

Bruno Coelho Mendes

**Estudo clínico randomizado e prospectivo do aumento
ósseo vertical em enxertos sinusais maxilares realizados
com o Beta tricálcio fosfato de fase pura**

Araçatuba
2019

Bruno Coelho Mendes

Estudo clínico randomizado e prospectivo do aumento ósseo vertical em enxertos sinusais maxilares realizados com o Beta-tricálcio fosfato de fase pura

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli-Vieira.

Araçatuba
2019

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M538e Mendes, Bruno Coelho.
Estudo clínico randomizado e prospectivo do aumento ósseo vertical em enxertos sinusais maxilares realizados com o Beta-tricálcio fosfato de fase pura / Bruno Coelho Mendes. – Araçatuba, 2019
110 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Eduardo Hochuli Vieira
Coorientador: Prof. Rodrigo dos Santos Pereira

1. Seio maxilar 2. Substitutos ósseos 3. Reabsorção óssea
I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedicatória

Dedicatória

A honra de ter alcançado esta conquista dedico àqueles que são a minha base e que transmitiram a mim a essência do ser humano que sou hoje, minha família.

Ao meu pai **Edson Fernandes Mendes**, que sempre esteve comigo e me apoiou desde a definição dos meus objetivos e esteve comigo durante a realização de cada sonho. Ensinou-me a ter dedicação e paciência, além de ser meu exemplo de ser humano em perseverança e determinação. Agradeço imensamente por todo o suporte durante o decorrer do meu mestrado e da minha vida.

A minha mãe **Ana Maria Reinaldo Coelho Mendes**, cujo amor de mãe me presenteia com a maior riqueza que um ser humano pode receber e me ensina todos os dias o valor da vida e da família. Exemplo de mulher batalhadora. Agradeço a Deus por tê-la comigo e receber todo o seu amor e apoio.

Ao meu irmão **Edson Fernandes Mendes Júnior**, que possui caráter admirável, é dono de extrema determinação e um grande exemplo de disciplina.

A minha avó **Maria José Reinaldo Coelho**. É imensa a felicidade em ter a minha segunda mãe sempre a motivar na minha jornada e orar pela minha perseverança.

Agradecimentos Especiais

Agradecimentos Especiais

Nada seria possível sem a honra de **Deus** para comigo em permitir o meu retorno a casa que me formou Cirurgião Dentista. Obrigado, Pai, por realizar em mim as obras que sonhei para o meu futuro, por me sustentar e fortalecer durante todas as minhas tarefas e colocar em meu caminho pessoas especiais, que somam esforços e dividem cada momento durante os meus dias. Obrigado pela minha família e pela Tua Graça. Considero-me próspero em Ti.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Hochuli-Vieira, obrigado pela oportunidade de tê-lo como orientador desde a iniciação científica, durante a graduação, pela confiança depositada em mim para a realização dos nossos projetos. Agradeço-o pelo compartilhamento das suas experiências e sabedoria, sejam eles transmitidos por aula, orientação ou numa simples conversa de amigos. Espelho-me no seu profissionalismo para a minha carreira. Que Deus abençoe o senhor e toda a sua família.

Ao meu amigo e coorientador Rodrigo dos Santos Pereira, sempre solícito e disposto ao auxílio de todas as atividades. Tive a felicidade de acompanhá-lo no desenvolvimento de sua pesquisa durante a minha graduação e a partir de então sinto-me realizado em aprender todos os dias com este grupo de pesquisa. A honra em concluir esta etapa também é sua, meu amigo. Obrigado por todos os ensinamentos e pela sua amizade.

À Prof.^a Ana Paula Farnezi Bassi, pela qual tenho grande admiração, como profissional e ser humano. A senhora esteve comigo durante a minha primeira cirurgia, apresentou a mim os caminhos desta especialidade e me permitiu iniciar as atividades acadêmicas dentro da área. Serei eternamente grato, professora, por me motivar a seguir este caminho.

À Prof.^a Dra. Roberta Okamoto, que transmite com extrema paciência e amor o conhecimento que possui, engrandecendo o trabalho na docência e na pesquisa. Aprendo a cada dia com a dedicação e a excelência que a senhora dispõe para a realização das atividades diárias. Muito obrigado pela amizade, professora, pelos ensinamentos e por participar do meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani, que além de amigo é também excelente professor, pesquisador e cirurgião buco-maxilo-facial. O senhor é um grande exemplo de foco e determinação. Obrigado pelos ensinamentos diários, discussões sobre projetos, resultados; pela constante troca de experiências e por estar sempre disposto a ajudar.

Ao Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior, cuja serenidade e paciência ensinam a ser mais humano. Obrigado pela confiança depositada em mim e pelos ensinamentos.

Aos professores da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho, Prof. Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Prof. Dra. Daniela

Ponzoni e Prof. Dr. Francisley Ávila Souza, muito obrigado pelos ensinamentos compartilhados. Que Deus os abençoe.

Ao Prof. e amigo André Luis da Silva Fabris, muito obrigado pela amizade, pelo apoio e também orientações dentro e fora da pós-graduação. Obrigado pela confiança que tens na minha capacidade e no meu potencial.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial, Renato, Paulo e Marcos, agradeço pela amizade, pelas oportunidades apresentadas a mim durante o desenvolvimento da minha pesquisa, pela confiança depositada e também pelo imenso auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao amigo João Paulo Bonardi, que me auxiliou no delineamento desta metodologia, obrigado pelos conselhos e pela disponibilidade em auxiliar nas minhas atividades.

Aos “irmãos” Anderson Maikon e Tiburtino. Não há palavras para descrever o quanto são generosos. Cada qual é dono de um imenso coração. Muito obrigado pelo apoio e pela amizade. Contem sempre comigo. Nossa carreira está apenas começando e com certeza teremos muitos outros trabalhos juntos ainda. Que Deus os abençoe e os ilumine.

Ao meu amigo Rodrigo Capalbo, muito obrigado pelo compartilhamento das experiências. Você tem um futuro promissor. Que Deus o abençoe na sua caminhada.

Ao meu amigo Henrique Hadad, dono de um nobre caráter e de um imenso coração, obrigado pela amizade. Tenha certeza de que com a determinação que possui, você já é dono de um futuro repleto de conquistas.

Ao amigo Breno Fernandes, obrigado pela acolhida durante o nosso trabalho, pela paciência, amizade e por toda a colaboração no dia-a-dia da pós-graduação.

À amiga Prof.^a Jessica Moreno, cuja dedicação foi indispensável para o sucesso das reabilitações de todos os pacientes envolvidos nesta pesquisa. Agradeço, de coração, pela sua amizade, pelos conselhos e por toda a colaboração neste trabalho.

Aos amigos Willian Phillip e Gustavo Momesso, muito obrigado pelas orientações e pela confiança depositada em minha pessoa. Sou grato pela nossa grande amizade.

À colega de pós-graduação Cristiane Cantiga, muito obrigado pela sua amizade e pela ajuda na realização deste trabalho.

Aos colegas de pós-graduação do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada Yasmin Bantim, Ana Flávia Piqueira, Luan Benetti, Caroline Chapernatte, Edith Ramos, Guilherme Ramires, Jadison Conforte, Lais Egas, Thiago Machado, Raquel Parras, Luara Colombo, Lara Cervantes, Cassio Figueiredo, Fábio Batista, Valthierre Nunes de Lima, Erik Neiva, Júlio Cesar, Pedro Ferreira, Gabriel Mulinari, Leonardo de Freitas, André Oliva, Gestter Tessarin, Ciro Duailibe, Jaqueline Hassumi, Letícia Pitol, Kim Henderson, Natália Siqueira, Ana Cláudia Ervolino, Lais Kawamata, Vinicius Bizelli, Leonardo Delanora, Tarik Polo e Cristian Statkiewicz. Muito obrigado pelos momentos juntos e conhecimento compartilhado.

À minha noiva Laissa Silvério de Lima, muito obrigado por participar diariamente da minha vida acadêmica, apesar da distância durante este período. Sou grato por tê-la em minha vida, mulher incrível e cheia da Graça de Deus. Eu te amo.

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

Agradecimentos

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba na figura do seu diretor, Professor Titular Glauco Issamu Miyahara, muito obrigado. Tenho orgulho em dizer que faço parte desta instituição.

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

Aos funcionários da pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba pela disponibilidade de auxílio direto ou indireto durante o meu curso de mestrado.

Aos pacientes, pela credibilidade e confiança depositada em mim durante todo o tratamento realizado neste projeto. Serei eternamente grato.

Epígrafe

*“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram
aqueles em que lutaste.”*

Sigmund Freud

*Estudo clínico randomizado e prospectivo do aumento ósseo vertical
em enxertos sinusais maxilares realizados com o Beta-tricálcio fosfato
de fase pura*

Resumo e Abstract

Mendes, B.C. Estudo clínico randomizado e prospectivo do aumento ósseo vertical em enxertos sinusais maxilares realizados com o Beta-tricálcio fosfato de fase pura. [Dissertação] Araçatuba – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2019.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o aumento ósseo vertical em seios maxilares preenchidos com o β -TCP em duas granulações de diferentes dimensões e comparar o seu comportamento biológico ao do osso autógeno. Três grupos de 06 seios maxilares: (G1) correspondente ao osso autógeno, (G2) β -TCP com partículas de 0,5 mm a 0,7 mm e (G3) β -TCP com 0,1 mm a 0,5 mm foram avaliados por meio de análise histomorfométrica e imunoistoquímica após 6 meses do preenchimento sinusal. A neoformação óssea em G1, G2 e G3 foi de respectivamente 78,442 μm^2 , 71,283 μm^2 e 64,508 μm^2 , sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,314$). A maior área de tecido conjuntivo foi observada em G3, com 124,265 μm^2 , seguido por G2, 112,993 μm^2 e G1, 112,652 μm^2 com ausência de diferença estatística na comparação dos grupos ($p=0,366$). A área de biomaterial remanescente foi observada em G2 com 9,268 μm^2 , seguido por G3, 6,021 μm^2 , e G1, 1,195 μm^2 , sendo ausente a diferença estatística entre os grupos ($p=0,120$). A imunomarcação para RUNX2 apresentou-se leve em G1 e G2 e moderada a intensa em G3, enquanto para VEGF foi moderada em G1 e G2 e pouco mais intensa em G3. Conclui-se que o β -TCP nas diferentes granulações mostrou-se osteocondutor e pode ser utilizado com critérios, em pequenos defeitos, em substituição ao osso autógeno.

Palavras-Chave: Seio maxilar; Substitutos ósseos; Reabsorção óssea

Mendes, B.C. Prospective randomized clinical study of vertical bone augmentation in maxillary sinus grafts performed with pure phase Beta-tricalcium phosphate. [Dissertation] Araçatuba – Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2019.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the vertical bone increase in maxillary sinuses filled with β -TCP in two granulations of different dimensions and to compare their biological behavior to that of autogenous bone. Three groups of 06 maxillary sinuses were evaluated: (G1) corresponding to autogenous bone, (G2) β -TCP with particles from 0.5 mm to 0.7 mm and (G3) β -TCP with 0.1 mm to 0.5 mm were evaluated through histomorphometric and immunohistochemistry analysis 6 months after sinus filling. Bone neoformation in G1, G2 and G3 was respectively $78.442 \mu\text{m}^2$, $71.283 \mu\text{m}^2$ and $64.508 \mu\text{m}^2$, with no statistically significant difference ($p=0.314$). The largest area of connective tissue was observed in G3, with $124.265 \mu\text{m}^2$, followed by G2, $112.993 \mu\text{m}^2$ and G1, $112.652 \mu\text{m}^2$, with no statistical difference in the comparison of groups ($p=0.366$). The remaining biomaterial area was observed in G2 with $9.268 \mu\text{m}^2$, followed by G3, $6.021 \mu\text{m}^2$, and G1, $1.195 \mu\text{m}^2$, with no statistical difference between groups ($p=0.120$). The immunostaining for RUNX2 was mild in G1 and G2 and moderate to intense in G3, while for VEGF it was moderate in G1 and G2 and slightly more intense in G3. It is concluded that β -TCP in the different granulations proved to be osteoconductive and can be used with criteria, in small defects, to replace the autogenous bone.

Keywords: Maxillary sinus; Bone substitutes; Bone resorption

Listas e Sumário

Lista de Figuras

Figura 1 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 1. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar (▪), com a presença de discretas regiões de osso imaturo (←) e escassas regiões de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 64

Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 2. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante também é a lamelar (▪), porém recente, com mais frequentes áreas de osso imaturo (←) e de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 65

Figura 3 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 3. Pode-se observar a arquitetura óssea predominantemente lamelar (▪), porém recente, esparsas regiões de osso imaturo (←) e de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5) 66

Figura 4 – Gráfico de comparação da área de osso neoformado em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation). 67

Figura 5 – Gráfico de comparação da área de tecido conjuntivo em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation). 68

Figura 6 – Gráfico de comparação da área de biomaterial remanescente em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation). 69

Figura 7 – Fotomicrografia da imunomarcação para Runx2 do grupo 1 evidenciando imunomarcação leve (1). (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 70

Figura 8 – Fotomicrografia da imunomarcaç o para Runx2 do grupo 2 evidenciando imunomarcaç o leve (1). (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 71

Figura 9 – Fotomicrografia da imunomarcaç o para Runx2 do grupo 3 evidenciando imunomarcaç o moderada a intensa (2/3). (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 72

Figura 10 – Fotomicrografia da imunomarcaç o para VEGF do grupo 1 evidenciando imunomarcação moderada (2). (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 73

Figura 11 – Fotomicrografia da imunomarcação para VEGF do grupo 2 evidenciando imunomarcação moderada (2). (Hematoxilina de Harris, aumento x25) 74

Figura 12 – Fotomicrografia da imunomarcção para VEGF do grupo 3 evidenciando imunomarcção moderada a intensa (2/3). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente para enxerto autógeno. 77
- Tabela 2.** Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial para β -TCP ChronOs. 77
- Tabela 3.** Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial para β -TCP Bionnovation. 78
- Tabela 4.** Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de osso neoformado. 78
- Tabela 5.** Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de tecido conjuntivo. 78
- Tabela 6.** Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de biomaterial remanescente. 79
- Tabela 7.** Áreas de osso neoformado, para os três Biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica. 79

Tabela 8. Teste ANOVA de fator único para a análise da área de osso neoformado entre os biomateriais. 79

Tabela 9. Áreas de tecido conjuntivo, para os três Biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica. 80

Tabela 10. A. Classificações para o teste de Kruskal-Wallis na análise da área de tecido conjuntivo entre os Biomateriais. 80

Tabela 10. B. Resultado do teste de Kruskal-Wallis na análise da área de tecido conjuntivo entre os Biomateriais. 81

Tabela 11. Áreas de biomaterial remanescente, para os três Biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica. 81

Tabela 12. A. Classificações para o teste de Kruskal-Wallis na análise da área de tecido conjuntivo entre os Biomateriais. 81

Tabela 12. B. Resultado do teste de Kruskal-Wallis na análise da área de biomaterial remanescente entre os Biomateriais. 82

Tabela 13. Representação dos escores da análise imunoistoquímica para RUNX2 e VEGF evidenciando imunomarcção (-) ausente, (+) leve, (++) moderada e (+++) intensa para os grupos avaliados. 82

Lista de Abreviaturas

β -TCP	= Beta-tricálcio fosfato
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	= Fosfato de cálcio
mm	= Milímetro
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	= Hidróxido de Cálcio
H_3PO_4	= Ácido Fosfórico
Runx2	= Fator de Transcrição Relacionado ao Runt 2
VEGF	= Fator de Crescimento Vascular Endotelial
H0	= Hipótese nula
H1	= Hipótese alternativa
G1	= Grupo 1, correspondente ao osso autógeno
G2	= Grupo 2, correspondente ao Beta-tricálcio fosfato, ChronOs
G3	= Grupo 3, correspondente ao Beta-tricálcio fosfato Bionnovation
n ^o	= Número
mg	= Miligrama
pH	= Potencial Hidrogeniônico
TIFF	= <i>Tagged Image File Format</i>
μm	= Micrômetro
H_2O_2	= Peróxido de Hidrogênio
°C	= Temperatura em Graus Celcius

PBS	= Tampão fosfato Salino/ Phosphate Buffered Saline
DAB	= Diaminobenzidina
p	= Nível de Significância Estatística
μm^2	= Micrômetro quadrado
EDTA	= Ácido etilendiamino tetra-acético/ <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
NaOH	= Hidróxido de sódio
μm	= Micrômetro
g	= Grama

Sumário

1. Introdução	30
2. Objetivo	33
3. Material e Método	35
3.1 Procedimento cirúrgico	36
3.2 Procedimento de coleta do osso autógeno	37
3.3 Elevação do soalho sinusal	37
3.4 Procedimento para realização das biópsias	38
3.5 Análise histomorfométrica	39
3.6 Análise imunoistoquímica	40
3.7 Análise estatística	41
4. Resultados	43
4.1 Análise qualitativa e histomorfométrica	43
4.2 Análise imunoistoquímica	44
5. Discussão	47
6. Conclusão	52
7. Referências	54
8. Figuras	64
9. Tabelas	77
10. Anexos	84
10.1 Aprovação no comitê de ética e pesquisa	84
10.2 Termo de consentimento livre e esclarecido	87
10.3 Processamento histológico	90
10.4 Normas para publicação	93

Introdução

1. Introdução

A reabsorção fisiológica e contínua do rebordo alveolar após as perdas dentárias pode, gradativamente, resultar em uma condição de deficiência óssea alveolar.¹⁻⁴ Na região posterior de maxila esta redução da altura óssea representa um importante desafio para a instalação de implantes dentários e reabilitação com prótese implantossuportada.^{1,2} Para sanar esta dificuldade, a elevação da membrana do seio maxilar e enxertia óssea apresentam resultados satisfatórios, permitindo assim a instalação de implantes osseointegráveis.^{3,4}

A técnica para elevação da membrana sinusal foi descrita por Boyne & James (1980),⁵ que desenvolveram o acesso lateral ao seio maxilar com o subsequente enxerto de osso autógeno, considerado o padrão ouro na literatura por ser osteogênico, osteocondutor, osteoindutor e de alta previsibilidade.^{6,7}

A necessidade de um segundo sítio cirúrgico para a coleta do osso autógeno gera maior morbidade ao paciente e, além disso, oferece uma quantidade limitada de osso para grandes reconstruções quando este material provém de um leito doador intrabucal.^{8,9} Neste contexto, de modo alternativo, os substitutos ósseos alógenos, xenógenos e aloplásticos são utilizados para o restabelecimento da dimensão óssea maxilar posterior e, têm demonstrado resultados promissores.¹⁰⁻¹²

O Beta-tricálcio fosfato (β -TCP) $[Ca_3(PO_4)_2]$ é um substituto ósseo aloplástico, cerâmico, biocompatível e osteocondutor, que apresenta rápida reabsorção em meio biológico. Utilizado na odontologia para reconstruções e preenchimentos de defeitos ósseos, este material apresenta-se seguro e eficaz para o aumento ósseo vertical em cirurgias de levantamento da membrana sinusal maxilar.¹²⁻¹⁷ Em análise tomográfica Gorla et al. (2015)¹⁸ evidenciaram

resultados satisfatórios do β -TCP ChronOs (DePuy Synthes®, Paoli, CA) relacionados ao volume do biomaterial comparado ao osso autógeno, em seio maxilar, com semelhante taxa de reabsorção após 6 meses de enxertia, oferecendo segurança para a instalação de implantes dentários. Taxas de neoformação óssea e reabsorção do β -TCP ChronOs comparado ao osso autógeno dentro deste período pós-operatório podem apresentar similaridade em análise histomorfométrica, assim como a análise imunoistoquímica revela semelhança entre ambos na atividade pré-osteoblástica, grau de calcificação e proliferação vascular.^{19,20}

O β -TCP (Bionnovation, Biomedical, Bauru, SP, Brasil) já utilizado para o preenchimento de defeitos ósseos apresenta, em sua forma granulada, partículas microporosas de 0,1 mm a 0,5 mm de tamanho. Composta por Hidróxido de Cálcio, Ca(OH)_2 , Ácido fosfórico (H_3PO_4) e aproximadamente 95% de proporção de fosfato de cálcio, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, em sua fórmula, apresenta ausência de citotoxicidade e genotoxicidade.^{21,22} Apesar da utilização desta biocerâmica a literatura ainda carece de estudos que esclareçam o padrão de comportamento desta apresentação comercial pura, em seio maxilar humano após levantamento da membrana sinusal, comparando-a com β -TCP já distinto, ChronOs (DePuy Synthes®, Paoli, CA) e, ao osso autógeno através de análises histomorfométrica e imunoistoquímica.

Objetivo

2. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar o aumento ósseo vertical em seios maxilares preenchidos com o β -TCP em duas granulações de diferentes dimensões e comparar o seu comportamento biológico ao do osso autógeno.

Material e Método

3. Material e Método

O presente estudo foi cadastrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), por meio da Plataforma Brasil e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- FOA/UNESP, sob o parecer 2.745.048 e CAAE 91334718.8.00005420.

Para o desenvolvimento do trabalho o cálculo amostral foi determinado pelo resultado do power test estatístico através do site <http://www.lee.dante.br> e com base nos resultados de estudo prévio. A diferença na média detectada foi de 15.1, com desvio padrão de 9.9, nível de significância de 5% e poder do teste atribuído à 80%, conduzido na forma monocaudal.²⁰

O estudo unicego foi realizado através de randomização online pelo site <http://www.random.org>. Assim, o preenchimento sinusal foi realizado aleatoriamente com um dos biomateriais propostos. Para tal, foram incluídos neste estudo 16 pacientes, cadastrados na seção de triagem da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- FOA/UNESP, com edentulismo maxilar posterior e interesse na reabilitação oral com prótese implantossuportada.

Os critérios de inclusão para o estudo foram: atrofia do rebordo alveolar da região posterior da maxila, com altura óssea inferior ou igual a 5 mm, que necessitasse de levantamento da membrana sinusal maxilar e enxertia a fim de obter aumento ósseo para a instalação de implantes dentários.

Os critérios de exclusão do estudo foram pacientes com: comprometimentos sistêmicos não controlados, problemas periodontais não tratados, patologias sinusais, tabagistas, irradiados na região da cabeça ou pescoço, presença de raízes residuais no seio maxilar ou que possuíssem volume ósseo inadequado em ramo mandibular ou mento, que impedisse a

coleta do enxerto ósseo autógeno.

Os pacientes foram submetidos a uma tomografia computadorizada da maxila e da mandíbula com o intuito de avaliar os seios maxilares previamente ao tratamento e o volume ósseo mandibular em ramo e mento.

Após assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido os pacientes foram divididos em 03 grupos conforme randomização, denominados grupo autógeno (G1), como controle, composto por 06 pacientes e 06 seios maxilares, que receberam o enxerto de osso autógeno coletado de ramo mandibular ou mento, de acordo com o maior volume observado em tomografia computadorizada pré-operatória; grupo ChronOs (G2), composto por 06 pacientes e 06 seios maxilares, cujo substituto ósseo para preenchimento foi o β -TCP ChronOs (DePuy Synthes®, Paoli, CA) em granulação pura, com partículas de 0,5 mm a 0,7 mm de tamanho e Grupo Bionnovation (G3) composto por 04 pacientes e 06 seios maxilares, nos quais o β -TCP (Bionnovation®, Bauru, SP, Brasil) de granulação pura, com partículas de 0,1 mm a 0,5 mm de tamanho, foi utilizado.

Após 6 meses dos preenchimentos sinusais, foram realizadas as biopsias do tecido ósseo local com trefina de 3,0 mm de diâmetro e subsequentemente, a instalação dos implantes, de acordo com planejamento prévio. As reabilitações protéticas foram iniciadas seis meses após a instalação dos implantes.

3.1 - Procedimento cirúrgico

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados através de um rigoroso protocolo asséptico, incluindo esterilização de todo material cirúrgico, delimitação da área a ser operada com campos estéreis e uso de aventais e

luvas estéreis. Todos os procedimentos foram realizados na clínica de cirurgia oral da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

3.2 - Procedimento de coleta de osso autógeno

Na região mental a coleta do osso autógeno foi realizada após acesso vestibular mandibular, envolvendo inicialmente mucosa labial e a seguir o músculo mental e o perióstio, estendendo-se de canino a canino. Seguiu-se o descolamento do retalho com um descolador de Molt nº 9 (Golgran; São Caetano do Sul, SP, Brasil). A osteotomia foi realizada com uma broca nº 701 (KG Sorensen; Cotia, SP, Brazil) sob constante irrigação com solução salina a 0.9% (Darrow; Rio de Janeiro, RJ, Brazil). O acesso vestibular mandibular na região posterior foi utilizado para acessar a área retromolar e ramo. Após descolamento, seguiu-se a osteotomia com broca nº 701 e remoção do enxerto ósseo com cinzel. Os blocos ósseos foram triturados por um particulador de osso (Neodent; Curitiba-PR, Brasil) para acomodação em seio maxilar. Os acessos cirúrgicos foram suturados com fio de poliglactina 5.0 Ethicon (Johnson & Johnson – São Paulo, SP, Brasil).

3.3 - Elevação do soalho sinusal

O acesso ao seio maxilar foi realizado sob anestesia local (Lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000; DFL – Jacarepaguá, RJ, Brasil) seguindo a técnica da janela lateral proposta por Boyne & James⁵. Com uma lâmina nº 15 (Solidor® - Barueri, SP, Brasil) acoplada a um cabo de bisturi, realizou-se uma incisão crestal com relaxante vertical para posterior descolamento mucoperiosteal com descolador de Molt nº 9 (Golgran- São Caetano do Sul, SP, Brasil) a fim de expor

a parede óssea lateral. Após, com uma broca diamantada esférica n° 8 (KG Sorensen – Cotia, SP, Brasil) sob irrigação copiosa com soro fisiológico 0.9% (ADV – Nova Odessa, SP, Brasil), foi realizada a fenestração para acesso a membrana do seio maxilar. Sucedeu-se o levantamento cuidadoso com auxílio de elevadores de membrana sinusal (Neodent – Curitiba, PR, Brasil), para o preenchimento com os biomateriais propostos, 6 seios maxilares com osso autógeno, 6 com β -TCP ChronOs e 6 com β -TCP Bionnovation. Finalmente, o acesso cirúrgico foi suturado, com fio reabsorvível de poliglactina 5.0 Ethicon (Johnson & Johnson – São Paulo, SP, Brasil).²³ Durante a primeira semana de pós-operatório, os pacientes foram medicados com analgésico, 500 mg de dipirona sódica (EMS; São Paulo, SP, Brasil), se necessário, 4 vezes ao dia por 3 dias, 600 mg de Ibuprofeno (Zambon Laboratórios Farmacêuticos Ltda, São Paulo, SP, Brasil), 3 vezes ao dia durante 3 dias e, 500 mg de amoxicilina (EMS; São Paulo, SP, Brasil), 3 vezes ao dia durante 7 dias. Dentro dos grupos estudados não houve desistência ou perda de pacientes devido a infecções ou demais comprometimentos.

3.4 - Procedimento para realização das biópsias

No momento da instalação dos implantes, após 6 meses de reparo do preenchimento sinusal, foram realizadas biópsias do material enxertado, com auxílio de uma broca trefina de 3,0 x 15 mm (MK Life – Porto Alegre, RS, Brasil) a partir da crista do rebordo alveolar. As peças foram acondicionadas em solução de formalina tamponada 10%, pH = 7, por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram lavadas em água corrente por 24 horas e submetidas a descalcificação em ácido etilenodiaminotetracético por 5 semanas, sob trocas semanais para

seguir o processo de diafanização e posterior inclusão em parafina.^{1,19}

Os blocos de parafina foram submetidos a cortes semisseriais de 5 μm em um micrótomo e após a montagem das lâminas, foi realizado o processo de coloração com hematoxilina e eosina para a análise da neoformação do tecido ósseo, dos biomateriais remanescentes e do tecido conjuntivo.

3.5 - Análise histomorfométrica

As lâminas foram codificadas em 3 áreas da amostra: próxima ao leito receptor; intermediária e apical (próxima a membrana do seio maxilar). Estas foram examinadas através de um microscópio de luz com objetiva de 12,5x por um único avaliador. As imagens das lâminas foram obtidas utilizando um microscópio óptico (LeicaR® DMLB, Heerbrugg, Suíça) acoplado a uma câmera de captação de imagem (LeicaR® DC 300F microsystemsltd, Heerbrugg, Suíça) e conectado a um microcomputador com software analisador de imagens digitalizadas, Axiovision 4.8 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Todas as imagens foram gravadas em arquivos TIFF. A avaliação histomorfométrica foi realizada utilizando o software Image J 150e (National Institutes of Health, Maryland, USA), por meio da ferramenta “free hand” sempre com aumento original. As áreas de neoformação óssea, de tecido conjuntivo e de biomaterial remanescente foram calculadas para cada área da amostra (leito receptor, intermediário e apical) e posteriormente somadas, obtendo-se a área representativa total da amostra.^{19,20}

A hipótese nula (H0) deste estudo foi: ausência de diferença na neoformação óssea apresentada pelos biomateriais avaliados dentro do período de 06 meses. A hipótese alternativa (H1): presença diferença na neoformação

óssea apresentada pelos biomateriais utilizados neste período.

3.6 - Análise imunoistoquímica

O processamento imunoistoquímico foi realizado por meio do bloqueio da atividade da peroxidase endógena com água oxigenada 30% (Perhidrol 30% H₂O₂ - MERCK) por 45 minutos. O processo de recuperação antigênica por tampão citrato (pH 6,0 – 55°C) e posterior incubação por 18 horas a 4°C com anticorpos primários específicos para Runx2 (Goat anti-Runx2 - Santa Cruz Biotechnology, SC8566) e VEGF (Goatanti-VEGF - Santa Cruz Biotechnology, SC1881). Após 18 horas as lâminas foram lavadas com PBS (3 banhos) e incubadas com um segundo anticorpo biotilado por mais 1 hora em temperatura ambiente. Sucedeu-se nova lavagem em PBS e incubação com o complexo Avidina-biotina (StreptABComplex/HRP-Vector) por 45 minutos. O método de detecção foi efetuado pela imunoperoxidase e a 3,3 diaminobenzidina (DAB, Sigma, St. Louis, MO, USA) utilizada como cromógeno, seguido pela contra- coloração nuclear com Hematoxilina de Harris. Os procedimentos de controle foram realizados pela omissão dos anticorpos primários (controle negativo).

O padrão de distribuição da imunocoloração foi avaliado por meio de análise qualitativa ordinal como relatado por Ramalho-Ferreira et al.²⁴, atribuindo-se os *scores* 0 (sem marcação), 1 (fraca/difusa), 2 (moderada) e 3 (intensa), a fim de avaliar a expressão das proteínas em cada região, para a realização de uma média. A análise foi realizada em microscópio óptico convencional e os *scores* atribuídos por um único observador, previamente calibrado.

3.7 - Análise estatística

Os resultados da análise histomorfométrica foram tabulados e submetidos a curva de normalidade para determinação do teste estatístico adequado (paramétrico ou não-paramétrico) no programa Sigma Plot 12.3 (Graphysand Data Analysis, San Jose, CA, USA). O nível de significância $p < 0,05$ foi adotado para todos os testes.

Resultados

4. Resultados

4.1 - Análises qualitativa e histomorfométrica

O grupo 1 apresentou a maior quantidade de tecido ósseo lamelar, com matriz organizada, circunscrevendo osteócitos e disposta entre osteoblastos esparsos em sua periferia. Há ainda discretas regiões de osso imaturo e escassas regiões de biomaterial remanescente, com tecido conjuntivo ricamente celularizado apresentando neovascularização (Figura 1).

No grupo 2 as biópsias apresentaram considerável tecido ósseo neoformado em sua maior parte, já maduro em meio a um tecido conjuntivo celularizado e vascularizado. Regiões de reabsorção de biomaterial remanescente foram observadas com maior frequência comparadas ao osso autógeno (Figura 2).

As biópsias no grupo 3 evidenciaram tecido ósseo neoformado, em sua maior parte maduro, porém ainda com esparsas regiões de reabsorção do biomaterial simultânea a neoformação óssea em um tecido conjuntivo ricamente celularizado e com neoformação vascular (Figura 3).

Dentre os 18 seios maxilares operados 9 corresponderam ao lado direito e 09 ao lado esquerdo. Observa-se em G1 o maior valor para a área de tecido ósseo neoformado em proporção deste estudo, ao passo que em G3 há tanto o maior valor para tecido conjuntivo quanto para biomaterial remanescente (Tabelas 1, 2 e 3). O teste de normalidade de Shapiro-Wilk aplicado sobre os resultados obtidos na quantidade de osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente evidenciou distribuição de dados paramétrica para a primeira e não-paramétrica para as duas últimas variáveis (Tabelas 4, 5 e 6). A maior média de área de tecido ósseo neoformado foi observada em G1, com

78,442 μm^2 , seguido por G2 com 71,283 μm^2 e, finalmente G3, com 64,508 μm^2 (Figura 4), obtendo este a menor área de osso neoformado (Tabela 7). Para esta variável, neoformação óssea, a Análise de Variância (ANOVA) de fator único demonstrou ausência de diferença estatística entre os grupos estudados, com $p= 0,314$ (Tabela 8).

Quanto a presença de tecido conjuntivo, G3 apresentou a maior quantidade em área, mediana de 124,265 μm^2 , seguido por G2, com 112,993 μm^2 e, finalmente G1, com uma área total de tecido de 112,652 μm^2 (Figura 5), (Tabela 9). O teste de Kruskal-Wallis revelou ausência de diferença estatística para esta variável após a comparação dos três grupos, com $p= 0,366$ (Tabelas 10 A e B).

A área total de biomaterial remanescente foi observada em G2 com o mais alto valor deste estudo, com mediana de 9,268 μm^2 , seguido por G3 com 6,021 μm^2 , e finalmente G1, com a menor área, 1,195 μm^2 (Figura 6), (Tabela 11). Após aplicação do teste de Kruskal-Wallis, foi observado ausência de diferença estatística entre os grupos também para esta variável, com $p= 0,120$ (Tabelas 12 A e B).

4.2 - Análise imunoistoquímica

RUNX2: a imunomarcção para esta proteína, evidenciando a diferenciação de células osteoblásticas por meio da marcação de pré-osteoblóstos e osteoblastos se apresentou leve (1) em G1 e G2, porém de moderada (2) a intensa (3) em G3 nas regiões adjacentes a matriz óssea (Figuras 7, 8 e 9).

VEGF: para esta proteína, cuja imunomarcacão evidencia o potencial de neovascularizacão local pelas células endoteliais vasculares e osteoblastos em maturacão, a presença se deu de forma moderada (2) nos grupos G1 e G2, sendo moderada (2) a intensa (3) em G3, tanto próximo a matriz óssea, quanto em regiões perivasculares e adjacentes ao biomaterial (Figuras 10, 11 e 12), (Tabela 13).

Discussão

5. Discussão

O β -TCP é um material osteocondutor cujo potencial tem apresentado relação direta com o tamanho das partículas para favorecer o processo de neoformação óssea e de neovascularização.^{12,18-20} De acordo com Karageorgiou e Kaplan²⁵ o tamanho mínimo do poro requerido é de aproximadamente 100 μm , para permitir o acesso de células, assim como sua migração e transporte. Além disso, reforça que poros acima de 300 μm seriam ideais para otimizar a neoformação óssea e neovascularização ao passo que poros menores predis põem o tecido a hipóxia e dificulta o processo de reparo ósseo, com formação de cartilagem previamente a neoformação óssea. No entanto, os microporos também apresentam influência positiva no reparo, contribuindo para o aumento da superfície e adsorção de proteínas osteoindutoras.^{25,26} Neste estudo foram comparados dois biomateriais com tamanhos diferentes, sendo o β -TCP ChronOs de 0,5 mm a 0,7 mm de tamanho e poros de 100 μm a 500 μm e o β -TCP Bionnovation, com tamanho de 0,1 mm a 0,5 mm e poros de 0,11 a 0,72 μm .^{20,27} Embora seja nítida a diferença dimensional e de ambos, o padrão de comportamento observado apresentou-se semelhante dentro do período estudado.

A neoformação óssea observada pela análise histomorfométrica, numericamente maior em G1, pode ser atribuída a presença de todos os elementos celulares, fatores de crescimento e suporte para o novo osso almejado durante o reparo.^{28,29} Por isso o osso autógeno é a opção mais favorável para o preenchimento de seios maxilares de grandes dimensões, uma vez que a altura do rebordo residual e a distância vestibulo-palatina influenciam a formação de tecido ósseo viável.³⁰⁻³² Desse modo, o enxerto autógeno

manteve as características padrão, como descritas na literatura.^{1,12,19,20,28} Entretanto, quando comparado aos dois substitutos ósseos utilizados, não houve diferença estatisticamente significativa, o que sugere a princípio um bom desempenho de ambos para a neoformação óssea, apesar da superioridade biológica do osso autógeno. Resultados semelhantes foram encontrados por Szabo et al.¹² que compararam o β -TCP ao osso autógeno em cirurgias para elevação do assoalho sinusal maxilar e não observaram diferença estatística na neoformação óssea, avaliada por análise qualitativa e histomorfométrica, para ambos após 06 meses de reparo.

Bonardi et al.¹⁹ avaliaram a neoformação óssea sinusal maxilar comparando o β -TCP ChronOs e a hidroxiapatita bovina, Bio-Oss, ao osso autógeno após 06 meses de reparo e, apesar de haver diferença nos valores com aparente superioridade do β -TCP, não houve diferença estatística entre os substitutos ósseos na forma pura. Outrossim, cumpre salientar que a taxa de reabsorção da hidroxiapatita se apresentou baixa, ao passo que quantidade de biomaterial remanescente do β -TCP se aproximou daquela do osso autógeno, com ausência de diferença estatística entre estes grupos. De modo similar, os resultados encontrados neste estudo evidenciam ausência de diferença estatística no remanescente de biomaterial apresentado entre os grupos, apesar de serem observadas ainda frequentes regiões de reabsorção sobre as partículas de β -TCP em G2, enquanto as menores partículas, em G3, estavam em atividade mais avançada, seguido por G1. Tal evento denota o potencial osteocondutor do β -TCP.³³

Após avaliação da diferença volumétrica de β -TCP e osso autógeno no seio maxilar aos 7 dias e 6 meses pós-operatórios, Gorla et al.¹⁸ obtiveram

resultados que alertam para uma avaliação de possíveis sobrecorreções na quantidade de biomaterial durante o preenchimento, cerca de 40% a mais, para que ao final do processo de reparo haja o resultado esperado, com tecido ósseo suficiente para a instalação dos implantes. Especificamente para biomateriais com partículas menores, como o β -TCP de 0,1 mm a 0,5 mm, esta sobrecorreção de biomaterial pode ser de difícil realização devido a sensibilidade da técnica para o preenchimento e o alto escoamento do material quando em contato com sangue e sua dispersão. Além disso, para estes biomateriais, a sobrecorreção poderia predispor ainda mais o tecido a hipóxia por dificultar a vascularização entre as partículas.²⁵

O β -TCP apresenta rápida reabsorção por atividade osteoclástica ou por meio de dissolução química, além de potencial osteocondutor.^{12,13,15,17-20,23,28,33-35} Quanto a formação de tecido conjuntivo, nota-se neste estudo que embora em G3 o estágio de reabsorção das partículas tenha se apresentado em maior avanço em relação a G2, há nele menor quantidade de tecido ósseo lamelar e maior quantidade de tecido conjuntivo, sugerindo que a neoformação óssea não se dá perfeitamente na mesma velocidade de reabsorção do biomaterial. Por outro lado, de modo semelhante ao osso neoformado e biomaterial remanescente, não houve diferença estatística na formação de tecido conjuntivo entre os biomateriais.

A imunomarcção leve para RUNX2 em G1 e G2 evidencia uma atividade baixa no processo de diferenciação de pré-osteoblastos em osteoblastos, porém contínua e intensa em G3, principalmente adjacente a região de matriz óssea, uma vez que esta proteína é responsável pela marcação da fase inicial de um evento fundamental para o desenvolvimento do esqueleto.^{19,36} No entanto, a

imunomarcção para VEGF, que apresentou maior equilíbrio entre os grupos, com atividade ligeiramente mais intensa em G3, evidenciou maior destaque para o processo de neovascularização tecidual, estimulado por este fator de crescimento,³⁷ que é caracterizado pela marcação de células endoteliais vasculares simultaneamente a maturação de osteoblastos.^{19,38} Esta sequência de episódios com diferença no grau de imunomarcção entre as proteínas pode se dar pelo realce de determinada etapa na cascata de eventos da regeneração óssea, que poderia destacar a diferenciação osteoblástica, neovascularização tecidual, síntese de matriz ou a remodelação pela atividade osteoclástica.^{36,38} Sendo assim, as imunomarcções obtidas confirmam o potencial osteocondutor de ambos β -TCP avaliados neste estudo.

Dessa forma, apesar de se mostrar osteocondutor e de não haver diferença estatística entre os grupos, o comportamento biológico das partículas do β -TCP em G3 sugere uma cautelosa avaliação durante a seleção do biomaterial para o preenchimento de grandes defeitos, cujas exigências podem ir além da osteocondução. A consideração de escolher um material com partículas ou porosidade maiores, com menor taxa de reabsorção ou até mesmo o osso autógeno deverá ser refletida para a obtenção do resultado esperado.³⁴

Conclusão

6. Conclusão

Observou-se neste estudo que o β -TCP é um material osteocondutor, que pode nas duas dimensões avaliadas, substituir o osso autógeno preferencialmente em defeitos de pequenas dimensões. Embora suas características histomorfométricas tenham se apresentado semelhantes ao controle utilizado neste estudo, este apresentou ainda comportamento biológico superior. Por isso, avaliar o padrão de comportamento, assim como o tamanho e a porosidade das partículas é indispensável para a seleção do biomaterial a ser utilizado, a fim de se obter resultados satisfatórios, principalmente em grandes reconstruções.

Estudos que avaliem resultados de longo prazo ainda são necessários para se estabelecer precisamente a etapa final do comportamento do biomaterial após a instalação dos implantes e reabilitação.

Referências

7. Referências

- 1- Pereira RS, Menezes JD, Bonardi JP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Comparative study of volumetric changes and trabecular microarchitecture in human maxillary sinus bone augmentation with bioactive glass and autogenous bone graft: a prospective and randomized assessment. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018 May;47(5):665-671. doi: 10.1016/j.ijom.2017.11.016. Epub 2017 Dec 13. PubMed PMID: 29246424.

- 2- Del Fabbro M, Corbella S, Weinstein T, Ceresoli V, Taschieri S. Implant survival rates after osteotome-mediated maxillary sinus augmentation: a systematic review. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012 May;14 Suppl 1:e159-68. doi: 10.1111/j.1708-8208.2011.00399.x. Epub 2011 Nov 14. Review. PubMed PMID:22082056.

- 3- Starch-Jensen T, Aludden H, Hallman M, Dahlin C, Christensen AE, Mordenfeld A. A systematic review and meta-analysis of long-term studies (five or more years) assessing maxillary sinus floor augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018 Jan;47(1):103-116. doi: 10.1016/j.ijom.2017.05.001. Epub 2017 May 22. Review. PubMed PMID: 28545806.

- 4- Tatum H J. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986;30. 30(2):207-29. PubMed PMID: 3516738.

- 5- Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980 Aug;38(8):613-6. PubMed PMID: 6993637.
- 6- Misch CE. Maxillary sinus augmentation for endosteal implants: organized alternative treatment plans. *Int J Oral Implantol.* 1987;4(2):49-58. PubMed PMID: 3269837.
- 7- Wood RM, Moore DL. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1988 Fall;3(3):209-14. PubMed PMID: 3074053.
- 8- Hench LL. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials.* 1998 Aug;19(16):1419-23.
- 9- Sbordone L, Toti P, Menchini-Fabris GB, Sbordone C, Piombino P, Guidetti F. Volume changes of autogenous bone grafts after alveolar ridge augmentation of atrophic maxillae and mandibles. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Oct;38(10):1059-65. doi: 10.1016/j.ijom.2009.06.024. Epub 2009 Jul 25. PubMed PMID: 19632815.
- 10- Moy PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Aug;51(8):857-62. PubMed PMID: 8393101.

- 11- 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 Jan-Feb;16(1):23-33. PubMed PMID: 11280359.
- 12- Szabó G, Huys L, Coulthard P, Maiorana C, Garagiola U, Barabás J, Németh Z, Hrabák K, Suba Z. A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005 May-Jun;20(3):371-81. PubMed PMID: 15973948.
- 13- Lu J, Descamps M, Dejou J, Koubi G, Hardouin P, Lemaitre J, Proust JP. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. *J Biomed Mater Res*. 2002;63(4):408-12. PubMed PMID: 12115748.
- 14- Ghosh R, Sarkar R. Synthesis and characterization of sintered beta-tricalcium phosphate: A comparative study on the effect of preparation route. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Oct 1;67:345-352. doi: 10.1016/j.msec.2016.05.029. Epub 2016 May 7. PubMed PMID: 27287130.
- 15- Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, Tal H. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal

histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004 May-Jun;19(3):357-68. PubMed PMID: 15214219.

- 16- Bohner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury*. 2000 Dec;31 Suppl 4:37-47. Review. PubMed PMID:11270080.
- 17- Bettach R, Guillaume B, Taschieri S, Del Fabbro M. Clinical performance of a highly porous beta-TCP as the grafting material for maxillary sinus augmentation. *Implant Dent*. 2014 Jun;23(3):357-64. doi: 10.1097/ID.000000000000102. PubMed PMID: 24819814.
- 18- Gorla LF, Spin-Neto R, Boos FB, Pereira Rdos S, Garcia-Junior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: a prospective, randomized, volumetric computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Dec;44(12):1486-91. doi: 10.1016/j.ijom.2015.07.003. Epub 2015 Jul 29. PubMed PMID: 26232120.
- 19- Bonardi JP, Pereira RDS, Boos Lima FBDJ, Faverani LP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Prospective and Randomized Evaluation of ChronOS and Bio-Oss in Human Maxillary Sinuses: Histomorphometric and Immunohistochemical Assignment for Runx 2, Vascular Endothelial Growth Factor, and Osteocalcin. *J Oral Maxillofac Surg*. 2018 Feb;76(2):325-335. doi: 10.1016/j.joms.2017.09.020. Epub 2017 Oct 10. PubMed PMID: 29100829.

- 20- Pereira RS, Gorla LF, Boos FBJD, Okamoto R, Garcia Júnior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: histomorphometric study and immunohistochemical assessment of RUNX2 and VEGF. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2017 Apr;46(4):503-510. doi: 10.1016/j.ijom.2017.01.002. Epub 2017 Feb 6. PubMed PMID: 28185708.
- 21- Milhan NVM, Carvalho ICS, Prado RF, Trichês ES, Camargo CHR, Camargo SEA. Analysis of indicators of osteogenesis, cytotoxicity and genotoxicity of an experimental β -TCP compared to other bone substitutes. *Acta Scientiarum. Health Sciences* v. 39, n. 1, p. 97-105, Jan.-June, 2017.
- 22- Oliveira CAA, Braga CM. Beta tri-calcium phosphate bone graft in mandibular body with cystic lesion and insertion of dental implants: case report. *Full Dent. Sci.* 2012; 3(12):424-431.
- 23- Dos Santos Pereira R, Boos FB, Gorla LF, Garcia IR Jr, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Maxillary Sinus Elevation Surgery with ChronOS and Autogenous Bone Graft: Immunohistochemical Assessment of RUNX2, VEGF, TRAP, and Osteocalcin. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2017 November/December;37(6):e321–e327. doi: 10.11607/prd.2606. Epub 2017 Aug 23. PubMed PMID: 28834531.
- 24- Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Momesso GAC, Luvizuto ER, de Oliveira Puttini I, Okamoto R. Effect of antiresorptive drugs in the alveolar bone

- healing. A histometric and immunohistochemical study in ovariectomized rats. *Clin Oral Investig*. 2017 Jun;21(5):1485-1494. doi: 10.1007/s00784-016-1909-x. Epub 2016 Jul 27. PubMed PMID: 27460567.
- 25- Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005 Sep;26(27):5474-91. Review. PubMed PMID: 15860204.
- 26- Yuan H, Kurashina K, de Bruijn JD, Li Y, de Groot K, Zhang X. A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. *Biomaterials*. 1999 Oct;20(19):1799-806. PubMed PMID: 10509190.
- 27- Pomini KT, Cestari TM, Santos German ÍJ, de Oliveira Rosso MP, de Oliveira Gonçalves JB, Buchaim DV, Pereira M, Andreo JC, Rosa GM Júnior, Della Coletta BB, Cosin Shindo JVT, Buchaim RL. Influence of experimental alcoholism on the repair process of bone defects filled with beta-tricalcium phosphate. *Drug Alcohol Depend*. 2019 Apr 1;197:315-325. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2018.12.031. Epub 2019 Feb 16. PubMed PMID: 30875652.
- 28- Fillingham Y, Jacobs J. Bone grafts and their substitutes. *Bone Joint J*. 2016 Jan;98-B(1 Suppl A):6-9. doi: 10.1302/0301-620X.98B.36350. Review. PubMed PMID: 26733632.

- 29- Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005 Jan-Feb;13(1):77-86. Review. PubMed PMID: 15712985.
- 30- Jang HY, Kim HC, Lee SC, Lee JY. Choice of graft material in relation to maxillary sinus width in internal sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010 Aug;68(8):1859-68. doi: 10.1016/j.joms.2009.09.093. Epub 2010 May 26. PubMed PMID: 20537777
- 31- Krennmair G, Krainhöfner M, Maier H, Weinländer M, Piehslinger E. Computerized tomography-assisted calculation of sinus augmentation volume. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 Nov-Dec;21(6):907-13. PubMed PMID: 17190300.
- 32- Avila G, Wang HL, Galindo-Moreno P, Misch CE, Bagramian RA, Rudek I, Benavides E, Moreno-Riestra I, Braun T, Neiva R. The influence of the bucco-palatal distance on sinus augmentation outcomes. *J Periodontol*. 2010 Jul;81(7):1041-50. doi: 10.1902/jop.2010.090686. PubMed PMID: 20450402.
- 33- Guillaume B. Filling bone defects with β -TCP in maxillofacial surgery: A review. *Morphologie*. 2017 Sep;101(334):113-119. doi: 10.1016/j.morpho.2017.05.002. Epub 2017 May 29. Review. PubMed PMID: 28571762.

- 34- Corbella S, Taschieri S, Weinstein R, Del Fabbro M. Histomorphometric outcomes after lateral sinus floor elevation procedure: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2016 Sep;27(9):1106-22. doi: 10.1111/clr.12702. Epub 2015 Oct 10. Review. PubMed PMID: 26452326.
- 35- Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials.* 2005 Apr;26(12):1445-51. PubMed PMID: 15482833.
- 36- Maruyama Z, Yoshida CA, Furuichi T, Amizuka N, Ito M, Fukuyama R, Miyazaki T, Kitaura H, Nakamura K, Fujita T, Kanatani N, Moriishi T, Yamana K, Liu W, Kawaguchi H, Nakamura K, Komori T. Runx2 determines bone maturity and turnover rate in postnatal bone development and is involved in bone loss in estrogen deficiency. *Dev Dyn.* 2007 Jul;236(7):1876-90. PubMed PMID: 17497678.
- 37- Ribatti D. The discovery of the fundamental role of VEGF in the development of the vascular system. *Mech Dev.* 2019 Dec;160:103579. doi: 10.1016/j.mod.2019.103579. Epub 2019 Oct 20. PubMed PMID: 31644946.
- 38- Kempen DH, Lu L, Heijink A, Hefferan TE, Creemers LB, Maran A, Yaszemski MJ, Dhert WJ. Effect of local sequential VEGF and BMP-2 delivery on ectopic and orthotopic bone regeneration. *Biomaterials.* 2009

May;30(14):2816-25. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.01.031. Epub 2009

Feb 20. PubMed PMID: 19232714.

Figuras

8. Figuras

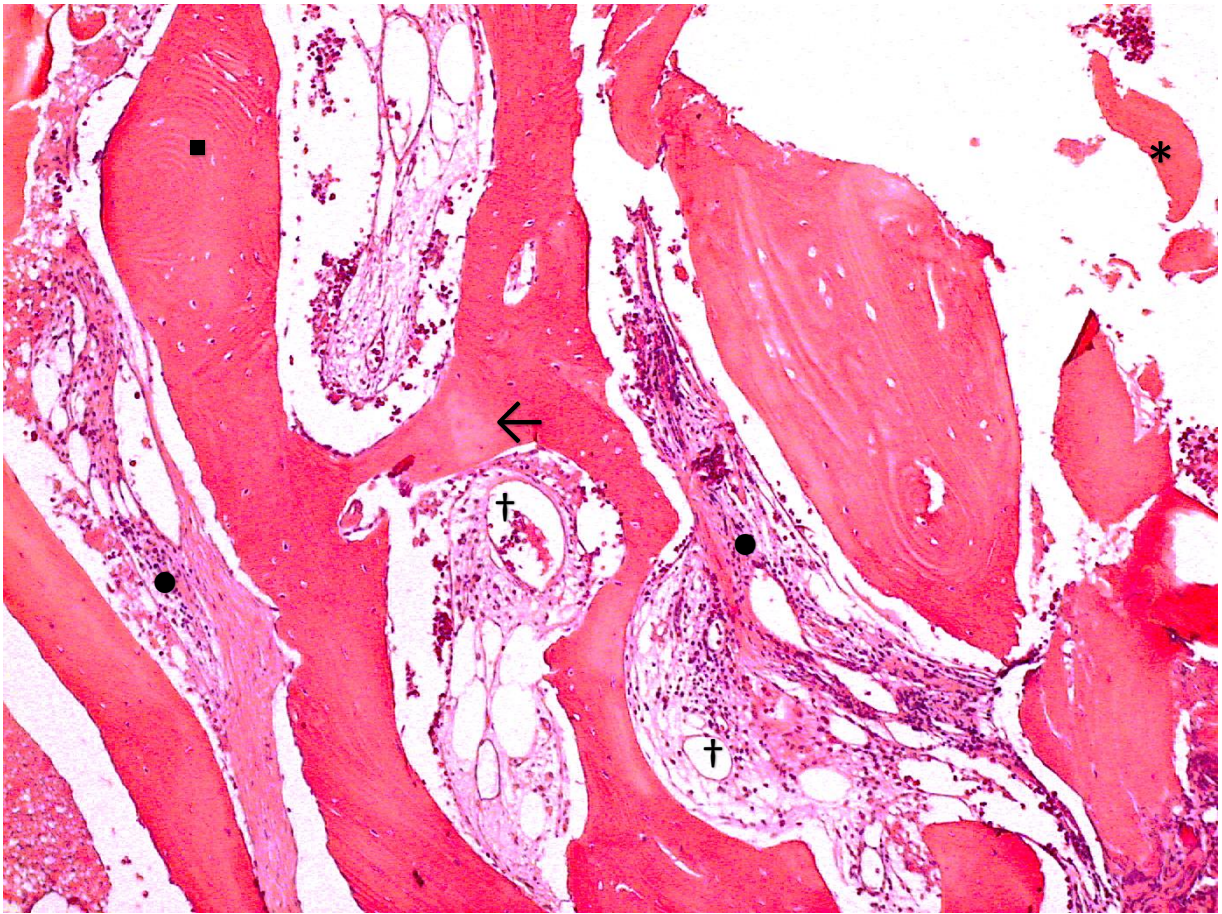


Figura 1 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 1. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante é a lamelar (■), com a presença de discretas regiões de osso imaturo (←) e escassas regiões de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)

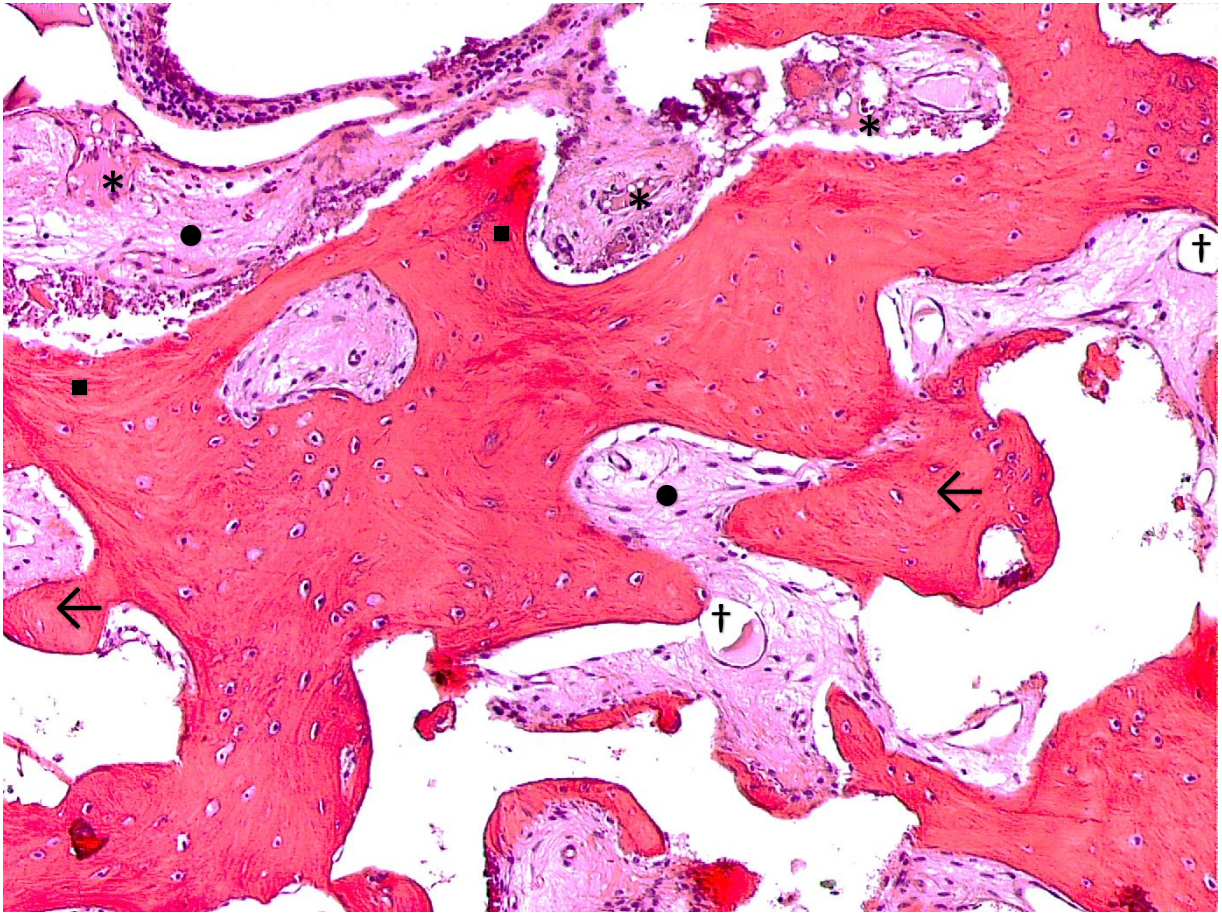


Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 2. Pode-se observar que a arquitetura óssea predominante também é a lamelar (▪), porém recente, com mais frequentes áreas de osso imaturo (←) e de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)

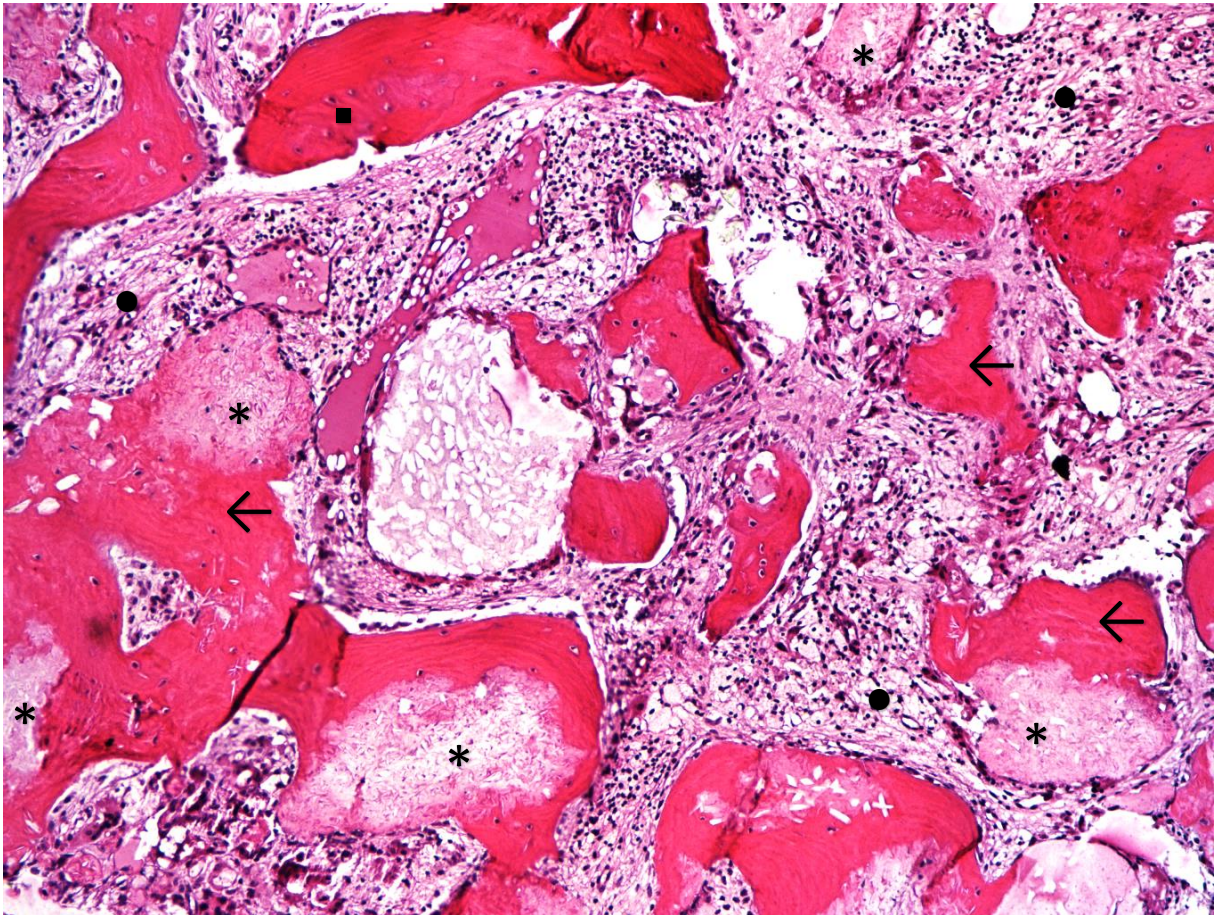


Figura 3 – Fotomicrografia de corte histológico do grupo 3. Pode-se observar a arquitetura óssea predominantemente lamelar (▪), porém recente, com esparsas regiões de osso imaturo (←) e de biomaterial remanescente (*) envolto a um tecido conjuntivo (●) celularizado e com neoformação vascular (†). (Hematoxilina & Eosina, aumento x12.5)

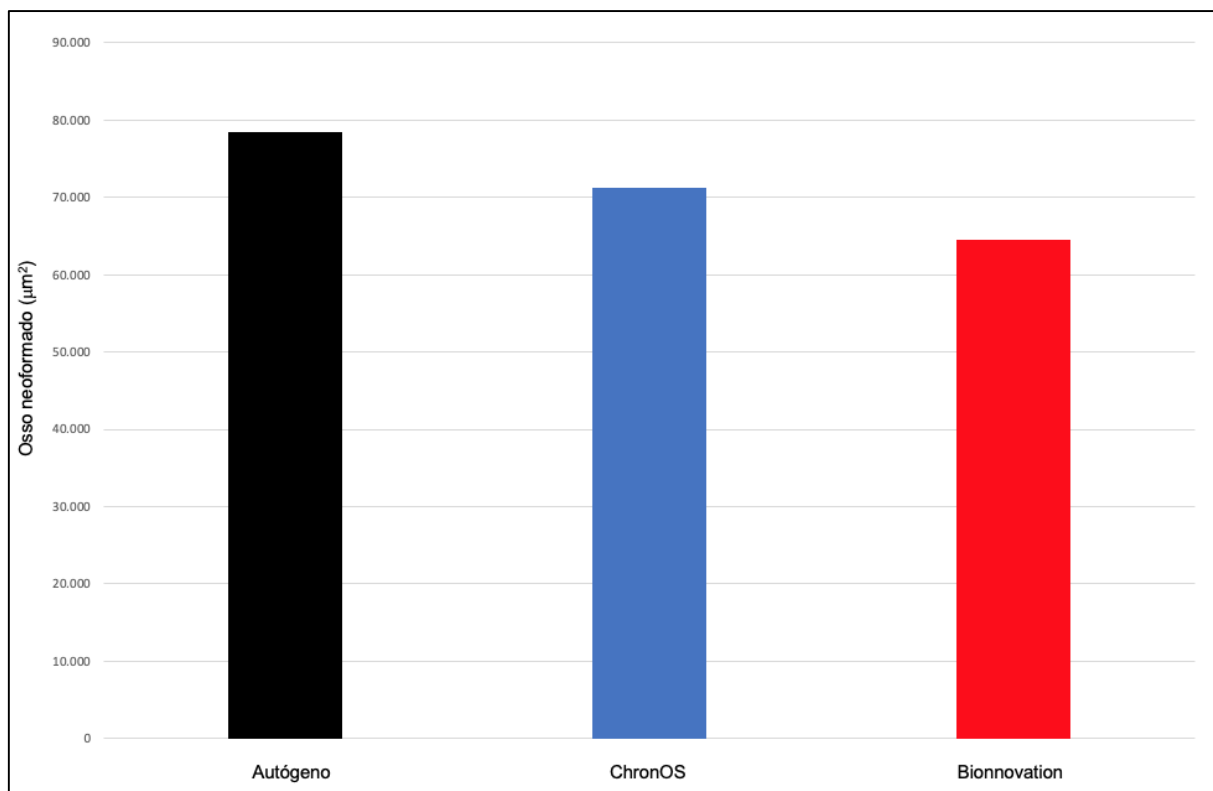


Figura 4 – Gráfico de comparação da área de osso neoformado em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation).

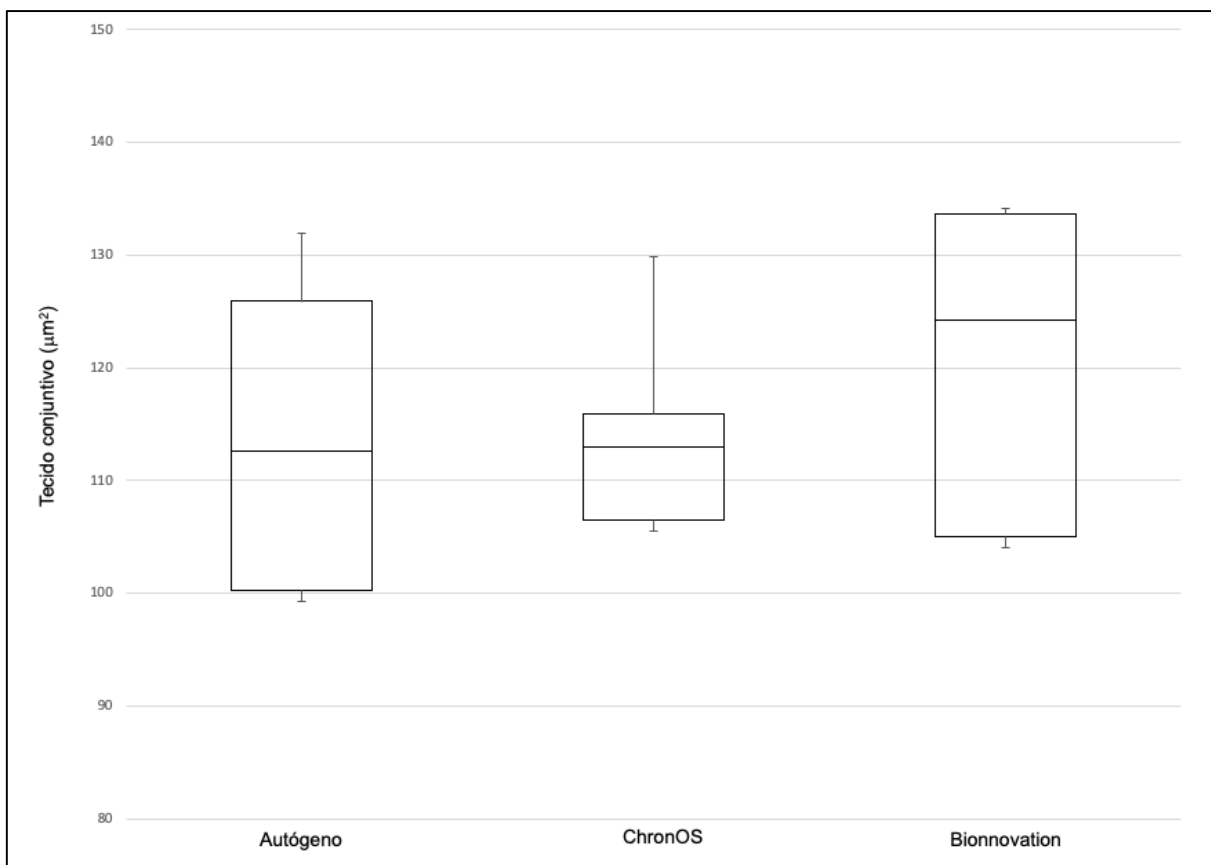


Figura 5 – Gráfico de comparação da área de tecido conjuntivo em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation).

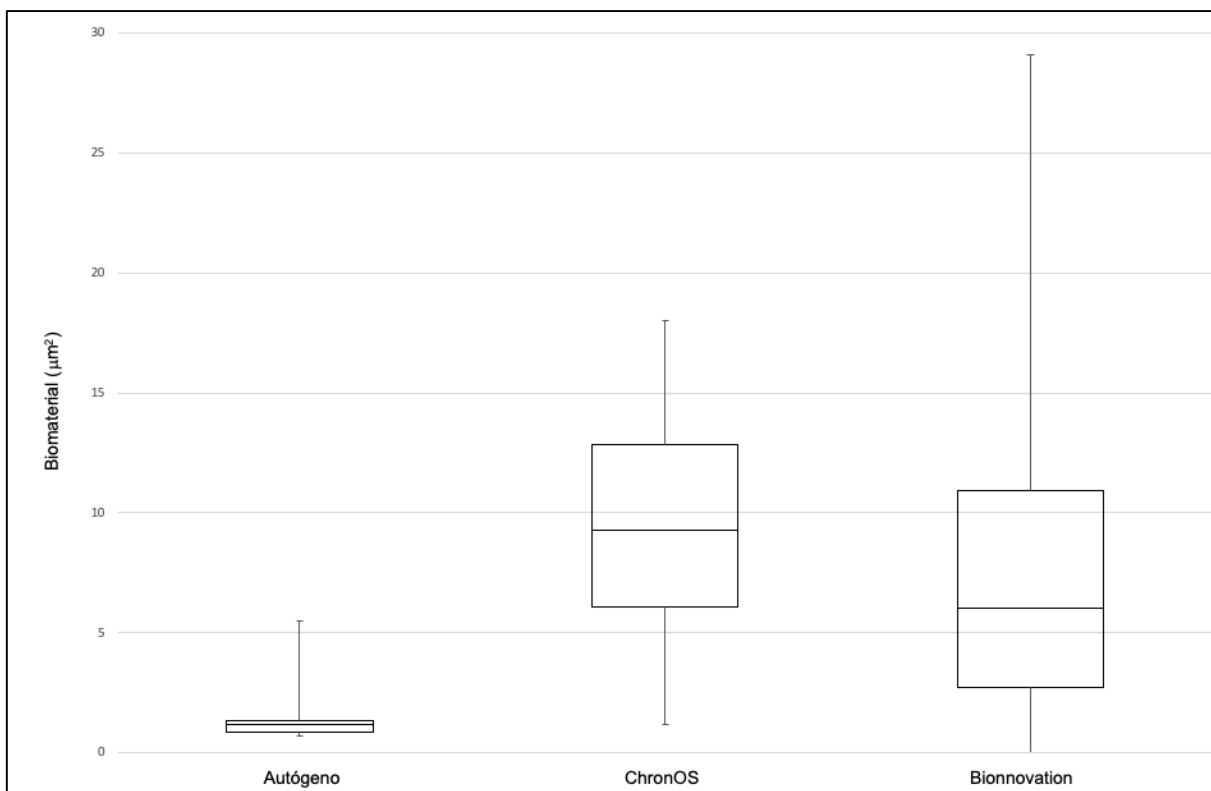


Figura 6 – Gráfico de comparação da área de biomaterial remanescente em μm^2 entre os grupos G1 (Autógeno), G2 (ChronOs) e G3 (Bionnovation).

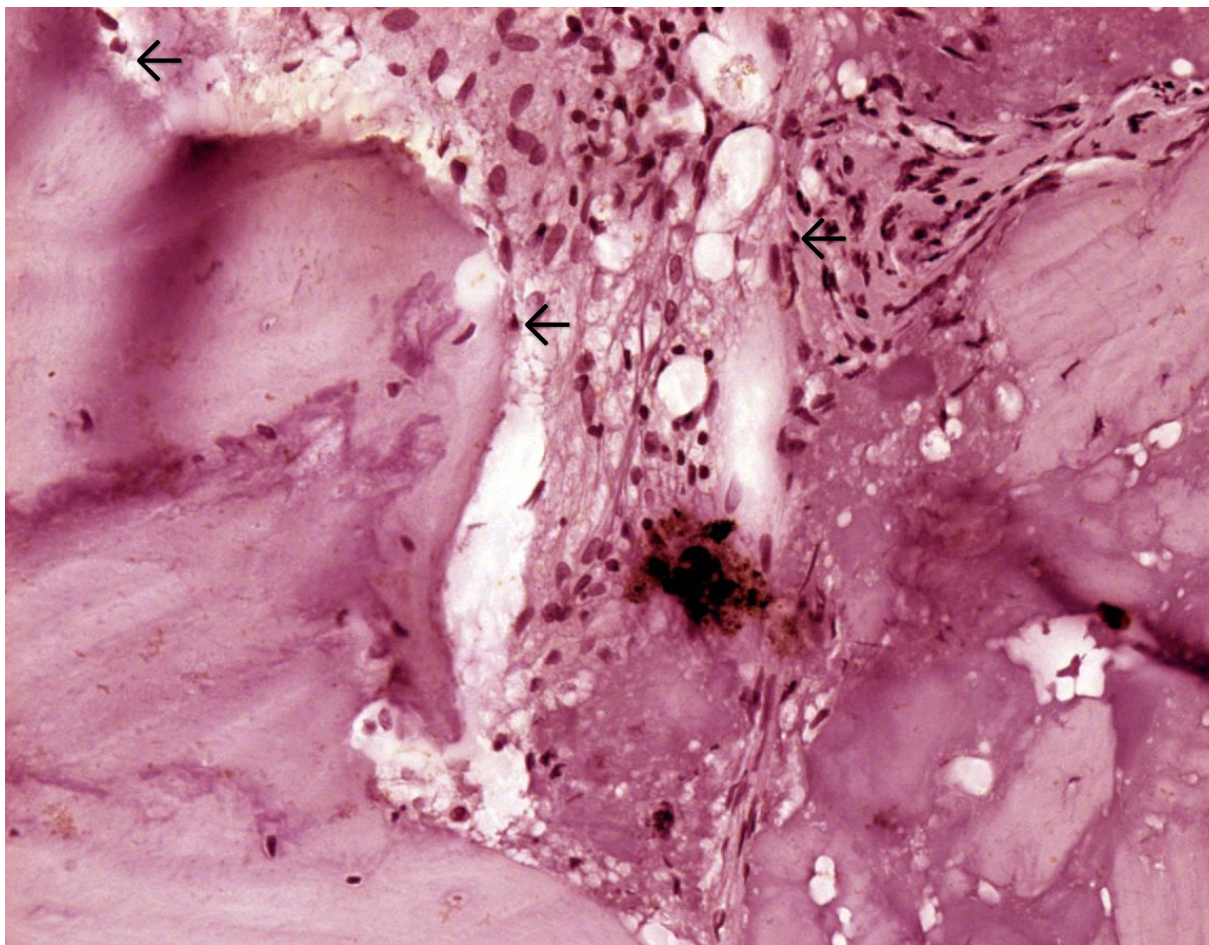


Figura 7 – Fotomicrografia da imunomarcção para Runx2 do grupo 1 evidenciando imunomarcção leve (1). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

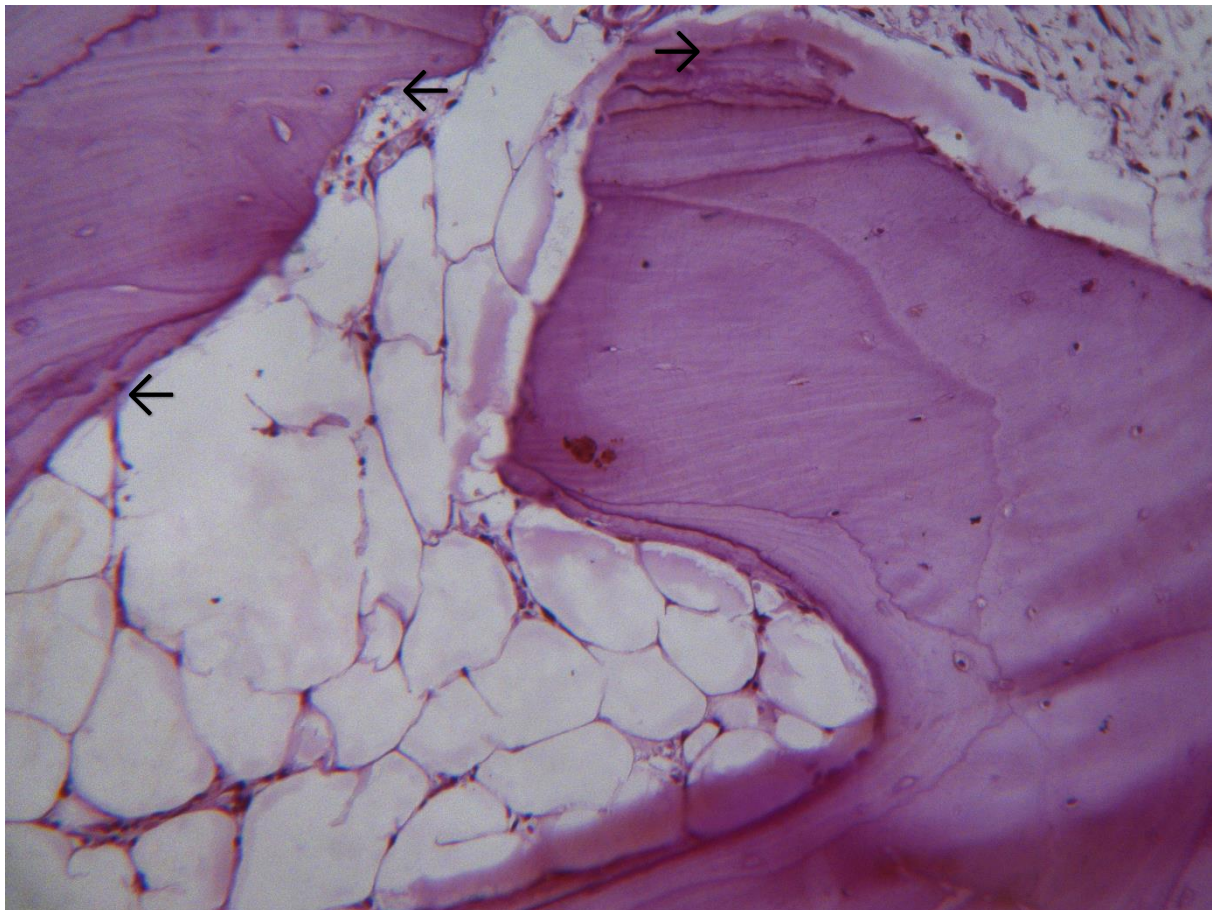


Figura 8 – Fotomicrografia da imunomarcção para Runx2 do grupo 2 evidenciando imunomarcção leve (1). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

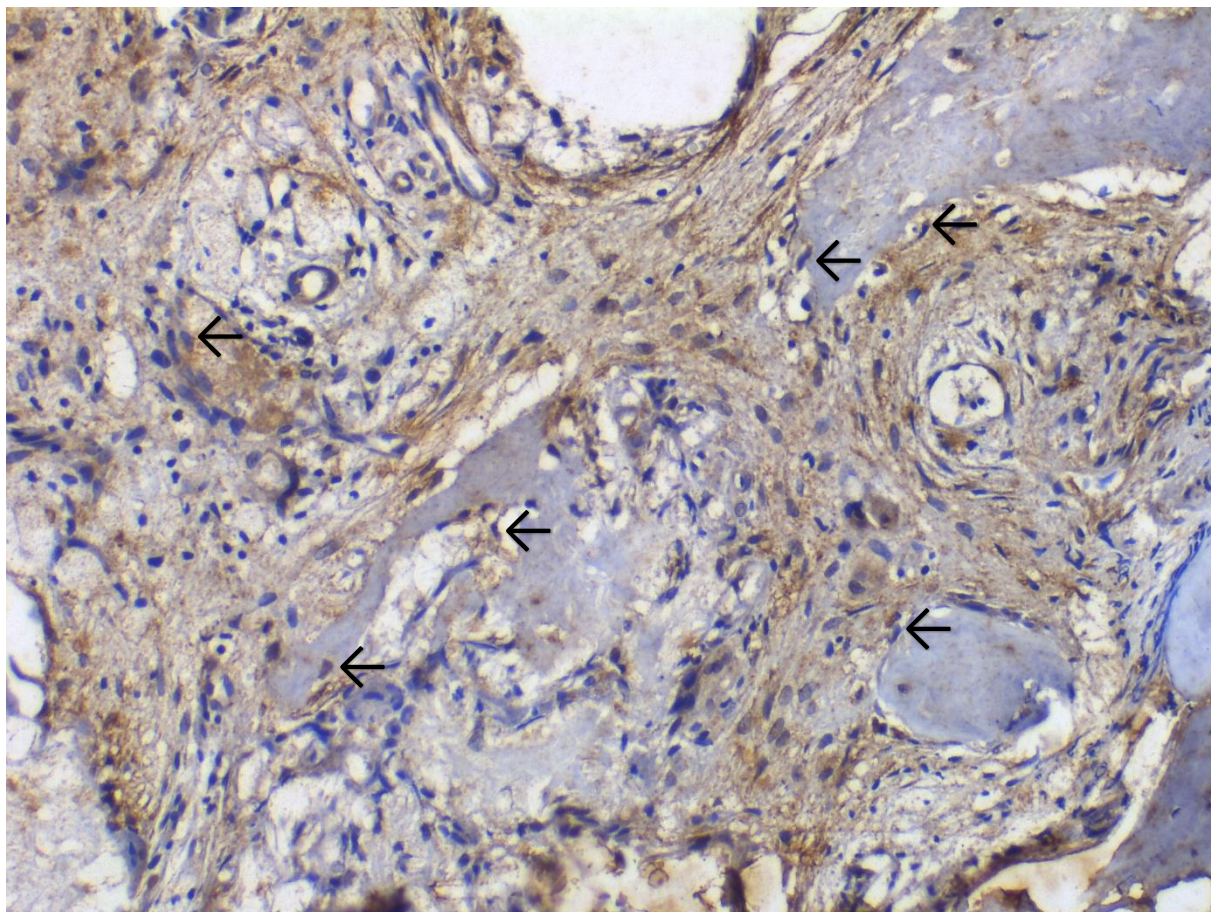


Figura 9 –Fotomicrografia da imunomarcção para Runx2 do grupo 3 evidenciando imunomarcção moderada (2) a intensa (3). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

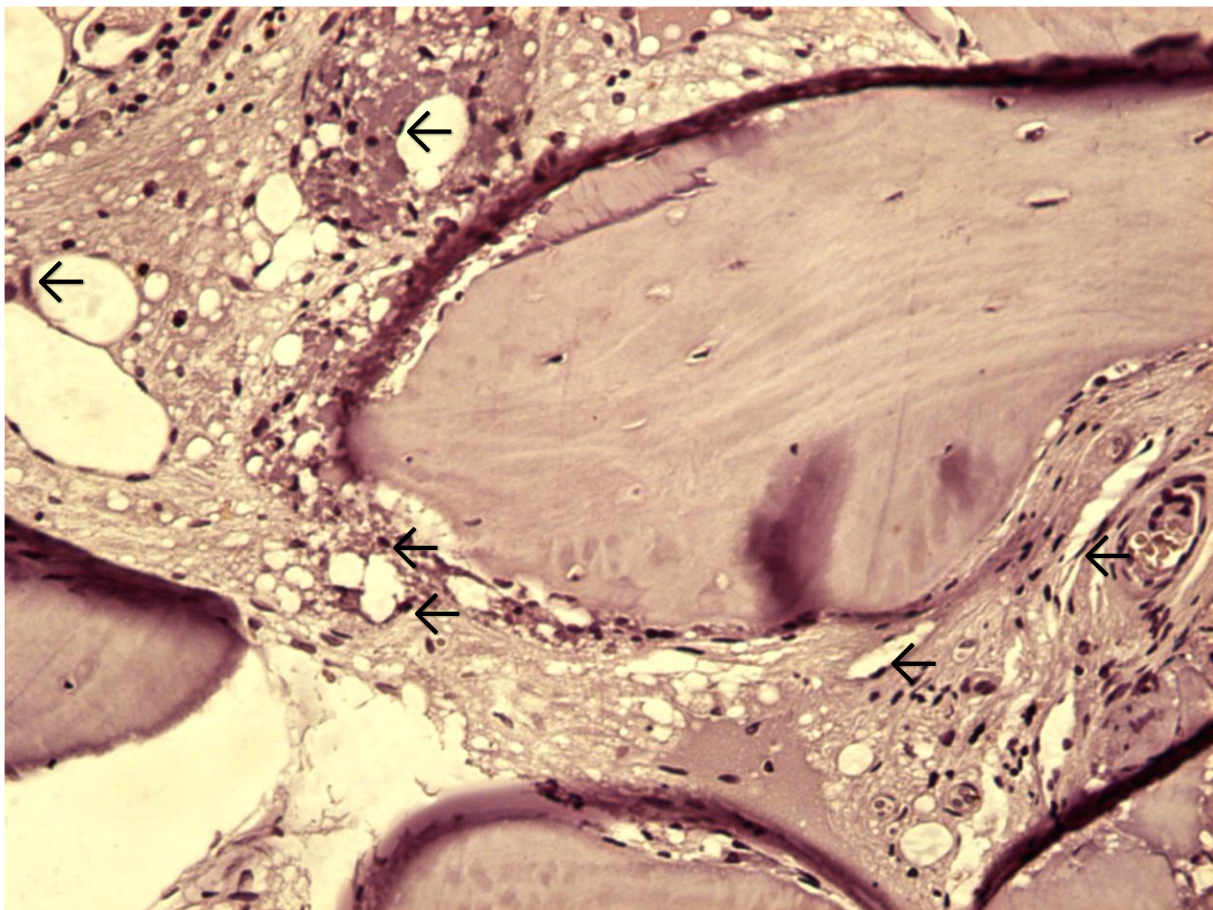


Figura 10 –Fotomicrografia da imunomarcção para VEGF do grupo 1 evidenciando imunomarcção moderada (2). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

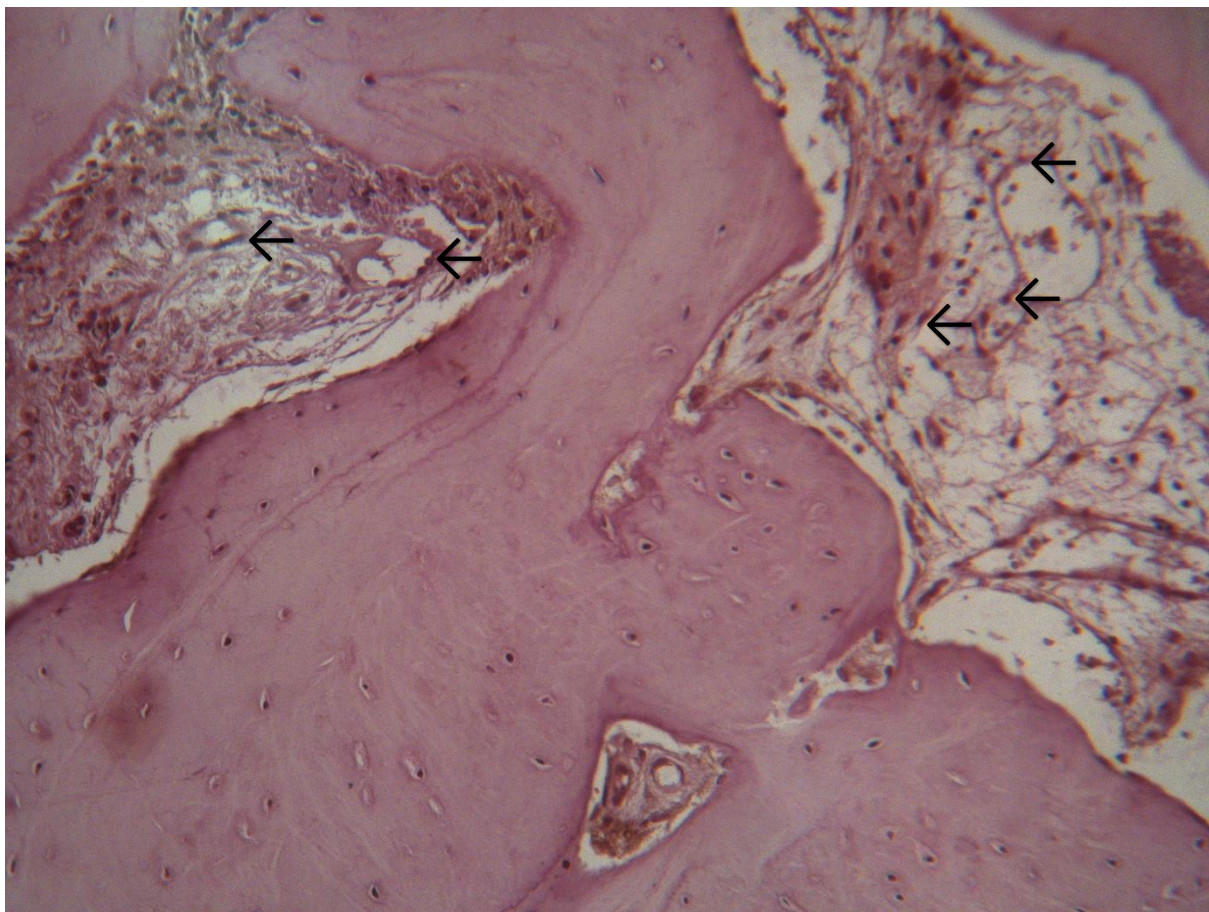


Figura 11 –Fotomicrografia da imunomarcção para VEGF do grupo 2 evidenciando imunomarcção moderada (2). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

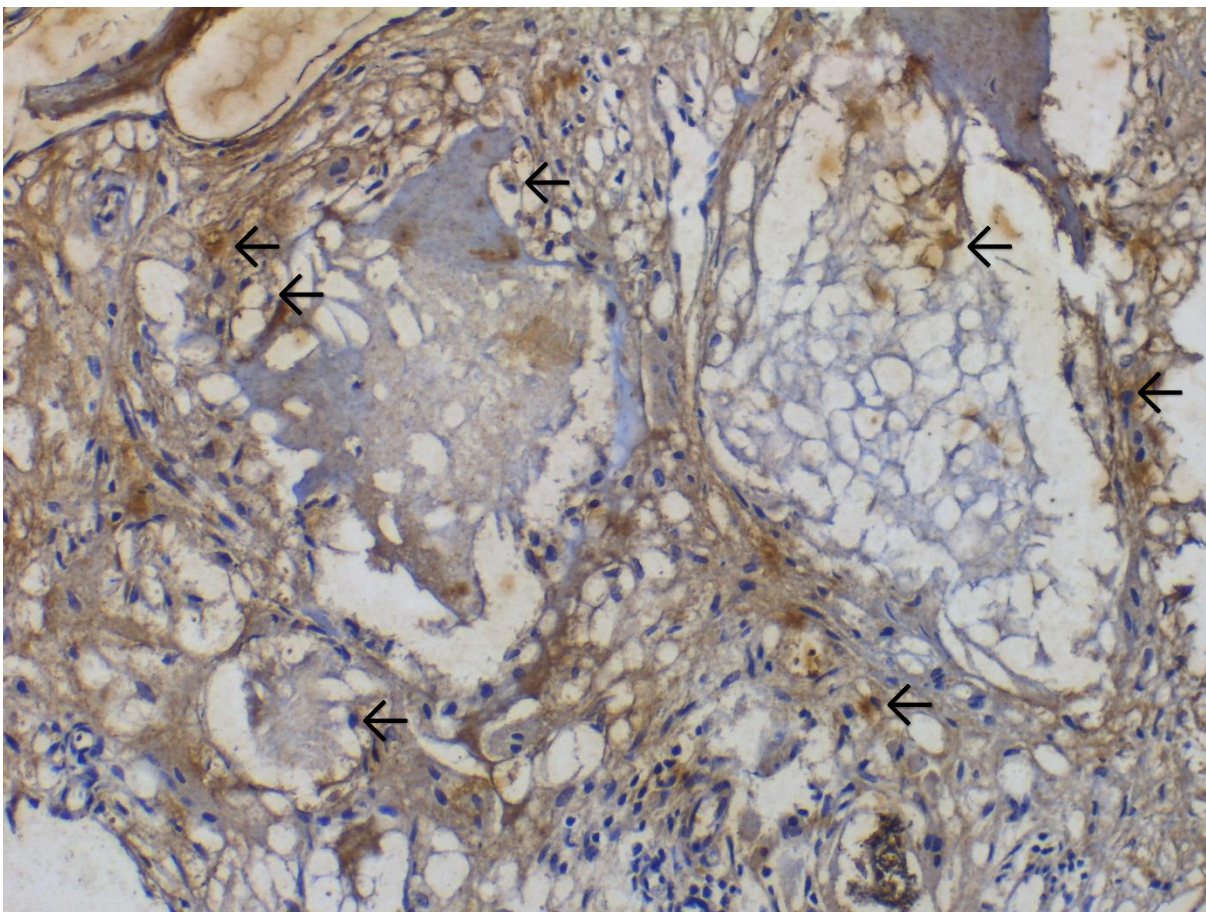


Figura 12 –Fotomicrografia da imunomarcção para VEGF do grupo 3, evidenciando imunomarcção moderada (2) a intensa (3). (Hematoxilina de Harris, aumento x25)

Tabelas

9. Tabelas

Tabela 1. Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial remanescente para o grupo autógeno.

Pacientes (lado)	Enxerto	Osso μm^2 (%)	Conjuntivo μm^2 (%)	Biomaterial μm^2 (%)
1D	Autógeno	93.168 (48,60%)	97.132 (50,70%)	1.369 (0,70%)
2D	Autógeno	100.963 (52,60%)	85.401 (44,50%)	5.520 (2,90%)
3D	Autógeno	58.834 (30,70%)	131.935 (68,90%)	0.777 (0,40%)
4D	Autógeno	61.473 (32%)	129.336 (67,40%)	1.167 (0,60%)
5E	Autógeno	81.103 (42,20%)	109.773 (57,10%)	1.223 (0,60%)
6E	Autógeno	75.111 (39%)	115.532 (60,60%)	0.723 (0,40%)
	Média	78.442	112.652	1.195

Tabela 2. Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial para β -TCP ChronOs.

Pacientes (lado)	Substituto ósseo	Osso μm^2 (%)	Conjuntivo μm^2 (%)	Biomaterial μm^2 (%)
7D	ChronOS	70.925 (37%)	110.459 (57,60%)	10.439 (5,40%)
8E	ChronOS	74.802 (39,10%)	115.528 (60,30%)	1.206 (0,60%)
9E	ChronOS	81.240 (42,40%)	105.135 (54,80%)	5.386 (2,80%)
10D	ChronOS	84.618 (44%)	89.370 (46,60%)	17.988 (9,40%)
11E	ChronOS	53.806 (28%)	129.857 (67,70%)	8.098 (4,20%)
12E	ChronOS	62.306 (32,40%)	116.040 (60,40%)	13.630 (7,10%)
	Média	71.283	112.993	9.268

Tabela 3. Proporção entre osso neoformado, tecido conjuntivo e biomaterial para β -TCP Bionnovation.

Pacientes (lado)	Substituto ósseo	Osso	Conjuntivo μm^2 (%)	Biomaterial μm^2 (%)
13E	Bionnovation	61.258 (32%)	101.664 (53%)	29.085 (15%)
14D	Bionnovation	55.497 (28,50%)	133.831 (68,70%)	5.476 (2,80%)
15E	Bionnovation	92.165 (48%)	93.121 (48,60%)	6.566 (3,40%)
16D	Bionnovation	46.203 (24%)	133.213 (69,50%)	12.406 (6,50%)
17E	Bionnovation	76.105 (39,80%)	115.317 (60,20%)	0 (0%)
18D	Bionnovation	55.819 (29%)	134.080 (70%)	1.832 (1%)
	Média	64.508	124.265	6.021

Tabela 4. Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de osso neoformado.

Shapiro-Wilk			
	Estatística	Df	Sig
Osso neoformado	0,962	18	0,641

$p= 0,641$

Tabela 5. Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de tecido conjuntivo.

Shapiro-Wilk			
	Estatística	Df	Sig
Tecido conjuntivo	0,767	18	0,001

$p= 0,001$

Tabela 6. Teste de normalidade de Shapiro-Wilk para a área de biomaterial remanescente.

	Shapiro-Wilk		
	Estatística	Df	Sig
Biomaterial remanescente	0,758	18	0

p= 0

Tabela 7. Áreas de osso neoformado, para os três Biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica

Seio Maxilar	Osso neoformado μm^2 (%)		
	Autógeno	ChronOS	Bionnovation
1	93.168 (48,6%)	70.925 (37%)	61.258 (32%)
2	100.963 (52,6%)	74.802 (39,1%)	55.497 (28,5%)
3	58.834 (30,7%)	81.240 (42,4%)	92.165 (48%)
4	61.473 (32%)	84.618 (44%)	46.203 (24%)
5	81.103 (42,2%)	53.806 (28%)	76.105 (39,8%)
6	75.111 (39%)	62.306 (32,4%)	55.819 (29%)
Média	78.442	71.283	64.508

Tabela 8. Teste ANOVA de fator único para a análise da área de osso neoformado entre os biomateriais.

Osso	Soma dos quadrados	df	Quadrado médio	F	Sig.
Entre grupos	582630586	2	291315293	1,251	0,314
Nos grupos	3,49E+09	15	232792514		
Total	4,08E+09	17			

p= 0,314

Tabela 9. Áreas de tecido conjuntivo, para os três Biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica.

Tecido conjuntivo μm^2 (%)			
Seio Maxilar	Autógeno	ChronOS	Bionnovation
1	97.132 (50,7%)	110.459 (57,6%)	101.664 (53%)
2	85.401 (44,5%)	115.528 (60,3%)	133.831 (68,7%)
3	131.935 (68,9%)	105.135 (54,8%)	93.121 (48,6%)
4	129.336 (67,4%)	89.370 (46,6%)	133.213 (69,5%)
5	109.773 (57,1%)	129.857 (67,7%)	115.317 (60,2%)
6	115.532 (60,6%)	116.040 (60,4%)	134.080 (70%)
Média	112.652	112.993	124.265

Tabela 10.A. Classificações para o teste de Kruskal-Wallis na análise da área de tecido conjuntivo entre os Biomateriais.

A)

	Grupos	N	Rank
Tecido conjuntivo	Autógeno	6	9,17
	ChronOs	6	7,50
	Bionnovation	6	11,83
	Total	18	

Tabela 10.B. Resultado do teste de Kruskal-Wallis na análise da área de tecido conjuntivo entre os biomateriais.

	Tecido
Qui-quadrado	2,012
Df	2
Significância Assintótica	0,366

p= 0,366

Tabela 11. Áreas de biomaterial remanescente, para os três biomateriais analisados, obtidas por análise histomorfométrica.

Seio Maxilar	Biomaterial remanescente μm^2 (%)		
	Autógeno	ChronOS	Bionnovation
1	1.369 (0,7%)	10.439 (5,4%)	29.085 (15%)
2	5.520 (2,9%)	1.206 (0,6%)	5.476 (2,8%)
3	0.777 (0,4%)	5.386 (2,8%)	6.566 (3,4%)
4	1.167 (0,6%)	17.988 (9,4%)	12.406 (6,5%)
5	1.223 (0,6%)	8.098 (4,2%)	0 (0%)
6	0.723 (0,4%)	13.630 (7,1%)	1.832 (1%)
Média	1.195	9.268	6.021

Tabela 12. A. Classificações para o teste de Kruskal-Wallis na análise da área de biomaterial remanescente entre os Biomateriais.

A)

	Grupos	N	Rank
Biomateriais	Autógeno	6	5,83
	ChronOs	6	11,33
	Bionnovation	6	11,33
	Total	18	

Tabela 12. B. Resultado do teste de Kruskal-Wallis na análise da área de biomaterial remanescente entre os Biomateriais.

B)

	Biomaterial
Qui-quadrado	4,246
df	2
Significância Assintótica	0,120

p= 0,120

Tabela 13. Representação dos escores da análise imunoistoquímica para RUNX2 e VEGF evidenciando imunomarcção (-) ausente, (+) leve, (++) moderada e (+++) intensa para os grupos avaliados.

	RUNX2	VEGF
Autógeno	+	++
ChronOs	+	++
Bionnovation	++/+++	++/+++

Anexos

10 - Anexos

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

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo clínico prospectivo e randomizado do reparo ósseo após enxertos em seios maxilares de humanos

Pesquisador: Eduardo Hochuli Vieira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 91334718.8.0000.5420

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.745.048

Apresentação do Projeto:

O presente projeto trata-se de estudo clínico controlado prospectivo para avaliar o comportamento do Fosfato de cálcio bifásico, em pasta e em grânulos, puros e misturados ao osso autógeno na proporção 1:1, e do Beta fosfato tricálcio puro em grânulos e comparar ao osso autógeno no sentido de neoformação óssea, biorreabsorção e quantidade de tecido mole (tecido conjuntivo e coágulo sanguíneo) em seio maxilar de humanos.

Objetivo da Pesquisa:

O trabalho proposto tem o intuito de procurar entender melhor o que ocorre com os enxertos autógenos associados aos biomateriais a base de fosfato de cálcio bifásico e o beta tricálcio fosfato usado isoladamente como substituto ósseo ao osso autógeno puro para o levantamento de assoalho de seio maxilar em humanos, uma vez que esta é uma intervenção de rotina na odontologia e poucos trabalhos relacionam o histológico com a micro tomografia, a imunohistoquímica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A pesquisa terá os riscos decorrentes da cirurgia classificados como mínimos, embora sejam realizados procedimentos de nível ambulatorial e exames imaginológicos com finalidade de diagnóstico, todas as medidas preventivas durante os procedimentos serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo, assim como, infecção do seio maxilar operado, sinusites,

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.745.048

absorção do

material enxertado decorrente ou não do procedimento cirúrgico e dos cuidados pós operatórios. Caso aconteça, o pesquisador tomará todas as medidas necessárias para sanar os problemas e refazer o procedimento, se possível. Diante da impossibilidade de início ou seguimento do tratamento proposto devido a desistência ou qualquer outra condição por parte do paciente, o mesmo será excluído da pesquisa e retornará ao setor de triagem para tratamento pelas disciplinas clínicas da faculdade.

Benefícios:

O paciente beneficiará-se do aumento da altura óssea maxilar posterior para posterior reabilitação protética oral com implantes osseointegrados. Espera-se que o estudo resulte em informações importantes sobre a forma da reparação óssea dos devidos biomateriais em reconstruções de seios maxilares, de forma que o conhecimento que será acrescido a partir desta pesquisa possa viabilizar uma alternativa para as reconstruções sinusais, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas. O pesquisador responsável é especialista e tem vasta experiência em cirurgias de aumento de rebordo alveolar o que minimiza os riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Objetivos claros e metodologia adequada para obtenção dos resultados propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados e estão adequados.

Recomendações:

Não Há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não havendo pendências recomenda-se a aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa salientando que, de acordo com a Resolução 466 CNS de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/01/2019. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da

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

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.745.048

carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1148295.pdf	07/06/2018 16:18:02		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	07/06/2018 16:12:43	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	07/06/2018 09:18:37	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	07/06/2018 09:18:14	Eduardo Hochuli Vieira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 29 de Junho de 2018

Aldiéris Alves Pesqueira

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador)

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

10.2 - Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “Estudo clínico prospectivo e randomizado do reparo ósseo após enxertos em seios maxilares de humanos”

Nomes dos (a) Pesquisadores (a): Bruno Coelho Mendes, Rodrigo dos Santos Pereira/João Paulo Bonardi

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

1. Natureza da pesquisa: o (a) Sr (a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar o comportamento do Fosfato de Cálcio Bifásico (FCB), na forma granulada e pasta, puros e misturados ao osso autógeno (próprio) na proporção 1:1, e do Beta Fosfato tricálcio (β TCP) puro granulado em seio maxilar, e compará-los ao osso autógeno para a instalação de implantes dentários.

2. Participantes da pesquisa: Serão realizados em 70 pacientes cirurgias para enxerto ósseo em seios maxilares pneumatizados. Os participantes serão divididos em 06 grupos onde serão utilizados os biomaterias na forma pura (granulado ou pasta) ou misturados na proporção de 1:1 com osso autógeno.

3. Envolvimento na pesquisa: ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o (a) pesquisador (a) realize cirurgia para aumento da altura óssea de seio maxilar com algum biomaterial designado nesta pesquisa puro e/ou com osso autógeno ou somente osso autógeno. O (a) sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

4. Riscos e desconforto: a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas tendo como riscos decorrentes da cirurgia classificados como mínimos, embora sejam realizados procedimentos de nível ambulatorial e

exames imaginológicos com finalidade de diagnóstico, todas as medidas preventivas durante os procedimentos serão tomadas para minimizar qualquer risco ou incômodo, assim como, infecção do seio maxilar operado, sinusites, absorção do material enxertado decorrente ou não do procedimento cirúrgico e dos cuidados pós operatórios. Caso aconteça, o pesquisador tomará todas as medidas necessárias para sanar os problemas e refazer o procedimento, se possível. Diante da impossibilidade de início ou seguimento do tratamento proposto devido a desistência ou qualquer outra condição por parte do paciente, o mesmo será excluído da pesquisa e retornará ao setor de triagem para tratamento pelas disciplinas clínicas da faculdade. Após a instalação dos implantes será confeccionada a prótese, considerando-se o período cicatricial e não será realizada exclusivamente pelo cirurgião. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

5. Confidencialidade: todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e seu (sua) orientador (a) (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

6. Benefícios: ao participar desta pesquisa o(a) sr.(a) poderá ter o benefício de obter a altura óssea necessária para a instalação dos implantes dentais. Esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre a forma da reparação óssea dos devidos biomateriais em reconstruções de seios maxilares, de forma que o conhecimento que será acrescido a partir desta pesquisa possa viabilizar uma alternativa para as reconstruções sinusais, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.

7. Pagamento: o (a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação. Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro

que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

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

Consentimento Livre e Esclarecido

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

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

Pesquisador: Bruno Coelho Mendes Tel: (65) 981499916/ Rodrigo dos Santos Pereira Tel: (21) 96937-5841/ João Paulo Bonardi cel: (18) 98172-1722

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

Coordenador(a) do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. Aldiéres Alves Pesqueira

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234. E-mail cep@foa.unesp.br

10.3 - Anexo 3: Processamento histológico

Após o período de 48 horas de acondicionamento em formaldeído 10%, as biópsias foram lavadas em água corrente por 24 horas e então foi iniciada a descalcificação das mesmas por meio solução de EDTA 10% (Preparo da solução de EDTA: em 250 ml de tampão fosfato, pH 7,2, diluir os solutos EDTA (50,0 g) e NaOH (6,1 g). Foram colocadas individualmente em frascos plásticos com solução de EDTA e mantidos sob refrigeração a 4°C. A solução de EDTA foi trocada semanalmente durante todo o período de descalcificação (aproximadamente sete semanas) até que fosse identificada a descalcificação necessária. Esta identificação foi feita por método mecânico simples (penetração, sem resistência, de uma agulha anestésica odontológica na peça anatômica).

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

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

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

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

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

10.4 - Anexo 4: Normas para Publicação no Periódico International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery

Guide for Author

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

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

Online Submission

Submission and peer-review of all papers is now conducted entirely online, increasing efficiency for editors, authors, and reviewers, and enhancing publication speed. Authors requiring further information on online submission are strongly encouraged to view the system, including a tutorial, at <http://ees.elsevier.com/ijoms> A comprehensive Author Support service is available to answer additional enquiries at authorsupport@elsevier.com. 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 pre- and post-submission should visit <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsupport.authors/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note, Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms and Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions.

Article Types

The following contributions will be accepted for publication. *Please take careful note of the maximum length where applicable.* Overlength articles will be returned

to the authors without peer review:

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

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

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

Criteria for Publication

Papers that will be considered for publication should be: • focused

- based on a sound hypothesis and an adequate investigation method analysing a statistically relevant series, leading to relevant results that back the conclusion
- well written in simple, scientific English grammar and style

- presented with a clear message and containing new information that is relevant for the readership of the journal
- Note the comment above relating to case reports.

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

Presentation of Manuscripts

General points

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

Format

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

- title page

- abstract
- text
- acknowledgements
- references
- tables
- captions to illustrations.

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

Title page

The title page should give the following information: • title of the article

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

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

Abstract

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

Text

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results

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

Discussion

- Discuss - do not recapitulate results • Point out exceptions and lack of correlations. Do not try to cover up or 'fudge' data • Show how results

agree/contrast with previous work • Discuss the implications of your findings • State your conclusions very clearly

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

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

Abbreviations, symbols, and nomenclature: Only standardized terms, which have been generally accepted, should be used. Unfamiliar abbreviations must be defined when first used. For further details concerning abbreviations, see Baron DN, ed. Units, symbols, and abbreviations. A guide for biological and medical editors and authors, London, Royal Society of Medicine, 1988 (available from The Royal Society of Medicine Services, 1 Wimpole Street, London W1M 8AE, UK). The minus sign should be -.

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

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

References

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

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

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

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

Examples:

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

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

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

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

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

Tables

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

Figures

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

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

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

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

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

Funding body agreements and policies

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

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, which they are requested to correct and return within 48 hours. Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download

Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author will be provided, at no cost, with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the

terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Accepted Articles

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

Instructions for Letters to the Editor

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

1. Letters are meant to be focus pieces and, therefore, are limited to no more than 600 words, 6 references and a maximum of 2 figures. One reference should include a reference to the IJOMS article being addressed.
2. It is recommended that you limit your letter to one or two important and critical points to which you wish to provide a clear and precise discussion regarding the previously published article.
3. One should support all assertion by peer review literature which should be a primary research or large clinical studies rather than a case report.
4. Please include any financial disclosures at the end of the letter. This would include the potential conflicts of interest not just related to the specific content of your letter but also the content of the IJOMS article and other related areas.

5. Please recognize that letters that are essentially in agreement with the author's findings and offer no additional insights provide little new information for publication. Likewise, letters that highlight the writer's own research or are otherwise 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.