

XIOMARA MONICA JOHANNA PALACIO MUÑOZ

***Estudo do reparo ósseo com uso do Biogran® em
levantamento da membrana do seio maxilar em coelhos.
Análise histológica e histométrica***

Araçatuba- SP

2017

XIOMARA MONICA JOHANNA PALACIO MUÑOZ

***Estudo do reparo ósseo com uso do Biogran® em
levantamento da membrana do seio maxilar em coelhos.
Análise histológica e histométrica***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia,
Campus de Araçatuba, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte
integrante dos requisitos para obtenção do título
de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação
em Odontologia, Área de concentração em
Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Adj. Idelmo Rangel Garcia
Junior

Araçatuba-SP
2017

®

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

P153e Palacio Muñoz, Xiomara Mónica Johanna.
Estudo do reparo ósseo com uso do Biogran® em levantamento da membrana do seio maxilar em coelhos : análise histológica e histométrica / Xiomara Mónica Johanna Palacio Muñoz. - Araçatuba, 2017
69 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Idelmo Rangel Garcia Junior

1. Materiais biocompatíveis 2. Substitutos ósseos 3. Coelhos 4. Osteogênese I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto
CRB-8/5550

*Dedicatória,
Agradecimentos
e Epígrafe*

Dedicatória

*À pessoa mais importante na minha existência, minha querida mãe (**Ana Lucía Muñoz Hoyos**), pelo maravilhoso exemplo de superação, pela formação que me proporcionou, pela dedicação com que me educou e pelo esforço para eu conseguir minha formação profissional. Você é meu maior tesouro, minha fortaleza, minha vida e posso dizer com segurança que não existe muitas mulheres com tanta garra como você. Obrigada pela confiança e pelo apoio sempre, você é minha inspiração. Te amo mamí.*

*À minha irmã (**Diana Gabriela Palacio**) com quem compartilhei todos os momentos da minha vida. Ela é minha companhia desde minha existência, quem celebra meus triunfos e chora minhas derrotas. Acho que nem pedindo a Deus me presentear com uma irmã como você, tivesse sido tão perfeita. Você é a maior herança que me deixaram nossos pais. Obrigada por me dar um sobrinho tão lindo (**Rafael**), que sem saber é minha fortaleza apesar da distância e adiantado agradeço pelo sobrinho/a que esta por chegar. Agradeço a Deus por ter você como irmã. Te amo.*

*À minha irmãzinha (**Diana Camila Palacio**), minha princesa, que com só 11 anos me proporciona muitas alegrias e não teria sido possível te ver crescer sem a ajuda da nossa mãe, aquela mulher que acolheu você nos seus braços desde seus 15 dias de nascida e sem medir esforços te fez hoje uma menina do bem. Te amo minha pequena.*

*Ao meu pai (**Jaime Palacio**) lembro-me do bom pai que o senhor foi quando eu era menininha, agradeço por ter me dado a vida e ainda caminhar comigo. Amo você padre.*

Ao meu esposo (Geovani de Carvalho) que chegou quase no final da minha caminhada neste ciclo chamado Doutorado, mas quem não é menos importante, pois passou comigo justamente uma das etapas mais difíceis. Agradeço sua paciência, seu apoio, sua compreensão e seu amor incondicional. Obrigada pela sua companhia e pelas palavras de alento, obrigada por cuidar de mim sempre, especialmente na doença. Hoje posso dizer... Só poderia ter sido você. Te amo

Dedico esta minha conquista a vocês, por compreender meu sacrifício ao permanecer longe de casa durante vários anos, por não estar perto nas datas especiais, mas sobretudo por entender quando não pude dar um abraço de conforto nos momentos difíceis e ser sua companhia nos momentos de doença. Eu mais que vocês, conheço a dor da solidão. Para vocês todos meus esforços.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente agradeço à Deus, pois sem sua mão colocada sobre mim este sonho não teria sido possível. Obrigada por cuidar de mim e de minha família, por me guiar nos bons momentos e me confortar nos piores momentos. Obrigada pela vida que o senhor me permitiu viver.

Aos meus familiares que torcem pelo meu sucesso, ainda estando longe sempre estão do meu lado me apoiando nas minhas escolhas.

Ao meu orientador, Prof. Adj. Idélmo Rangel García Júnior. Muito obrigada por aceitar me orientar, por responder meus e-mails ainda estando na Colômbia lutando pelo sonho chamado UNESP-Araçatuba. Agradeço desde sua recepção no primeiro dia até sua preocupação por minha adaptação nesse país. Obrigada por permitir aprender do seu lado nos seus cursos particulares no NEC, onde tive a oportunidade e a honra de acompanhar vários deles e o mais importante aprender do lado do senhor. Receba minha admiração e gratidão. Que Deus continue abençoando o senhor e sua família.

À minha querida Sabri (Sabrina Ferreira), um anjo que Deus me enviou desde o céu. Eu fico pensando o que seria de mim se Deus não tivesse colocado você no meu caminho. Eu não sei nem como começar pois não tenho palavras para expressar a importância que teve você na minha formação. Aprendi muito com você, obrigada pela disposição e pela paciência em me ensinar tudo o que precisei. Obrigada pelo apoio, pela colaboração na minha pesquisa, mas

obrigada mesmo pela sua amizade, por me acalmar nos momentos de angústia e me aportar um pouco de serenidade quando me sentia num labirinto sem saída, por me escutar sempre e ser meu lenço de lágrimas nos momentos difíceis, também valorizo muito sua confiança em mim ao me contar suas coisas pessoais, saiba que isso ficará sempre entre nós duas, pode contar sempre comigo. Receba minha admiração não só pela sua dedicação profissional, mas sim pela excelente pessoa, filha e amiga. Te amo. Deus abençoe você, sua mãe e toda sua família.

Ao Bill (William Ricardo Pires), meu grande amigo, outro anjo que Deus mandou para iluminar meu caminho. Foi mais que meu amigo, foi minha família em Araçatuba, obrigada amore pela amizade, lealdade, companheirismo, paciência e sobretudo pela companhia e convívio de todos os dias. Pessoa que esteve do meu lado em todos, absolutamente todos os momentos, bons e ruins, me presenteando com a sua companhia. Tenho grande admiração por você. Te amo muito e desejo que Deus abençoe sempre você e os seus.

À Caru (Ana Carulina Rezende), pelo acolhimento na minha chegada no Brasil, pela imensa paciência que teve ao me “ensinar” português, pela amizade, apoio, pelos momentos compartilhados. Te amo minha amiga.

Ao Andrezinho (André Luiz Fabris), a pessoa mais feliz e serena que conheço, gostaria muito aprender isso de você. Obrigada pelo acolhimento, companheirismo e preocupação de sempre.

*Ao querido Léo (**Leonardo Perez Faverani**), o que seria de nós sem você na Pós-Graduação? Eu não tenho essa resposta e só posso dizer que você é um apoio fundamental para todos nós estudantes da Pós. Muito obrigada pela ajuda e preocupação durante todo meu doutorado, você tem sido uma peça fundamental nesta minha caminhada. Saiba que admiro você pelo seu empenho, profissionalismo e pelo seu jeito como pessoa. Eu dificilmente conhecerei alguém igual você.*

*À Dirce (**Maria Dirce Colli Boatto**), obrigada pela dedicação e por toda a ajuda no processo laboratorial das minhas peças, sem seu compromisso eu não teria conseguido. Muito obrigada, você é uma pessoa muito especial.*

*À Odette (**Odette Beneti**) e toda sua família que me acolheram como um membro mais da família, agradeço cada momento compartilhado, todo o carinho e o cuidado que tiveram comigo como se fosse uma filha mais de vocês, minha eterna gratidão para minha família de Araçatuba, amo vocês,*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pela concessão da Bolsa de Doutorado durante todo o curso. Meus sinceros agradecimentos por promover o apoio financeiro necessário que viabilizou a realização deste sonho.*

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, por ser o instrumento para a realização da minha formação.

Ao Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, em especial aos queridos professores da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial, Profa. Ass. Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Profa. Ass. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi, Profa. Ass. Dra. Daniela Ponzoni e Prof. Adj. Osvaldo Magro Filho pela amizade, confiança, pelo bom convívio, pelo respeito e por todo aprendizado. Recebam meu carinho e admiração.

As queridas funcionárias Michele, Fran, Camila, Patrícia e Héliide que com muito carinho e respeito nos apoiaram durante todo o curso. Obrigada por toda atenção e empenho.

Aos queridos funcionários do departamento de Cirurgia Marco Ianner e Paulo R Gratão pelo respeito e carinho.

Aos funcionários do Biotério, em especial aos funcionários Sr. Camilo e Sr. João Batista, que ofereceram suporte para a obtenção e cuidado dos animais utilizados neste trabalho.

Aos colegas da pós-graduação em Odontologia (Julio Cesar Silva de Oliveira, Rafael Almeida, Juliana Zorzi Coléte, Tarik O. Polo, Lamís Meorim Nogueira, Gabriel Mulinari, Julierme Ferreira, André Oliva, João Paulo Bonardi, Leonardo Freitas, Ricardo Mureb, Pedro

Ferreira, Aneliza Moraes). Pela nossa excelente convivência, pelo companheirismo durante esses anos de aprendizados, plantões e aulas. Que tenhamos muito sucesso em nossas vidas. Obrigada pelo carinho de sempre!

Ao Igor (Igor Mariotto Beneti), por ter aceitado fazer parte da minha banca e hoje se deslocar ate aqui, obrigada também pelos momentos que passamos na pós-graduação, pelos ensinamentos durante os plantões e pela amizade.

Ao Professor Francisley (Francisley Avila Souza) pelo aceite do convite para conformar esta banca, obrigada por este e muitos outros momentos vivenciados, agradeço o senhor pelos innumerados ensinamentos, pela paciência, pela confiança, pelo respeito e pela amizade.

À Professora Sônia (Sônia Panzarini) pela disposição desde o começo ao aceitar ser parte deste importante momento, saiba que tenho uma grande admiração e respeito pela senhora.

EPIGRAFE

"Se vi mais longe foi por estar de pé sobre ombros de gigantes."

Isaac Newton

Palacio-Munoz, XMJ. Estudo do reparo ósseo com uso do Biogran® em levantamento da membrana do seio maxilar em coelhos. Estudo experimental em coelhos com análise histológica e histométrica [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2017.

RESUMO

A perda dentária promove uma severa e irreversível reabsorção do osso alveolar, especialmente na região posterior da maxila, dificultando a reabilitação com implantes ósseointegrados e para conseguir um aumento em altura e espessura do osso maxilar, pode ser necessário o uso de biomateriais como substitutos ósseos. A proposta deste estudo foi avaliar o processo de ossificação com o uso do biomaterial Biogran® (Orthovita, Malvern, PA, EUA), à base de vidro bioativo, como uma opção de substituto ósseo em técnica de levantamento do assoalho do seio maxilar através de análises histológica e histométrica. Para tal, foram utilizados quinze coelhos Albinus machos brancos da raça Nova Zelandia pesando 3 a 4 Kg aproximadamente que foram divididos aleatoriamente em dois grupos segundo o material de enxerto do seio maxilar: Grupo osso autógeno e grupo vidro bioativo/Biogran®. Foi realizado o descolamento bilateral da membrana sinusal e realizado o enxerto com o Biogran® e osso autógeno respectivamente e os períodos estudados foram de 7, 15 e 40 dias para a análise histológica e histométrica. A porcentagem de neoformação óssea foi maior no grupo osso autógeno aos 7 e 15 dias, entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos aos 40 dias ($p>0,05$). Foi possível concluir que o vidro bioativo/ Biogran® é capaz de conduzir o processo de formação óssea de forma satisfatória, apresentando resultados semelhantes ao enxerto de osso autógeno e tornando-o uma alternativa viável para aumentar a altura óssea na região posterior maxilar.

Palavras Chaves: Materiais biocompatíveis, substitutos ósseos, coelhos, osteogênese.

Palacio-Munoz, XMJ. Study of bone repair using Biogran® in elevation of maxillary sinus membrane in rabbits. Experimental study in rabbits with histological and histometric analysis [thesis]. Araçatuba: Dental School, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, São Paulo; 2017.

ABSTRACT

The dental loss promotes a severe and irreversible reabsorption of the alveolar bone, especially in the posterior region of the maxilla, making it difficult to rehabilitate with osseointegrated implants and to achieve an increase in height and thickness of the maxillary bone, it may be necessary to use biomaterials as bone substitutes. The purpose of this study was to evaluate the ossification process using Biogran® (Orthovita, Malvern, PA, USA) bioactive glass based biomaterial as a bone substitute option in the technique of lifting the floor of the maxillary sinus through histological and histometric analyzes. For this purpose, fifteen white New Zealand Albinus male rabbits weighing approximately 3 to 4 kg were randomly divided into two groups according to the maxillary sinus graft material: Autogenous bone group and Bioactive glass/ Biogran® glass group. Bilateral detachment of the sinus membrane was performed and the graft was performed with Biogran® and autogenous bone respectively and the periods studied were 7, 15 and 40 days for histological and histometric analysis. The percentage of new bone formation was higher in the autogenous bone group at 7 and 15 days, however, there was no statistical difference between groups at 40 days ($p > 0.05$). It was possible to conclude that BioGran®/bioactive glass is capable of conducting the bone formation process satisfactorily, presenting results similar to the autogenous bone graft and making it a viable alternative to increase bone height in the maxillary posterior region.

Key words: Biocompatible materials, bone substitutes, rabbits, osteogenesis.

Listas e Sumário

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Procedimento cirúrgico de divulsão da membrana sinusal e enxerto previa tricotomia e anti-sepsia com PVPI, A: incisão linear sobre o dorso nasal, B: descolamento e exposição da área, C: delimitação das janelas ósseas com trefina, D: osteotomia com broca esférica, E: exposição da membrana sinusal íntegra, F: divulsão da membrana sinusal, G: preenchimento do seio maxilar com osso autógeno, H: preenchimento do seio maxilar com biomaterial, I: sutura da ferida cirúrgica_____44

Figura 2: Seleção da região para análise histomorfométrica; A: extensão imaginária do osso cortical pré-existente da margem da janela; B: região central; C: região da membrana _____45

Figura 3: Grupo osso autógeno, 7 dias _____46

Figura 4: Grupo osso autógeno, 15 dias _____47

Figura 5: Grupo Osso autógeno, 40 dias _____48

Figura 6: Grupo Vidro Bioativo 7 dias _____49

Figura 7: Grupo Vidro Bioativo, 15 dias _____50

Figura 8: Grupo Vidro Bioativo, 40 dias _____51

Figura 9: Gráficos de porcentagem de tecido mole _____52

Figura 10: Gráficos de porcentagem de osso _____53

Figura 11: Gráficos de porcentagem de Biomaterial _____54

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1:</i> Porcentagem de tecido conjuntivo – Valores (%)	55
<i>Tabela 2:</i> Porcentagem de osso – Valores (%)	55
<i>Tabela 3:</i> Porcentagem de biomaterial – Valores (%)	56

LISTA DE ABREVIATURAS

VB	Vidro bioativo
BG	Biogran®
PVPI	Polivinil pirrolidona iodo
SA	Subantral
COBEA	Comitê Brasileiro de Experimentação Animal
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
N	Número
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
JPEG	Joint Photographics Experts Group
NIH	National Institutes of Health
DBA	Diaminobenzidina
ANOVA	Análise de Variância
FOA UNESP	Faculdade de Odontologia Araçatuba- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
KG	Quilograma.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	20
II. PROPOSIÇÃO	24
III. MATERIAIS E MÉTODOS	25
<i>Delineamento Experimental</i>	<i>25</i>
<i>Procedimento Cirúrgico</i>	<i>26</i>
<i>Elevação da membrana do seio maxilar</i>	<i>27</i>
<i>Eutanásia e Coleta do Material</i>	<i>28</i>
<i>Preparo das peças</i>	<i>29</i>
<i>Análise Histológica e Histométrica</i>	<i>30</i>
<i>Análise Estatística</i>	<i>30</i>
IV. RESULTADOS	32
<i>Análise histológica</i>	<i>32</i>
<i>Análise histométrica</i>	<i>33</i>
V. DISCUSSÃO	34
VI. CONCLUSÃO	36
REFERENCIAS	37
<i>Figuras e Tabelas</i>	<i>43</i>
Anexo I- Comité de Ética.....	57
Anexo II - Normas IJOMS.....	58

***Estudo do reparo osseo com uso do Biogran® em levantamento da
membrana do seio maxilar em coelhos. Análise histológica e
histométrica***

I. INTRODUÇÃO

A perda dentária promove uma severa e irreversível reabsorção do osso alveolar^{1,2}, especialmente na região posterior da maxila, onde a altura que se prolonga do assoalho do seio maxilar até a crista alveolar diminui^{1,3,4}.

A ampliação das câmaras sinusais ou o aumento da pneumatização do seio maxilar são frequentemente observados na clínica em pacientes que foram submetidos a extrações de dentes posteriores em maxila e processos inflamatórios^{5,6,7}.

Para reverter a atrofia óssea em região posterior de maxila, várias técnicas foram desenvolvidas ao longo de muitos anos para aumentar o volume e a altura do osso, e, assim promover a estabilidade dos implantes endósseos^{1,3,4}. Diversas pesquisas: Boyne *et al* (1980)¹, Wood RM *et al* (1988)⁴, Raghoobar, GM *et al* (1993)⁶, Moy PK (1993)¹⁷, Rickert D *et al* (2012)⁴⁴, Pereira RDS *et al* (2017)⁵¹, têm sido desenvolvidas com o intuito de reabilitar a região do seio maxilar por meio da inserção de diferentes materiais de enxerto, permitindo o aumento da altura e espessura óssea e favorecendo a instalação de implantes¹.

O Primeiro a descrever a técnica de levantamento da membrana do assoalho do seio maxilar foi Boyne *et al*. (1980)⁵. O procedimento teria como objetivo elevar a mucosa sinusal interpondo entre a mucosa e o assoalho da maxila enxertos ósseos, estes associados ou não a outros materiais osteocondutores. Com esse procedimento esperava-se que houvesse formação óssea suficiente para permitir a utilização de implantes osseointegráveis. O osso autógeno tem sido utilizado com sucesso como material de enxerto, sendo considerado o melhor material para cirurgias de reconstrução óssea^{1,3,8}. O osso usado para enxerto pode ser obtido a partir de áreas intra-orais como o mento, túber da maxila e a região retromolar ou sítios extrabuciais principalmente da crista ilíaca e calota craniana^{9,10,11,12,13}.

Estudos têm demonstrado que os enxertos ósseos autógenos têm altura adequada de rebordo alveolar mantida de 5 a 10 anos após a colocação inicial (Misch, 1987)⁸. No entanto, a coleta de osso autógeno requer uma cirurgia extra na área doadora que traz consigo aumento da morbidade^{14,15,16}. Quando coletado a partir de sítios intrabuciais, nem sempre fornecem a quantidade de material necessária para a realização do enxerto, como em casos de grandes reconstruções de maxila atrófica^{17,18}. Deste modo, existe a necessidade de um substituto ósseo que seja biocompatível, reabsorvível e rapidamente substituído por tecido ósseo neoformado^{19,20,21,22,23,24}.

Os enxertos ósseos podem ser classificados em autógenos, alógenos ou xenogenos e como substitutos, os materiais aloplásticos. No entanto, os melhores resultados foram relatados com o osso autógeno, pois é o único que possui propriedades de osteogênese, osteoindução e osteocondução, além de não desencadear uma resposta imune específica, tornando-o um material de enxertia ideal⁵⁰.

Entre os materiais aloplásticos, está o vidro Bioativo (VB), uma cerâmica caracterizada por sua função osteocondutora e osteoestimulatória e por ter propriedade de adesão óssea, além de induzir a neoformação de cemento e formação de novas inserções²⁵.

Uma variedade de materiais de enxerto e substitutos ósseos foram colocados em defeitos ósseos, com objetivo de facilitar e/ou promover a regeneração óssea. Os tipos de interação entre tecido e o substituto ósseo são dependentes do tipo de material. Mais recentemente, o desenvolvimento de materiais considerados bioativos e biodegradáveis vem sendo enfatizado já que, além de substituir tecidos traumatizados, estes materiais também podem propiciar a recuperação do tecido danificado através da atuação em metabolismos intra e extracelulares, responsáveis pela reprodução celular e propagação dos tecidos em crescimento. A bioatividade de materiais foi inicialmente descrita para as biocerâmicas (hidroxiapatita, vidros bioativos, etc.) (Hench, 1991)²⁶, e foi associada à capacidade de materiais se ligarem, ou aderirem a tecidos

vivos. Quando são utilizados materiais ditos inertes no corpo, como o silicone, o polimetacrilato de metila, ouro, platina, e outros, há a formação de uma fina camada fibrosa ao redor do material que impede uma adesão entre as partículas do material e o tecido receptor. No entanto, a obtenção desta adesão é importante em materiais usados com o objetivo de substituir o tecido ósseo.

Partículas de VB atuam através da formação de uma união química com os tecidos circundantes^{27,28}. Além de serem osteocondutoras^{29,30,32}, as partículas de VB demonstraram um efeito osteoestimulador^{31,32,29,30,33}. Esta propriedade permite que novo tecido ósseo se forme no interior das partículas sem ligação ao osso pré-existente do local cirúrgico³². As propriedades osteocondutora e osteoestimuladora são devidos a uma série de reações após a implantação e o contato das partículas com fluidos de tecidos³². No entanto, períodos de reparo prolongados podem ser necessários para permitir a completa reabsorção e substituição das partículas de VB por osso³⁴.

Alguns estudos clínicos indicaram um efeito benéfico do uso do VB no tratamento de defeitos periodontais infra-ósseos^{35,36,37}. Resultados satisfatórios com o emprego do VB no tratamento de defeitos ósseos periodontais e defeitos de furca também foram observados em estudos histológicos^{38,39}.

O biomaterial usado neste trabalho foi o Biogran® (Orthovita, Malvern, PA, EUA) que é um composto de partículas bioativas, usado para enxerto ósseo, sintético e reabsorvível que há sido utilizado em alguns estudos experimentais e clínicos para o tratamento de diferentes tipos de defeitos ósseos, e para a formação de osso em combinação com os implantes em procedimentos de elevação da membrana do seio maxilar^{29,33,34,40,41}. Está composto por um núcleo de sílica interno rodeado por um envoltório de fosfato de cálcio. Um processo de fabricação patenteado assegura que os grânulos tenham um diâmetro de 300-350 µm (US mesh 50-45).

Seu mecanismo de ação consiste numa troca iônica interfacial entre as partículas de biovidros e os fluidos dos tecidos vizinhos que resulta na formação de uma sílica gel, a qual é coberta rapidamente por uma camada rica em cálcio-fósforo o qual é incorporado a um composto orgânico: colágeno, produzindo dissolução do vidro dando passo a formação óssea^{33,34}

II. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o processo de ossificação com o uso do biomaterial Biogran® (Orthovita, Malvern, PA, EUA), à base de biovidro, como uma opção de substituto ósseo para técnicas de enxerto em levantamento do assoalho do seio maxilar através de análises histológica e histométrica.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Foram utilizados para a realização deste estudo quinze coelhos da raça Nova Zelândia, variação “*albinus*”, machos, adultos, com idade aproximada de 5 meses e peso corporal entre 3 a 4 Kg. Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA, UNESP em gaiolas individuais, em ambiente climatizado, e alimentados com ração sólida padrão (Ração Procoelho, Primor®, Jaguaré, São Paulo, Brasil) e água “*ad Libitum*”, durante todo o experimento. Este estudo foi realizado de acordo com os princípios éticos para a experimentação animal, adotados pelo colégio brasileiro de experimentação animal (COBEA). Foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da FOA-UNESP (2014-00677) (Anexo 1).

Os animais tiveram os seios maxilares acessados bilateralmente e foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos experimentais:

-Grupo Osso Autógeno (GOA): após o procedimento de elevação da membrana sinusal o seio maxilar foi preenchido por osso autógeno coletado da tibia (n=15 seios maxilares).

-Grupo Vidro Bioativo/Biogran®(GVB): após o procedimento de elevação da membrana sinusal o seio maxilar foi preenchido com partículas granuladas de Biogran®: VB (n=15 seios maxilares)

Procedimento Cirúrgico

Inicialmente os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de 8 horas. Foi realizada administração via intramuscular de cloridrato Ketamina a 1% (Vetaset® – Fort Dodge, Saúde Animal LTDA, Campinas, São Paulo, Brasil), na dose de 10mg/Kg, e do cloridrato de xilazina a 2% (Dopaser® – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), 5mg/Kg para obtenção de efeito anestésico. Também foi realizada uma complementação anestésica com infiltração de solução de cloridrato de Mepivacaína a 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepiadre 100®, DFL LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) na dosagem de 0,3 ml/Kg na linha mediana do dorso nasal, para efeito anestésico e hemostático.

Obtenção de enxerto de osso autógeno

Foi feita uma incisão linear com aproximadamente 4 cm na direção do eixo longo da metáfise tibial após tricotomia manual e anti-sepsia pré-operatória prévia na tíbia direita com fricção de gaze embebida em 10% de Polyvinyl Pyrrolidone Iodine degermante, com 1% Iodo activo (PVP-I 10% Riodeine®, Rioquímica, São José do Rio Preto) associado à PVPI tópico (10% PVP-I aquoso, com 1% de iodo ativo, Riodeine®, Rioquímica, São José do Rio Preto). Então, o tecido mole que sobrepõe a região foi elevado em espessura total, expondo o tecido osseo e com auxílio de um raspador de osso, foram coletadas amostras para o preenchimento subsequente do seio maxilar. Quando todas as amostras foram coletadas, a aba cirúrgica foi reposicionada e suturada em camadas, a sutura usada foi fio Poliglactina 910 5-0 (Vicryl 5-0®, Ethicon, Johnson&Johnson, São José dos Campos, Brasil) por pontos interrompidos simples na região mais interna e com Nylon (Ethilon™ 4-0) pontos interrompidos simples na pele.

Elevação da membrana do seio maxilar

Após prévia tricotomia manual e antissepsia pré-operatória no dorso nasal por fricção de gaze embebida em Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante a 10%, com 1% de iodo ativo (PVP-I 10%, Riodeine®, Rioquímica, São José do Rio Preto) associado ao Polivinil Pirrolidona Iodo Tópico a 10%, com 1% de iodo ativo (PVP-I 10%, Riodeine®, Rioquímica, São José do Rio Preto), o osso nasal foi acessado. O protocolo cirúrgico utilizado para o acesso a cavidade sinusal do animal foi o estabelecido por Asai, Shimizu e Ooya (2002). Com o auxílio de uma lâmina de bisturi número 15C (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão), montada em cabo de bisturi número 3 (Hu-Friedy®, German), uma incisão linear de 5 cm foi feita na linha mediana do dorso nasal (Figura 1A). A pele e o periósteo foram cuidadosamente descolados e devidamente afastados com um descolador tipo Molt (Hu-Friedy®, German) o suficiente para a exposição do osso nasal e a da sutura nasoincisa (Figura 1B). Após exposição, uma janela circular de 5 mm de diâmetro foi confeccionada bilateralmente a linha mediana do dorso nasal, aproximadamente a 2 cm anterior a sutura nasofrontal e a 1 cm lateralmente a linha média. Este procedimento foi realizado sobre abundante irrigação com solução salina fisiológica estéril a 0.9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil), com a utilização de uma broca trefina de 5 mm de diâmetro (Neodent®, Curitiba, Paraná, Brasil) para a demarcação da área (Figura 1C) e uma broca diamantada esférica nº 1011 (KG Sorensen®, Cotia, São Paulo, Brasil) para a finalização das osteotomias, ambas montada em contra-ângulo redutor de 20:1 (Kavo® do Brasil, Joinville, Brasil), que por sua vez estava conectado a um motor elétrico rotação controlada (modelo BLM 600 plus, Driller®, Jaguaré, São Paulo, Brasil) a uma velocidade de 1500 rpm (Figura 1D). A membrana sinusal foi cuidadosamente exposta, descolada e elevada com curetas especiais (Figura 1F) (Neodent®, Curitiba, Paraná, Brasil) para garantir que sua integridade física fosse mantida. Com o auxílio das mesmas curetas, o seio maxilar esquerdo foi parcialmente preenchido com

Biogran® (Figura 1H), e o lado contralateral com osso autógeno (Figura 1G). Finalizado o enxerto, o retalho total foi reposicionado, a sutura foi realizada com fio Poliglactina 910 5-0 (Vicryl 5-0®, Ethicon, Johnson&Johnson, São José dos Campos, Brasil) por pontos interrompidos simples na região mais interna e com Nylon 4-0 na pele.(Figura 1I)

No pós-operatório imediato os animais receberam administração intramuscular de pentabiótico (Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil) na dosagem de 0,1ml/Kg e de dipirona sódica (Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1mg/Kg/dia, sendo a primeira dose no pós-operatório imediato e as demais nos 2 dias consecutivos. Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA, UNESP em gaiolas individuais, em ambiente climatizado, e alimentados com ração sólida padrão (Ração Procoelho, Primor®, Jaguaré, São Paulo, 28 Brasil) e água “*ad libitum*”, até a realização da eutanásia animal nos períodos de 7, 15 e 40 dias pós-operatórios.

Eutanásia e Coleta do Material

A sedação foi realizada pela administração via intramuscular de Cloridrato de Ketamina a 1% (Vetaset® – Fort Dodge, Saúde Animal LTDA, Campinas, São Paulo, Brasil Farmacêuticos LTDA, Campinas, Brasil), na dosagem de 10mg/Kg, e do Cloridrato de Xilazina a 2% (Dopaser® – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), 5 mg/Kg. A eutanásia foi por meio de perfusão no ventrículo esquerdo de 150 ml de solução salina fisiológica a 0.9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil) por 10 minutos, seguida de 1800 ml de Formaldeído 4% (Paraformaldeído 4% - Acros Organics, Nova Jersey, EUA) durante 40 minutos, usando uma bomba perfusora peristáltica (Masterflex® Ls, Cole – Parmer Instrument Company, EUA) na velocidade de 45ml/min. Os períodos de eutanásia

foram aos 7, 15 e 40 dias após o procedimento de elevação da membrana do seio maxilar. Após a eutanásia, o complexo nasal incluindo as cavidades sinusais foi removido em bloco e todo o tecido mole superficial eliminado, deixando apenas o periósteo.

Preparo das peças

As peças foram fixadas em formol neutro a 10% tamponado (Reagentes Analíticos®, Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltda, Catanduva, SP, Brasil) e sofreram descalcificação em EDTA 5% (Ácido Etileno Diamino Tetracético, Merck) dissolvido em água ionizada que foi purificada em um sistema MiliQ, com trocas periódicas em um período de 30 a 60 dias, à temperatura ambiente. Em seguida o material foi desidratado utilizando uma sequência crescente e gradativa de alcoóis 70%, 90%, 95% e 100%, com troca de solução a cada 3 dias, em agitador orbital (KLine CT – 150®, Cientec – Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil) em todos os dias durante 4 horas. Após estas etapas, realizou-se diafanização com xilol para posterior inclusão em parafina para obtenção de corte com 6 µm de espessura montados em lâminas de vidro. Algumas lâminas foram separadas para a coloração em hematoxilina e eosina (HE Merck & Co., Inc., NJ, EUA).

Previamente à realização da análise histológica e histométrica, as amostras foram codificadas de maneira que somente o orientador conhecerá quais grupos pertenciam. Um único examinador realizou as análises e o mesmo desconhecia o respectivo grupo da secção.

Análise Histológica e Histométrica

As lâminas coradas foram fotografadas em lupa óptica (LeicaR[®] DMLB, Heerbrugg, Suíça) em aumento de 1,25X e microscópico óptico LeicaR[®] DMLB, Heerbrugg, Suíça) em aumento de 250X, acoplada a uma câmera de captação de imagem (LeicaR[®] DC 300F microsystems Ltda, Heerbrugg, Suíça) e conectado a um microcomputador Core i3 com um software analisador de imagens digitalizadas, Axio Vision 4.7.1[®] (Software de Processamento e Análise de Imagens, Carl Zeiss by Imaging Associates Ltd, Jena, Deutschland). As imagens digitalizadas foram gravadas em arquivos JPEG para serem analisadas. As imagens capturadas em 250X foram utilizadas para analisar a porcentagem de tecido ósseo. Para isso, três áreas de cada seio maxilar foram sistematicamente selecionadas da região da janela cirúrgica, da região central e da região adjacente à membrana sinusal. O cálculo da porcentagem óssea foi realizado utilizando a Grade de Merz. Uma grade de 100 pontos foi sobreposta a cada imagem e a diferenciação entre tecido ósseo foi realizada para cada ponto da grade. Os dados obtidos foram tabulados no Excel[®] para análise estatística.

As mesmas imagens foram utilizadas para análise histológica onde se buscou identificar as características do reparo ósseo e a qualidade da neoformação óssea em cada grupo experimental nos períodos de 7, 15 e 40 dias.

Análise Estatística

Todos os testes estatísticos foram aplicados no Programa estatístico Sigma Plot 12.3 (Exakt graphs and Data analysis, San Jose, CA, EUA). Inicialmente os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk o qual mostrou homogeneidade dos dados. Em seguida foi aplicado o

teste ANOVA 2 fatores (Grupos vs períodos), e para as interações que mostraram significância estatística, o pós teste Tukey foi aplicado. Para todos os testes, o nível de significância de 5% foi considerado.

IV. RESULTADOS

Análise histológica

Grupo experimental com enxerto de osso autógeno

Aos 7 dias, na área próxima ao defeito ósseo e membrana sinusal foi observada a presença de tecido conjuntivo e trabéculas ósseas recentemente formadas com numerosos osteoblastos e osteoclastos. Na região central observa-se tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e alguns remanescentes de coágulo se encontram ainda visíveis. (Figura 3)

Aos 15 dias, notou-se a presença de trabéculas ósseas com presença de osteocitos, muitos osteoblastos e atividade osteoclastica, na região central encontramos tecido conjuntivo e osso neoformado. Apresentam-se espaços intertrabeculares amplos. (Figura 4)

Aos 40 dias, revelou-se presença de trabéculas ósseas espessas configurando o processo final de ossificação e tecido adiposo vascularizado na região intertrabecular. (Figura 5)

Grupo experimental com enxerto de Vidro bioativo/ Biogran®

Aos 7 dias, na região próxima ao defeito ósseo e a membrana sinusal observamos tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, formação óssea mínima e presença de biomaterial, no centro do defeito é visível tecido conjuntivo e biomaterial. (Figura 6)

Aos 15 dias, na região próxima ao defeito e a membrana sinusal observamos trabéculas ósseas neoformadas com presença de osteocitos, abundante presença de osteoblastos e biomaterial, na região central é visível uma marcada presença de biomaterial. (Figura 7)

Aos 40 dias, na região próxima da membrana e o defeito ósseo observa-se trabéculas ósseas maduras com osteocitos, evidência

mínima de biomaterial, no centro do seio observamos poucas trabéculas ósseas imaturas com presença de osteoclastos e osteoblastos. (Figura 8)

Análise histométrica

Para a variável tecido conjuntivo, na análise intragrupos foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa no período 7 dias do Grupo Biomaterial comparado aos períodos 15 e 40 ($p < 0,05$). A partir dos 15 dias não teve diferença estatisticamente nas comparações ($p > 0,05$). No grupo osso autógeno não houve diferença entre os grupos 7 e 15 dias ($p > 0,05$) e estes valores foram maiores que aos 40 dias ($p < 0,05$). Na comparação dos grupos aos 7, 15 e 40 dias, ambos apresentaram a mesma quantidade de tecido conjuntivo ($p > 0,05$). (Gráficos 1, 1A, 1B, 1C, tabela 1)

Para a variável tecido ósseo, na análise intragrupos no grupo biomaterial houve menor formação de tecido ósseo aos 7 dias e aumentou aos 40 dias. ($p < 0,05$). Aos 15 dias não teve diferença estatisticamente quando comparado aos 7 dias ($p > 0,05$). No grupo osso autógeno não houve diferença entre 7, 15 dias e 40 dias ($p > 0,05$). Na comparação intergrupos, aos 7 e 15 dias, o grupo autógeno apresentou maior neoformação óssea quando comparado ao grupo Biogran ($p < 0,05$). Aos 40 dias, não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$). (Gráfico 2, 2A, 2B, 2C, tabela 2)

Para a variável biomaterial, estatisticamente, apresentou maior número de partículas aos 7 e 15 dias e reduziu aos 40 dias. Não diferiu na comparação entre 15 e 40 dias ($p < 0,05$). (Gráfico 3, 3A, tabela 3)

V. DISCUSSÃO

Na reabilitação da maxila posterior utilizando implantes osseointegrados a elevação do seio maxilar é fundamental e muitos biomateriais são usados para recuperar a altura do osso do seio maxilar assim como o uso do enxerto de ósseo autógeno^{42,43}. No entanto, o osso autógeno é o único que possui propriedades osteoindutoras e osteocondutoras, devido à presença de células osteoclasticas, células mesenquimais e fatores de crescimento⁴⁴.

Embora o uso de enxerto autógeno represente o procedimento padrão para reabilitação de maxilas, o VB resulta ser um biomaterial muito útil na melhoria de altura ossea maxilar, possui propriedades de osteocondução e tem sido usado em retrações apicais, alvéolos, defeitos periodontais e reconstruções orbitárias^{45,46}. Entre os vidros bioativos temos o Biogran® da Biomet 3i, composto por 45% Óxido de silício, 24.5% óxido de cálcio, 24.5% óxido de sódio e 6% óxido de fósforo (percentagem do peso) com partículas em um intervalo de 300 a 355µm, frequentemente usado e com vários estudos comprovando sua eficácia.

No estudo de Tadjoeidin, quem comparou o uso de Biogran® e osso autógeno em levantamento de seio maxilar em 3 pacientes com maxilas atróficas usando a técnica de maxila dividida sendo 42% de neoformação óssea no grupo osso autógeno e 39% de formação óssea no grupo Biogran® aos 15 meses⁴⁸; similar ao nosso estudo no último período, 63.58% e 40.80% respectivamente.

Não entanto, embora a formação óssea inicial observada histologicamente no grupo biogran® seja inferior ao grupo osso autógeno esta neoformação óssea não teve diferença aos 40 dias comparada e o processo de formação óssea foi encontrada em todos os períodos no grupo Biogran®; similar ao estudo de Furusawa⁴⁹ em 25 pacientes, nos qual usou Biogran® como substituto ósseo em seio maxilar, após 7 meses as

amostras indicaram formação óssea em todos os casos e uma similitude ao do tecido ósseo já presente antes da cirurgia⁴⁹.

Já Wheeler SL⁵², num estudo com metodologia similar em ovelhas, comparou 27 seios maxilares enxertados com osso autógeno e 27 seios maxilares com enxerto de VB e os resultados indicaram que o grupo autógeno apresentou maior neoformação óssea porém sem diferenças estatísticas entre os grupo, o mesmo comportamento que nosso estudo em coelhos.

Porém, Vivian RR⁵³ realizou um estudo com a nossa mesma metodologia em coelhos, dividido em 4 grupos: Bioss, Bioss+osso autógeno, biovidro e biovidro+osso autógeno e concluiu que o VB apresentou menos formação óssea que o grupo Bioss+osso autógeno, igual a nosso estudo, onde o grupo VB apresentou menor formação óssea nos primeiros períodos estudados, porém poderíamos atribuir este resultado a presença de osso autógeno associado a outro biomaterial como material de enxertia no seio maxilar.

Quando analisamos o processo de formação óssea observamos que tanto no grupo osso autógeno como no grupo vidro bioativo/Biogran[®] a porcentagem de tecido ósseo aumentou gradativamente, mas apresentando maior neoformação óssea no grupo osso autógeno aos 7 e 15 dias ($p < 0,05$) sendo que aos 40 dias, não houve diferença significativa entre os grupos.

VI. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que o vidro bioativo/Biogran® é capaz de conduzir o processo de formação óssea desejada; apresentando resultados semelhantes ao enxerto de osso autógeno aos 40 dias e tornando-o uma alternativa viável para aumentar a altura e espessura do seio maxilar.

REFERENCIAS

1. Boyne, P.J. and James, R.A. (1980) Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *Journal of Oral Surgery* 38: 613–616.
2. Keller, E.E., Van Roekel, N.B., Desjardins, R.P. & Tolman, D.E. (1987) Prosthetic-surgical reconstruction of the severely resorbed maxilla with iliac bone grafting and tissue-integrated prostheses. *International Journal of Oral and Maxillofacial implants* 2: 155–165.
3. Tatum, H. Jr (1986) Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dental Clinics of North America* 30: 207–229.
4. Wood, R.M. and Moore, D.L. (1988) Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 3: 209–214.
5. Boyne, P.J., Marx, R.E., Nevins, M., Triplett, G., Lazaro, E., Lilly, L.C., Alder, M. and Nummikoski, P. (1997) A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *International Journal of Periodontal and Restorative Dentistry* 17: 11–25.
6. Raghoobar, G.M., Brouwer, T.J., Reintsema, H. & Van Oort, R.P. (1993) Augmentation of the maxillary sinus floor with autogenous bone for the placement of endosseous implants: a preliminary report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 51: 1198–1203.
7. Smiler, D.G., Johnson, P.W., Lozada, J.L., Misch, C., Rosenlicht, J.L., Tatum, O.H. Jr & Wagner, J.R. (1992) Sinus lift grafts and endosseous implants Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dental Clinics of North America* 36: 151–188.
8. Misch, CE (1987) Maxillary sinus augmentation for endosteal implants: organized alternative treatment plans. *International Journal of Implantologia Oral* 4 : 49 - 58 .
9. Kent, JN & Block, MS (1989) Simultaneous maxillary sinus floor bone grafting and placement of hydroxylapatite-coated implants. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 47: 238 – 242.

10. Hirsch, JM & Ericsson, I. (1991) Maxillary sinus augmentation using mandibular bone grafts and simultaneous installation of implants. A surgical technique. Clin Oral Implants Res. 1991 Apr-Jun; 2(2):91-6.
11. Tidwell, JK, Blijdorp, PA, Stoelinga, PJW, Brouns, JB & Hinderks, F. (1992) Composite grafting of the maxillary sinus for placement of endosteal implants. A preliminary report of 48 patients. Int J Oral Maxillofac Surg. 1992 Aug;21(4):204-9.
12. Köndell, P.A., Nordenram, Å., Moberg, LE, Eliasson, S. & Nyberg, B. (1996) Reconstruction of the resorbed edentulous maxilla using autogenous rib grafts and osseointegrated implants. Clin Oral Implants Res. 1996 Sep; 7(3):286-90.
13. Lundgren, S., Moy, P., Johansson, C. & Nilsson, H. (1996) Augmentation of the maxillary sinus floor with particulated mandible: a histologic and histomorphometric study. Int J Oral Maxillofac Implants. 1996 Nov-Dec;11(6):760-6.
14. Kalk, Raghoobar, GM, Jansma, J. & Boering, G. (1996) Morbidity from iliac crest bone harvesting. J Oral Maxillofac Surg. 1996 Dec;54(12):1424-9; discussion 1430.
15. Wheeler, SL (1997) Sinus augmentation for dental implants: the use of alloplastic materials. J Oral Maxillofac Surg. 1997 Nov;55(11):1287-93.
16. Kaptein, MLA, Hoogstraten, J., Putter De, C., De Lange, GL & Blijdorp, PA (1998) Dental implants in the atrophic maxilla: measurements of patients' satisfaction and treatment experience. Clin Oral Implants Res. 1998 Oct;9(5):321-6.
17. Moy, PK, Lundgren, S. & Holmes, RE (1993) Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. J Oral Maxillofac Surg. 1993 Aug; 51(8):857-62.
18. Zinner, ID, Small SA (1996) Sinus lift graft: using the maxillary sinuses to suport implants. *Jornalof the American Dental Association* 13: 239 – 253.

19. Smiler, DG, Holmes, RE (1986) Sinus lift procedure using porous hydroxyapatite. A preliminary clinical report. *J Oral Implantol* 13 : 239 - 253 .
20. Hürzeler, MB, Kirsch, A., Ackermann, KL, Quinones, CR (1996) Reconstruction of the severely resorbed maxilla with dental implants in the augmented maxillary sinus: a 5-year clinical investigation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 Jul-Aug;11(4):466-75.
21. Wallace, SS , Froum, SJ & Tarnow, DP (1996) Histologic evaluation of a sinus elevation procedure: a clinical report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1996 Feb; 16(1):46-51.
22. Valentini, P. & Abensur, D. (1997) Maxillary sinus floor elevation for implant placement with demineralized freeze-dried bone and bovine bone (Bio-Oss): a clinical study of 20 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1997 Jun;17(3):232-41.
23. Lorenzetti, M., Mozzati, M., Campanino, PP and Valente, G. (1998) Bone augmentation of the inferior floor of the maxillary sinus with autogenous bone or composite bone grafts: a histologic-histomorphometric preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998 Jan-Feb;13(1):69-76.
24. Groeneveld EH, van den Bergh JP, Holzmann P, ten Bruggenkate CM, Tuinzing DB, Burger EH. Histomorphometrical analysis of bone formed in human maxillary sinus floor elevations grafted with OP-1 device, demineralized bone matrix or autogenous bone. Comparison with non-grafted sites in a series of case reports. *Clin Oral Implants Res*. 1999 Dec; 10(6):499-509.
25. Nasser-Neto B, Deliberador TM, Storrer CLM, Sousa AM, Campos EA, et al. O uso de vidro bioativo na terapia regenerativa: revisão de literatura. *RSBO*. 2008; 5 (2): 82-89.
26. Hench, L.L. - Bioceramics: from concept to clinic, *J.Am.Ceram. Soc.*, 74, n.7, p.1487-1510, (1991).

27. Hench LL, Splinter RJ , Allen WC , Greenlee TK . Bonding Mechanism at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research symposium* 1971; 2: 117 - 141.
- 28.Hench LL, Paschall HA. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *J Biomed Mater Res.* 1973; 7(3):25-42.
- 29.Furusawa T, Mizunuma K, Yamashita S, T Takahashi. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998 Sep-Oct;13(5):672-6.
- 30.Froum S, S Cho, Rosenberg E, Rohrer M, D Tarnow. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *J Periodontol.* 2002 Jan;73(1):94-102.
- 31.Norton MR, Wilson J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002 Mar-Apr;17(2):249-57.
32. Schepers E, De Clercq M, Ducheyne P, R Kempeneers. material em partículas de vidro bioactivo como um enchimento para lesões ósseas. *J Oral Rehabil* 1991; 18: 439 - 452.
33. Schepers EJ, Ducheyne P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *J Oral Rehabil.* 1997 Mar;24(3):171-81.
- 34.Cordioli G, C Mazzocco, Schepers E, Brugnolo E, Z Majzoub. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clin Oral Implants Res.* 2001 Jun; 12(3): 270-8.
- 35.Mengel R, Soffner M, Flores-de-Jacoby L. Bioabsorbable membrane and bioactive glass in the treatment of intrabony defects in patients with generalized aggressive periodontitis: results of 12-month clinical and radiological study. *J Periodontol.* 2003; 74(6):899-908.

36. Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol.* 1998; 69(6):698-709.
37. Lovelace TB, Mellonig JT, Meffert RM, Jones AA, Nummikoski PV, Cochran DL. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 1998; 69(9): 1.027-35.
38. Fetner AE, Hartigan MS, Low SB. Periodontal repair using Perioglas in nonhuman primates: clinical and histologic observations. *Compend Contin Educ Dent.* 1994; 15(7):932-9.
39. Karatzas S, Zavras A, Greenspan D, Amar S. Histologic observations of periodontal wound healing after treatment with PerioGlas in nonhuman primates. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19(5):489-99.
40. Schepers, E. , Barbier, L. & Ducheyne, P. (1998) Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998 Sep-Oct; 13(5):655-65.
41. Schepers, EJ, Ducheyne, P., Barbier, L. & Schepers, S. (1993) Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant Dent.* 1993 Fall;2(3):151-6.
42. Moy PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993; 51(8): 857–862.
43. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16(1): 23–33.
44. Rickert D, Slater JJ, Meijer HJ, Vissink A, Raghoobar GM. Maxillary sinus lift with solely autogenous bone compared to a combination of autogenous bone and growth factors or (solely) bone substitutes. A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012; 41(2):160–167.

45. Clozza E, Pea M, Cavalli F, Moimas L, Di Lenarda R, Biasotto M. Healing of fresh extraction sockets filled with bioactive glass particles: histological findings in humans. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014; 16(1): 145–153. [10.1111/j.1708–8208.2012.00463.
46. Thronsdon RR, Sexton SB. Grafting mandibular third molar extraction sites: a comparison of bioactive glass to a nongrafted site. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 94(4):413–419.
47. Moon JW¹, Sohn DS, Heo JU, Shin HI, Jung JK New bone formation in the maxillary sinus using peripheral venous blood alone. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011 Sep;69(9):2357-67.
48. Tadjoeidin ES¹, de Lange GL, Lyaruu DM, Kuiper L, Burger EH High concentrations of bioactive glass material (BioGran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Aug; 13(4):428.
49. Furusawa T, Mizunuma K. Osteoconductive properties and efficacy of reabsorbable bioactive glass as a bone-grafting biomaterial. *Implant Dent*. 1997 Verão; 6 (2): 93-101
50. Jung YS. Kim HJ. Choi SW, Kang JW, Cha IH. Regional thickness of parietal bone in Korean adults. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2003; 32(6):638-41.
51. Pereira RDS, Menezes JD, Bonardi JP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Histomorphometric and immunohistochemical assessment of RUNX2 and VEGF of Biogran™ and autogenous bone graft in human maxillary sinus bone augmentation: A prospective and randomized study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017 Oct; 19(5):867-875.
52. Wheeler SL. Sinus augmentation for dental implants: the use of alloplastic materials. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997 Nov;55(11):1287-93.
53. Vivian RR, Mecca CE, Bigueti CC, Rennó AC, Okamoto R, Cavenago BC, Duarte MH, Matsumoto MA. Experimental maxillary sinus augmentation using a highly bioactive glass ceramic. *J Mater Sci Mater Med*. 2016 Feb;27(2):41.

Figuras e Tabelas

Figuras

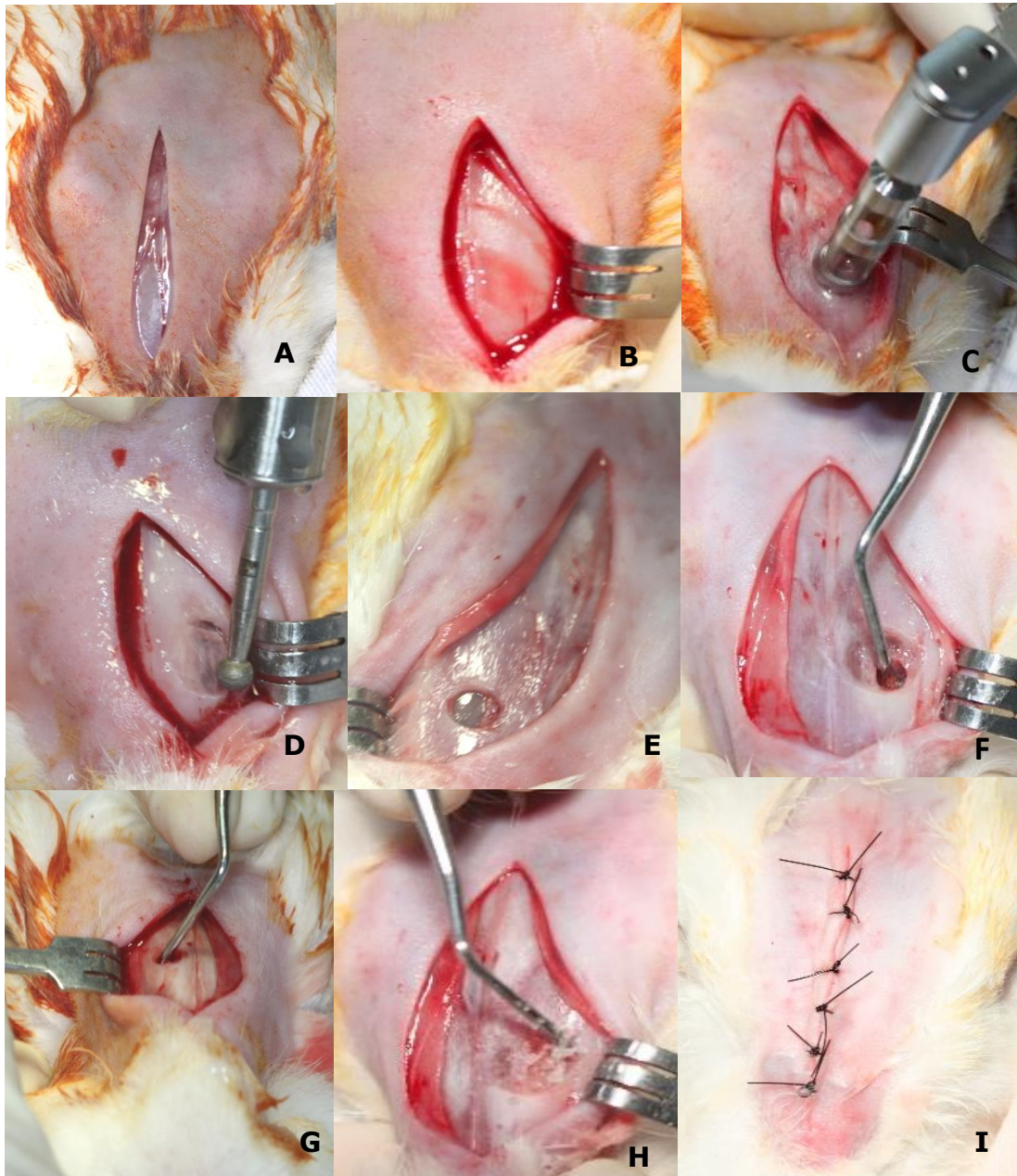


Figura 1: Procedimento cirúrgico de divulsão da membrana sinusal e enxerto, prévia tricotomia e anti-sepsia com PVPI, A: incisão linear sobre o dorso nasal, B: descolamento e exposição da área, C: delimitação das janelas ósseas com trefina, D: osteotomia com broca esférica, E: exposição da membrana sinusal íntegra, F: divulsão da membrana sinusal, G: preenchimento do seio maxilar com osso autógeno, H: preenchimento do seio maxilar com biomaterial, I: sutura da ferida cirúrgica.

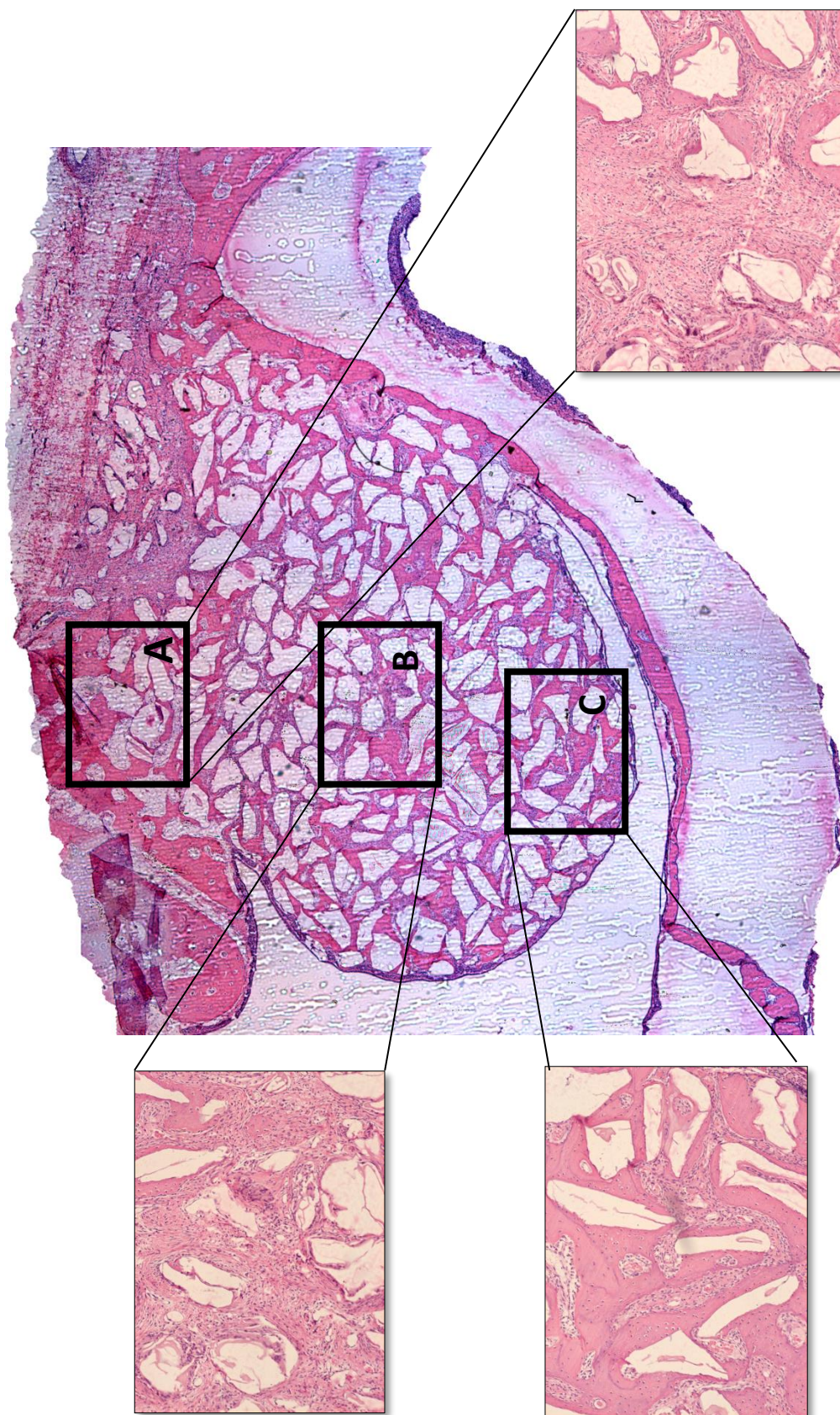


Figura 2: Região selecionada para análise histomorfométrica: A: extensões imaginárias do osso cortical pré-existente, na margem da janela; B: região central e C: região da membrana

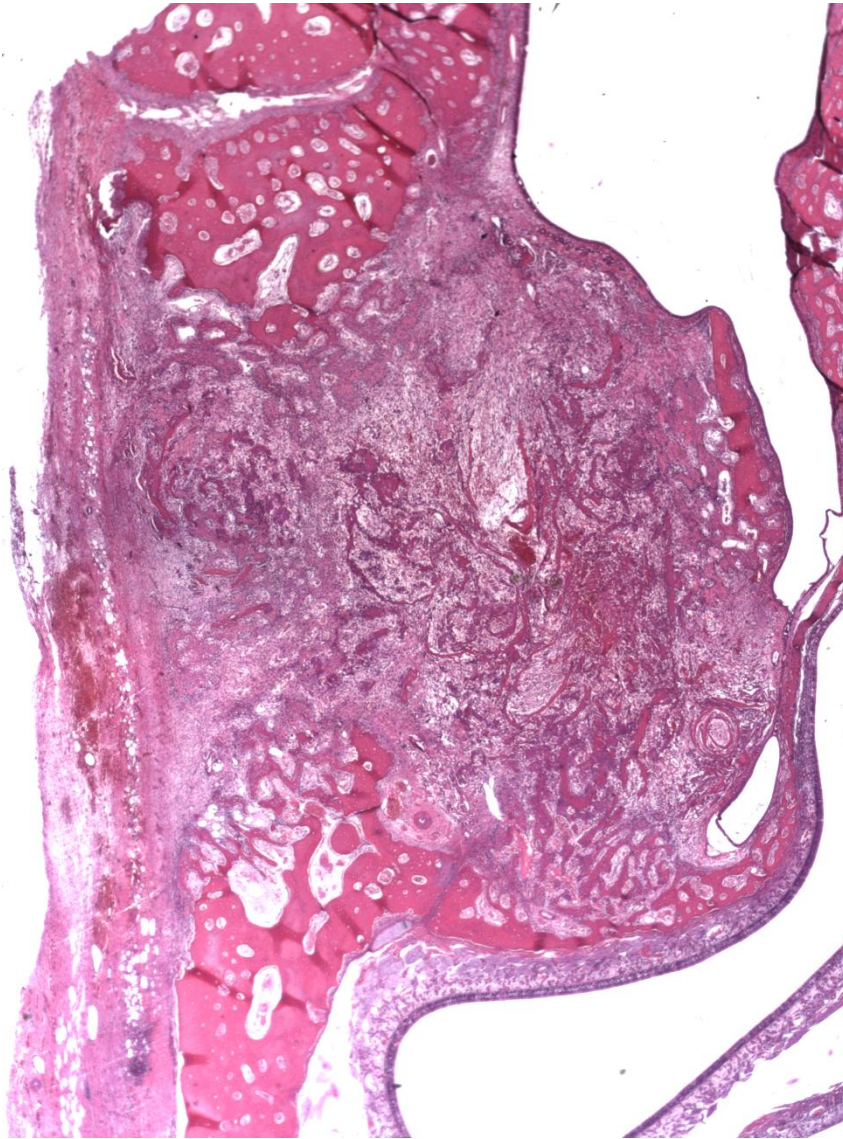
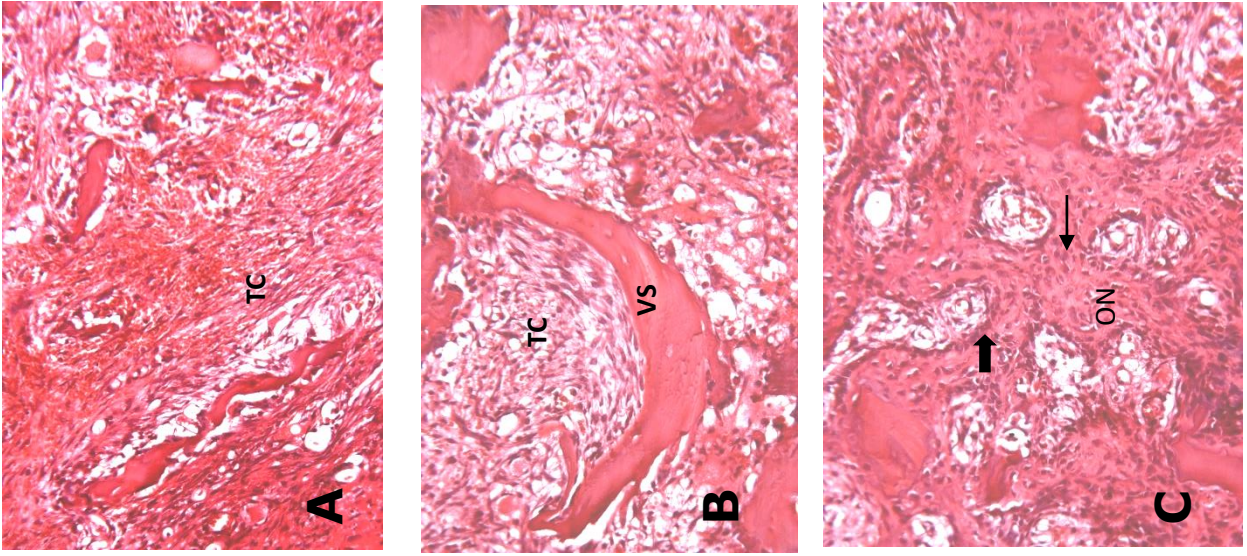


Figura 3: Grupo osso autógeno, 7 dias.

Corte (A) mostrando tecido conjuntivo (TC), corte (B) Tecido conjuntivo (TC) e vaso sanguíneo (VS) corte (C) ósso recentemente formado (ON) com presença de Osteocitos (setas finas) e osteoblastos (setas grossas).

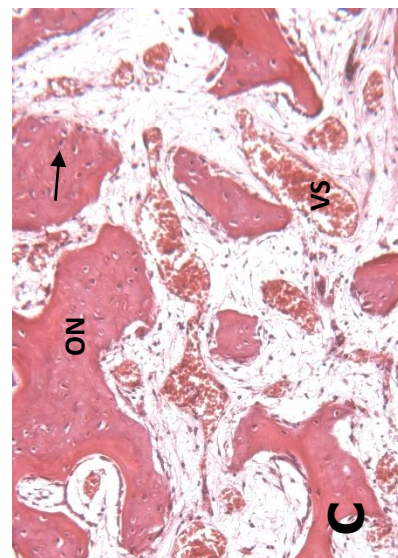
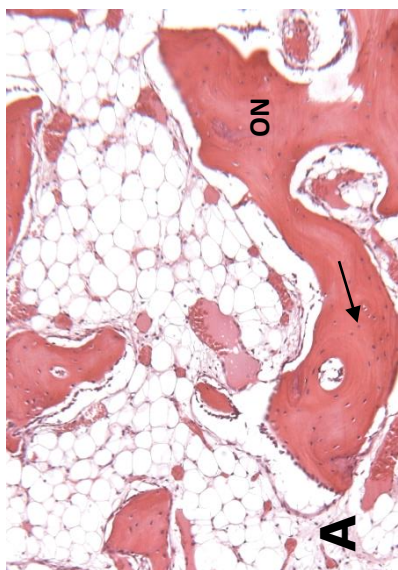


Figura 4: Grupo Osso autógeno, 15 dias

Corte (A) mostrando tecido ósseo neoformado (ON) e osteócito (seta fina), corte (B) Tecido conjuntivo (TC), tecido ósseo neoformado (ON), vaso sanguíneo (VS) e osteoblastos (seta grossa), corte (C) ósso neoformado (ON) com presença de osteócitos (setas finas) e vasos sanguíneos (VS).

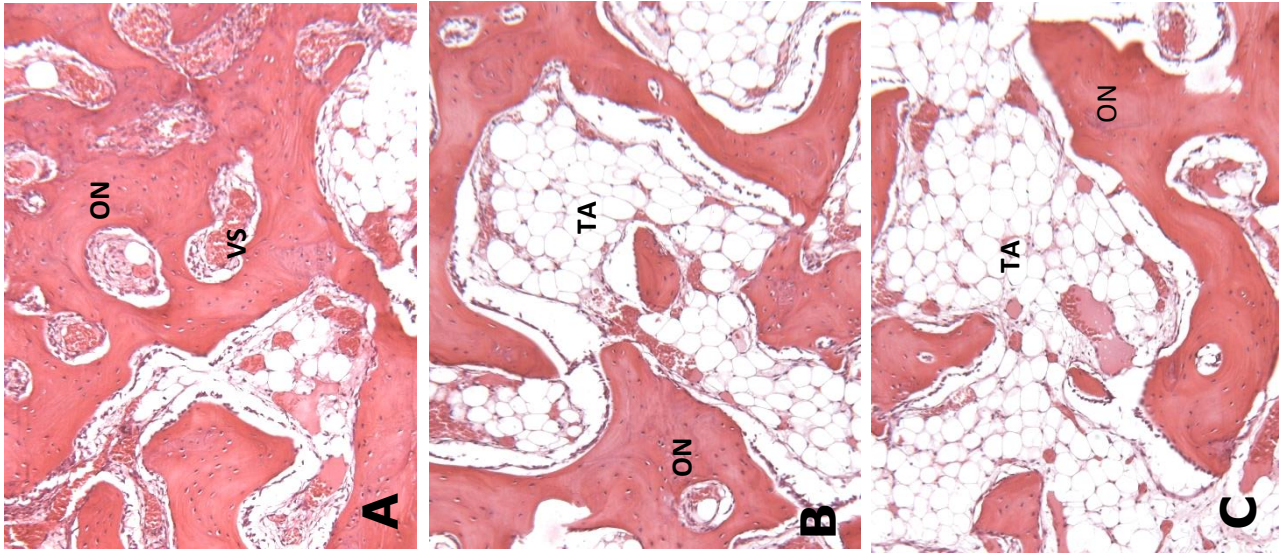


Figura 5: Grupo osso autógeno; 40 dias

Corte (A) mostrando tecido ósseo neoformado (ON) e vaso sanguíneo (VS), corte (B) Tecido adiposo vascularizado (TA), tecido ósseo neoformado (ON), corte (C) Tecido adiposo vascularizado (TA) e tecido ósseo neoformado (ON).

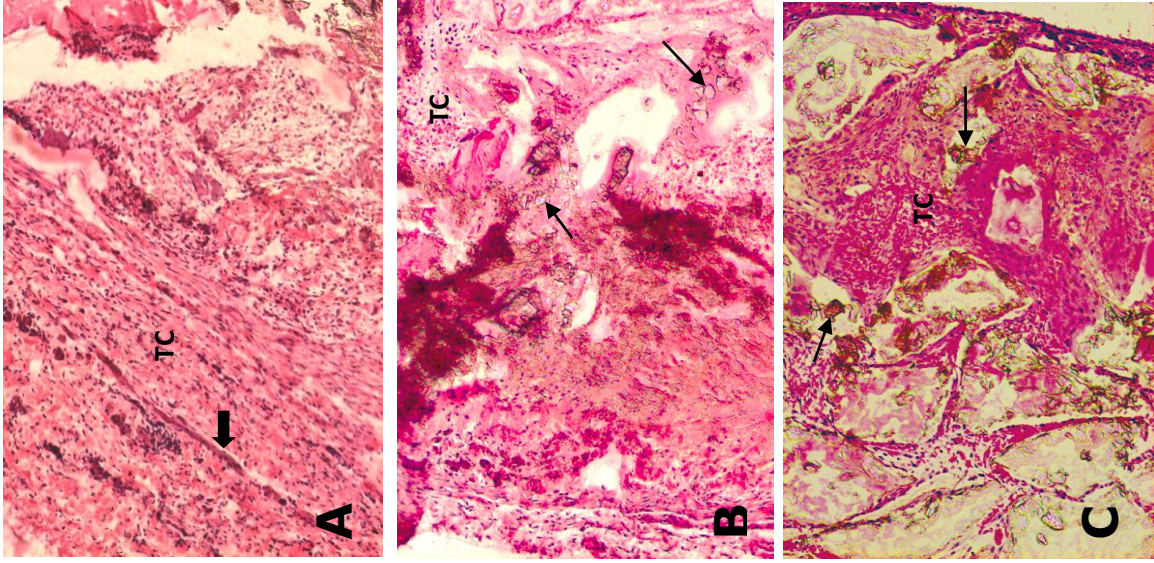
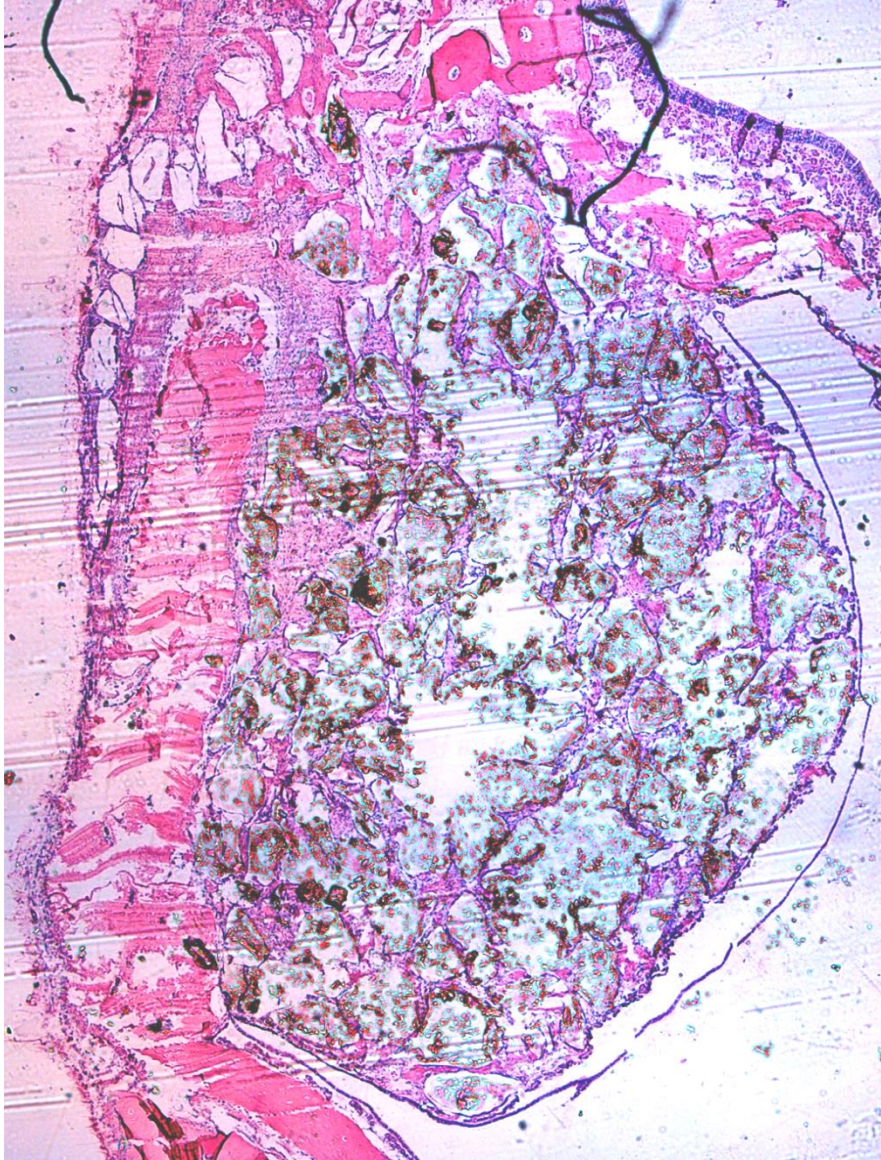


Figura 6: Grupo vidro bioativo/ Biogran®, 7 dias

Corte (A) mostrando tecido conjuntivo (TC) e vaso sanguíneo (Seta grossa), corte (B) tecido conjuntivo (TC) e partículas de Biogran® (setas finas), corte (C) tecido conjuntivo (TC) e partículas de Biogran® (setas finas).

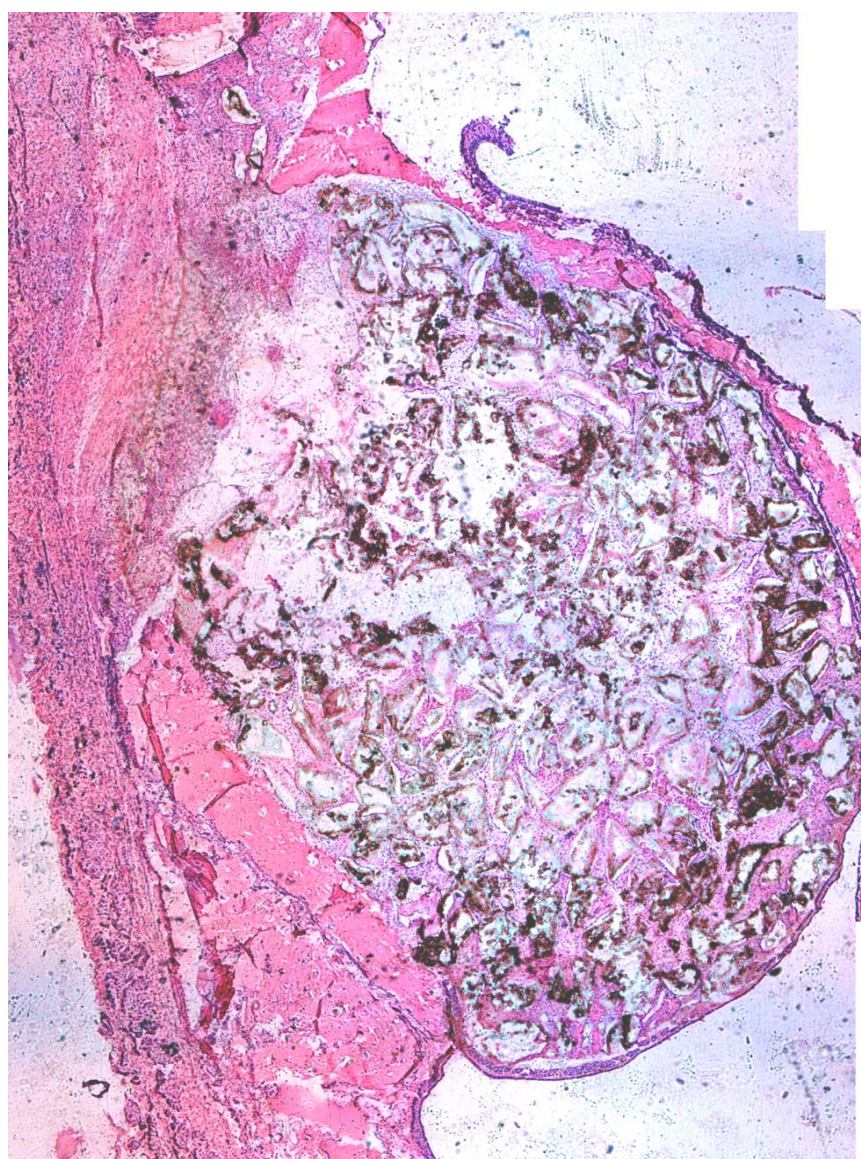
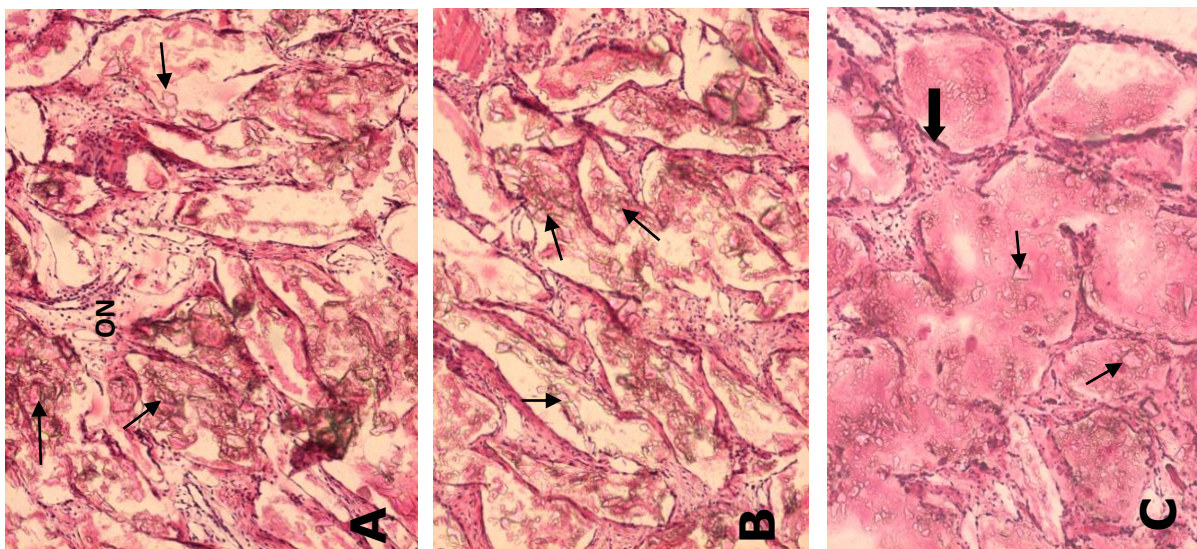


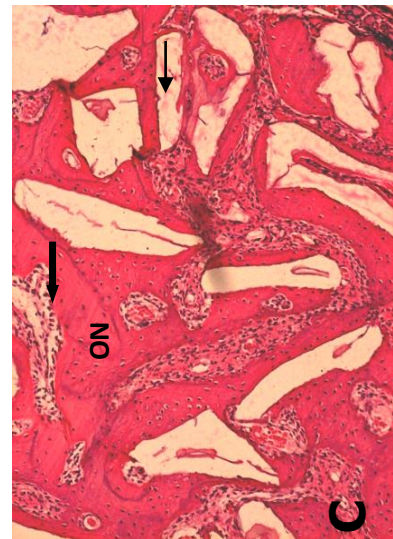
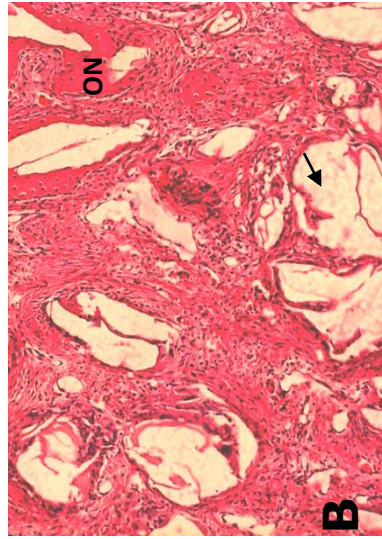
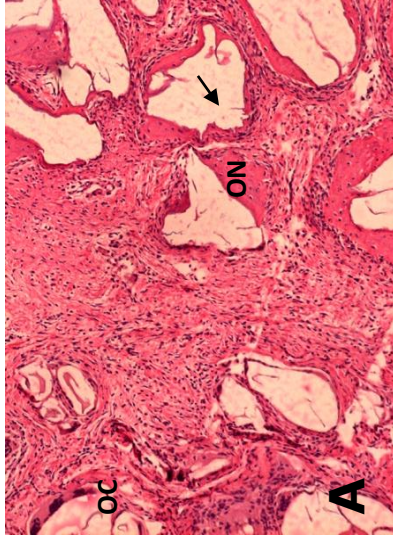
Figura 7: Grupo vidro bioativo/ Biogran®, 15 dias

Corte (A) mostrando tecido ósseo neoformado (ON) e partículas de Biogran® (Setas finas), corte (B) partículas de Biogran® (Setas finas), corte (C) partículas de Biogran® (Setas finas) e osteoblastos (Seta grossa).



Figura 8: Grupo Vidro bioativo/ Biogran®, 40 dias

Corte (A) mostrando tecido ósseo neoformado (ON), Osteoclasto (OC) e restos de partículas de Biogran® (Setas finas), corte (B) osso neoformado (ON) e partículas de Biogran® (Setas finas), corte (C) osso neoformado (ON), partículas de Biogran® (Setas finas) e osteoblastos (Seta grossa).



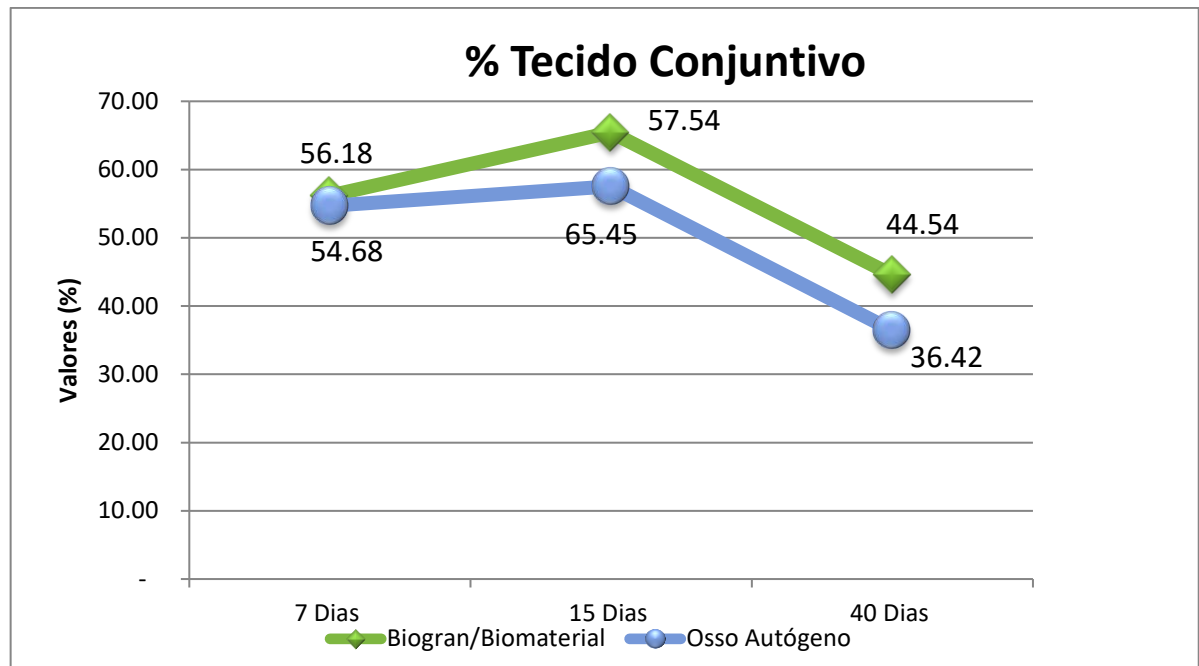


Grafico 1: Porcentagem de tecido conjuntivo

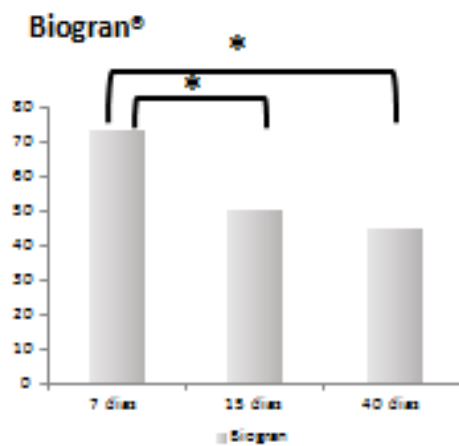


Grafico 1A

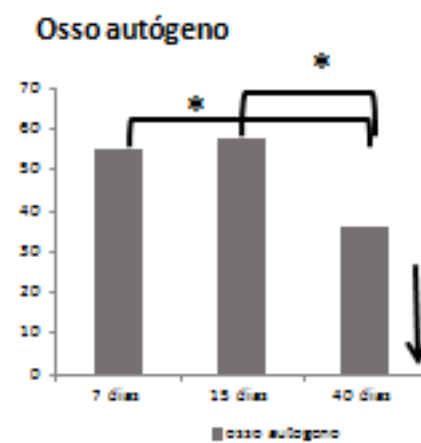


Grafico 1B

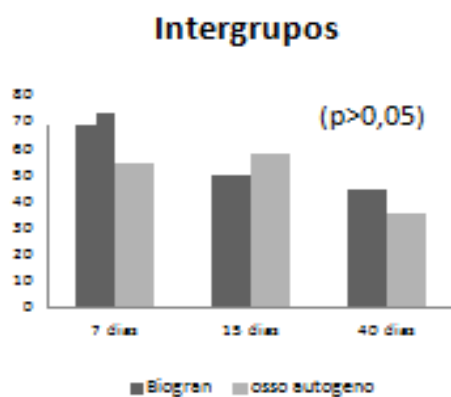
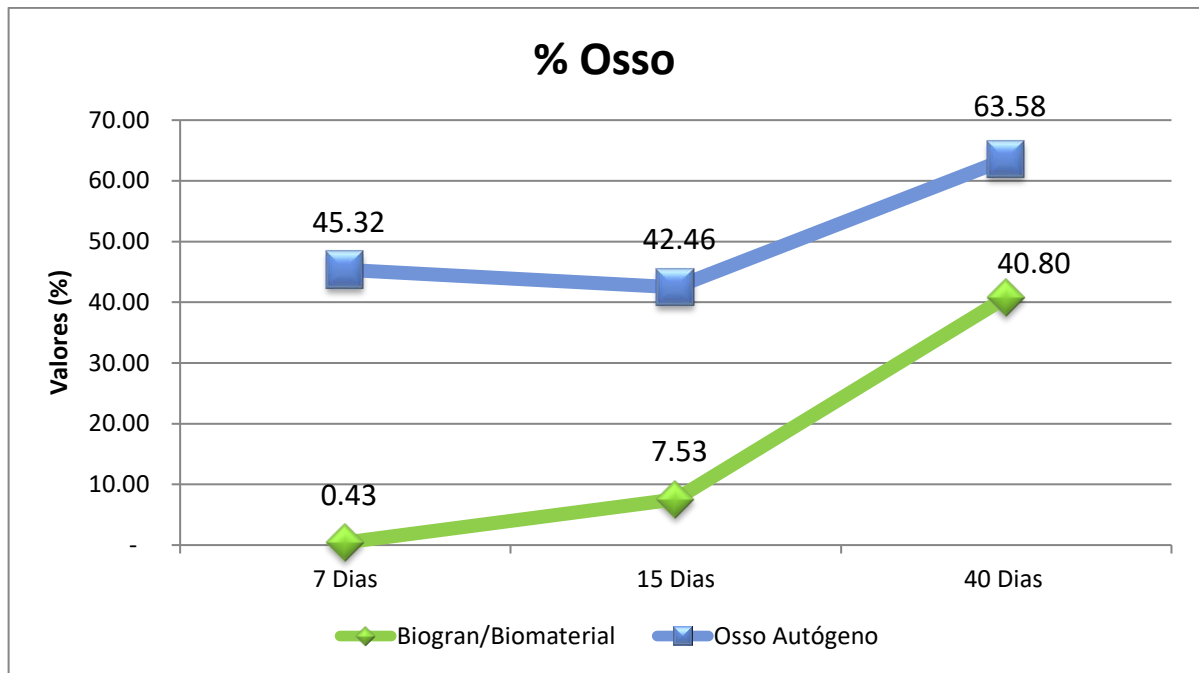


Grafico 1C

* = Diferença estatisticamente significativa



Grafica 2: Porcentagem de osso

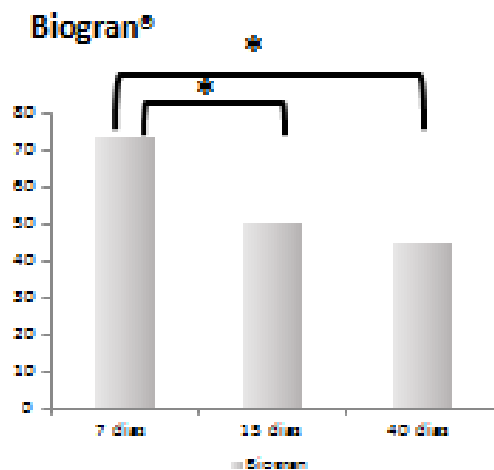


Grafico 1A

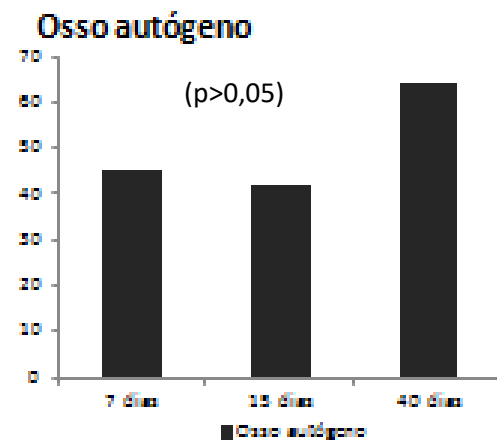


Grafico 1B

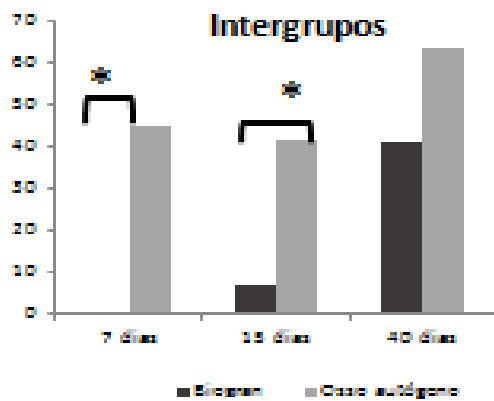


Grafico 1C

* = Diferença estatisticamente significativa

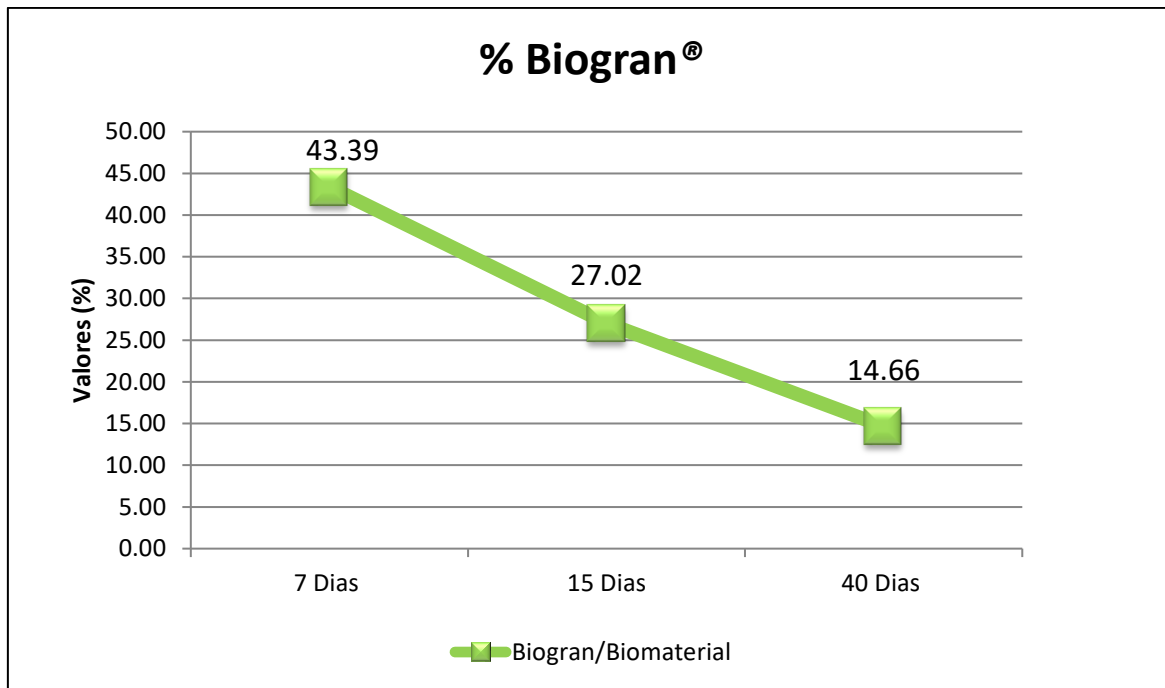


Grafico 3: porcentagem de Vidro Bioativo/Biogran®

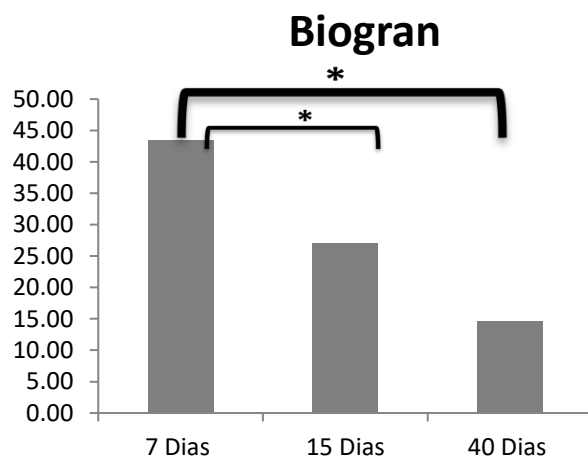


Grafico 3A

* = Diferença estatisticamente significativa

TABELAS

Tempo	Osso Autógeno	VB/Biogran	Valor de P
7 dias	54.68	56.18	0,209
15 dias	57.54	65.45	0,497
40 dias	36.42	44.54	0,132

Tabela 1: Porcentagem de Tecido Conjuntivo – Valores (%)

Tempo	Osso Autógeno	VB/Biogran	Valor de P
7 dias	45.32	0.43	<0,001
15 dias	42.46	7.53	<0,001
40 dias	63.58	40.80	0,379

Tabela 2: Porcentagem de osso- Valores (%)

Tempo	VB/Biogran	Valor de P
7 Dias	43.39	<0,001
15 dias	27.02	<0,001
40 dias	14.66	0,039

Tabela 3: Porcentagem de VB/Biogran- Valores (%)

Anexo I- Comit  de  tica

	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"			
	CAMPUS ARAÇATUBA FACULDADE DE ODONTOLOGIA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA			
CEUA - Comissão de �tica no Uso de Animais CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals				
CERTIFICADO				
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Estudo de regeneração óssea guiada com uso do Biogran� em levantamento da membrana do seio maxilar. Análises histomorfométrica e imunoistoquímica", Processo FOA n� 2014-00677, sob responsabilidade de Idelmo Rangel Garcia Júnior apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios �ticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 26 de junho de 2014.				
<table border="1"><tr><td>VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 02 de Dezembro de 2017.</td></tr><tr><td>DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 02 de Janeiro de 2018.</td></tr></table>			VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 02 de Dezembro de 2017.	DATA DA SUBMISSÃO DO RELAT�RIO FINAL: at� 02 de Janeiro de 2018.
VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 02 de Dezembro de 2017.				
DATA DA SUBMISS�O DO RELAT�RIO FINAL: at� 02 de Janeiro de 2018.				
CERTIFICATE				
We certify that the study entitled "Study of guided bone regeneration with the use of Biogran� in membrane lifting from the maxillary sinus. Histomorphometric and immunohistochemical analyses", Protocol FOA n� 2014-00677, under the supervision of Idelmo Rangel Garcia Júnior presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on June 26, 2014.				
<table border="1"><tr><td>VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 02, 2017.</td></tr><tr><td>DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 02, 2018.</td></tr></table>			VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 02, 2017.	DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 02, 2018.
VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 02, 2017.				
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 02, 2018.				
 Prof. Dr. Edilson Envolino Coordenador da CEUA CEUA Coordinator				
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Odontologia de Araçatuba Faculdade de Medicina Veterin�ria de Araçatuba Rua José Bonif�cio, 1193 - Vila Mendonça - CEP: 16015-050 - ARAÇATUBA - SP Fone: (18) 3838-3234 Email: CEUA@fot.unesp.br				

Anexo II - Normas IJOMS

International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery Guide for Authors
Would authors please note that the reference style for the journal has now changed. Please pay special attention to the guidelines under the heading "References" below. Authors wishing to submit their work to the journal are urged to read this detailed guide for authors and comply with all the requirements, particularly those relating to manuscript length and format. This will speed up the reviewing process and reduce the time taken to publish a paper following acceptance.

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

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

Declarations: Upon submission you will be required to complete and upload this form (pdf version or word version) to declare funding, conflict of interest and to indicate whether ethical approval was sought. This information must also be inserted into your manuscript under the acknowledgements section with the headings below. If you have no declaration to make please insert the following statements into your

manuscript: Funding: None; Competing interests: None declared; Ethical approval: Not required; Patient permission: Not required

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

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

Normally one or two, and no more than three, authors should appear on a short communication, technical note or interesting case/lesson learnt. Full length articles may contain as many authors as appropriate. Minor contributors and non-contributory clinicians who have allowed their patients to be used in the paper should be acknowledged at the end of the text and before the references. The corresponding author is responsible for ensuring that all authors are aware of their obligations. Before a paper is accepted all the authors of the paper must sign the Confirmation of Authorship form. This form confirms that all the named authors agree to publication if the paper is accepted and that each has had significant input into the paper. Please download the form and send it to the Editorial Office. (pdf version or word version) It is advisable that to prevent delay this form is submitted early in the editorial process.

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

Conflict of interest: At the end of the main text, all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations

that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If an author has no conflict of interest to declare, this should be stated.

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

Open access: This journal offers you the option of making your article freely available to all via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication.

The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges.

In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>).

Whatever Access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>. **Ethics:** Work on human beings that is submitted to the International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki (Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly,

Helsinki, Finland, June 1964, amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983, and the 41st World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989). The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed and that subjects gave informed consent to the work. Studies involving experiments with animals must state that their care was in accordance with institution guidelines. Patients' and volunteers' names, initials, and hospital numbers should not be used.

Patient confidentiality: Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients' images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, The Editor and Publisher must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to the Editorial Office on request. Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. If consent for publication has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

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

<http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishig> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note, Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms and Conditions

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

Article Types: The following contributions will be accepted for publication. Please take careful note of the maximum length where applicable. Overlength articles will be returned to the authors without peer review: • editorials (commissioned by the editor) • clinical papers: no more than 5000 words and 30 references • research papers: no more than 6000 words and 40 references • review papers - no limit on length or number of references • technical notes (surgical techniques, new instruments, technical innovations) - no more than 2000 words, 10 references and 4 figures • case reports - no more than 2000 words, 10 references and 2 figures • book reviews • letters to the editor - please see detailed guidelines provided at the end of the main guide for authors • IAOMS announcements • general announcements.

Please note: Case reports will be considered for publication only if they add new information to the existing body of knowledge or present new points of view on known diseases. All authors must have contributed to the paper, not necessarily the patient treatment. Technical notes and case reports are limited to a maximum of 4 authors, in exceptional circumstances, 5. **Criteria for Publication:** Papers that will be considered for publication should be: • focused • based on a sound hypothesis and an adequate investigation method analysing a statistically relevant series, leading to relevant results that back the conclusion • well written in simple, scientific English grammar and style • presented with a clear message and containing new information that is relevant for the

readership of the journal • Note the comment above relating to case reports.

Following peer-review, authors are required to resubmit their revised paper within 3 months; in exceptional circumstances, this timeline may be extended at the editor's discretion. Presentation of Manuscripts: General points Papers should be submitted in journal style. Failure to do so will result in the paper being immediately returned to the author and may lead to significant delays in publication. Spelling may follow British or American usage, but not a mixture of the two.

Papers should be double-spaced with a margin of at least 3 cm all round.

Format: Papers should be set out as follows, with each section beginning on a separate page: • title page • abstract • text • acknowledgements • references • tables • captions to illustrations.

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

Title page: The title page should give the following information: • title of the article • full name of each author • name and address of the department or institution to which the work should be attributed • name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence and to whom requests for off prints should be sent • sources of support in the form of grants • key words. If the title is longer than 40 characters (including spaces), a short title should be supplied for use in the running heads.

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

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

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

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

Results: • Do not describe methods • Present results in the past tense • Present representations rather than endlessly repetitive data • Use tables where appropriate, and do not repeat information in the text

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

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

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

Descriptive statistics may be presented in the form of a table, or included in the text.

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

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

The minus sign should be -. If a special designation for teeth is used, a note should explain the symbols. Scientific names of organisms should be binomials, the generic name only with a capital, and should be italicised in the typescript. Microorganisms should be named according to the latest edition of the Manual of Clinical microbiology, American Society of Microbiology. Drugs: use only generic (non-proprietary) names in the text. Suppliers of drugs used may be named in the Acknowledgments section. Do not use 'he', 'his' etc where the sex of the person is unknown; say 'the patient' etc. Avoid inelegant alternatives such as 'he/she'. Patients should not be automatically designated as 'she', and doctors as 'he'.

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

The accuracy of references is the responsibility of the author. References in the text should be numbered with superscript numerals inside punctuation: for example "Kenneth and Cohen¹⁴ showed..."; "each technique has advantages and Disadvantages 5-13." Citations in the text to papers with more than two authors should give the name of the first author followed by "et al."; for example: "Wang et al³⁷ identified..."

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

Titles of journals should be abbreviated according to Index Medicus (see www.nlm.nih.gov.uk) . When citing papers from monographs and books, give the author, title of chapter, editor of book, title of book, publisher, place and year of publication, first and last page numbers. Internet pages

and online resources may be included within the text and should state as a minimum the author(s), title and full URL.

The date of access should be supplied and all URLs should be checked again at proof stage.

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

When citing a paper which has a Digital Object Identifier (DOI), use the following style: Toschka H, Feifel H. Aesthetic and functional results of harvesting radial forearm flap. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001; 30: 45-51. doi: 10.1054/ijom.2000.0005

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

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

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

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

Figures All illustrations (e.g. graphs, drawings or photographs) are considered to be figures, and should be numbered in sequence with Arabic numerals. Each figure should have a caption, typed double-spaced on a separate page and numbered correspondingly. The minimum resolution for electronically generated figures is 300 dpi.

Line illustrations: All line illustrations should present a crisp black image on an even white background (127 x 178 mm (5 x 7 in), or no larger than 203 x 254 mm (8 x 10 in).

The size of the lettering should be appropriate, taking into account the necessary size reduction. Photographs and radiographs: Photomicrographs should show magnification and details of any staining techniques used. The area(s) of interest must be clearly indicated with arrows or other symbols.

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

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

Funding body agreements and policies: Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

Proofs: One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, which they are requested to correct and return within 48 hours.

Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the

corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately.

Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

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

Accepted Articles: For the facility to track accepted articles and set email alerts to inform you of when an article's status has changed, visit: <http://authors.elsevier.com/TrackPaper.html> There are also detailed artwork guidelines, copyright information, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those related to proofs, are provided after registration of an article for publication.

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

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