35
Variação circadiana da corticosterona no plasma basal	35
Processamento Laboratorial.....	36
Análise Histológica	37
Análise Histométrica.....	37
Análise Estatística	38
RESULTADOS	39
Caracterização superficial dos implantes experimentais	39
Reparo alveolar	39
Variação circadiana da corticosterona	40
Análise Histológica	40
Análise Histométrica.....	41
DISCUSSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
FIGURAS	52
TABELAS	62
GRÁFICOS.....	64
ANEXOS	66

Manuscríto para publicação*

* Normalização segundo a Revista Journal of Periodontology

Estudo da influência de corticóides no processo inicial de Osseointegração de implantes de titânio instalados em maxilas de ratos.

Sérgio Ricardo de Oliveira, Cirurgião-Dentista, Mestre

Valdir Gouveia Garcia, Cirurgião-Dentista, Doutor*

* Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Brasil.

Autor Responsável pela correspondência:

Sérgio Ricardo de Oliveira

Av Nicomedes Alves dos Santos, 249.

CEP: 38400-170

Uberlândia, MG, Brasil

Telefone: (34) 3214-1118

e-mail: sr@netsite.com.br

Resumo

As modalidades terapêuticas que envolvem implantes dentais têm se expandido gradativamente, sendo implantados em uma variedade de estruturas ósseas. Dessa forma, o propósito do presente trabalho foi estudar a influência de corticóides no processo inicial de osseointegração de implantes de titânio instalados em maxilas de ratos. Foram utilizados implantes de titânio c.p., grau II, cônico de 1,4mm de diâmetro e 2,7mm de comprimento, com superfície tratada. Trinta e oito ratos wistar tiveram seus primeiros molares superiores esquerdo e direito extraídos. Após 30 dias de reparo alveolar, dois animais foram sacrificados para confirmar o fim desse processo. Os demais animais tiveram os implantes instalados bilateralmente e foram divididos randomicamente em três grupos: Controle (Ctr/n=12) que não receberam nenhum tipo de tratamento; Placebo (Pl/n=12) e Tratado (Tra/n=12), que receberam injeções diárias de 1 ml de solução salina e corticosterona na dosagem de 5mg/kg, respectivamente. Trinta dias após a implantação, todos os animais foram eutanasiados e tiveram a concentração plasmática do corticóide mensurada: Ctr ($101,31 \pm 26,7$ ng/ml), Pla ($95,22 \pm 25,36$ ng/ml) e Tra ($281,37 \pm 64,72$ ng/ml); e o contato osso-implante determinado: Ctr (96,67%), Pla (82,22%) e Tra (15,73%), nos quais o grupo Tra apresentou-se estatisticamente diferente dos demais grupos ($p < 0,05$). Assim, diante da metodologia empregada, foram evidenciadas menor formação óssea e conseqüente redução da área de tecido ósseo neo-formado na interface osso-implante.

Unitermos: 1.Implantes Dentários; 2.Osseointegração; 3.Corticosterona; 4.Glicocorticóides.

Introdução

A partir do pioneiro trabalho de implantes osseointegrados de Brånemark et al.¹, têm sido apresentados na literatura inúmeros protocolos de tratamentos, baseados em elevado índice de sucesso e aceitos tanto para pacientes parciais quanto totalmente edêntulos²⁻⁵.

A utilização desta modalidade terapêutica tem se expandido gradativamente, sendo implantes instalados em uma variedade de estruturas ósseas comprometidas bioquímica e biomecanicamente, como sítios maxilares e mandibulares atróficos e em pacientes portadores de manifestações orais de doenças sistêmicas. Condições como a diabetes *mellitus*, tabaco, xerostomia, pacientes submetidos a radioterapia para tratamento oncológico e alterações sistêmicas advindas do uso prolongado de esteróides têm sido sugeridas como potenciais contra-indicações absolutas⁶ ou relativas⁷ para as indicações dos implantes dentais.

Os corticosteróides são hormônios secretados pelo córtex adrenal e são divididos em três grupos: mineralocorticóides, adrenocorticóides e glicocorticóides. Os mineralocorticóides relacionam-se ao controle da água e do metabolismo eletrolítico; os adrenocorticóides são hormônios sexuais primariamente masculinizantes e o mais importante em termos de terapia são os glicocorticóides⁸.

Essas substâncias, quando ingeridas em doses excessivas e/ou por tempo prolongado, provocam efeitos colaterais de forma a influenciar tanto os fenômenos iniciais do processo inflamatório (edema, deposição de fibrina, dilatação capilar, migração leucocitária e da fagocitose) quanto os tardios (retardo da proliferação capilar e dos fibroblastos, deposição de colágeno e a cicatrização)⁹, além de inibir a quimiotaxia dos macrófagos no foco da inflamação^{10,11}.

O uso crônico destas substâncias gera conseqüências diversas que são relatadas na literatura, como os casos de osteopenia¹²⁻¹⁴. Esta condição, em geral, é o resultado da alteração da capacidade de remodelação óssea e se caracteriza por uma diminuição da formação óssea, enquanto a capacidade de reabsorção do organismo permanece relativamente constante. Este quadro clínico, freqüentemente, manifesta-se na população feminina e geriátrica como osteoporose, e está amplamente documentado na corrente literatura¹⁵⁻¹⁷.

Por outro lado, estudos revelam em variados modelos experimentais que o uso de corticóide é capaz de melhorar a diferenciação celular osteogênica de células do estroma do osso medular¹⁸⁻²⁰, sugerindo que estas drogas podem estimular a formação óssea em processos de reparo. Outras pesquisas, no entanto, comprovam que o uso prolongado do corticóide pode promover retardo na reparação periodontal induzida em ratos²¹ e na cicatrização de feridas cutâneas^{22,23}.

As evidências científicas mostram-se escassas em trabalhos que reportaram o uso de implantes dentais em pacientes que utilizaram cronicamente os corticosteróides. Dentre os estudos, alguns demonstraram a perda da osseointegração do implante em pacientes que utilizaram corticosteróides por longo período^{24,25}. Tais resultados mostram-se insuficientes para avaliar o verdadeiro efeito do uso crônico de corticosteróides sobre o metabolismo ósseo maxilo-mandibular e em implantações ortopédicas e dentais. Assim, é importante avaliar a ação dos esteróides sobre os eventos biológicos da osseointegração de implantes dentais.

Dessa forma, constituiu propósito do presente trabalho estudar a influência de corticóides no processo inicial de osseointegração de implantes de titânio instalados em maxilas de ratos.

Materiais e Métodos

Preparação dos implantes experimentais

Após estudo prévio da anatomia do osso maxilar do rato, foram definidas as características do implante experimental utilizado no presente estudo: titânio comercialmente puro grau II, de formato cônico, tipo parafuso e diâmetro de 1,40 mm. A porção coronária possui formato cilíndrico de 1,0 mm de extensão enquanto que o corpo possui 1,7 mm, totalizando 2,7 mm de comprimento (Fig. 1). Todos os implantes tiveram suas superfícies condicionadas com a associação de ácido nítrico e sulfúrico sob agitação ultra-sônica e calor, sendo posteriormente acondicionados e esterilizados de acordo com o protocolo utilizado pelo fabricante (Sin®, São Paulo, Brasil). A efetividade deste processo foi comprovada em estudo recente, o qual evidenciou que, independente da rugosidade apresentada pelas superfícies dos implantes, não foi observada a presença de microrganismos²⁶.

Características da topografia superficial dos implantes experimentais

Baseado no conceito de que toda e qualquer superfície, por mais perfeita que seja, apresenta irregularidades²⁷, o presente trabalho buscou uma completa caracterização dos implantes experimentais utilizados. Primeiramente, foi realizada Microscopia Eletrônica de Varredura* (MEV) com 20 Kv de aceleração de elétrons secundários (Fig. 2).

* LEO, modelo 940A.

Em seguida, buscou-se caracterizar estas superfícies através da interferometria a laser*.

Esta metodologia, já avaliada e comprovada sua efetividade em estudo prévio, consiste na utilização de um interferômetro analisador que realiza o escaneamento de toda superfície, através da emissão de um feixe de laser sobre a área a ser estudada²⁸. Os dados obtidos foram, em seguida, processados por um software** para a análise qualitativa e quantitativa da superfície (Fig. 3). Nesta última, a descrição numérica foi realizada através dos seguintes parâmetros de rugosidade:

- *Sa (rugosidade média)* – média aritmética dos valores absolutos do perfil;
- *Sq (rugosidade média quadrática)* – representa o desvio padrão das alturas de picos e vales de toda a área analisada;
- *Ssk (Skewness)* – representa a simetria apresentada por um perfil sobre a linha média;
- *Sku (Kurtosis)* – relaciona-se com a forma de distribuição da amplitude;
- *Svk (altura reduzida dos vales)* – em mecânica, associa-se à capacidade de retenção de óleo na superfície.

* UBM, Microfocus expert IV, Messtechnik GmbH, Ettlingen, Germany.

** Digital Surf Mountains Map Universal[®], Versão 3.1.9, France.

Animais

Para a realização do experimento, 38 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, com peso médio de 200 gramas provenientes do biotério central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, foram selecionados. Estes mostravam-se clinicamente saudáveis e permaneceram em caixas plásticas com no máximo 4 animais cada, separados de acordo com o grupo experimental.

Para aclimatizarem ao laboratório, os animais foram mantidos em sala com temperatura controlada, alimentados com ração balanceada* e água *ad libitum* durante o experimento, sendo submetidos a um regime de 12 horas de luz (07:00-19:00 h) e 12 horas de escuro (19:00-07:00 h); e, por cinco dias que antecederam o início do experimento, os animais não foram manuseados. O protocolo experimental do presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista – UNESP (protocolo nº 76/05).

Procedimento Cirúrgico

Todos os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção intramuscular de cloridrato de quetamina** (0,4ml/Kg) associado ao cloridrato de xilazina*** (0,2ml/Kg).

* Ração ativada Produtor, Moinho Primor S/A - Brasil.

** Vetaset – Fort Dodge®, Campinas, SP, Brasil.

*** Coopazine – Coopers São Paulo – Brasil.

Após a anti-sepsia da cavidade bucal, foi realizada a exodontia dos primeiros molares superiores do lado direito e esquerdo de cada animal. Após 30 dias, 2 animais foram sacrificados por super-dosagem anestésica. As peças obtidas sofreram o trâmite laboratorial de rotina, incluídas em parafina. Cortes semi-seriados de 6 µm de espessura foram obtidos no plano longitudinal (sentido mésio-distal) e transversal do alvéolo dental, os quais foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina (H.E.) com o objetivo de confirmar o completo processo de reparo alveolar (Fig. 4).

Instalação dos implantes experimentais

Os 36 animais restantes, após a anestesia geral, foram submetidos à cirurgia para instalação dos implantes experimentais na região dos primeiros molares superiores extraídos previamente. Após anti-sepsia, foi iniciado o preparo do sítio receptor através da ostectomia realizada com brocas helicoidais de 1,0 mm de diâmetro por 3,0 mm de comprimento, montada em motor elétrico cirúrgico* e contra-ângulo redutor de 16:1**, com velocidade não superior a 2000 rpm e sob irrigação externa intensa, com solução salina estéril.

A seguir, foi realizada a instalação dos implantes experimentais, de forma manual (Fig. 5). Imediatamente após, foram administradas, por injeção intramuscular, 20.000 unidades de Penicilina G-benzatina***.

* BL 600 plus, VK Driller, São Paulo, Brasil.

** Kavo, São Paulo, Brasil.

*** Pentabiótico Veterinário, Pequeno Porte, Fort Dodge®, Campinas, SP, Brasil.

Eventos Clínicos

Durante os procedimentos cirúrgicos de exodontias, todas as raízes dos primeiros molares superiores foram conferidas. Quando verificado a fratura de uma ou mais raízes, o animal era substituído.

Decorrido o processo de reparo, deu-se início a instalação dos implantes experimentais. Neste procedimento, foi estabelecido como sucesso quando da obtenção da estabilidade primária, avaliada manualmente. Mesmo com todo esse cuidado, 8 implantes foram perdidos, os quais foram substituídos por outros animais implantados.

Grupos Experimentais

Logo após o procedimento de instalação dos implantes experimentais, os animais foram distribuídos randomicamente em três grupos:

- ❑ Grupo Controle (Ctr) (n=12): os animais não receberam nenhum tipo de tratamento, sendo submetidos apenas ao procedimento cirúrgico de instalação dos mini-implantes.

- ❑ Grupo Placebo (Pla) (n=12): os animais receberam injeções diárias em única aplicação^{29,30} de 1 ml de solução salina a 0,9%³¹.

- ❑ Grupo Tratado (Tra) (n=12): os animais receberam injeções diárias em única aplicação^{29,30} de 1ml de corticosterona* na dosagem de 5mg/kg³¹.

* Corticosterone C2505, Sigma Chemical, St Louis, Germany.

Administração da corticosterona e da solução salina

Os animais dos grupos Pla e Tra receberam injeções diárias, aplicadas por via intramuscular e no mesmo horário (08:00 h)^{29,32}. As injeções, tanto as de solução salina quanto as de corticosterona, foram iniciadas imediatamente após a colocação dos implantes e mantidas até o término do período experimental.

Variação circadiana da corticosterona no plasma basal

Todos os animais foram submetidos à análise da variação da concentração plasmática da corticosterona. Para isso, foi realizado um sacrifício seriado durante as 24 horas finais do período experimental de 30 dias.

Desta forma, dois animais de cada grupo foram sacrificados a cada 4 horas, iniciando a partir da última dose injetável, ou seja, os primeiros animais foram sacrificados às 12:00 h e assim sucessivamente (Graf. 1).

Para a coleta das amostras sangüíneas, os animais foram sacrificados por decapitação, de forma que todo o procedimento foi realizado no intervalo máximo de 30s entre o contato manual com a caixa e a coleta do material^{29,30}.

Um total de 5ml de sangue foi coletado em tubos de ensaio plásticos e centrifugados a 1800 x g por 15 minutos a 4°C, e armazenado a -20°C até sua análise³³. A concentração da corticosterona total foi medida diretamente no plasma por quimiluminescência, cujo limite de detecção foi de $1,8 \pm 1\text{ng/ml}$, assemelhando-se ao limite encontrado por outros pesquisadores, quando utilizaram a técnica de radioimunoensaio³⁰.

Processamento Laboratorial

Aos 30 dias após a implantação, procedeu-se o sacrifício dos animais e as maxilas contendo os implantes foram removidas em blocos e fixadas em formol neutro a 10% por 48 horas, e lavadas, posteriormente, em água corrente por 24 horas.

As hemi-maxilas direitas foram submetidas ao processamento sem descalcificação (NDesc). As peças foram desidratadas por meio da imersão em seqüência crescente de álcoois. Posteriormente procedeu-se um banho em acetona por 6 horas, seguida de três banhos de metilmetacrilato, sendo que o terceiro banho foi realizado em tubos de ensaio para inclusão da peça, nos quais foi acrescentado um catalisador (Peróxido de Benzoíla a 1%)³⁴.

O processamento de corte e desgaste das peças foi realizado de acordo com o protocolo proposto por Donath & Breuner³⁵: cada espécime, contendo um implante, foi cortado ao meio no sentido mésio-distal, gerando duas partes. Estas foram desgastadas até atingir uma espessura aproximada de 50 µm e, em seguida, coradas com alizarina vermelha associada a azul de Steven's.

Já as hemi-maxilas esquerdas, após fixação e lavagem em água corrente, foram submetidas ao processo de descalcificação (Desc) em solução de EDTA a 16% por um período de 08 semanas, com trocas semanais. Estando as peças suficientemente descalcificadas, os implantes foram removidos mecanicamente de suas cavidades por torque reverso³⁶⁻³⁸. A seguir, as peças foram lavadas e desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina, com a face palatina paralela ao plano de corte. Assim, cortes semi-seriados de 6 µm foram realizados no sentido longitudinal e corados pela técnica de hematoxilina e eosina.

Ao fim do processamento laboratorial, todas as lâminas foram capturadas por um programa analisador de imagens*.

Análise Histológica

A análise histológica consistiu na descrição dos eventos biológicos do osso alveolar, avaliando principalmente, em toda a extensão do implante, a quantidade e a qualidade do osso em íntimo contato com a superfície do implante.

Análise Histométrica

A análise histométrica foi realizada nas lâminas obtidas do processamento não-descalcificado, devido estes cortes terem apresentado uma regularidade de suas estruturas. Para a obtenção dos dados, foi adotado como Comprimento Total (CT), expressa em mm, a região das roscas visíveis do implante na lâmina analisada, ao passo que a Área de Contato (AC), também em mm, expressava a área total que continha tecido ósseo justaposto à mesma. Como cada implante presente na lâmina era uma unidade, as leituras foram realizadas nos dois lados do implante, de forma que sua média foi considerada como valor representativo da unidade.

* Imagelab 2000.

Análise Estatística

Todos os dados obtidos foram analisados no programa de estatística*. Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade Anderson-Darling com ($\alpha=0,05$), para verificação da homogeneidade de distribuição. Quando estes dados apresentavam uma distribuição homogênea e normal, testes paramétricos foram aplicados com segurança.

Em contrapartida, caso os dados apresentassem uma distribuição heterogênea e não normal, deu-se preferência à aplicação da função logarítmica aos respectivos dados e, então, submetê-los a um novo teste de normalidade. Feito isso, os dados passaram a representar uma distribuição normal e homogênea, o que permitiu a aplicação dos testes paramétricos.

Primeiramente foi aplicada a análise de variância (ANOVA com $\alpha=0,05$) para identificação de possíveis diferenças. Quando estas estavam presentes, utilizou-se o teste Tukey com intervalo de confiança de 95%, o que, na prática, significa dizer que a probabilidade de se cometer um erro estatístico tipo I (rejeitar a hipótese de nulidade erradamente) é de 5%. Caso a análise de variância não acusasse significância, não foi aplicado nenhum teste auxiliar.

* Minitab, Minitab Inc., USA.

Resultados

Caracterização superficial dos implantes experimentais

As micrografias eletrônicas fornecidas pelo MEV são caracterizadas por sulcos padrões que demonstram linhas regulares correspondentes a um perfil de usinagem. O tratamento químico utilizado proporcionou a obtenção de uma superfície micro-texturizada, que em maior aumento, apresentou uma superfície irregular e rugosa, repleta de picos, vales e cavidades de diâmetro variado (Fig. 2).

O processamento dos dados obtidos pelo escaneamento permitiu uma análise qualitativa da topografia superficial dos implantes através de imagens tridimensionais, inicialmente compostas pela ondulação e pela rugosidade (Fig. 3a). Quando esta foi submetida a um filtro gaussiano, separou-se de forma individual a ondulação (Fig. 3b) e a rugosidade (Fig. 3c). A análise quantitativa está apresentada na tabela 1.

Reparo alveolar

A análise dos eventos histológicos do reparo tecidual, após 30 dias, demonstrou o alvéolo completamente preenchido com um novo tecido ósseo, de difícil distinção daquele já existente (Fig 4). Recobrimdo toda extensão da nova crista óssea, observa-se a presença de um tecido conjuntivo revestido por um epitélio coberto com uma fina camada de queratina (Fig. 4a). Diante destes resultados, este intervalo de tempo foi adotado como ideal para a implantação dos implantes experimentais nos animais restantes.

Variação circadiana da corticosterona

A variação da concentração plasmática da corticosterona pode ser visualizada no gráfico 1. Os valores médios obtidos foram: Ctr ($101,31 \pm 26,7$ ng/ml), Pla ($95,22 \pm 25,36$ ng/ml) e Tra ($281,37 \pm 64,72$ ng/ml). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA com $\alpha=0,05$) que identificaram diferenças entre os grupos. Assim, procedeu-se à aplicação do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%, o qual identificou semelhanças entre os grupos Ctr e Pla, sendo estes diferentes estatisticamente do grupo Tra ($p=0,001$).

Análise Histológica

Diante da análise dos histológicos nos tecidos não descalcificados, observou-se que os grupos Ctr e Pla apresentaram uma extensa área de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante, com formação de novo tecido ósseo próximo à superfície do titânio (áreas marcadas com * na fig. 6a e 6b). Em contrapartida, no grupo Tra foi verificada, de forma generalizada, uma reduzida extensão da área deste contato, com presença de lacunas entre estas estruturas. Ainda neste grupo (Tra), observou-se que, na porção medular, o tecido ósseo adjacente ao implante apresentava espaços medulares mais volumosos e, em maior número quando comparados aos demais grupos (Fig. 6).

As observações histológicas dos tecidos descalcificados também demonstraram uma extensa área de neoformação óssea ao longo de toda a extensão da cavidade dos implantes nos grupos Ctr e Pla (Fig. 7). Já o grupo Tra foi caracterizado por um tecido ósseo medular repleto de espaços medulares, além de

áreas adjacentes à cavidade dos implantes preenchidas por tecido fibroso, com aspecto semelhante ao processo de “fibro-osseointegração”³⁹.

Análise Histométrica

Os valores obtidos correspondentes ao comprimento total (CT) e o comprimento em contato (CC) dos grupos estudados estão descritos na tabela 2. Quando representada a relação percentual de contato do comprimento total, obtiveram-se os seguintes valores: Ctr (96,67%), Pla (82,22%) e Tra (15,73%). Estes dados, quando submetidos a ANOVA seguido da aplicação do teste de Tukey ($P>0,05$), demonstraram que apenas o grupo Tra apresentou valores diferentes e estatisticamente significantes comparado aos grupos Ctr e Pla (Tab. 3), com menor área de contato osso-implante ($p=0,00$).

Discussão

O presente estudo investigou a influência da administração da corticosterona em ratos imediatamente após o procedimento cirúrgico de instalação de implantes experimentais em áreas de completo reparo alveolar⁴¹⁻⁴⁴. Os resultados demonstraram implantes osseointegrados com características alteradas desse processo, principalmente na qualidade e quantidade do tecido ósseo neo-formado. Os dados histométricos e histológicos demonstraram que o uso de corticosteróide influenciou no contato osso-implante, sendo caracterizado pela menor formação óssea e conseqüentemente menor extensão de tecido ósseo neo-formado na área da interface osso-implante.

Neste trabalho ficou evidente que os animais que receberam a corticosterona demonstraram elevada concentração da droga no período avaliado, principalmente quando comparados aos demais grupos (Ctr e Pla). Este fato, provavelmente, influenciou a redução da área de contato da interface osso-implante observado no grupo Tra. Estes resultados são fortalecidos por outros pesquisadores que atestam que a corticosterona é capaz de inibir a replicação e diferenciação de osteoblastos⁴⁴ promovendo uma redução da atividade principal dessas células, além de manter a função osteoclástica, o que gera maior reabsorção óssea, fato caracterizado no presente estudo pela menor formação óssea dos animais no grupo tratado (Tra).

Alder et al.⁴⁵ relataram que, quando ocorre um estímulo cerebral (químico, físico ou emocional), existirá, conseqüentemente, a ativação do eixo Hipotálamo Pituitário Adrenal (HPA). Tal fato resultará na propagação de impulsos elétricos e químicos capazes de induzir respostas biológicas do organismo. Após uma série de

eventos fisiológicos e bioquímicos, estas reações são capazes de alcançar as glândulas adrenais e interferir na secreção endógena do glicocorticóide.

Neste estudo, os animais do grupo controle (Ctr) foram submetidos apenas aos procedimentos cirúrgicos. Analisando a extensa área de contato da interface osso-implante, observada nestes animais ($13,13 \pm 2,72$) e nos que receberam injeções diárias de solução salina (Pla / $7,17 \pm 2,51$), ficou evidente que o nível do stress a que os animais foram submetidos, decorrente do manuseio cirúrgico da área, aliado ou não ao das injeções diárias, não foram suficientes para induzir uma produção, em níveis elevados, do corticóide endógeno capaz de interferir no metabolismo de formação-reabsorção óssea. Estas considerações são fortalecidas na análise estatística dos resultados obtidos que demonstraram não haver diferenças estatisticamente significantes ($P > 0,05$) entre os grupos Ctr e Pla.

Por outro lado, o uso do corticóide (grupo Tra) promoveu redução significativa da área de contato osso-implante ($1,79 \pm 1,46$). Do ponto de vista histológico, os resultados demonstraram reduzida neoformação óssea, principalmente na área próxima a interface osso-implante. Tal fato confirma os resultados de outros estudos histológicos os quais relatam que o corticosteróide promove alterações na morfologia e na arquitetura do tecido ósseo^{15,32,44,46,47}. Estes achados estão em concordância também com os de Keller et al.³² que demonstraram uma interface osso-implante do grupo controle melhor estabelecida, se comparada aos grupos experimentais, tratados com corticóides. De forma contrária, há relatos na literatura, como o de Werner et al.⁴⁸, que avaliaram o efeito de baixas doses de dexametasona sobre o processo de osseointegração de implantes laminares. Estes autores encontraram maior neoformação de tecido ósseo no grupo tratado com corticóide quando comparado ao controle, com diferença estatisticamente significante. Estas

discordâncias podem ser explicadas através dos resultados de Wong *et al*¹⁹, os quais evidenciaram que baixas doses de glicocorticóides podem promover a neoformação óssea com inibição de osteoclastos; e, em altas doses, ocorrerá o inverso.

Investigações científicas demonstram que os efeitos dos corticosteróides parecem variar de acordo com a dose da droga (fisiológica ou farmacológica), o tempo de exposição do hospedeiro à droga e o particular sistema de investigação^{14,49-52}.

Apesar das controvérsias frente aos diferentes resultados apresentados, a viabilidade da osseointegração em tecido ósseo alterado metabolicamente é sugerida. No entanto, em função de sua capacidade regenerativa diminuída, períodos de cicatrização maiores parecem ser indicados para obter uma adequada osseointegração^{53,54}.

Futuras pesquisas são necessárias para dirimir questionamentos da condição clínica do uso dos implantes dentais em tecidos ósseos alterados metabolicamente, principalmente em pacientes imunossuprimidos.

Referências Bibliográficas

1. Brånemark PI, Hanson OB, Adell R, Breine U, Lindström J, Halém O, Ohaman A. Osseointegrated implants: In the Treatment of the Edentulous Jaw. Experience from a 10-years period. Scand J Plast Reconstr Surg Suppl 1977;16:1-132.
2. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark P-I. A 15-years study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Int J Oral Surg 1981;10:387-416.
3. Jemt T, Lekholm U. Oral implant treatment in posterior partially edentulous jaws: A 5-years follow up report. Int J Oral Maxillofac Implants 1993;8:635-640.
4. Lekholm U, van Steenberghe D, Herrmann I, Bolender C, Folmer T, Gunne J et al. Osseointegrated implants in the treatment of partially edentulous jaws: A prospective 5-years multicenter study. Int J Oral Maxillofac Implants 1994;9:627-635.
5. Laney WR, Jemt T, Harris D, Henry PJ, Krogh PHJ, Polizzi G et al. Osseointegrated implants for single-tooth replacement: progress report from a multicenter prospective study after 3 years. Int J Oral Maxillofac Implants 1994;9:49-54.
6. Beumer J, Landesman H, Terry BC, Davis WH, Davis CL. Prosthodontic and surgical aspects of treatment planning for reconstructive surgery. In: Fonseca RJ, Davis WH (eds). Reconstructive Preprothetic Oral and Maxillofacial Surgery. Philadelphia: Saunders, 1986:41-60.
7. Smiler DG. Implants: Evaluation and treatment planning. Calif Dent Assoc J 1987;15:35-41.

8. Saad LJ, Swenson HM. Corticosteroid and periodontal packs. J Periodontol 1965;36:407-412.
9. Corbett CE. Farmacodinâmica. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 1115p.
10. Rossi Jr R. A influência dos corticosteróides no recrutamento e atividade fagocitária de macrófagos inflamatórios. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1984.
11. Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia clínica para dentistas. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 346p.
12. Hahn TJ, Halstead LR, Teitelbaum SL, Hahn BH. Altered mineral metabolism in glucocorticoid-induced osteopenia. Effect of 25-hydroxyvitamin D administration. J Clin Invest 1979;64:655-665.
13. Dempster DW, Arlot MA, Meunier PJ. Mean wall thickness and formation periods of trabecular bone packets in corticosteroid-induced osteoporosis. Calcif Tissue Int 1983;35:410-417.
14. Hodgson SF. Corticoid-induced osteoporosis. Endocrinol Metab Clin North Am 1990;19:95-111.
15. Fujimoto T, Niimi A, Sawai T, Ueda M. Effects of Steroid-Induced Osteoporosis on Osseointegration of titanium Implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1998;13:183-189.
16. Vigorita VJ. The bone biopsy protocol for evaluating osteoporosis and osteomalacia. Am J Surg Pathol 1984;8:925-930.
17. Chesnut CH. Non-invasive methods of measuring bone mass. (the osteoporotic syndrome). 2nd ed. Avioli AR ed. New York: Grune and Stratton 1987; 31-34.

18. Bellows CG, Aubin JE, Heersche JN. Physiological concentrations of glucocorticoids stimulate formation of bone nodules from isolated rat calvaria cells in vitro. *Endocrinology* 1987;121:1985-1992.
19. Wong MM, Rao LG, Ly H, Hamilton L, Tong J, Sturtridge W et al. Long-term effects of physiologic concentrations of dexamethasone on human bone-derived cells. *J Bone Min Res* 1990;5:803-813.
20. Cheng SL, Yang JW, Zhang S, Rifas L, Zhang SF, Avioli LV. Differentiation of human bone marrow osteogenic stromal cells in vitro: induction of the osteoblast phenotype by dexamethasone. *Endocrinology* 1994;134:277-286.
21. Fernandes LA. Análise radiográfica, histológica e histométrica dos efeitos da terapia fotodinâmica na doença periodontal induzida em ratos tratados com corticóide [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2007.
22. Pessoa ES, Melhado RM, Theodoro LH, Garcia VG. A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals. *Photomed Laser Surg* 2004;22:199-204.
23. Nóbrega FJO. Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide. [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2004.
24. Cranin AN. Endosteal implants in a patient with corticosteroid dependence. *J Oral Implantol* 1991;17:414-417.
25. Smith RA, Berger R, Dodson TB. Risk factors associated with dental implants in healthy and medically compromised patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:367-372.
26. Gaetti-Jardim Jr E, Gaetti-Jardim EC, Oliveira AC, Segundo AS, Oliveira SR.

- Características da topografia superficial e de contaminação microbiana de implantes Sin[®] desenvolvidos para pesquisa. *Innovations Impl Journal* 2006;1:25-2 .
27. Oliveira SR. Estudo comparativo da topografia superficial de abutments de titânio de diferentes marcas comerciais [Dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2005.
28. Oliveira SR, Garcia VG, Nagata MJH, Bosco AF, Pessoa RS. Estudo comparativo da topografia superficial de abutments de titânio de diferentes marcas comerciais. *Rev Periodontia* 2006;16:65-70.
29. Rajerison R, Marchetti J, Roy C, Bockaert J, Jard S. The vasopressin-sensitive adenylate cyclase of the rat Kidney. Effect of adrenalectomy and corticosteroids on hormonal receptor-enzyme coupling. *J Biol Chem* 1974;249:6390-6400.
30. Windle RJ, Wood SA, Shanks N, Lightman SL, Ingram CD. Ultradian Rhythm of basal corticosterone release in the female rat: Dynamic Interaction with the response to acute stress. *Endocrinology* 1998;139:443-450.
31. Gómez F, Kloet R, Armario A. Glucocorticoid negative feedback on the HPA axis in five inbred rat strains. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1998;274:420-427.
32. Keller JC, Stewart M, Roehm M, Schneider GB. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:687-694.
33. Atkinson HC, Waddell BJ. Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: Sexual dimorphism and changes across the

- estrous cycle. *Endocrinology* 1997;138:3842-3848.
34. Maniatopoulos C, Rodriguez A, Deporter DA, Melcher AH. An improved method for preparing histological sections of metallic implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1:31-37.
35. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
36. Ohtsu A, Kusakari H, Maeda T, Takano Y. A histological investigation on tissue responses to titanium implants in cortical bone of the rat femur. *J Periodontol* 1997;68:270-283.
37. Fujii N, Kusakari H, Maeda T. A histological study on tissue responses to titanium implantation in rat maxilla: the process of epithelial regeneration and bone reaction. *J Periodontol* 1998;69:485-95.
38. Futami T, Fujii N, Ohnishi H, Taguchi N, Kusakari H, Oshima H, Maeda T. Tissue response to titanium implants in the rat maxilla: ultrastructural and histochemical observations of the bone-titanium interface. *J Periodontol* 2000;71:287-298.
39. James, R. A probing look at dental implants from a periodontal point of view. Paper read at the 12th Annual U.S.C. Periodontal Symposium, Jan 17-18, Los Angeles, CA, 1986.
40. Pietrokovski J, Massler M. Ridge remodeling after tooth extraction in rats. *J Dent Res* 1967;46:222-231.
41. Todo H. Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats I: initial cellular response to tooth extraction in rats studied with 3H-Thymidine. *Arch oral Biol* 1968;13:1421-1427.

42. Åstrand P, Carlsson GE. Changes in the alveolar process after extractions in the white rat: A histologic and fluorescence microscopic study. *Acta Odontol Scand* 1969;27:113-127.
43. Johansen JR. Repair of the post-extraction alveolus in the wistar rat. A histologic and autoradiographic study. *Acta Odontol Scand* 1970;28:441-461.
44. Patschan D, Loddenkemper K, Buttgereit F. Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Bone* 2001;29:498-505.
45. Alder R, Felten DL, Cohen N, 2001. *Psychoneuroimmunology*. Academic Press, 2001, San Diego Ca.
46. Ashcraft MB, Southard KA, Tolley EA. The effect of corticosteroid-induced osteoporosis on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1992;102:310-319.
47. Ziegler R, Kasperk C. Glucocorticoid-induced osteoporosis: prevention and treatment. *Steroids* 1998;63:344-348.
48. Werner SB, Tessler J, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Effect of dexamethasone on Osseointegration: a preliminary experimental study. *J Oral Implantol* 1996;22:216-219.
49. Lukert BP, Raisz LG. Corticosteroid-induced osteoporosis: pathogenesis and management. *Ann Intern Med* 1990;112:352-364.
50. Reid IR. Steroid osteoporosis. *Osteoporosis Int* 1993 (Suppl 1):S144-146.
51. Kasperk C, Schneider U, Sommer U, Niethard F, Ziegler R. Differential effects of glucocorticoids on human osteoblastic cell metabolism in vitro. *Calcif Tissue Int* 1995;57:120-126.
52. Straub RH, Dhabhar FS, Bijlsma JW, Cutolo M. How psychological stress via

hormones and nerve fibers may exacerbate rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52:16-26.

53. Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Giardino R. Titanium alloy osseointegration in cancellous and cortical bone of ovariectomized animals: histomorphometric and bone hardness measurements. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:28-37.
54. Lugero GG, de Falco Caparbo V, Guzzo ML, König B Jr, Jorgetti V. Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. *Implant Dent* 2000;9:303-309.

Figura 1: Características dos implantes experimentais. A. Dimensões longitudinais; B. Dimensões transversais; C. visão geral através do MEV (50x).

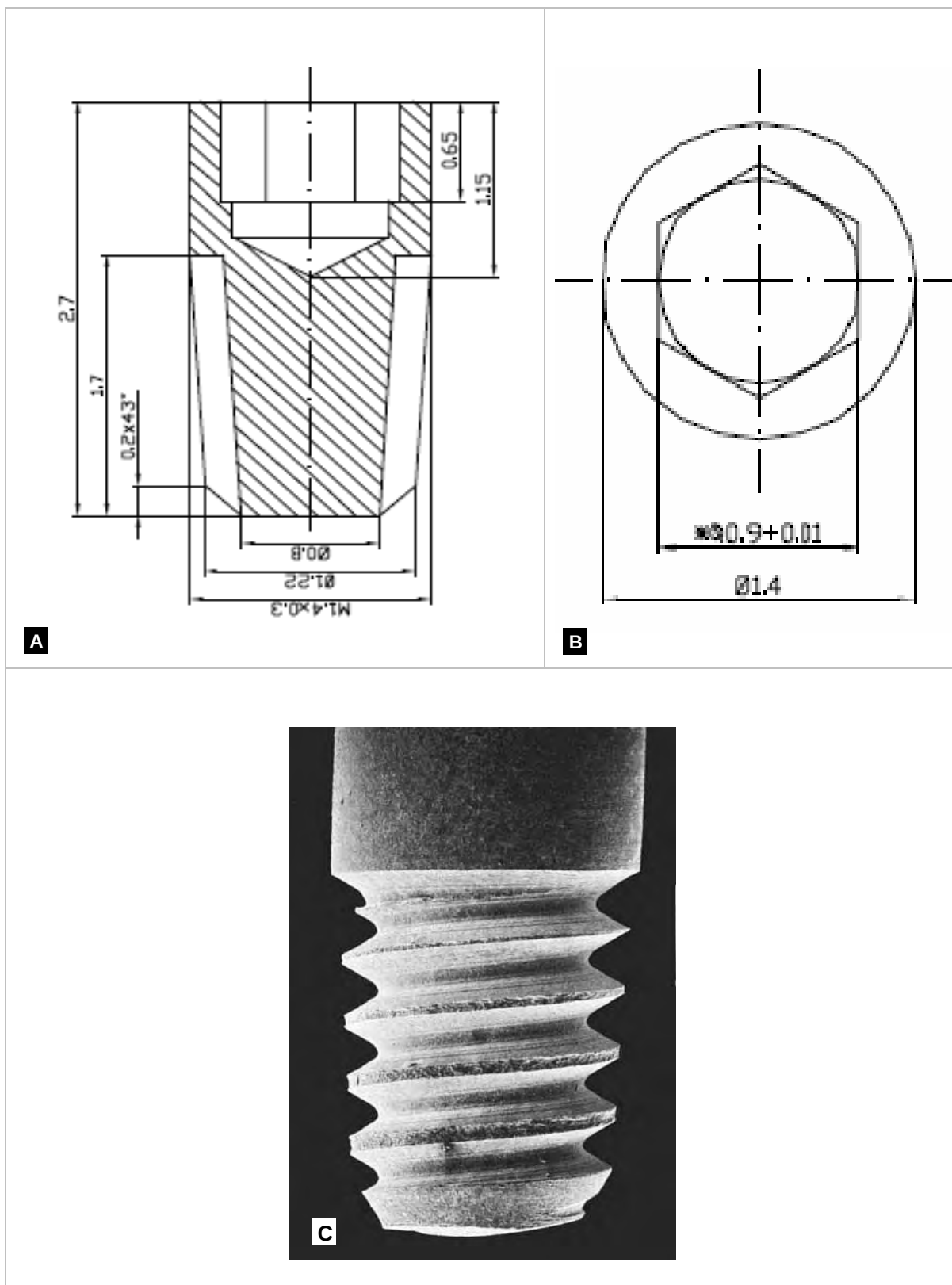


Figura 2: Caracterização dos implantes experimentais através do MEV. A. Superfície maquinada e tratada com distinção entre a crista e o sulco das roscas (200x); B. Superfície do pico da rosca micro-texturizada resultante do duplo ataque ácido (500x). C. Superfície micro-texturizada do vale uniformemente condicionado (500x).

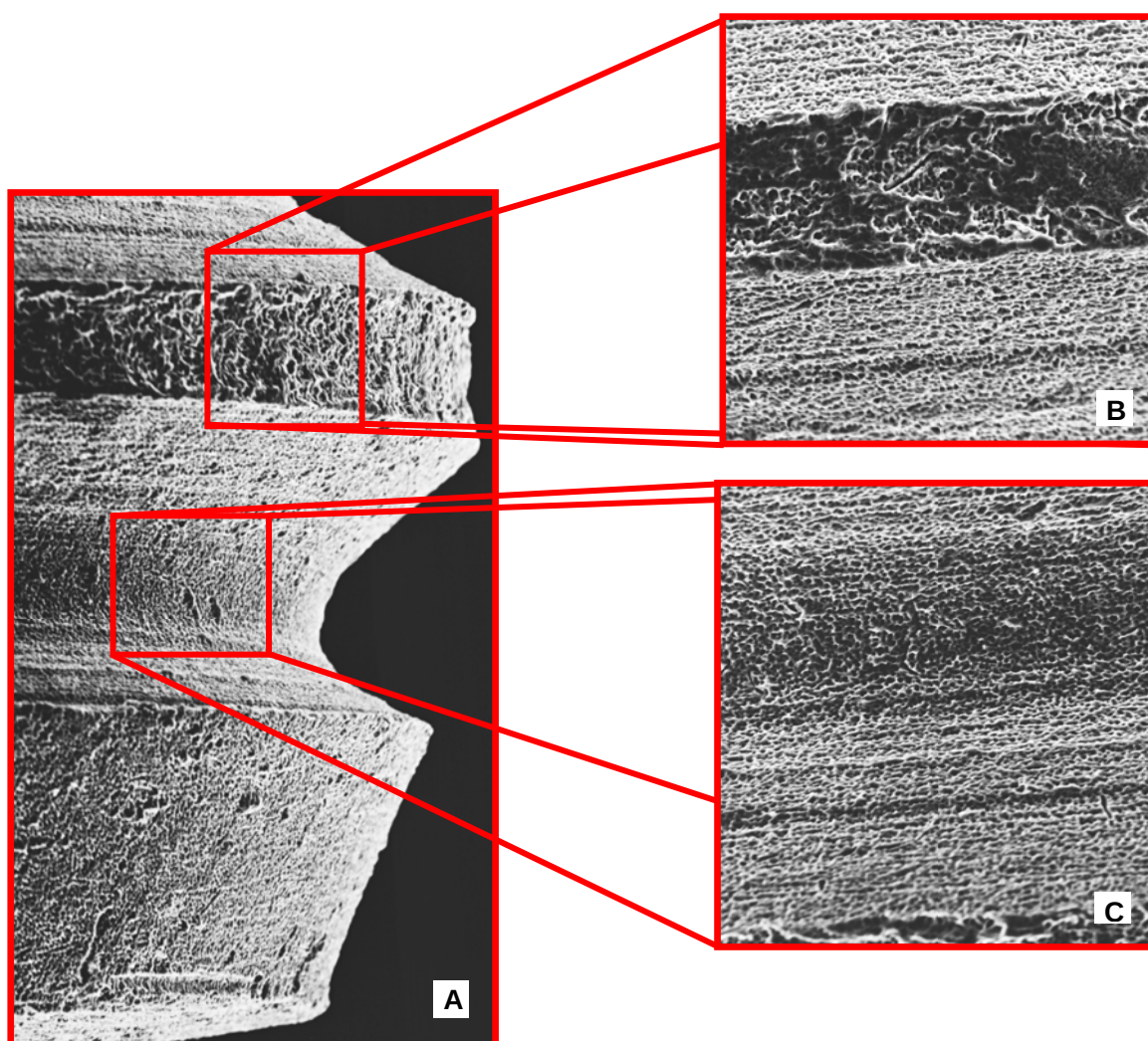


Figura 3: Caracterização dos implantes experimentais pela interferometria a laser. A. Imagem bruta (composta pela ondulação da forma e a rugosidade da superfície); B. Ondulação; C. rugosidade.

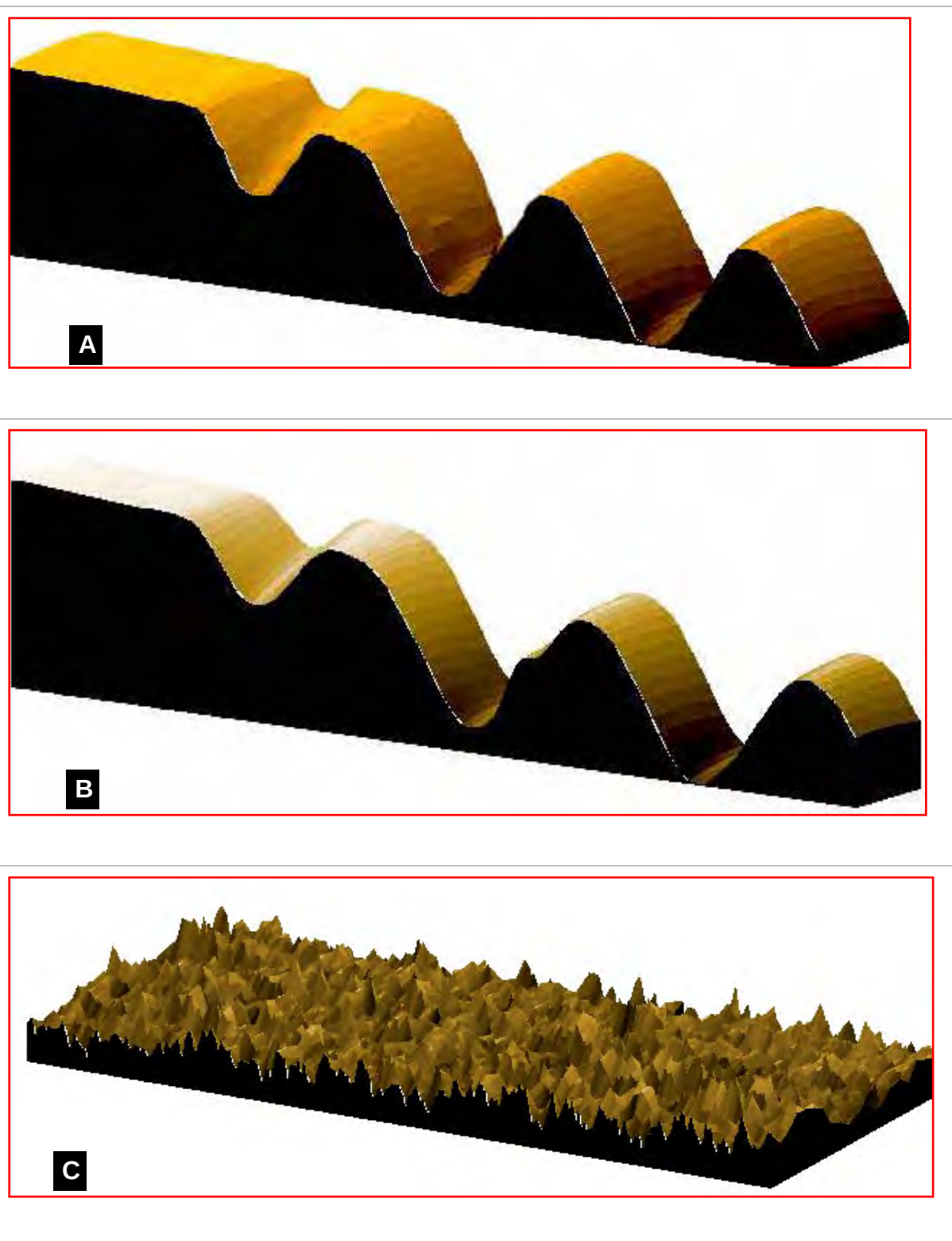


Figura 4: Fotomicrografias do reparo do alvéolo de extração dental do primeiro molar superior decorrido o período de 30 dias. Cortes longitudinais: A. Visão geral da porção anterior a raiz mesial do segundo molar (62,5x); B. Aumento 100x; C. Aumento 160x. Cortes transversais: D. Neoformação óssea próxima às raízes do segundo molar (62,5x); E. Neoformação óssea mais distante às raízes do segundo molar (62,5x). Coloração H.E.

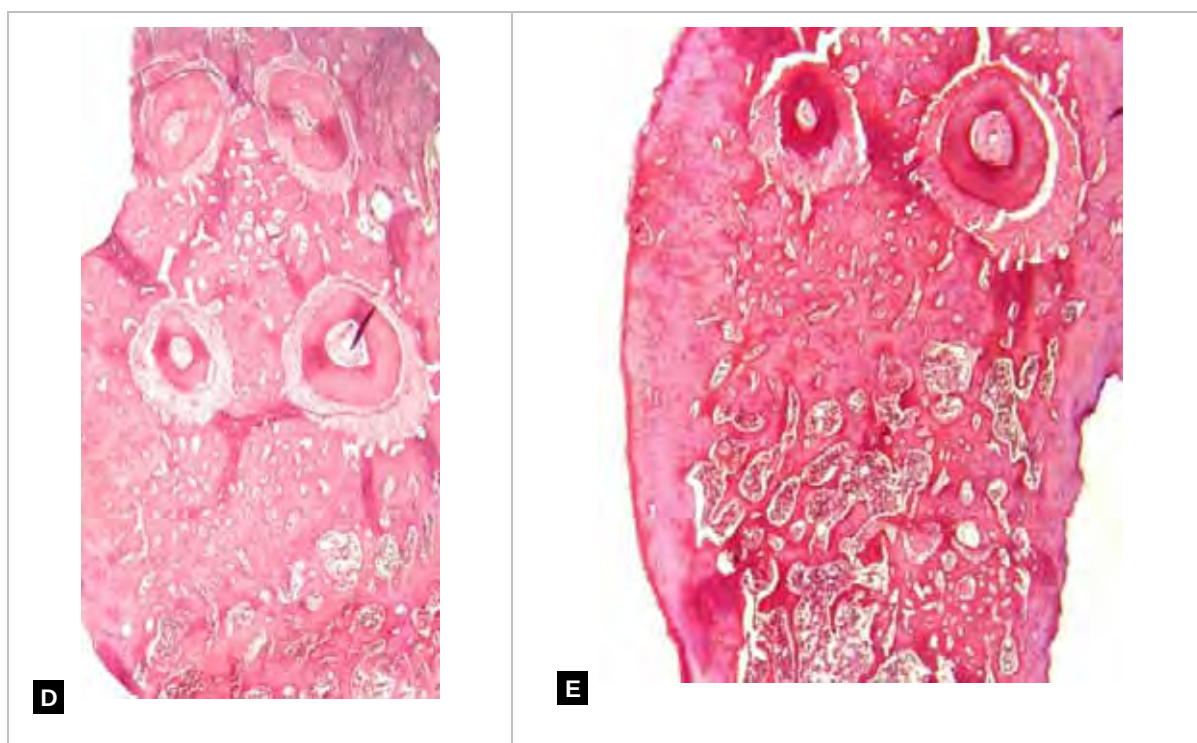
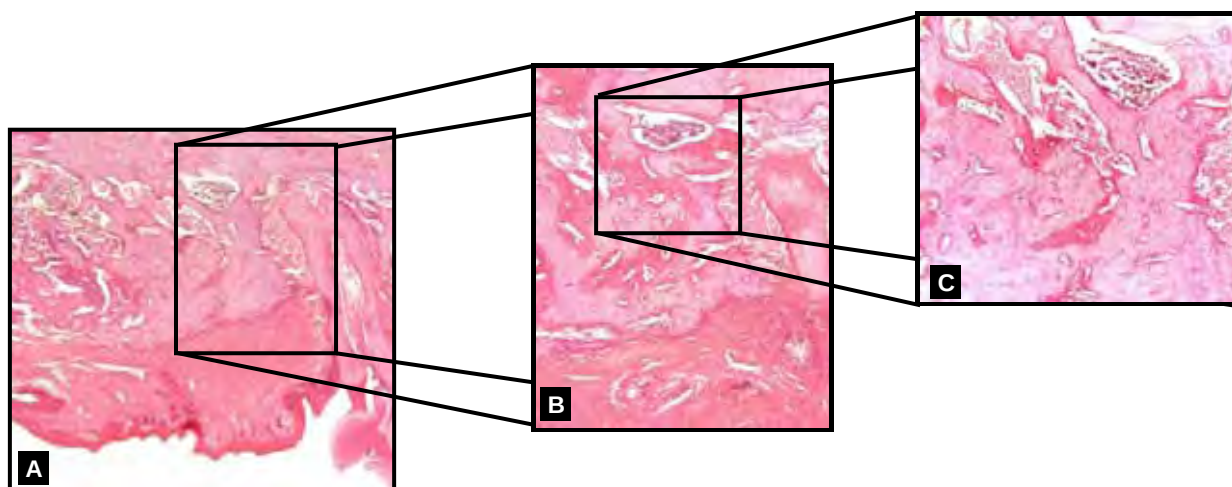


Figura 5: Técnica de implantação utilizada no presente estudo. A. Cavidade bucal com todos os molares presentes; B. Aspecto clínico 30 dias após exodontia do primeiro molar direito e esquerdo (notar presença apenas de segundo e terceiro molares de cada lado); C. Osteotomia; D. Instalação manual do implante experimental; E. Implantes instalados.

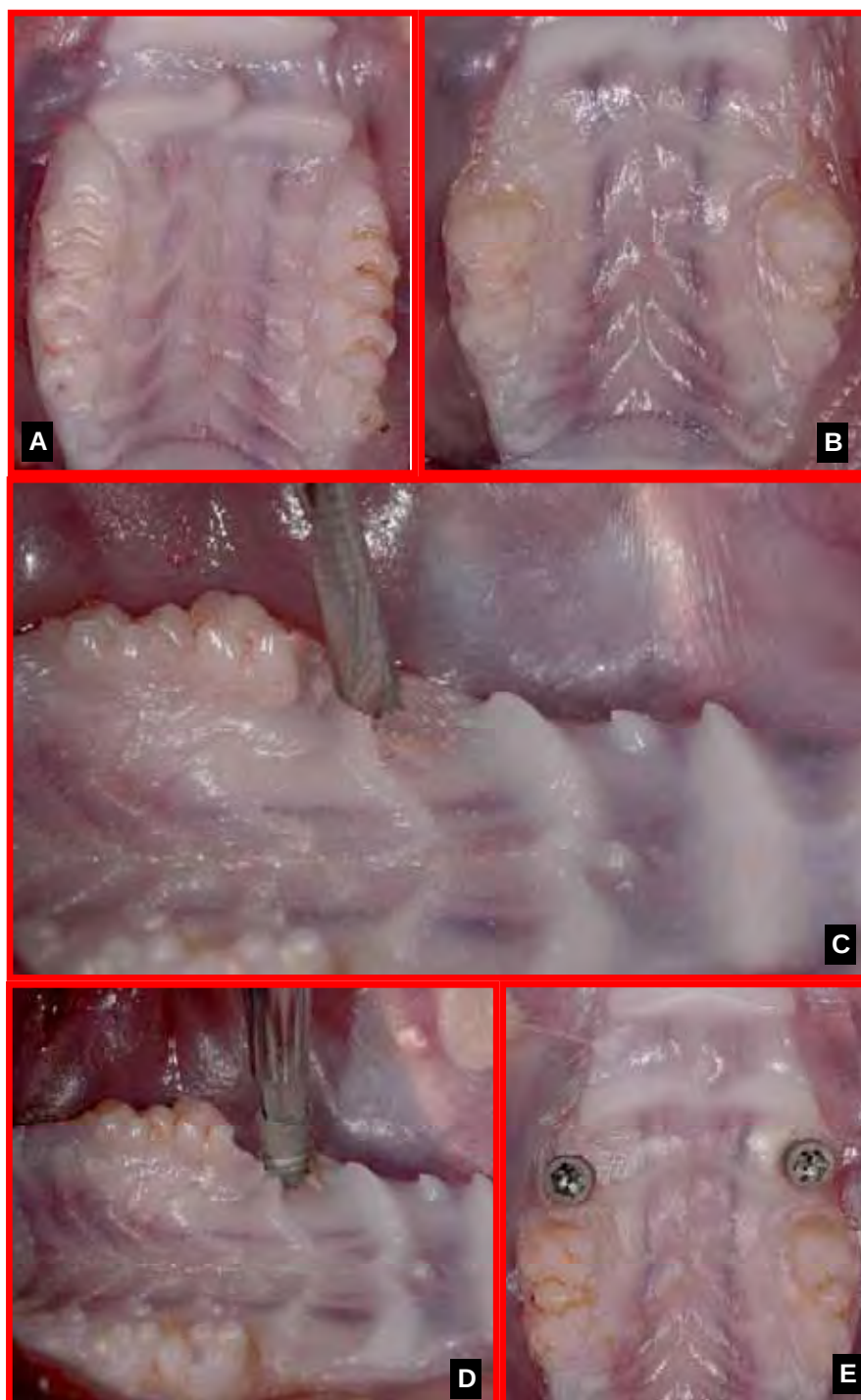


Figura 6: Fotomicrografias ilustrando a interface osso-implante em tecido não-descalcificado no (a) grupo Controle, (b) grupo Placebo e (c) grupo Tratado (Coloração Azul de Steven's associada a Alizarina vermelha; magnificação 62,5x); (*área de osso neoformado).

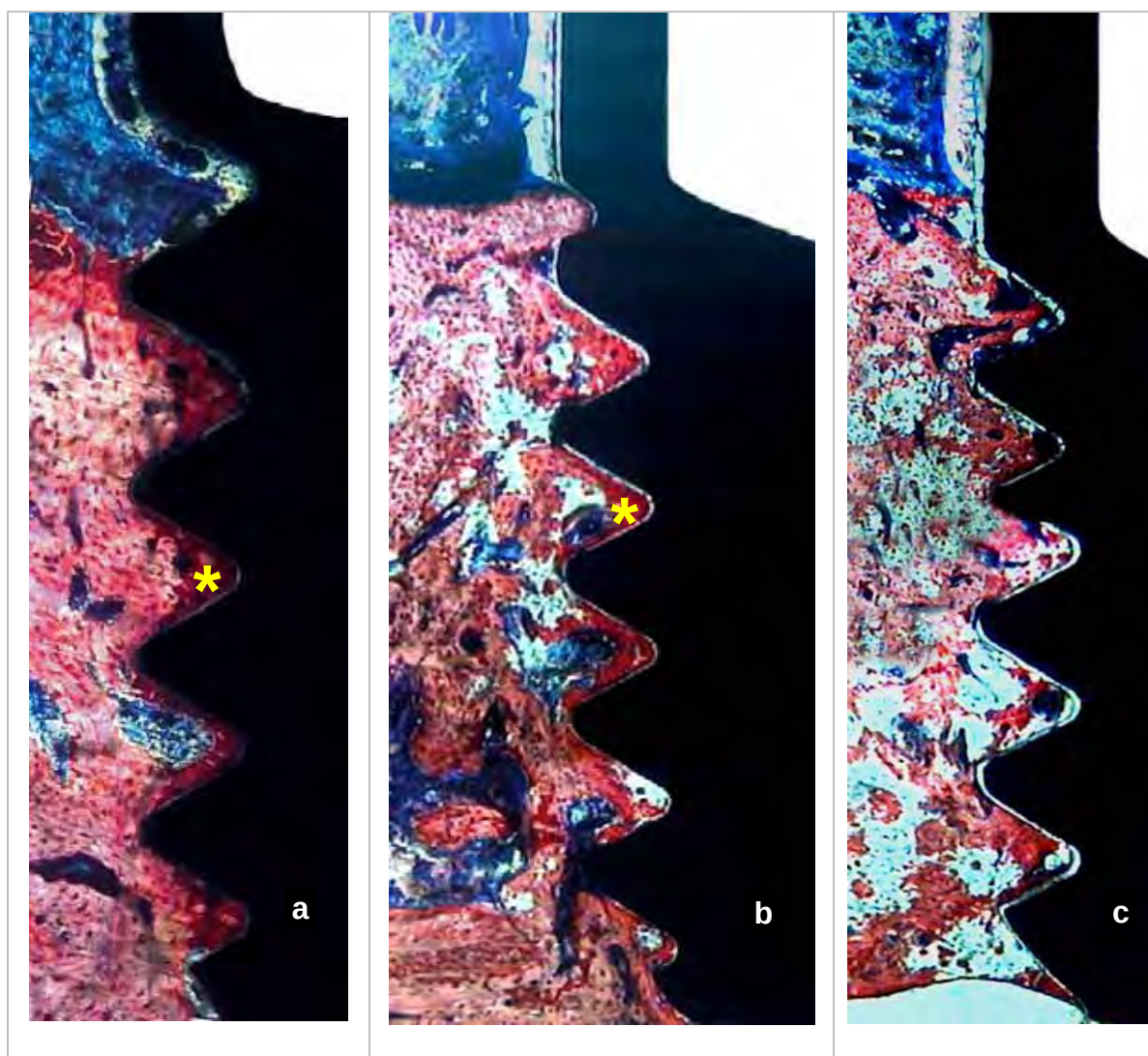


Figura 6A: Fotomicrografia do grupo controle em maior aumento (100x).

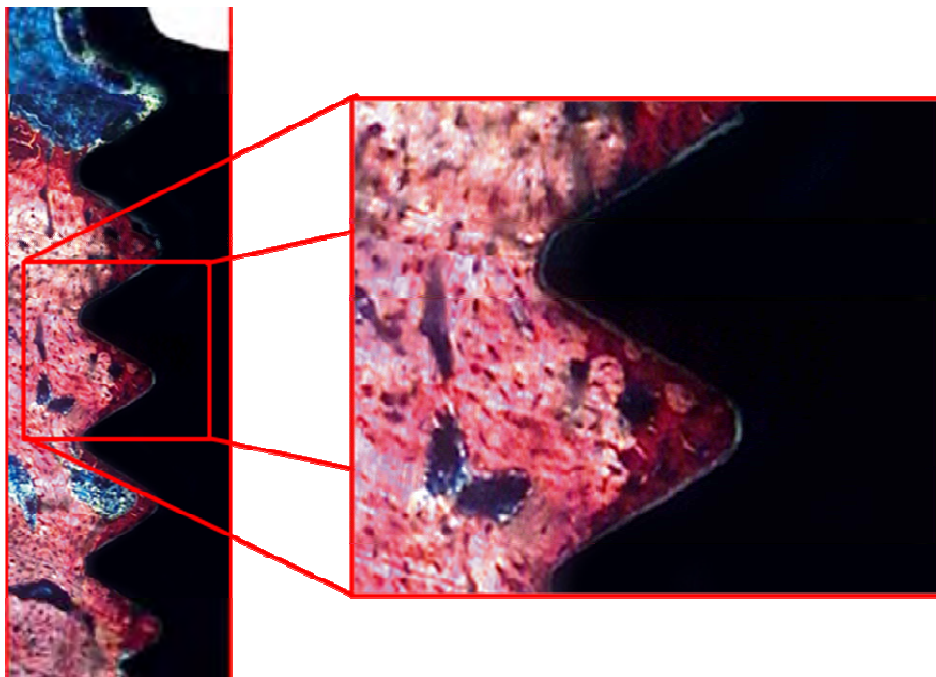


Figura 6B: Fotomicrografia do grupo Placebo em maior aumento (100x).

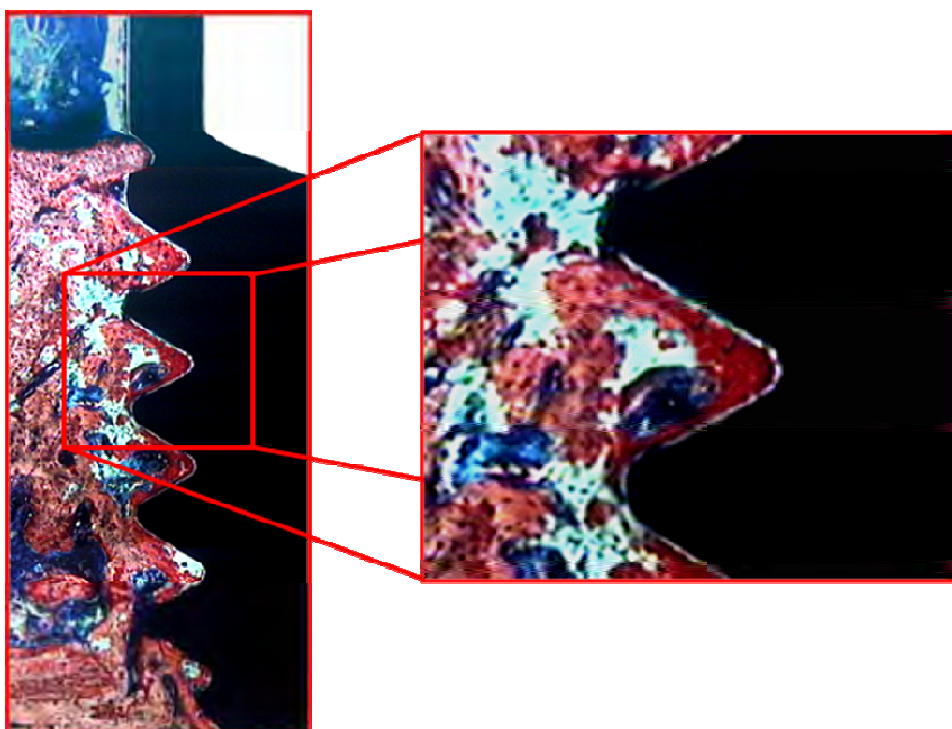


Figura 6C: Fotomicrografia do grupo Placebo em maior aumento (100x).

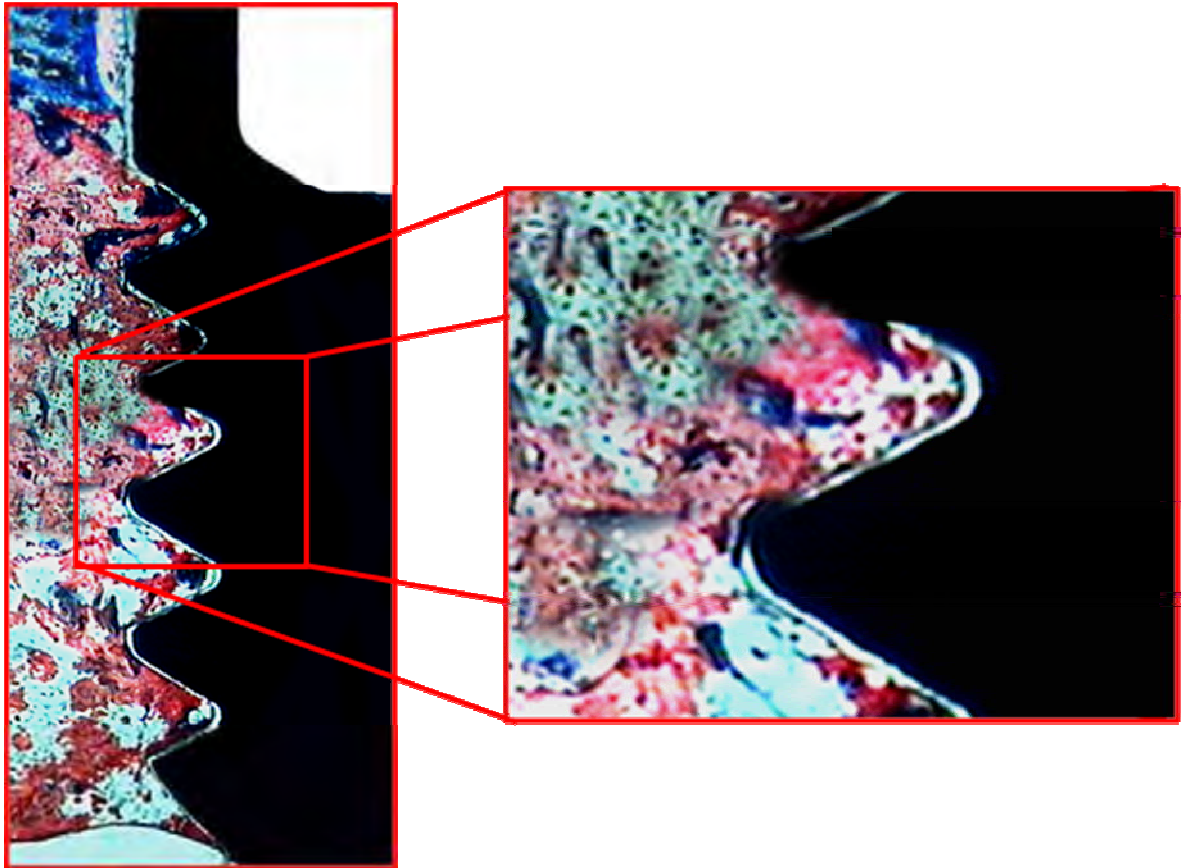


Figura 7: Fotomicrografias ilustrando o reparo ósseo próximo ao alvéolo do implante em tecido descalcificado no (a) grupo Controle, (b) grupo Placebo (c) grupo Tratado (Coloração Hematoxilina e Eosina; magnificação 50x).



Tabela 1: Valores numéricos dos parâmetros de rugosidade analisados: S_a (Rugosidade Média), S_q (Rugosidade Média Quadrática), S_{sk} (Skewness), S_{ku} (Kurtosis) e S_{vk} (Altura Reduzida dos Vales).

S_a (μm)	S_q (μm)	S_{sk}	S_{ku}	S_{vk} (μm)
0,438	0,567	0,487	3,68	0,481

Tabela 2: Valores médios $\pm$ Desvio Padrão dos comprimentos totais dos implantes e aqueles em contato com o tecido ósseo (mm); ($p=0,00$).

COMPRIMENTO	Controle	Placebo	Tratado
TOTAL (CT)	13,58 $\pm$ 2,67 A	8,72 $\pm$ 2,67 A	11,38 $\pm$ 2,75 A
CONTATO (CC)	13,13 $\pm$ 2,72 A	7,17 $\pm$ 2,51 A	1,79 $\pm$ 1,46 a

Tabela 3: Percentual do comprimento em contato entre osso-implante dos grupos estudados: Ctr (96,67%); Pla (82,22%); Tra (15,73%); ($p=0,00$).

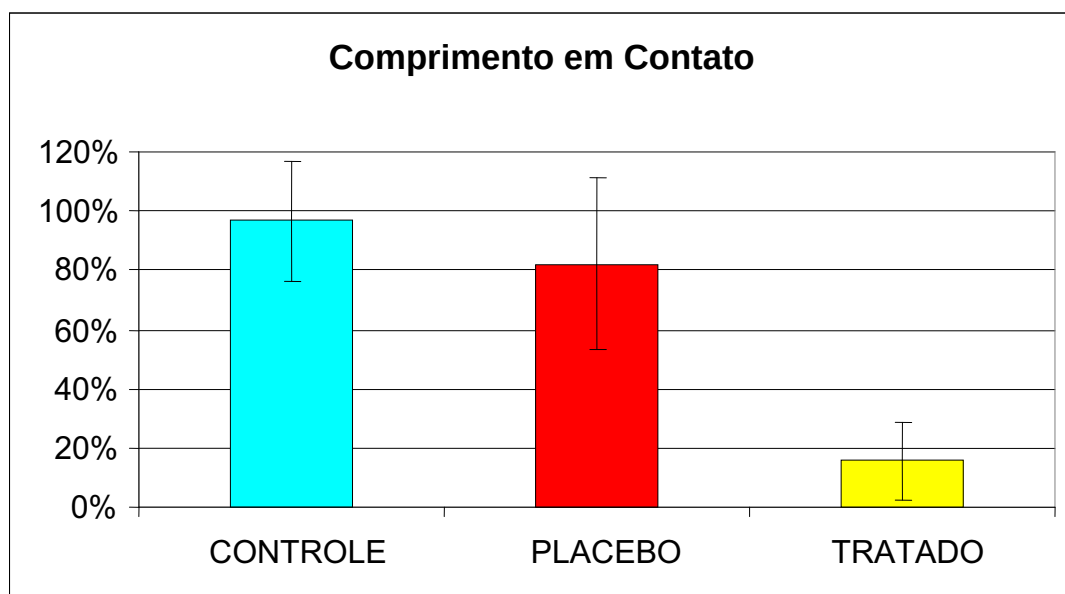
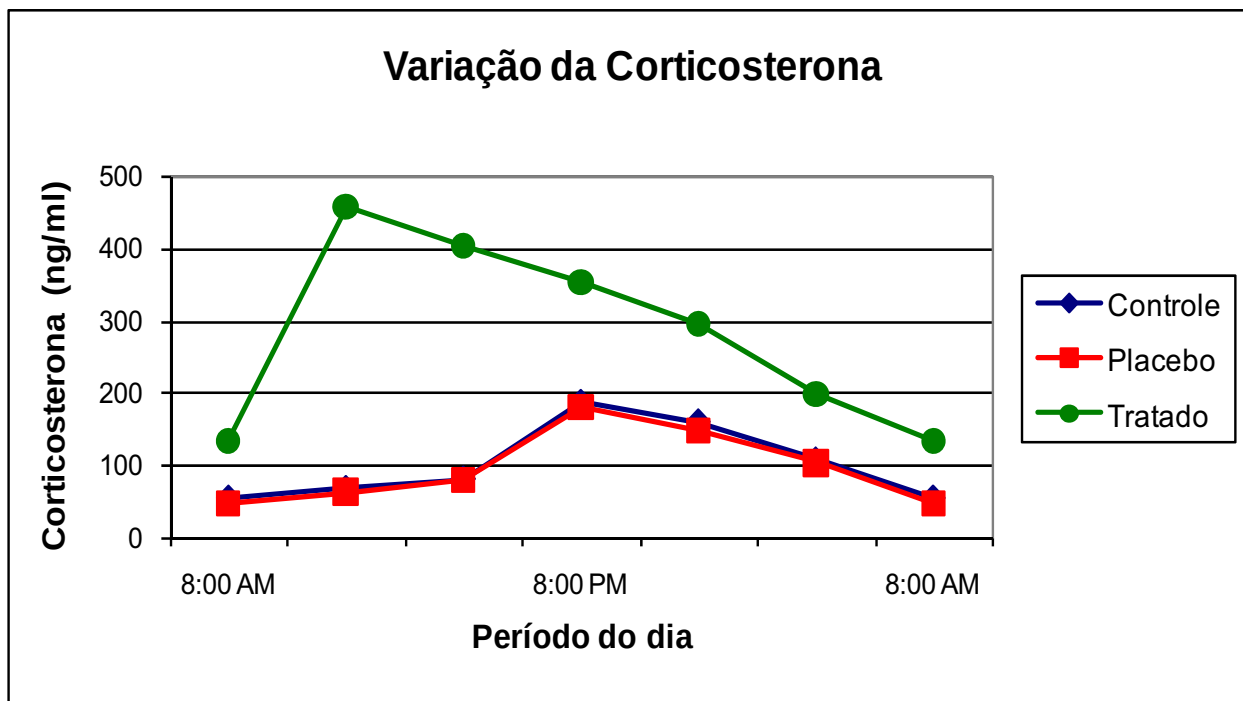


Gráfico 1: Variação da concentração plasmática da corticosterona em um simples período de 24h. Valores são médias do período de sacrifício (n=2/grupo/período).



Anexo A

Revisão de Literatura*

As glândulas adrenais, situadas nas regiões superiores dos rins, são compostas por duas partes distintas: a medula adrenal e o córtex adrenal. A primeira porção está funcionalmente relacionada com o sistema nervoso simpático, secretando os hormônios epinefrina e norepinefrina, ao passo que o córtex adrenal é a parte responsável pela secreção dos corticosteróides (GUYTON, 2003), divididos em três amplos grupos: mineralocorticóides, adrenocorticóides e glicocorticóides. A principal função dos mineralocorticóides está relacionada com o controle da água e do metabolismo eletrolítico, através da regulação de sódio/potássio. O segundo grupo, os adrenocorticóides, são hormônios sexuais primariamente masculinizantes. Já o terceiro grupo, provavelmente o mais importante em termos de terapia, são os glicocorticóides (SAAD & SWENSON, 1965), que receberam esse nome por exercerem efeitos importantes nas taxas glicêmicas.

O termo corticosteróide é por hábito reservado aos derivados glicocorticóides e, quando administrados em quantidades maiores do que aquela produzida naturalmente, passam a desenvolver função antiinflamatória e anti-proliferativa, contribuindo no tratamento de dermatoses, artrites, distúrbios temporo-mandibulares, controle do edema pós-operatório e trismo encontrado após cirurgia oral (ROSTEMBERG, 1961).

*Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. NBR 6023 informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Os corticóides difundem-se em quase todas as células, ligando-se em receptores esteroidais citoplasmáticos com alto grau de afinidade e especificidade. Esses receptores sofrem modificação conformacional alostérica, que é pré-requisito para a forte ligação do complexo esteróide-receptor a um sítio aceitor no DNA nuclear. Com isso, há ativação da síntese do mRNA, originando proteínas específicas e peptídeos reguladores que controlam a função celular (WANNMACHER & FERREIRA, 1999).

Tanto os hormônios naturais quanto seus análogos sintéticos têm capacidade de prevenir ou suprimir o desenvolvimento de calor, rubor, edema e dor local, características macroscópicas da inflamação. No nível microscópico, inibem não apenas os fenômenos iniciais do processo inflamatório, ou seja, edema, deposição de fibrina, dilatação capilar, migração leucocitária e ativação de fagocitose, como também as manifestações tardias representadas pela proliferação capilar e de fibroblastos, deposição de colágeno e, mais tardiamente, a cicatrização (CORBETT, 1982).

Dessa forma, Wali (1983) sugeriu que o atraso na formação de tecido de granulação observado nos pacientes que utilizavam cortisona foi devido à sua ação no processo de cicatrização, onde a diminuição do fluxo sanguíneo tecidual levou a um retardo na formação da rede de fibrina. Nesse sentido, Rossi Júnior (1984), estudando a ação destas substâncias, verificou que houve uma diminuição na quantidade de macrófagos no foco da inflamação e, conseqüentemente, atraso no processo cicatricial.

Complementando os resultados anteriores, Wahl et al., (1985) observaram que células inflamatórias como polimorfonucleares e macrófagos, que contêm enzimas collagenolíticas em seu citoplasma, são impedidas de migrar para os tecidos

pela ação antiinflamatória destes hormônios, resultando em uma alteração da degradação e da síntese do colágeno, o que modificaria o desenvolvimento do processo de reparo.

Com o avanço das pesquisas, análogos sintéticos dos corticosteróides surgiram com um variado mecanismo de ação. Essas diferenças constituem a base para a classificação dos glicocorticóides em agentes de ação rápida (menos de 12 horas), ação intermediária (de 12 a 36 horas) e ação prolongada (mais de 36 horas), representando, respectivamente, a hidrocortisona, a prednisolona e a dexametasona (WANNMACHER & FERREIRA, 1999).

De posse do conhecimento das alterações inflamatórias proporcionadas pelo uso dos corticóides, Werner et al. (1996) procuraram avaliar estes efeitos sobre o processo de osseointegração. Para isso, realizaram um estudo experimental avaliando o efeito da dexametasona nos primeiros estágios da osseointegração. Utilizaram um implante de titânio laminar que foi inserido na tíbia direita de nove ratos wistar sob anestesia, sendo que seis destes receberam dosagens ($120\mu\text{g/Kg/dia}$) de dexametasona intraperitoneal (DecadromTM Sidus, Argentina) por 14 dias pré e mais 14 dias após a implantação. Nos três ratos remanescentes (controles) foram injetados volumes equivalentes de solução salina, todos administrados diariamente no mesmo período. Nos 14 dias após implantação, todos os animais foram sacrificados e suas tíbias foram removidas, radiografadas e processadas, sendo em seguida embebidas em metilmetacrilato. Em seus resultados, baseado no modelo experimental adotado pelos autores, foi observado que a resposta osteogênica periimplantar foi maior no grupo de animais tratados com dexametasona comparados ao controle.

Norteados pelo objetivo de clarificar os efeitos da administração de esteróides na osseointegração de implantes de titânio puro, Fujimoto et al. (1998) estruturaram um trabalho com doze fêmeas New Zealand brancas, de oito semanas de idade divididas em dois grupos: o grupo da prednisolona (grupo P) e o grupo controle (grupo C). Em cada coelho, dois implantes foram instalados sob pressão na mandíbula e dois na metáfise da tíbia. Os seis animais tratados com esteróides receberam três cursos de 4 dias de injeção de prednisolona (10mg/Kg/dia) antes da colocação do implante, 1 e 2 meses após a implantação. Os seis coelhos controles não receberam nenhuma administração do corticóide. No terceiro mês após a instalação dos implantes, todos os animais foram sacrificados. A densidade óssea do fêmur e o torque de remoção dos implantes instalados na tíbia foram significativamente menores no grupo P comparadas àquelas do grupo C. Em adição, houve uma significativa correlação entre a densidade óssea do fêmur e o torque de remoção dos implantes instalados na tíbia. Em contrapartida, não houve significativa diferença no torque de remoção dos implantes instalados na mandíbula entre os grupos estudados e nem uma correlação significativa entre a densidade óssea do fêmur e o torque de remoção dos implantes instalados na mandíbula. Estes resultados sugerem que a administração de esteróides pode ter menor efeito na osseointegração de implantes de titânio na mandíbula do que no esqueleto ósseo.

Outras evidências sobre a concentração excessiva dos glicocorticóides *in vivo* evidenciaram uma formação óssea diminuída que pode evoluir para uma necrose óssea. Essa redução da formação óssea está associada à diminuição da densidade óssea e ao decréscimo dos níveis séricos de osteocalcina, um marcador da função osteoblástica, ou seja, ossos acometidos por osteoporose mostraram uma redução no número de osteoblastos (CANALIS & DELANY, 2002). Como estes osteoblastos

exibem receptores para glicocorticóides, é possível que tais hormônios desempenhem efeitos diretos sobre as células da linhagem osteoblástica. Por outro lado, admite-se também que estas substâncias possam interferir na função osteoclástica, indiretamente, por meio da indução da produção de fatores solúveis e de membrana por osteoblastos e outras células estromais (HUANG & ZHENG, 1999; ANGELI et al., 2002).

Com o avanço destes conhecimentos, mais uma vez eles foram aplicados no processo de osseointegração. Para isso, Keller et al. (2004), num estudo experimental, trabalhou com coelhos mantidos em condições idênticas à osteoporose. Para isso, os autores aplicaram diariamente injeções intramusculares de cortisona (7,5mg/kg) nos grupos experimentais. Um total de 40 animais foram divididos em quatro grupos: controle (injeção de solução salina iniciando no dia da implantação e estendendo por 4 semanas); grupo 1 (início das injeções 2 semanas antes da implantação e se estendendo por 4 semanas); grupo 2 (injeções iniciadas 4 semanas após a implantação); grupo 3 (injeções iniciadas no dia da implantação e se estendendo por 4 semanas). Em seus resultados, os autores observaram que as injeções de glicocorticóides resultaram em uma cortical fina, um padrão trabecular irregular e uma matrix extracelular associada a uma mineralização enfraquecida. Verificaram ainda uma diminuição estatisticamente significativa do contato osso-implante nos animais em condições idênticas à osteoporose. Dessa forma, os autores concluíram que animais tratados com glicocorticóides possuem alterações nas características da osseointegração dos implantes, mas a estabilidade biomecânica, por longo tempo sob força mastigatória, ainda é desconhecida.

Referências Bibliográficas*

ANGELI, A.; DORIO, A.; SARTOI, M.L.; MASERA, R.G.; CEOLONI, B.; PROLO, B.; ROCCA, S.; CHIAPPELLI, F. Interactions between glucocorticoids and cytokines in the bone microenvironment. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 966, p. 97-107, 2002.

CANALIS, E.; DELANY, A.M. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 966, jun., p. 73-81, 2002.

CORBET, C.E. **Farmacodinâmica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 1115p.

FUJIMOTO, T.; NIIMI, A.; SAWAI, T.; UEDA, M. Effects of Steroid-Induced Osteoporosis on Osseointegration of titanium Implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**; v. 13, p.183-189, 1998.

GUYTON & HALL. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: 2003, p. 813-826.

HUANG, W.H.; ZHENG, M.H. Steroid hormones and bone. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 14, n. 4, p. 1257-1268, 1999.

KELLER, J.C.; STEWART, M.; ROEHM, M.; SCHNEIDER, G.B. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants. **Int. J. Oral Maxillofac.**

Implants v. 19, p. 687-694, 2004.

ROSSI JÚNIOR, R. **A influência dos corticosteróides no recrutamento e atividade fagocitária de macrófagos inflamatórios.** 1984. 38f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

ROSTENBERG, A. Clinical evaluation of flurandrelone, a new steroid in dermatological practice. **J. New Drugs**, New York, v. 1, p. 118-121, May/Jun. 1961.

SAAD, L.J.; SWENSON, H.M. Corticosteroid and periodontal packs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 407-412, 1965.

WAHL, S.M.; WAHL, L.M. Regulation of macrophage collagenase, prostaglandin, and fibroblast-activating-factor production by anti-inflammatory agents: different regulatory mechanisms for tissue injury and repair. **Cell Immunol.** v. 92, n. 2, p. 302-12, 1985.

WALI, M.A. Influence of corticosteroids on connective tissue. **Indian J. Dermatol.**, Calcutta, v. 28, n. 2, p. 69-72, Apr. 1983.

WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. **Farmacologia clínica para dentistas.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 346p.

WERNER, S.B.; TESSLER, J.; GUGLIELMOTTI, A.B.; CEBRINI, R.L. Effect of dexamethasone on Osseointegration: A Preliminary Experimental Study. **J. Oral Implantol.**; v. 23, p.216-219, 1996.

Anexo B



Anexo C

Normas de publicação da Revista Journal of Periodontology

CONTENT

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

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the *Journal of Periodontology* should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format. All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

ORIGINAL ARTICLES

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

Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the combined number of figures and tables must be 6 or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

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

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results

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

Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical

recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

STATE OF THE ART REVIEWS

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. The review should be based on a critical assessment of the literature, and may include data or examples from the research or clinical experience of the author(s). Authors should discuss clinical relevance and future projections. At-large submissions will be considered, but authors should contact the Editor-in-Chief before developing a manuscript to avoid duplicating a topic already in preparation. Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Articles should be written at a level instructive to Journal readers. For example, clear definitions of abbreviations and a glossary of terms may be useful for defining highly technical or new terminology. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should not have a financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

Format

Abstract

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Introduction

A question or series of related questions to be addressed should be given; rationales for asking these questions and why the questions are timely should be explained.

Methods

The method of reviewing the literature should be discussed (e.g., bibliographic indexes and databases used, limits on years covered by the search, languages searched, and other important information regarding the search process should be described).

Body

A sequence of logical subsections that reflect the area being reviewed should be developed. This section should be a critical analysis of the literature, including arguments needed to support the conclusions reached; why certain papers not meeting well described critical standards, such as randomized clinical trials, were not used as evidence; and what issues remain unresolved and need further study. Evidence tables are often useful in summarizing reviewed literature, and various statistical analyses appropriate to reviewing literature, such as meta-analysis, should be considered.

COMMENTARY

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

Format**Introduction**

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

Body

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

Summary

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

Acknowledgments

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

CASE REPORTS

These manuscripts emphasize clinical periodontics and related oral medicine and pathology. Unusual cases illustrating lesions affecting the orofacial structures that may be expected to influence management of periodontal and implant patients could be presented. Case reports should describe: 1) unique cases that may represent a previously undescribed condition; 2) unexpected association of two or more diseases; 3) adverse or unexpected treatment response; or 4) any other clinical observation based upon well-documented cases that provide important new information.

CASE SERIES

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

Format

Abstract

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

- * Background: Describes the clinical situation being discussed.

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

Introduction

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

Case Description and Results

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

Discussion

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

CLINICAL PRACTICE (FORMERLY INNOVATIONS IN PERIODONTICS)

These manuscripts should emphasize methods, such as the application of new technology, materials, and techniques to patient management, and should be illustrated carefully and fully, with radiographs and color clinical photographs. The innovation/method should be described in detail so that readers can duplicate the procedures.

In addition, the innovation/method should have been used on a sufficient number of cases or subjects to demonstrate its utility and any adverse effects. Also, experience in use of the technique should allow the author(s) to describe situations or conditions where the procedure may not work as effectively. Only procedures that give consistent results documented over a sufficiently large number of cases should be submitted for publication.

Manuscripts should be concise and should consist of an abstract, an introduction, a description of the innovation/method in conjunction with management of a case(s), and a discussion.

It should be noted that certain new innovations might require human subject review and informed consent. It is the responsibility of the author to obtain these.

In particular, the Editors are seeking papers describing how practitioners manage site preservation, pre-implant surgery, guided tissue regeneration, furcation preparation, root resection, suturing, and root coverage of extensively prepped teeth and/or previously restored roots, although other topics are encouraged as well.

GUEST EDITORIALS

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

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the Journal and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 60 days to respond to the observations. Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

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

Citations should be handled as standard references.

MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

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

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

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

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

SUBMISSION

Authorship

Individuals identified as authors must meet the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published.

Once the Journal has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (described under “Acknowledgments and Conflicts of Interest”).

Letter of Submission / Conflicts of Interest

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted for each author.

A template form can be found on JOP Manuscript Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under “Instructions & Forms.” More information on conflicts of interest can be found under “Conflicts of Interest” below.

PREPARATION

Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript:

- * Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
- * The Journal of Periodontology does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, e.g., or i.e.
- * Use block style; do not tabulate or indent material.

* Refer to the 4th edition of the Glossary of Periodontal Terms published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.

Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the *Annals of Periodontology*, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions). A summary can be found on the American Academy of Periodontology Web site at <http://www.perio.org/resources-products/classification.htm>.

FORMAT

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

Title Page

Abstract (or Introduction) and Key Words

Text

Footnotes

Acknowledgments

References

Figure Legends

Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

TITLE PAGE

The Title Page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation for each; 3) name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed (please use footnote symbols [in the sequence *, †, ‡, §, k, ¶, #, **, etc.] to identify authors and their corresponding institutions); 4) disclaimers, if any; 5) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published); 6) sources of support in the form of grants, equipment, drugs, or other significant sources of support; 7) any financial relationships between any author and a commercial firm that may pose a conflict of

interest; 8) word count and number of figures and tables in the manuscript; 9) a short running title of no more than 60 characters, including spaces; and 10) a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

KEY WORDS

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

TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

ACKNOWLEDGMENTS AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgments

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

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

Authors are required to submit:

1) A statement in the manuscript, following Acknowledgments, that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial

relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.

2) A conflict of interest and financial disclosure form for each author.

This form can be found on JOP Manuscript Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under “Instructions & Forms.” The form should be

completed by each author and provided to the corresponding author. The corresponding author is responsible for submitting these forms from each author when the manuscript is submitted. These forms should be sent to Bethanne Wilson, Editorial Coordinator, either via e-mail at bethanne@perio.org or fax at 312/573-3225. These forms can also be uploaded in the cover letter area during the manuscript submission process.

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

Example of conflict of interest statement:

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

REFERENCES

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

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please refer to the NLM's comprehensive listing at <http://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology's* preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Glass DA, Mellonig JT, Towle HJ. Histologic evaluation of bone inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskelatal site of the rat. *J Periodontol* 1989;60:121-125.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.

3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahntechnol Implantol*; 1996;12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loe H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic Citations

9. Online journals without volume and page information. Berlin JA, Antman EM. Advantages and limitations of meta-analytic regressions of clinical trials data. *Online J Curr Clin Trials* [serial online]. June 4, 1994; doc 134. Accessed July 20, 2000.
10. Online journals with volume and page information. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: A case report. *J Contemp Dent Pract* [serial online]. 2001;2(3):31-40. Available from: Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH. Accessed December 15, 2001.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: Addressing the problem of antimicrobial resistance. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan/antiresist/>. Accessed November 5, 2001.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules.

FIGURE LEGENDS

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

FIGURES

Digital files must be submitted for all figures.

Submit one file per figure. Multiple panels should be labeled and combined in a single file. Photomicrographs should have internal scale markings. Human subjects must not be identifiable in photographs, unless written permission is obtained and accompanies the photograph. Lettering, arrows, or other identifying symbols should be large enough to permit reduction and must be embedded in the figure file. Figure file names must include the figure number.

Clinical color photographs are encouraged. There is no charge to the author for publication of any figure. Authors are asked to use shades of green, blue, or purple in color graphs. Yellow, red, and orange should be avoided unless scientifically necessary (e.g., to depict species of the orange complex, red complex, etc.).

Authors are strongly encouraged to prepare basic, simple designs that can be clearly understood when reproduced; use of “3-dimensional” graphics is not recommended. Unnecessarily complex designs may be returned for simplification before publication.

Details of programs used to prepare digital images must be given to facilitate use of the electronic image. Use solid or shaded tones for graphs and charts. Patterns other than diagonal lines may not reproduce well.

DIGITAL FILE SPECIFICATIONS

To ensure the highest quality reproduction of your figures, please observe the following recommendations.

Resolution

Proper resolution is very important to preserve the quality of your printed figures. The following resolutions must be submitted for your files.

Please do not reduce your figures below a readable size to achieve higher resolution. These files will not be usable.

Format

TIFF or EPS files at the proper resolution (see above) will give the best results. If you cannot produce these files, do not send low-resolution conversions. With all figures, please also send a PDF that can be rasterized in the event your files are not usable.

Word, Excel, PS, and JPEG files can sometimes be acceptable alternatives. Send these along with a PDF if you cannot achieve the proper results in TIFF or EPS format. For graphs and charts, do not use patterned fills. Solid tones or colors are recommended instead.

Color Space

Figures should be saved as CMYK, not RGB. Files submitted in RGB will be converted to CMYK, and significant color shift may occur.

Font

Files other than TIFF or JPEG must be saved with fonts embedded. Acceptable fonts include Helvetica, Times New Roman, Symbol, Mathematical PI, and European PI. All other fonts may be replaced, resulting in data loss or realignment.

Other

Please send a PDF with all figure submissions and verify that the PDF and digital versions of your figures are identical. If you have any questions concerning the creation or submission of digital art, please visit the Dartmouth Journal Services Web site at <http://www.dartmouthjournals.com/digart.html> or send an e-mail to perio@dartmouthjournals.com.

UNITS OF MEASUREMENT

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

STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects or that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration

of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless express written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

FOOTNOTES

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

IDENTIFICATION OF PRODUCTS

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

REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

Peer Review

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

Copyright

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

Reprints

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

Web Uploading Policies and Instructions

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

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

PREPARING AND FORMATTING ELECTRONIC MANUSCRIPTS

Text file: Submission of manuscripts must be in Microsoft Word (.doc). This applies to both Windows and Macintosh platforms. If you are using any other word processing program, you must save the text file as .rtf.

Use basic fonts such as Arial, Courier, Times, or Times New Roman. Special or mathematical characters and Greek letters that are not on a standard keyboard must be created using the Symbol font.

Tables: The system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

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

Figures and illustrations: To prevent problems during the review process, figures and illustrations should be submitted only in the following formats:

EPS or TIFF, and at the highest resolution possible (at least 600 dpi for CMYK or halftones [grayscale mode] and 1,000 dpi for line art [bitmap mode]). Any other format might not be readable by a reviewer. Illustrations and graphics for revised manuscripts should be submitted in EPS or TIFF only.

Submit only one file per figure (combine and label panels). If panels are in different formats, save the entire file at the highest applicable resolution (see page 6). Save figures and illustrations with clear and simple file names, such as "Figure 1.tif" or "Fig1.tif." File names should match the labeling that appears in the legends in the text document.

SUBMITTING

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

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

Author Center: To start the submission process, go to the Author Center and click "Click here to submit a new manuscript." The following are explanations of the 7 steps required to submit a manuscript:

Screen 1 – Type, Title, & Abstract. Select a manuscript type from the pull-down menu. Enter the title, running head, and abstract for your manuscript in the appropriate boxes. You can either copy-and paste your information from your manuscript text file into the box or type it directly into the box. Use the "Special Characters" button for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. For example, when you click on the lowercase alpha, the appropriate code for the character appears

where your cursor was placed on the previous screen. You can also use the “Preview” button to make sure all the codes are placed in the correct locations. If you are submitting a manuscript that does not require an abstract, please type “N/A” in the abstract box.

Click “Next” when you are finished with this screen.

Screen 2 – Attributes. Enter a minimum of 3 or a maximum of 6 key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, into the box. You can either copy-and-paste the key words from your manuscript text file into the box or type them directly into the box. Use the “Special Characters” button for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. Click “Next” when you are finished with this screen or “Previous” to return to the previous screen.

Screen 3 – Authors & Institutions. Your name and institution should be completed and located at the top of the page. Click “Edit” if you need to make any changes to your information. Once your information is correct, you may add co-authors to the paper. Fill in the information under “Add a New Author” for each co-author. After typing in an e-mail address, you may search to see if that person’s information is already in the database by clicking “Find.” If an e-mail is matched, the information for that author will be displayed. You may make any necessary changes to the institutional information and click “Add to My Authors” to add this author to your paper. If an incorrect author is found, click the “Clear” button to search again. If a match is not found, fill in the required information and click “Add to My Authors.” If a specific author has more than one affiliation, follow the link at the bottom of the “Add a New Author” box to add more affiliations. You must click the “+ Add” button for each affiliation. Make sure to click the “Save” checkmark before closing the “Add More Affiliations” screen. Once all authors have been added to the manuscript, click “Next” to proceed to the next screen or “Previous” to return to the previous screen.

Please note that once the *Journal of Periodontology* has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form.

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

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

In the boxes provided, fill in the total number of figures and tables. If there are no figures or tables in your manuscript, please enter “0” in the appropriate box. Your word count should also be entered in this area. Be sure to read the submission statement and select “yes” from the pull-down menu.

The *Journal of Periodontology* also requires the signatures of all authors on the conflict of interest and financial disclosure form as part of the submission process. If these forms were not uploaded in the previous cover letter area, they may be e-mailed to bethanne@perio.org or faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator). You must check the box next to this explanation to acknowledge that you have read it and will provide conflict of interest and financial disclosure forms for each author. This form can be found on JOP Manuscript Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper righthand corner under “Instructions & Forms.”

Click “Next” to proceed to the next screen or “Previous” to return to the previous screen.

Screen 6 – File Upload. When you upload your manuscript in Microsoft Word format (.doc), the file will automatically be converted to both .PDF and HTML formats. Any figure or illustration will also be converted to .PDF and HTML. A .PDF and HTML proof will be created, combining your document and images. Follow steps 1 through 4 to upload your manuscript files:

1. Browse to find the desired file.
2. Select the file designation: image file (includes color and grayscale figures; color and black & white line art); main document (includes title page, abstract, key words, text, footnotes, acknowledgments, references, figure legends, and tables); or supplemental file (multimedia or other necessary documents).
3. You may upload as many as 5 files at a time. Repeat steps 1 and 2 for each file.
4. Click "Upload Files." You will see a "file details" window for each file that you have uploaded. On this screen, you are able to write a file tag or caption (if it is an image). Please note that if you have uploaded an image in EPS, TIFF, or JPEG format, it is recommended to place "Fig. 1, Fig.2," etc. in the captions area for ease of viewing. Once you have done this, click "Save."

You will be brought back to the File Upload (Screen 6), where you can continue uploading files. When you have no additional files to upload, click "Next" to proceed to the final screen or "Previous" to return to the previous screen.

Screen 7 – Review & Submit. Please verify that all screens have been completed (a green checkmark will appear if all required information is completed). You must also preview your .PDF proof before submitting your manuscript. Click the .PDF button at the bottom of the page (Step 7) to preview your manuscript. An option to preview your submission in HTML is also available, but not required. After you have confirmed that all information is correct and have previewed your .PDF proof, click "Submit." Confirmation of your submission will be noted. Print your manuscript ID number. Please include this number on any correspondence you send to the editorial office.

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

FINALIZING SUBMISSION

If you did not upload a conflict of interest and financial disclosure form for each author during the online submission process, please fax these forms to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator).

CHECKING THE STATUS OF YOUR MANUSCRIPT

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

SUBMITTING REVISED MANUSCRIPTS

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

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

Screen 1 – View and Respond to Decision Letter. Here you will be able to view the decision letter and comments from the reviewers. In the box below, please place a detailed response to each reviewer comment for the original manuscript. Your response to reviewers should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.

Screens 2 – 5 – Please see the above explanations under “Submitting.”

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

Screen 7 – Please confirm that all information is correct and that you have previewed your .PDF proof before submitting. Once you have submitted your revised manuscript, you will receive a confirmation e-mail message from the system when your revised paper has been successfully uploaded and received in the editorial office.

MANUSCRIPTS ACCEPTED FOR PUBLICATION

If your manuscript is accepted for publication, all authors must complete a copyright form, which can be found at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio> under “Instructions & Forms” in the upper right-hand corner of the screen. A file containing

this form also accompanies the acceptance e-mail. Please fax this form to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator). You will be notified about a publication date by the Managing Editor.