



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

**ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO PERIODONTIA**

CESAR AUGUSTO THOMÉ

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE
ENXERTO DE BLOCO ÓSSEO CÓRTICO-MEDULAR
ALÓGENO EM SEIO MAXILAR**

Curitiba

2015

CESAR AUGUSTO THOMÉ

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE
ENXERTO DE BLOCO ÓSSEO CÓRTICO-MEDULAR
ALÓGENO EM SEIO MAXILAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, Área de Concentração em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Sung Hyun Kim.

Curitiba

2015

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

Thomé, Cesar Augusto
T465a Avaliação histológica e radiográfica de enxerto de bloco ósseo córtico-
2015 medular alógeno em seio maxilar / Cesar Augusto Thome; orientador, Sung
Hyun Kim. -- 2015
55 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba,
2015.
Inclui bibliografias

1. Odontologia. 2. Seio maxilar. 3. Regeneração óssea guiada. 4. Aloenxertos.
5. Ossos – Enxerto. 6. Implantes dentários. I. Sung, Hyun Kim.
II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Odontologia. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.6



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola Saúde e Biociências
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

PUCPR
GRUPO MARISTA

TERMO DE APROVAÇÃO

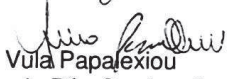
CÉSAR AUGUSTO THOMÉ

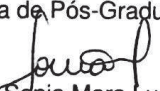
AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DE ENXERTO DE BLOCO ÓSSEO CÓRTICO-MEDULAR ALÓGENO EM SEIO MAXILAR


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do Título de **Doutor em Odontologia**, Área de Concentração em **Periodontia**.

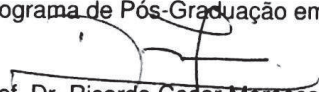
Orientador (a):


Prof. Dr. Sung Hyun Kim
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Profª Drª Vula Papalexiou
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Profª Drª Sonia Mara Luczyszyn
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFPR


Prof. Dr. Ricardo César Moresca
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFPR

Curitiba, 11 de dezembro 2015.

Dedico este trabalho á minha esposa Kelly, por seu amor e compreensão, e à minha família, pelo incentivo constante. Aos meus pais, pelo exemplo de vida e superação. À Deus, a quem a vida pertence, por permitir que as coisas aconteçam no seu devido tempo e lugar.

AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelo acolhimento fraterno e pela possibilidade de galgar mais este degrau.

Ao Reitor, Prof. Dr. Waldomiro Gremski, pela educação dispensada a todos durante a sua gestão, e pela confiança na realização deste trabalho de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Sérgio Vieira, coordenador do programa de pós-graduação em Odontologia da PUC-PR, pelo profissionalismo com que exerce seu cargo.

Ao Prof. Dr. Sung Hyun Kim, meu orientador, por sua dedicação e amizade.

Ao Prof. Dr. Sergio Aparecido Ignácio, pela elaboração da estatística deste trabalho.

À Dra. Lisiane Cristine Cabral, médica patologista, por sua inestimável contribuição nesta pesquisa.

À todos os funcionários da PUC-PR, pelo suporte e ajuda profissional.

SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS	1
Página título	1
Resumo.....	2
Introdução	3
Material e Método	5
Resultados	9
Discussão	12
Conclusão	16
Referências.....	17
Title Page.....	22
Abstract.....	23
Introduction.....	23
Material and Methods.....	25
Results	27
Discussion.....	28
Conclusion	30
References.....	30
ANEXOS	35
Parecer de comitê de ética.....	42
TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido	43
Normas para publicação.....	45

ARTIGO EM PORTUGUÊS

Página título

Avaliação histológica e radiográfica de enxerto de bloco ósseo córtico-medular alógeno em seio maxilar.

Cesar Augusto Thomé, DDS; MSc; ^a

Sung Hyun Kim, DDS; MSc; PhD ^b

a. Aluno do programa de pós-graduação em Odontologia, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

b. Professor do programa de pós-graduação em Odontologia, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Correspondência para:

Prof. Dr. Sung Hyun Kim, Escola de Saúde e Biosciências, PUCPR

Rua Imaculada Conceição, 1155 ZIP 80215-901 Curitiba – Paraná
Brazil

e-mail: sung.kim@pucpr.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente a reparação do enxerto de bloco córtico-medular de osso alógeno fresco congelado de ílaco no seio maxilar e mensurar radiograficamente a dimensão vertical óssea. Foram realizados 18 procedimentos de enxertia de seio maxilar utilizando blocos de osso córtico-medular alógenos padronizados e fixados com miniparafusos ao assoalho do seio maxilar. Nos períodos de 6 e 10 meses, no momento da instalação dos implantes osseointegráveis, foram realizadas biópsias ósseas para avaliação histológica da área de enxertia. Os resultados de 6 meses de reparação óssea mostraram características estruturais com padrão de um osso trabeculado. A incorporação dos blocos de aloenxerto foi observada pela presença intensa de tecido fibroso, proliferação de vasos sanguíneos e neoformação óssea sobre as traves ósseas originais. No entanto, a reparação óssea aos 10 meses apresentou um aumento significativo na estrutura mineralizada das traves ósseas demonstrando um padrão de evolução maior em relação ao período de 6 meses. A análise comparativa dos dados da histometria da vasculogênese com o marcador imuno-histoquímico CD 34 revelou a diferença no padrão vascular entre os períodos de 6 e 10 meses. Enquanto que, em uma análise comparativa das dimensões verticais ósseas radiográficas, não houve diferença significativa entre os períodos ($p= 0,2$). O enxerto de bloco ósseo córtico-medular alógeno do ílaco no seio maxilar sofreu uma osteocondução intensa e neoformação óssea. Assim sendo, pode ser uma alternativa viável para o enxerto ósseo no seio maxilar com finalidade de reabilitação por implantes osseointegráveis.

Palavras-chave: levantamento do seio maxilar, aloenxerto, bloco córtico-medular

Introdução

A perda dos dentes molares e pré-molares superiores frequentemente é acompanhada da perda do osso alveolar adjacente e do tecido mole circundante, que se adapta para recobrir o rebordo residual, tanto no sentido vestibulolingual quanto cervicoapical. Este processo de remodelamento funcional durante a cicatrização do rebordo pode promover uma diminuição do volume ósseo que muitas vezes inviabiliza a instalação de implantes dentários. Doenças periodontais infecciosas, trauma cirúrgico, pneumatização do seio maxilar e próteses muco-suportadas são fatores de risco para a perda óssea alveolar.¹ Nessas situações, faz-se necessária a recuperação do volume ósseo por preenchimento do assoalho do seio maxilar para sustentar implantes dentários.

O acesso ao seio maxilar via parede lateral da maxila, sem a ruptura da membrana de Schneider, adaptado da técnica cirúrgica original de Caldwell-Luc, ainda é o método mais utilizado para a enxertia óssea.² O osso autógeno é considerado padrão ouro^{3,4}, porém a morbidade associada à obtenção do autoenxerto e não aceitação por parte dos pacientes tem estimulado a procura por biomateriais que possam substituir o osso autógeno.^{5,6,7} A biocompatibilidade e a facilidade de manipulação, além do volume disponível fazem do osso alógeno um substituto ósseo importante.^{8,9} Em relato prévio, o processo de remodelação de enxertos ósseos autógenos e alógenos mostrou semelhança na reparação¹⁰. Quando observado em estudo *in vitro*, este mostrou que o congelamento em temperatura próxima de -80°C destrói os componentes celulares do enxerto por rompimento das membranas celulares devido a cristalização da água livre

presente nas células.¹¹⁻¹³ O congelamento simples, associado a lavagem dos blocos durante o preparo do material pode remover a maior parte do conteúdo celular e medular diminuindo a antigenicidade do aloenxerto. Isto permite que este material seja transplantado sem o uso de imunossupressores, visto que a resposta imunológica do hospedeiro pode se tornar baixa ou até nula.^{13,14} Outros fatores relevantes relacionados ao sucesso dos procedimentos com aloenxertos são a estabilidade primária do enxerto, a qualidade e quantidade do tecido mole de recobrimento da área enxertada e a vitalidade do leito receptor.¹⁵

A utilização de blocos de osso alógeno fresco congelado no interior do seio maxilar, associada a instalação imediata de implantes ou não, tem sido relatada na literatura.¹⁶⁻²⁰ No entanto, a característica da área doadora pode interferir na velocidade e modo de remodelação do enxerto fixado no interior do seio maxilar. Enquanto áreas doadoras como a tíbia apresentam características puramente corticais, com osso denso e de baixa permeabilidade, áreas doadoras como o ilíaco apresentam grande quantidade de osso medular, mais poroso e permeável ao crescimento vascular e celular. A utilização de blocos puramente corticais no interior do seio maxilar não é usual devido à dificuldade de adaptação do bloco ao leito receptor, sendo frequentemente utilizado após a particulação do mesmo.²¹⁻²³ Por outro lado blocos com componente medular, proveniente de ilíaco apresentam facilidade de adaptação e fixação ao assoalho do seio, pois são facilmente adaptados por compressão ao assoalho sinusal. A característica medular dos blocos pode favorecer tanto a vascularização precoce quanto a adaptação destes ao assoalho do seio maxilar. Além disso, a presença de osso cortical na periferia do bloco permite que os parafusos de fixação tracionem os

blocos do aloenxerto contra o assoalho do seio maxilar diminuindo a presença de espaços vazios, facilitando o crescimento vascular precoce.²⁴

O objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente a reparação do enxerto de bloco córtico-medular de osso alógeno fresco congelado de íliaco no seio maxilar e mensurar radiograficamente a dimensão vertical óssea.

Material e Método

O presente estudo incluiu 13 pacientes adultos com idade média de 60 anos (4 homens e 9 mulheres com idade entre 38 e 69 anos). Foram incluídos no estudo, somente indivíduos adultos saudáveis que apresentaram uma ou mais áreas edêntulas em regiões de pré-molares e molares superiores com rebordo remanescente de 1 a 4 mm entre o assoalho do seio maxilar e a crista alveolar visualizado pela radiografia panorâmica. Foram excluídos os pacientes com doenças crônicas sistêmicas, fumantes, gestantes e usuário de medicação contínua, além dos pacientes que apresentaram histórico de sinusite crônica. O projeto de pesquisa deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa PUCPR com o número 6229.

O material de enxerto ósseo utilizado foi o osso alógeno fresco congelado proveniente de Banco de Tecidos Musculoesqueléticos (Hospital das Clínicas, Curitiba, Brasil). (Figura 1 A). Dezoito blocos córtico-medulares, monocorticais, de íliaco, congelados a -80° C, no tamanho aproximado de 30 x 25 x 10 mm foram utilizados. Para a fixação dos blocos ao assoalho do seio maxilar foram utilizados miniparafusos de titânio de 1.5 mm de espessura e 12 mm de comprimento (Neodent, Curitiba, Brasil).

Os procedimentos cirúrgicos para a reconstrução do assoalho dos seios maxilares foram realizados por um único cirurgião em ambiente ambulatorial. Inicialmente foi realizada a antissepsia extrabucal e intrabucal com solução de clorexidina a 2% e 0,12%, respectivamente. Em seguida foi realizado o bloqueio do nervo alveolar superior posterior por infiltração na face posterior da tuberosidade da maxila, bloqueio do nervo infraorbital por infiltração na zona de emergência do referido nervo, e infiltração anestésica da mucosa do palato na área de abrangência da incisão, com Articaína a 3% e com adrenalina 1:200.000 (Articaine, DFL, Rio de Janeiro, Brasil). Após a anestesia, foi realizada incisão primária sobre o rebordo alveolar edêntulo estendendo-se até o fim da tuberosidade da maxila. Duas incisões relaxantes foram realizadas nos extremos mesial e distal da incisão primária e estendidas além da junção muco-gengival sobre a parede lateral da maxila. Um retalho de espessura total foi levantado expondo a parede lateral da maxila com um descolador de Freer. Em seguida, utilizando uma broca esférica nº 8 carbide (Jet Carbide Burs, Vancouver, Canadá) de baixa rotação sob irrigação abundante de solução fisiológica foi realizada a osteotomia da parede vestibular seguindo a conformação do seio maxilar. O fragmento ósseo foi removido utilizando-se um descolador de periósteo Freer e/ou cureta de Lucas. O descolamento suave e cuidadoso para a manutenção da integridade da membrana schneideriana para dentro e para cima da cavidade do seio maxilar foi realizado com um conjunto de curetas para o levantamento de seio maxilar (Neodent, Curitiba, Brasil). O afastamento da membrana foi estendido até a parede medial do seio maxilar e por todo o assoalho a ser reconstruído para evitar o risco de ruptura da mesma no momento da instalação do bloco ósseo alógeno. (Figura 1 B). Antes da sua instalação, o bloco de osso

alógeno foi imerso em soro fisiológico a 0.9% em temperatura ambiente por 30 minutos para o descongelamento e hidratação. Em seguida, o bloco ósseo foi recortado e esculpido com uma broca carbide tronco cônica nº 702 (Jet Carbide Burs, Vancouver, Canadá) de baixa rotação sob irrigação abundante de solução fisiológica para ser adaptado ao assoalho do seio maxilar de maneira anatômica. A porção medular do bloco foi deixada em contato com o assoalho do seio, ficando a porção cortical em contato com a membrana Schneideriana formando o novo assoalho do seio maxilar. Utilizando-se de uma pinça compressiva tipo Kelly curva (Quinelato, Rio Claro, Brazil), o bloco ósseo foi comprimido contra o assoalho do seio maxilar para obter um contato íntimo entre as partes, minimizando assim a presença de “gap”. (Figura 1 C) Para a estabilização do bloco ósseo alógeno, utilizou-se miniparafusos de titânio, deixando a cabeça do parafuso adaptada ao rebordo alveolar. (Figura 1 D) O fechamento do retalho foi feito com o fio mononylon 4-0 (Ethicon, Johnson e Johnson, São Paulo, Brasil) utilizando sutura do tipo colchoeiro suspensório e foi mantido por 7 dias. Como medicação pré-operatória foi utilizado dexametasona 4 mg (Dexametasona, Medley, Campinas, Brasil) 1 hora antes da cirurgia e no pós-operatório com amoxicilina 500mg cada 8 horas por 7 dias (Amoxil, GSK, Rio de Janeiro, Brazil), dipirona 500mg (Dipirona sódica, Medley, Campinas, Brazil) cada 6 horas por 3 dias e dexametasona 4 mg no dia seguinte da cirurgia.

Nos períodos de 6 ou 10 meses, um novo retalho mucoperiosteal foi realizado para a remoção dos parafusos de fixação do enxerto. No mesmo ato cirúrgico, seguindo as recomendações do fabricante, foi realizada a perfuração do sítio cirúrgico com o sequenciamento de brocas em baixa velocidade e sob irrigação contínua com solução fisiológica, e instalação de implantes

osseointegrados, todos com 3,75 mm de diâmetro e comprimento variando entre 9 e 13 mm (Titamax hexágono externo, Neodent, Curitiba, Brasil) planejado para receber carga tardia. Em seguida, foi realizada em área adjacente ao implante a biópsia óssea por meio de trefina cirúrgica de 3,0 x 10 mm (Neodent, Curitiba, Brasil) no sentido cérvico-oclusal para avaliação histológica da área de enxertia óssea. Os núcleos ósseos coletados foram mantidos em solução de formol tamponado a 10% para a preparação laboratorial. As peças foram submetidas ao processo de descalcificação em solução de ácido fórmico a 20% e, em seguida, foram incluídas em parafina de forma que permitissem a microtomia no sentido transversal. Além destes, também foi coletado um fragmento de bloco de osso alógeno obtido imediatamente após o descongelamento, antes da inserção no leito receptor para análise histológica. Os cortes histológicos da região central dos núcleos ósseos com espessura de 6 µm foram obtidos. Foram realizadas colorações com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson para realização da descrição histológica do reparo ósseo. Para a histometria da vasculogênese foi utilizado o marcador imuno-histoquímico CD 34^{25,26}, aplicando os seguintes parâmetros: 1 – broto endotelial, 2 – proliferação endotelial sem lúmen vascular e 3 – presença do lúmen vascular.

Um total de 18 blocos de osso córticomédular alógeno foram utilizados para a recuperação de volume ósseo necessário para a instalação de 46 implantes osseointegrados. Foram utilizados 11 blocos de enxerto alógeno e 29 implantes em 8 pacientes para o período de 6 meses, e 7 blocos de enxerto alógeno e 17 implantes em 5 pacientes para o período de 10 meses. A reabilitação protética sobre os implantes ocorreu após um período de 3 meses e somente após a confirmação clínica da ausência de dor e da radiolucidez peri-

implantar. Após o período funcional dos implantes de 12 meses, todos os implantes, desconectados das próteses, foram avaliados individualmente sob os critérios clínicos de sucesso de Albrektsson e colaboradores.²⁷ Além disso, foram realizadas mensurações de dimensão vertical óssea, utilizando 2 referências fixas na imagem da radiografia panorâmica²⁸, em três momentos diferentes: 1- antes do enxerto ósseo, 2- no período de reparação óssea de 6 ou 10 meses e 3- após doze meses sob função dos implantes osseointegrados.

Os dados coletados foram tabulados e submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilkes, e ao teste *t* de student para amostras independentes. A tabela 1 descreve os dados relativos aos enxertos alógenos, implantes e reabilitação protética.

Resultados

Em todo o período do estudo, não foi observada nenhuma intercorrência em decorrência do procedimento cirúrgico de levantamento do seio maxilar e enxerto ósseo alógeno. Apesar da diferença no torque de inserção dos implantes observado entre os períodos, 25 N aos 6 meses e 35 N aos 10 meses, todos apresentaram o critério de sucesso de implante osseointegrado.²⁷

Na avaliação histológica, o osso alógeno fresco congelado de íliaco originário de banco de tecidos mostrou-se um osso trabecular esparso, tipicamente maduro e mineralizado com muito pouca matriz óssea. Osteócitos presos na matriz mineralizada com núcleos picnóticos em seu interior foram observados. Ainda, o tecido medular adjacente às traves ósseas mostrou características de degeneração, sendo composto por quantidades diferentes de elementos celulares hematopoiéticos e muitos vacúolos representativos aos

locais do tecido adiposo estavam presentes. (Figura 2) Nos períodos de reparação óssea, a atividade de osteocondução intensa foi observada. As biópsias ósseas de 6 meses mostraram um tecido ósseo de padrão trabecular. Apesar disso, havia ainda as características ósseas originais tipicamente de osso cortical com a maioria das lacunas vazias correspondentes aos osteócitos nas traves ósseas. Os espaços intertrabeculares estavam preenchidos por tecido fibroconjuntivo com áreas densas de fibrose. Observou-se a presença constante de fibroblastos ativos e áreas de neoformação óssea constituídas por material osteóide imaturo e em maturação nas superfícies das traves ósseas. A deposição de matriz óssea neoformada sobre e ao redor das traves ósseas originais do bloco do enxerto pôde ser observada. A neoformação óssea ocorreu a partir do tecido fibroso em diferenciação presente no espaço medular. Havia a presença constante de osteoblastos e osteócitos nas áreas em mineralização. Em meio ao tecido fibroconjuntivo havia numerosos brotos endoteliais evidenciados, além de capilares sanguíneos bem definidos com a presença do lúmen vascular. (Figura 3) Na amostra de 10 meses, os fragmentos de tecido ósseo apresentaram espessas trabéculas ósseas bem definidas em relação às observadas na amostra de 6 meses. Observou-se um padrão definido de deposição óssea sobre as trabéculas ósseas preexistentes com a formação de matriz óssea neoformada e pontos de mineralização mais avançada. Áreas de osso em neoformação intensa junto às traves ósseas originais demonstraram um padrão de formação óssea por justaposição ao tecido mineralizado preexistente. Estas áreas diferiram entre si, principalmente, pela presença de células no interior da matriz óssea. Nas áreas de deposição de matriz óssea, os núcleos dos osteoblastos e osteócitos estavam volumosos. Enquanto que, em áreas de traves ósseas originais remanescentes,

os núcleos estavam ausentes ou picnóticos devido à diminuição da função celular. A fibrose intertrabecular bem como a presença de áreas de neoformação óssea em meio ao tecido fibroso foi observada. Havia uma intensa atividade osteoblástica peritrabecular e foram observados focos localizados de remodelação óssea com atividade osteoclástica. A proliferação vascular foi observada tanto no tecido medular quanto na matriz óssea. A trama vascular era predominantemente formada por capilares definidos, porém alguns brotos vasculares de permeio estavam presentes e em menor número que no período de 6 meses. (Figura 4)

Na avaliação histométrica da vasculogênese com o marcador imunohistoquímico CD 34, a média de brotos endoteliais no grupo de 6 meses foi maior, porém sem significância estatística ($p=0,29$). (Figura 5) Valores similares e sem diferença estatística foram encontrados no parâmetro proliferação endotelial sem o lúmen vascular nos dois grupos ($p=0,64$). (Figura 6) Por outro lado, a média da presença do lúmen vascular foi superior para o grupo de 10 meses e com diferença estatística significativa ($p=0,002$). (Figura 7) Em uma análise intraperíodo de 6 meses com o teste t de student para amostras pareadas, observou-se a diferença estatística significativa entre todos os parâmetros avaliados. A comparação entre brotos endoteliais e proliferação endotelial sem o lúmen vascular mostrou o valor $p=0,03$, e entre brotos epiteliais e presença de lúmen vascular foi $0,01$, enquanto que entre proliferação endotelial sem o lúmen vascular e presença do lúmen vascular foi $p=0,04$. Por sua vez, no período de 10 meses, somente entre proliferação endotelial sem o lúmen vascular e presença do lúmen vascular mostrou a diferença estatística com o valor $p=0,04$.

As mensurações das dimensões verticais ósseas radiográficas mostraram ganho expressivo nos dois períodos de reparação. O grupo de 6 meses apresentou uma média inicial de 2,55 mm e após a enxertia de 14,75 mm. Enquanto que, o grupo de 10 meses mostrou a média inicial de 2,61 mm e 12,93 mm após a enxertia. Porém, após 12 meses sob função do's implantes osseointegrados, observou-se a redução da dimensão vertical óssea em toda a amostra. O grupo de 6 meses apresentou perda média de $21,99 \pm 8,52 \%$, enquanto que no grupo de 10 meses foi de $26,69 \pm 5,85 \%$. A perda média considerando os dois grupos juntos foi de $23,82 \pm 7,77 \%$. Apesar disso, a análise comparativa dos 2 períodos com o teste *t* mostrou o valor de $p= 0,2$ e não demonstrou diferença significativa. (Figura 8)

Discussão

A presença de tecido vital nos enxertos ósseos indica o processo ativo de remodelação óssea, sendo capaz de manter a integridade quando submetido a esforços mecânicos, assegurando a manutenção dos implantes dentários. Caso contrário, haveria apenas uma retenção mecânica entre o implante e o tecido mineralizado biocompatível, o que não seria funcional. Contudo, a simples presença de tecido vivo também não é suficiente para assegurar a fixação de implantes. Para tanto, o tecido ósseo deve ter resistência estrutural suficiente para garantir a estabilidade primária aos implantes e, após a osseointegração, assegurar que as cargas mastigatórias sejam adequadamente dissipadas sob função dos mesmos.

A análise histológica dos blocos enxertados demonstrou que, após 6 meses de reparação, o tecido medular degenerado foi substituído por completo

por um tecido conjuntivo vital. Células fagocitárias não foram observadas nos espécimes, podendo sugerir que o processo de eliminação da medula antiga ocorra previamente a este período. O osso alógeno enxertado apresentou características estruturais e biológicas compatíveis com a osteocondução. A presença de um tecido fibroso em diferenciação, osteoblastos ativos e matriz óssea inter e peritrabeculares recém-formadas, associado ao trabeculado ósseo original do enxerto alógeno pode ser indicativo de um tecido ósseo com resistência estrutural para receber implantes osseointegrados. Achados preliminares de relato de série de casos demonstraram resultados favoráveis com a inserção de implantes após 6 meses de aloenxerto em forma de bloco.^{22,23} No presente resultado, apesar da remodelação óssea ocorrida, as trabéculas ósseas originais não se tornaram vitais, as lacunas originais dos osteócitos mostraram-se vazias. Especula-se que, a ação imunológica sobre os componentes celulares dos blocos ósseos possam eliminar os osteócitos originais.¹⁴ No entanto, células inflamatórias não foram observadas no local, supondo assim que o desaparecimento do conteúdo nas lacunas dos osteócitos pode ser devido a apoptose celular.

Por outro lado, junto ao tecido fibroso denso foi possível visualizar a presença de fibroblastos ativos, com núcleos aumentados, característica de células com intensa atividade de síntese. Focos de mineralização no tecido fibroso indicaram a diferenciação de fibroblastos em osteoblastos e a transformação do tecido fibroso em matriz óssea nova. O crescimento abundante de tecido fibroso denso ocorrido no espaço medular demonstra a facilidade com que a proliferação tecidual receptor ocorreu dentro do enxerto ósseo alógeno. Observação importante foi, a presença discreta de osteoclastos neste período.

Fato este que pode estar relacionado às características do enxerto córtico-medular, o que torna desnecessária a ação clástica inicial para aumentar a porosidade óssea necessária para iniciar o processo denominado “creeping substitution” em osso cortical.⁸

Analisando a estrutura das trabéculas ósseas das amostras de 6 meses, observou-se uma semelhança àquela encontrada no bloco original. No entanto, aos 10 meses, o aspecto histológico foi a evolução e maturação de um osso trabecular mais denso. A característica mais marcante neste foi o espessamento das trabéculas com aposição de matriz justaposta às traves ósseas pré-existentes e aumento do volume de capilares. Este processo torna claro o mecanismo de aposição óssea que ocorre sobre as traves ósseas originais, ficando bem delimitados o tecido original e a neoformação óssea. Enquanto as traves ósseas originais continuavam não vitais, a nova matriz óssea peritrabecular depositada era altamente celularizada. A grande quantidade de osteoblastos com intensa atividade de síntese e o aprisionamento dos mesmos na matriz recém-depositada foi notável. A osteocondução intensa e efetiva com o crescimento e aumento de volume ósseo por aposição observado na amostra de 10 meses corrobora os resultados encontrados em estudos prévios.²⁹

A trama vascular se desenvolveu gradualmente e os brotos vasculares deram origem aos capilares responsáveis pela viabilidade do tecido ósseo nos espécimes analisados. A vasculogênese foi analisada por coloração imuno-histoquímica CD 34. Este marcador fixa-se ao fator VIII (Von Willebrand) presente no endotélio vascular, demarcando com precisão a presença de células endoteliais nas lâminas observadas.^{25,26} Observou-se uma mudança no padrão vascular nos grupos de 6 e 10 meses. Enquanto no grupo de 6 meses nota-se a

predominância de brotos endoteliais e proliferação endotelial sem o lúmen vascular, no grupo de 10 meses a presença de vasos bem definidos com presença do lúmen vascular é predominante. Entretanto, a presença de todos os parâmetros vasculares nos dois períodos avaliados sugere que a reparação do enxerto alógeno ainda estava ativa.

A presença reduzida de osteoclastos e a ausência de células inflamatórias estão de acordo com os estudos preliminares.^{22,23} A discreta atividade osteoclástica nos dois períodos avaliados pode ser devido ao fato de ainda não haver implantes no local e por consequência falta de função sobre o osso enxertado, e a não presença de processo inflamatório pode ser devido à ausência de reação imunológica ao aloenxerto.

Resultados prévios^{21,23} demonstraram que, pode haver uma completa substituição do aloenxerto por osso novo no período de 6 meses. Entretanto, o presente estudo mostrou que, nos períodos de 6 e 10 meses, ocorreu a neoformação óssea sobre as traves ósseas originais promovendo um osso trabecular denso. Pode se especular que, a remodelação total do aloenxerto possa ocorrer após o estímulo funcional na cavidade bucal. Para isso, seria necessária uma avaliação em longo prazo com os implantes em função. Apesar disso, os resultados do presente estudo corroboram os achados do estudo prévio com aloenxerto particulado no seio maxilar avaliado em 5 meses.²¹ Os aspectos morfológicos do aloenxerto córtico-medular reparado no seio maxilar e a sobrevivência dos implantes instalados no período de 6 meses, podem ser indicadores favoráveis para inserção de implantes osseointegrados a partir de 6 meses pós-enxertia.

Perda da dimensão vertical óssea radiográfica foi observada com uma média de 23,89%. Essa redução ocorrida após 12 meses sob função dos implantes, independentemente do período de reparação do enxerto, de certa maneira foi esperada. Perda na altura dos materiais de enxertia óssea no seio maxilar tem sido relatada com uma variação de 18 a 23% para os substitutos ósseos bovinos e fosfatos de cálcio bifásico, até 45% para o osso autógeno.³⁴ Da mesma maneira, foram relatadas perdas de 18% para aloenxerto em forma de bloco e 21% para aloenxerto particulado desidratado congelado.^{30,31} Observando os resultados aqui relatados, o percentual da perda da dimensão vertical óssea radiográfica observado no presente estudo é semelhante ao do enxerto ósseo autógeno em bloco.³² Apesar da perda óssea vertical ocorrida nos enxertos do presente estudo, assim como relatado na literatura³⁰⁻³², esta não comprometeu a sobrevida dos implantes.

Conclusão

O enxerto de bloco ósseo córtico-medular alógeno do íliaco no seio maxilar sofreu uma osteocondução intensa e neoformação óssea. Assim sendo, pode ser uma alternativa viável para o enxerto ósseo no seio maxilar com finalidade de reabilitação por implantes osseointegráveis.

Referências

1. Sharan A, Madjar D. Maxillary Sinus Pneumatization Following Extractions: A Radiographic Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:48–56.
2. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 1980;38:613-6.
3. Burchardt H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1987;18:187-96.
4. Eplley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Clinical Studies Allograft and Alloplastic Bone Substitutes: A Review of Science and Technology For the Craniomaxillofacial Surgeon. *The Journal of Craniofacial Surgery* 2005;16:981-89.
5. Scarano A, Degidi M, Iezzi G, Pecora G, Piattelli M, Orsini G, Caputi S, Perrotti V, Mangano C, Piattelli A. Maxillary Sinus Augmentation With Different Biomaterials: A Comparative Histologic and Histomorphometric Study in Man. *Implant Dentistry* 2006;15:197-207.
6. Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T. Deproteinized Bovine Bone Versus β -Tricalcium Phosphate in Sinus Augmentation Surgery: A Comparative Histologic and Histomorphometric Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:935–42.
7. Sohn D, Lee J, An K, Shin H. Histomorphometric Evaluation of Mineralized Cancellous Allograft in the Maxillary Sinus Augmentation: A 4 Case Report. *Implant Dentistry* 2009;18:172-81.

8. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983;174:28-42.
9. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop Relat Res* 1987; 225:7-16.
10. Peleg M, Sawatari Y, Marx R, Santoro J, Cohen J, Bejarano P, Malinin T. Use of corticocancellous allogenic bone block for augmentation of alveolar bone defects. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:153-62.
11. Friedlander GE. Current Concepts Review. *J Bone Joint Surg* 1982;64:307-11.
12. Galea G, Kearney JN. Clinical effectiveness of processed and unprocessed bone. *Transfusion Medicine* 2005;15:165-74.
13. Hofmann A, Konrad L, Hessmann MH, Kuchle R, Korner J, Rompe JD, Rommens PM. The influence of bone allograft processing on osteoblast attachment and function. *Journal of Orthopaedic Research* 2005;23:846-54.
14. Simpson D, Kakarala G, Hampson K, Steele N, Ashton B. Viable cells survive in fresh frozen human bone allografts. *Acta Orthopaedica* 2007;78:26-30.
15. Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res* 1996;324:66-74.
16. Acocella A, Bertolai R, Nissa J, Sacco R. Clinical, histological and histomorphometrical study of maxillary sinus augmentation using cortico-

- cancellous fresh frozen bone chips. *J Craniomaxillofac Surg* 2011; 39: 192-9.
17. Acocella A, Sacco R, Niardi P, Agostini T. Early implant placement in bilateral sinus floor augmentation using iliac boneblock grafts in severe maxillary atrophy: a clinical, histological, and radiographic case report. *J Oral Implant* 2009;35:37-44.
18. Chaushu G, Verred M, Mardinger O, Nissan J. Histomorphometry of Block Allograft Sinus Augmentation. *J Periodontol* 2010;81:1147-52.
19. Viscioni A, Dalla Rosa J, Paolin A, Franco M. Fresh-frozen bone: case series of a new grafting material for sinus lift and immediate implants. *J Ir Dent Assoc* 2010;56:186-91.
20. Viscioni A, Franco M, Paolin A, Cogliati E, Callegari M, Zollino I, Sollazzo V, Carinci F. Effectiveness of fresh frozen and cryopreserved homologous iliac crest grafts used in sinus lifting: a comparative study. *Cell Tissue Bank* 2011;12:263-71.
21. Bettini G, Procacci P, Albanese M, Bissolotti G, Corrocher G, Nocini PF. Sinus lift with fresh frozen homologous bone graft. *Journal of Cranio Maxillofacial Surgery* 2008;36:146-9.
22. Borgonovo AE, Tommasi F, Panigalli A, Bianchi AC, Boninsegna R, Santoro F. Use of fresh frozen bone graft in rehabilitation of maxillary atrophy. *Minerva Stomatol* 2012;61:141-54.
23. Stacchi C, Orsini G, Di Iorio D, Breschi L, Di Lenarda R. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol* 2008;79:1789-96.

24. Alojja ED, Ricci M, Caso G, Santi E, Paolo T, Antono B, Covani U. The use of bone blocks allografts in sinus augmentation, followed by delayed implant placement: A case series. *Contemporary Clinical Dentistry* 2013;1:13-9.
25. Kukreja I, Kapoor P, Deshmukh R, Kulkarni V. VEGF and CD 34 correlation between tumor angiogenesis and micro vessel density-an immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013; 17: 367–73.
26. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
27. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1:11-25.
28. Hieu P, Chung J-H, Yim S-B, Hong K-AS. Radiographical study on the changes in height of grafting materials after sinus lift: a comparison between two types of xenogenic materials. *J Periodontal Implant Sci* 2010; 40: 25–32.
29. Shanbhag S, Shanbhag V, Stavropoulos A. Volume changes of maxillary sinus augmentations over time: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29:881-92
30. Sbordone C, Toti P, Guidetti F, Califano L, Pannone G, Sbordone L. Volumetric changes after sinus augmentation using blocks of autogenous iliac bone or freeze-dried allogeneic bone. A non-randomized study. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42:113-8.
31. Berberi A, Bouserhal L, Nader N, Assaf RB, Nassif NB, Bouserhal J, Salameh Z. Evaluation of Three-Dimensional Volumetric Changes After

Sinus Floor Augmentation with Mineralized Cortical Bone Allograft. J Maxillofac Oral Surg 2015;14:624-9.

32. Sbordone C, Toti P, Guidetti F, Califano L, Bufo P, Sbordone L. Volume changes of autogenous bone after sinus lifting and grafting procedures: a 6-year computerized tomographic follow-up. J Craniomaxillofac Surg 2013;41:235-41.

ARTIGO EM INGLÊS

Title page: CORTICOCANCELLOUS BONE BLOCK ALLOGRAFT IN SINUS LIFTING PROCEDURE: HISTOLOGICAL AND RADIOGRAFIC EVALUATION.

Authors:

Cesar Augusto Thomé, DDS; MSc; ^a

Sung Hyun Kim, DDS; MSc; PhD ^b

a. PhD student in Post-Graduation Program, Periodontics, Health and Bioscience School, Catholic University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

b. Professor and Head in Post-Graduation Program, Periodontics, Health and Bioscience School, Catholic University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

Contact information:

Prof. Dr. Sung Hyun Kim, Escola de Saúde e Biosciências, PUCPR

Rua Imaculada Conceição, 1155 ZIP 80215-901 Curitiba – Paraná
Brazil

e-mail: sung.kim@pucpr.br

Abstract

These case series aimed to study the healing process of corticocancellous fresh frozen allograft when used as a biomaterial for sinus lifting procedures. Histologic description and radiographic dimensions were obtained in order to determinate differences that were observed between two healing periods, 6 and 10 months. Eighteen surgical sinus lifting procedures were performed using standard corticocancellous fresh frozen bone blocks screwed to sinus floor. They were divided into two groups, one of 6 months analysis period and other of 10 months period, counted from the day of the implants fixation. Core samples were obtained during the implant fixation surgeries. It was observed, in the biopsies, that there was fibrous connective tissue inside the bone block, with fibroblasts, osteoblasts, areas of new collagen tissue and blood vessels. In the 6 months group, the bone structure still remained. However, in the 10 months group the bone structure developed itself by appositional growth. Blood vessels were enlarged and opened, differently from the 6 months group, which were made mainly by endothelial cells sprouting. Using immunohistochemical CD 34 core samples, blood vessels histometric statistics were ran showing the vascular development throughout the time. *Student test t* showed the vascular pattern changed from 6 to 10 months. Panoramic radiographs were taken in order to compare height rates between the two groups. The 6 months group showed bone loss of 21,89 mm +/- 8,52, while the 10 months group showed 26,76 mm +/- 5,85 of bone loss. Test *t* analysis demonstrated no statistic significance between groups ($p=0,221$). In conclusion, the corticocancellous fresh frozen allograft is considered to be highly osteoconductive during the healing process, with bone formation and vascular grown. Therefore, it can be an efficient alternative to other materials in sinus lifting surgical procedures.

Key words: allograft, bone block, sinus lifting.

Introduction

When maxillary posterior teeth are lost, both alveolar bone and soft tissue become insufficient to allow dental implants fixation. Periodontal infection diseases, trauma, and sinus pneumatization are conditions that increase the bone loss. The sinus lift procedure is a safe and a regular basis surgical procedure to reconstruct this area.

A Caldwell-Luc modified approach without disrupting Schneiderian membrane is usually the procedure used to access the sinus. Autografts have been used for a long time and they still are the gold standard. However, morbidity as two surgical sites, cost and patient complaints, have been stimulating the research for bone substitutes. Allograft properties such as host's well-acceptance, shape and fixation abilities, low cost and great volume available, have turned it into an important option to be evaluated. In previous studies, the healing process of autografts and allografts showed similar results after total incorporation of the graft by the host. In vitro studies have demonstrated that a -80°C freezing process has the ability to destroy cells by membrane disrupting. Freezing and washing the allograft during packing procedures probably remove marrow and soft tissue, decreasing the immune response from the host. This fact allows transplantation to occur without the use of suppressor drugs. Other concerns related are about soft tissue covering, rigid internal fixation and host vascular capability.

The use of block bone allograft in sinus lifting procedures, with and without immediate implant fixation, has been described in the literature. Nevertheless, donor site characteristics of the allograft can change the healing process pattern. Iliac crest allograft is mostly corticocancellous bone and the marrow spaces allow the vascular growth to occur fast and completely. Instead, high density cortical bone, as tibia allograft, demonstrates an unpredictable vascular growing pattern, partially occurring. One other concern contends the ability of reshaping the allograft to fit properly the sinus floor with no gaps. Cortical bone allografts are usually used in the particle form, while corticocancellous blocks may be used as blocks, screwed to sinus floor, improving the vascular development.

The purpose of this study was to assess the histological pattern of the corticocancellous block bone allograft during the healing process in the sinus lift procedure and evaluate radiograph height measure ranges.

Material and Methods

There were 13 patients (4 men and 9 women), mean age of 60 years (38-70 years old), who participated on the research. Inclusion criteria were patients 18 years old or older, healthy, and with edentulous area with residual alveolar ridge of 1-4 mm from the alveolar crest to the sinus floor. Exclusion criteria were systemic diseased untreated patients, severe smokers, pregnant women, and with previous sinus disease. This research was approved by ethical committee at Pontificia Universidade Católica do Paraná, under the number 6229.

Iliac corticocancellous fresh frozen bone blocks allografts were the biomaterial used on this research. They were provided by Clinics Hospital Tissue Bank, at Federal University of Paraná. Eighteen blocks, monocortical, with standard dimensions of 30 mm x 25 mm x 10 mm were attached to sinus floor by 12 mm x 1,5 mm titanium screws (Neodent, Curitiba, Brazil). The same surgeon in an ambulatory room made all the procedures.

The patients had their mouth and peribuccal skin cleaned up with a clorexidine solution, 0.2% and 2%, respectively. The superior posterior alveolar and the infraorbital nerves were blocked next to their foramen area, and infiltrative anesthesia was injected around the palatal and vestibular area using Articaine 3% with 1:200.000 adrenaline solution (Articaine, DFL, Rio de Janeiro, Brazil). An incision was made over the alveolar crest, creating two relaxing incisions over the lateral wall of the maxilla. The mucoperiosteal flap was elevated from the lateral maxilla in order to expose the bone. A rectangular wall was cut with an n° 8 low speed round bur, under irrigation (Jet Carbide Burs, Vancouver, Canada). The window bone was removed carefully with a Freer instrument. Special care was taken to the Schneiderian membrane to avoid perforations. The Schneiderian membrane was elevated and released from the sinus floor and lateral and medial walls using sinus curettes (Neodent, Curitiba, Brazil), allowing the allograft to fit perfectly to the sinus floor, without tension over the sinus membrane.(Picture 1 B). The allograft was washed and rehydrated during 30 minutes before procedure into 0.9% saline solution. After that, the allograft was cut and reshaped with 702 carbide burs (Jet Carbide Burs, Vancouver, Canada) using saline irrigation to fit properly into the sinus. The cancellous surface of the allograft was compressed against the sinus floor using a Kelly forceps while the cortical plate of the allograft

was kept touching the Schneiderian membrane. The allograft was screwed under compression force to the sinus floor with no gap spaces left in between (Picture 1 C). The wound was closed with 4.0 mononylon sutures (Ethicon, Johnson e Johnson, São Paulo, Brazil), kept in for 7 days. The pre-op prescription was dexamethasone (Dexametasona, Medley, Campinas, Brazil) 1 hour before surgery, and post-op prescriptions were amoxicillin 500 mg 8/8 hours for 7 days (Amoxil, GSK, Rio de Janeiro, Brazil), ibuprofen 600mg 8/8 hours for 3 days (Ibuprofeno, Medley, Campinas, Brazil) e dexamethasone 4 mg single dose 24 hours after the surgery.

In the two trial periods, 6 and 10 months, under local anesthesia, the mucoperiosteal flap was elevated to remove the screws and allow the insertion the dental implants. The dental implants were placed following the standard technique provided by the producer. All implants were 3.75 mm diameter and 9-13 mm height. Just beside the implant holes, biopsy cores were obtained using 3.0 mm trephines. The samples were maintained at 20% formalin solution until paraffin insertion and microtomy. An allograft core sample was obtained before transplantation. The core samples were 6 µm thick and were stained with hematoxicin-eosin and Masson tricromic to describe the bone healing process. The vascular growth pattern was described using CD 34 immunohistochemical technique, through a 3 stage development of the vascular pattern: (1) Endothelial cells sprouts, (2) Vessels without lumen, and (3) Vessels with lumen.

Eighteen corticocancellous iliac allografts were used to recover the maxillary posterior alveolar crest dimensions, and 46 implants were inserted. In the six months group, 8 patients received 11 bone allograft and 29 implants, and in the 10 months group, 5 patients received 7 bone blocks and 17 implants. The fixtures were attached to implants after a 3 months healing period, considering the Albrektsson's criteria. After a 12 months loading period, all fixtures were removed and tested again under the same clinical criteria. Radiograph height dimensions were obtained at three different moments following a standard protocol: (1) Before the allograft surgery, (2) After 6 or 10 months after the allograft surgery, (3) After 12 months of fixture loading.

All the data was tested for normality by means of Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilkes statistics tests and after that, a Student *t* test for independent samples was run. The table 1 enrolls the data obtained.

Results

There were no problems to be reported during the study related to sinus lifting procedure. In spite of the tightening torque differences, 25 N to 6 months, 35 N to 10 months, all implants were approved under Albrektsson's criteria.

At histological analysis, Iliac corticocancellous bone allograft before transplantation showed sparse trabecular pattern, well developed and mineralized, with few new bone matrix surrounding it. Osteocytes inside the bone matrix showed picnotic nucleus. The marrow around the trabecular bone showed a degenerative pattern with different amounts of hematopoietic cells and empty lacunas, related to the fat marrow degenerative component (Picture 2). A remarkable osteoconductive activity was seen during all the healing time. The 6 months group's biopsies exhibited the same trabecular bone pattern as previously related, but instead of picnotic osteocytes there were no nucleus inside the lacunas. The degenerated marrow was completely substituted for high density connective tissue. Active fibroblasts were seen and new bone matrix was deposited surrounding the primitive trabecula. Osteoblasts and osteocytes were observed around and inside the new bone formation that was initiated from the high connective tissue. New blood vessels sprouting and vessels with lumen were observed (Picture 3). In the 10 months group's samples, the thickness of the bone trabecula raised. The bone was thickened by apposition of new bone matrix over and around the primitive trabecula. The edge between the new bone and the primitive bone can be seen clearly. The new bone showed osteocytes with well developed nucleus, probably because of the high level of synthesis function, while primitive bone trabeculas kept the osteocytes lacunas empty. High density connective tissue filled the marrow spaces with areas of new bone matrix deposition. The vascular pattern changed to vessels with mostly lumen, though vascular sprouts and vessels without lumen were seen as well.

A histometric evaluation of the vessels pattern using CD 34 immunohistochemical technique showed that the vascular sprouts rate was higher than the vessels with lumen rate, but without significance ($p=0,29$) (Picture 5). Similar results were found when comparing vessels without lumen and vessels

with lumen ($p=0,64$) (Picture 6). However, the vessels with lumen rate was superior to the other two groups rates in the ten months period group, with statistic significance ($p=0,002$) (Picture 7). Using *t* test for paired samples the 3 types of vessels in the six months group, the results were compared with statistic significance between all of them, being vessels sprouts prevalent. In the ten months group, when comparing the same groups, the only group with significant difference was vessels with lumen and vessels without lumen, being vessels with lumen prevalent ($p=0,04$).

The bone height differences gotten on panoramic radiographs were observed in the 2 groups, 6 and 10 months. The 6 months group showed an initial rate of 2,55 mm, and after allograft insertion a rate of 14,75 mm. The 10 months group showed an initial rate of 2,61 mm and a 12,93 mm after sinus lifting surgery. However, after the 12 months loading period, there was a reduction in the allograft height dimension. The 6 months group showed 21,89% +/- 8,52% decreased value, while 10 months group lost 26,69% +/- 5,85% of bone height. Although bone height occurred in both groups (average loss was 23,82% +/- 7,77%), when *t* test for independent samples was run, it wasn't statistically significant ($p= 0,2$) (Picture 8).

Discussion

The bone must be alive to receive dental implants and maintain them along time. This ability of healing under functional stress will determine the long term success of the treatment. Otherwise the implants would be just set inside the bone, but not osseointegrated. However, living bone tissue is not enough to assure proper installation of dental implants. The bone's strength is also important to assure proper primary stability and gradually dissipate functional bite forces.

Histological analysis of the allograft showed that after 6 months the degenerated marrow bone was completely substituted by high dense fibrous tissue. Phagocytes were not observed in the samples suggesting that marrow tissue substitution occurred before this period. Posterior to the transplantation, the allograft showed living tissue characteristics, such as fibrous connective tissue, fibroblasts, osteoblasts and bone matrix growing over and around the primitive trabeculas. These primitive trabeculas were important for they assecured the

allograft's strength, which can guarantee a safe time to install the implants. Previous case series studies showed good results with implants installed after 6 months of sinus lifting surgery. In this study the osteocyte lacunas didn't become filled with new osteocytes, but continued empty instead. It was speculated if immune system response would be able to eliminate these cells. As no inflammatory cells were observed, it is possible that a simple degenerative evolution occurred. On the other side, various fibroblasts with enlarged nucleus were seen. This is a high synthesis activity pattern. Mineralization areas were observed inside the connective tissue with fibroblasts turning into osteoblasts, and fibrous tissue becoming bone matrix. Fibrous connective tissue grew easily and fastly inside the marrow space, with help from the allograft's cancellous structure. An important note was the rare presence of osteoclasts at that moment, probably because the cancellous bone permeability allowed easy and fast vascular proliferation from the host to the allograft. So "creeping substitution" would occur after healing, instead of cortical bone.

The allograft in the 6 months healing time showed the same trabecular pattern as primitive allograft. In 10 months, however, the trabeculas were thickened by apposition of new bone matrix over and around the primitive trabeculas. Vessels were numerous and enlarged. The appositional healing process makes the growth and maturation pattern very clear. The new bone had enlarged and active osteocytes, while primitive trabeculas were still empty and without any osteocytes. The osteoblasts activeness was remarkable, with new bone matrix being produced fast and retaining the cells inside it. Previous studies have shown similar results regarding this growing pattern.

The vascular net grew from endothelial sprouts and turned into blood vessels with lumen. The vascular growing pattern was accessed by immunohistochemical CD 34 technique. This VIII factor marker (Von Willebrand) is used to identify endothelial cells clearly. The vascular pattern changed from 6 months to 10 months. In the 6 months group, endothelial sprouts and vessels without lumen were predominant. In the 10 months group, vessels with lumen were the major group. Nonetheless, both groups showed all the 3 types of blood vessels, probably because the healing process was not finished at the last analyzed period.

Osteoclasts were rare and no inflammatory cells were detected. These results are similar to the ones found in literature.

Previous articles showed that a complete substitution of the primitive bone happened in the 6 months healing time. However, this study have demonstrated that in both groups only the appositional bone healing occurred, maintaining the previous bone structure next to the new one. It is possible to imagine that under proper functional stress this complete substitution process might occur, so further long term studies are required in order to prove that. The clinical outcomes and the bone pattern shown at 6 months landmark can be useful to decide the proper moment to install the implants after allograft procedure.

The allograft showed loss of dimension in height, observed in panoramic radiographs after 1 year of fixtures functioning. The average loss was 23,89% and in a certain way it was expected. Almost all biomaterials have demonstrated such behavior in the literature. Xenograft showed 18% loss, while inorganic minerals as hydroxiapatite have demonstrated a loss of 23%. Iliac particulate autograph showed 45% loss, while dehydrated block allograft showed 18% and dehydrated particulate allograft has 21%. The height loss behavior of fresh frozen iliac bone blocks was very similar to iliac autograph blocks. As stated in the literature, this bone's loss of height didn't compromise the implants' function.

Conclusion

The fresh frozen corticocancellous iliac allograft used in sinus lifting procedure showed a high osteoconductive healing pattern and appositional bone enlargement. Therefore it can be considered as an alternative biomaterial to sinus lifting surgical procedure.

References

- 1-Sharan A, Madjar D. Maxillary Sinus Pneumatization Following Extractions: A Radiographic Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:48–56.
- 2-Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 1980;38:613-6.

- 3-Burchardt H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1987;18:187-96.
- 4-Eplley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Clinical Studies Allograft and Alloplastic Bone Substitutes: A Review of Science and Technology For the Craniomaxillofacial Surgeon. *The Journal of Craniofacial Surgery* 2005;16:981-89.
- 5-Scarano A, Degidi M, Iezzi G, Pecora G, Piattelli M, Orsini G, Caputi S, Perrotti V, Mangano C, Piattelli A. Maxillary Sinus Augmentation With Different Biomaterials: A Comparative Histologic and Histomorphometric Study in Man. *Implant Dentistry* 2006;15:197-207.
- 6-Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T. Deproteinized Bovine Bone Versus β -Tricalcium Phosphate in Sinus Augmentation Surgery: A Comparative Histologic and Histomorphometric Study.. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:935-42.
- 7-Sohn D, Lee J, An K, Shin H. Histomorphometric Evaluation of Mineralized Cancellous Allograft in the Maxillary Sinus Augmentation: A 4 Case Report. *Implant Dentistry* 2009;18:172-81.
- 8-Burchardt H. The biology of bone graft repair.*Clin Orthop Relat Res* 1983;174:28-42.
- 9-Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts .*Clin Orthop Relat Res* 1987; 225:7-16.
- 10-Peleg M, Sawatari Y, Marx R, Santoro J, Cohen J, Bejarano P, Malinin T . Use of corticocancellous allogenic bone block for augmentation of alveolar bone defects. *Int Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 2010;25:153-62.
- 11-Friedlander GE. Current Concepts Review. *J Bone Joint Surg* 1982;64:307-11.
- 12-Galea G, Kearney JN. Clinical effectiveness of processed and unprocessed bone. *Transfusion Medicine* 2005;15:165-74.

- 13-Hofmann A, Konrad L, Hessmann MH, Kuchle R, Korner J, Rompe JD, Rommens PM. The influence of bone allograft processing on osteoblast attachment and function. *Journal of Orthopaedic Research* 2005;23:846-54.
- 14-Simpson D, Kakarala G, Hampson K, Steele N, Ashton B. Viable cells survive in fresh frozen human bone allografts. *Acta Orthopaedica* 2007;78:26-30.
- 15-Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res* 1996;324:66-74.
- 16-Acocella A, Bertolai R, Nissa J, Sacco R. Clinical, histological and histomorphometrical study of maxillary sinus augmentation using cortico-cancellous fresh frozen bone chips. *J Craniomaxillofac Surg* 2011; 39: 192-9.
- 17-Acocella A, Sacco R, Niardi P, Agostini T. Early implant placement in bilateral sinus floor augmentation using iliac boneblock grafts in severe maxillary atrophy: a clinical, histological, and radiographic case report. *J Oral Implant* 2009;35:37-44.
- 18-Chaushu G, Verred M, Mardinger O, Nissan J. Histomorphometry of Block Allograft Sinus Augmentation. *J. Periodontol* 2010;81:1147-52.
- 19-Viscioni A, Dalla Rosa J, Paolin A, Franco M. Fresh-frozen bone: case series of a new grafting material for sinus lift and immediate implants. *J Ir Dent Assoc* 2010;56:186-91.
- 20-Viscioni A, Franco M, Paolin A, Cogliati E, Callegari M, Zollino I, Sollazzo V, Carinci F. Effectiveness of fresh frozen and cryopreserved homologous iliac crest grafts used in sinus lifting: a comparative study. *Cell Tissue Bank* 2011;12:263-71.
- 21-Bettini G, Procacci P, Albanese M, Bissolotti G, Corrocher G, Nocini PF. Sinus lift with fresh frozen homologous bone graft. *Journal of Cranio Maxillofacial Surgery* 2008;36:146-9.

22-Borgonovo AE, Tommasi F, Panigalli A, Bianchi AC, Boninsegna R, Santoro F. Use of fresh frozen bone graft in rehabilitation of maxillary atrophy. *Minerva Stomatol* 2012;61:141-54.

23-Stacchi C, Orsini G, Di Iorio D, Breschi L, Di Lenarda R. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol* 2008;79:1789-96.

24-Aloja ED, Ricci M, Caso G, Santi E, Paolo T, Antono B, Covani U. The use of bone blocks allografts in sinus augmentation, followed by delayed implant placement: A case series. *Contemporary Clinical Dentistry* 2013;1:13-9.

25-Kukreja I, Kapoor P, Deshmukh R, Kulkarni V. VEGF and CD 34 correlation between tumor angiogenesis and micro vessel density-an immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013; 17: 367–73.

26-Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.

27-Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1:11-25.

28-Hieu P, Chung J-H, Yim S-B, Hong K-AS. Radiographical study on the changes in height of grafting materials after sinus lift: a comparison between two types of xenogenic materials. *J Periodontal Implant Sci* 2010; 40: 25–32.

29-Shanbhag S, Shanbhag V, Stavropoulos A. Volume changes of maxillary sinus augmentations over time: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29:881-92.

30-Sbordone C, Toti P, Guidetti F, Califano L, Pannone G, Sbordone L. Volumetric changes after sinus augmentation using blocks of autogenous iliac

bone or freeze-dried allogeneic bone. A non-randomized study. J Craniomaxillofac Surg 2014;42:113-8.

31-Berberi A, Bouserhal L, Nader N, Assaf RB, Nassif NB, Bouserhal J, Salameh Z. Evaluation of Three-Dimensional Volumetric Changes After Sinus Floor Augmentation with Mineralized Cortical Bone Allograft. J Maxillofac Oral Surg 2015;14:624-9.

32-Sbordone C, Toti P, Guidetti F, Califano L, Bufo P, Sbordone L. Volume changes of autogenous bone after sinus lifting and grafting procedures: a 6-year computerized tomographic follow-up. J Craniomaxillofac Surg 2013;41:235-41.

ANEXOS

ANÁLISE ESTATÍSTICA E ILUSTRAÇÕES

Tabela 1. Distribuição dos enxertos de bloco córtico-medular alógeno e implantes osseointegráveis.

Paciente	Idade	Sexo	Nº de blocos	Período em meses	Nº de implantes	Tipo da Prótese	Perda de bloco e Implantes
1	67	M	1	6	3	F	0
2	61	F	2	6	6	F	0
3	65	F	1	6	3	F	0
4	64	F	2	6	7	F	0
5	58	F	1	6	3	F	0
6	65	M	1	6	2	U	0
7	69	F	1	6	3	P	0
8	56	F	2	6	4	F	0
9	59	F	2	10	2	U	0
10	38	F	1	10	2	F	0
11	64	F	1	10	3	F	0
12	55	M	2	10	4	P	0
13	65	M	2	10	4	P	0

M - masculino, F - feminino, F - prótese fixa múltipla, U -prótese fixa unitária, P - protocolo

Figura 1. A - Imagem do bloco de osso alógeno córtico-medular proveniente de íliaco (Banco de tecido musculoesquelético UFPR); B - Vista da parede lateral do seio maxilar. Acesso a cavidade sinusal, descolamento e elevação da membrana mucosa de Schneider; C - Visualização do bloco de osso córtico-medular alógeno sendo adaptado ao assoalho do seio maxilar e posicionado pela ação da pinça compressiva; D - Visualização da fixação de bloco de osso córtico-medular alógeno ao assoalho do seio maxilar por meio de mini-parafuso.

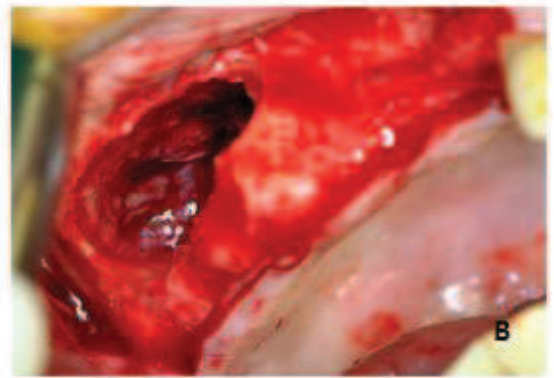
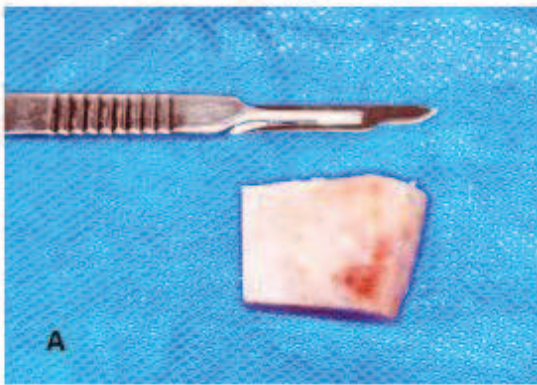


Figura 2. Fragmento original de osso córtico-medular alógeno de crista ilíaca. Observe o trabeculado ósseo característico de osso medular com lamelas de osso maduro envolvidas por um tecido medular degenerado. Inúmeros vacúolos presentes representam o tecido gorduroso removido durante a preparação histológica e entremeados pelos restos de medula hematopoiética. (A,B,C,D) A seta indica a presença remanescente de osteócitos contendo núcleos picnóticos na trave óssea (B). Presença de osso organizado com pouco tecido ósseo imaturo (em azul) em C e D. (A – HE 40x, B- HE 100x, C – Tricrômico de Masson 40x e D – Tricrômico de Masson 100x)

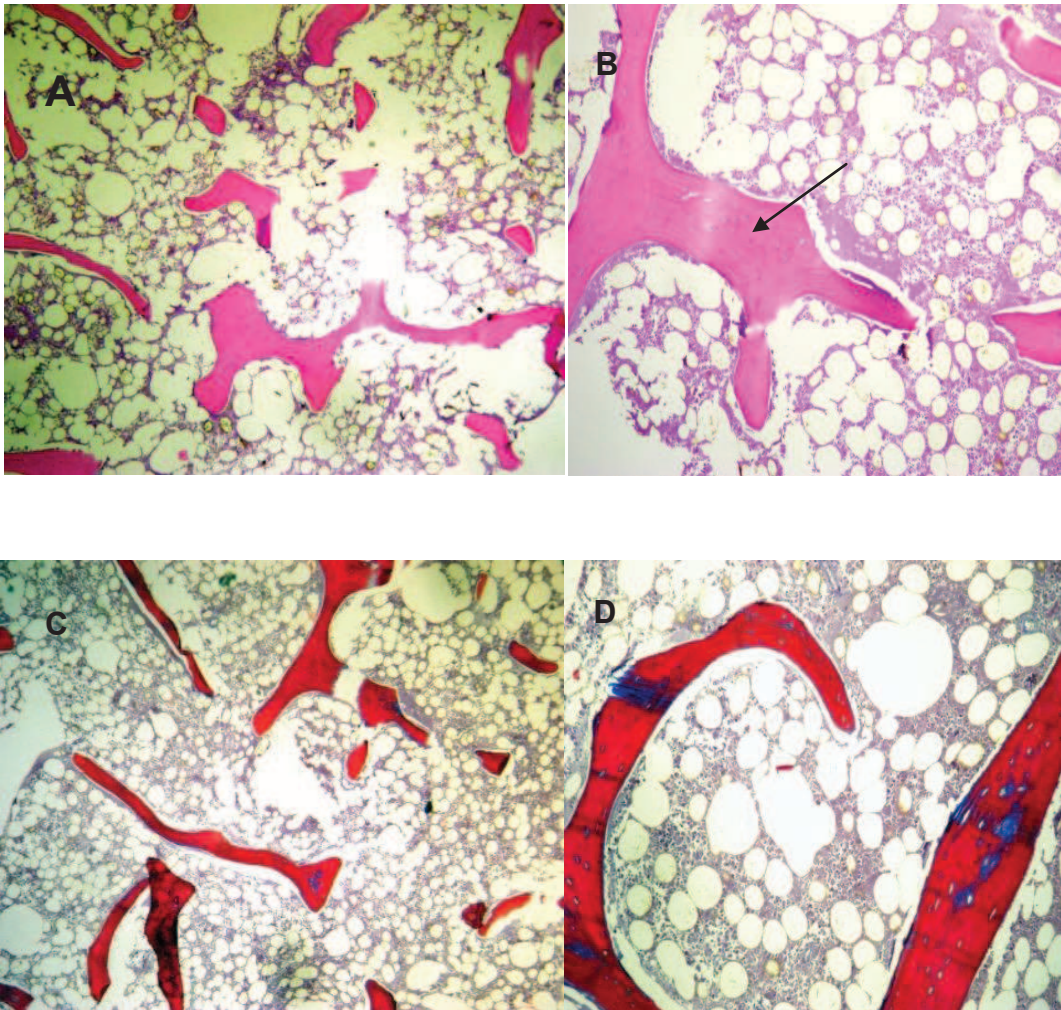


Figura 3. Visualização da área de reparação do enxerto alógeno em 6 meses. Podem ser vistas as lacunas vazias dentro das travesselas ósseas originais do osso enxertado (seta 1 A). Observar a presença de tecido fibroso contendo inúmeros fibroblastos envolvendo tanto a travessa óssea original (seta 2 A) quanto o espaço medular (setas 1 C e 2 D). Presença de travesselas ósseas neoformadas com a inclusão de osteócitos (setas 3 A, 1 B e 1 D) e osteoblastos peritrabeculares (seta 2 B). Presença de osteoblastos com núcleos aumentados devido a intensa síntese proteica, sendo aprisionados na matriz recém secretada (setas 3 D e 1 E). Presença de inúmeros brotos endoteliais e pequenos capilares no espaço medular (setas F). (A – HE 40x, B- HE 100x, C – Tricrômico de Masson 40x , D – Tricrômico de Masson 100x, E – Tricrômico de Masson 100 X e F- CD 34 40X).

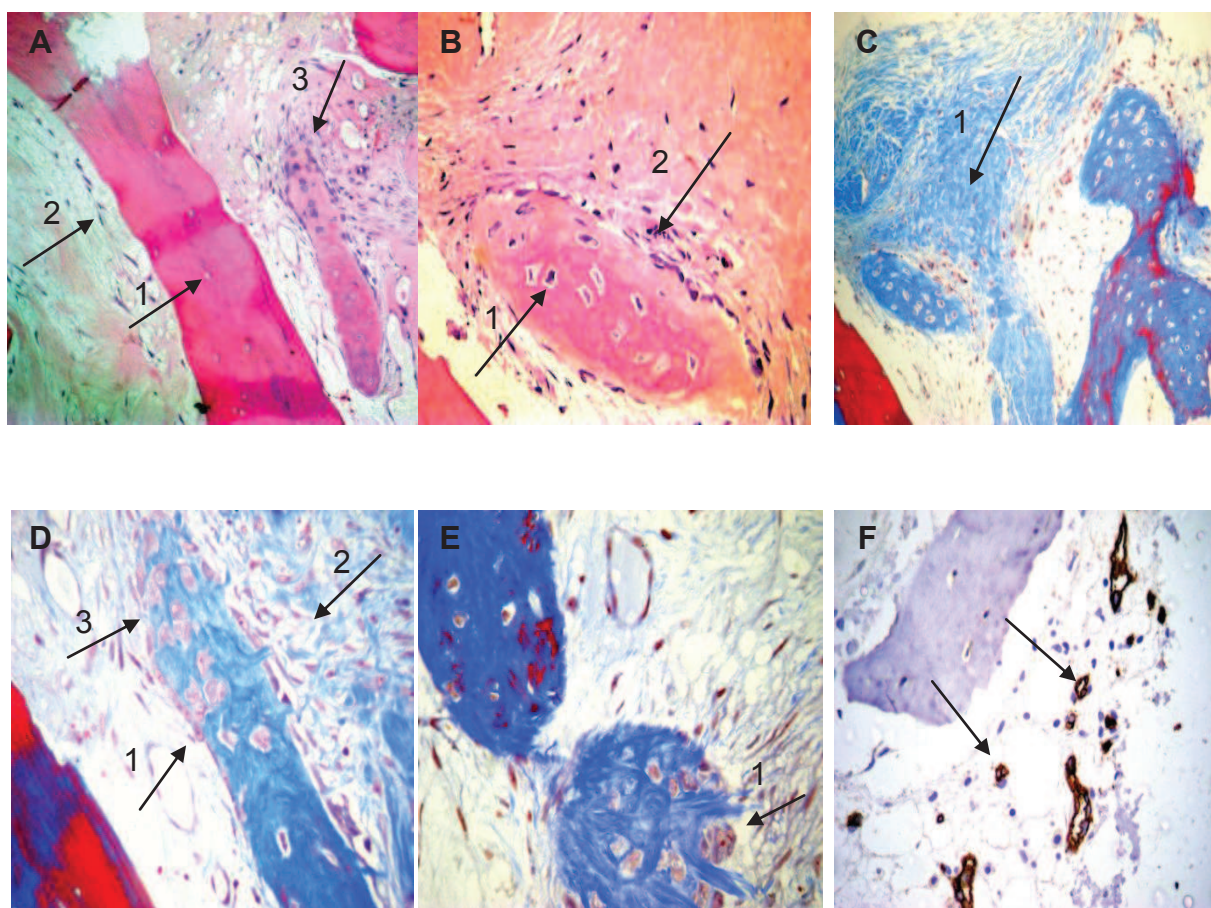


Figura 4. Visualização da área de reparação do enxerto alógeno em 10 meses. Observar o espessamento trabecular (A, B, D, E) com presença de vasos bem desenvolvidos dentro da trave óssea neoformada (setas A). Os osteócitos com núcleos bem definidos do osso neoformado (setas 2C, 2E) contrastam com as lacunas vazias das traves originais do aloenxerto (setas 1B, 3C,1E). Nota-se o padrão de formação óssea por aposição. A ocorrência de osteoclastos agrupados em torno da trave óssea alógena demonstra o processo ativo de remodelação (seta 1C). Na área de reparação óssea, observa-se com nitidez a linha de separação entre a trave óssea original e o osso neoformado (seta 3E). Pode ser observada grande quantidade de vasos bem definidos dentro do tecido fibroso adjacente às traves ósseas (setas F). (A – HE 40X, B – Tricrômico de Masson 40X , C - HE 100X, D – H.E 40X, E – H.E100 X e F- CD 34 40X).

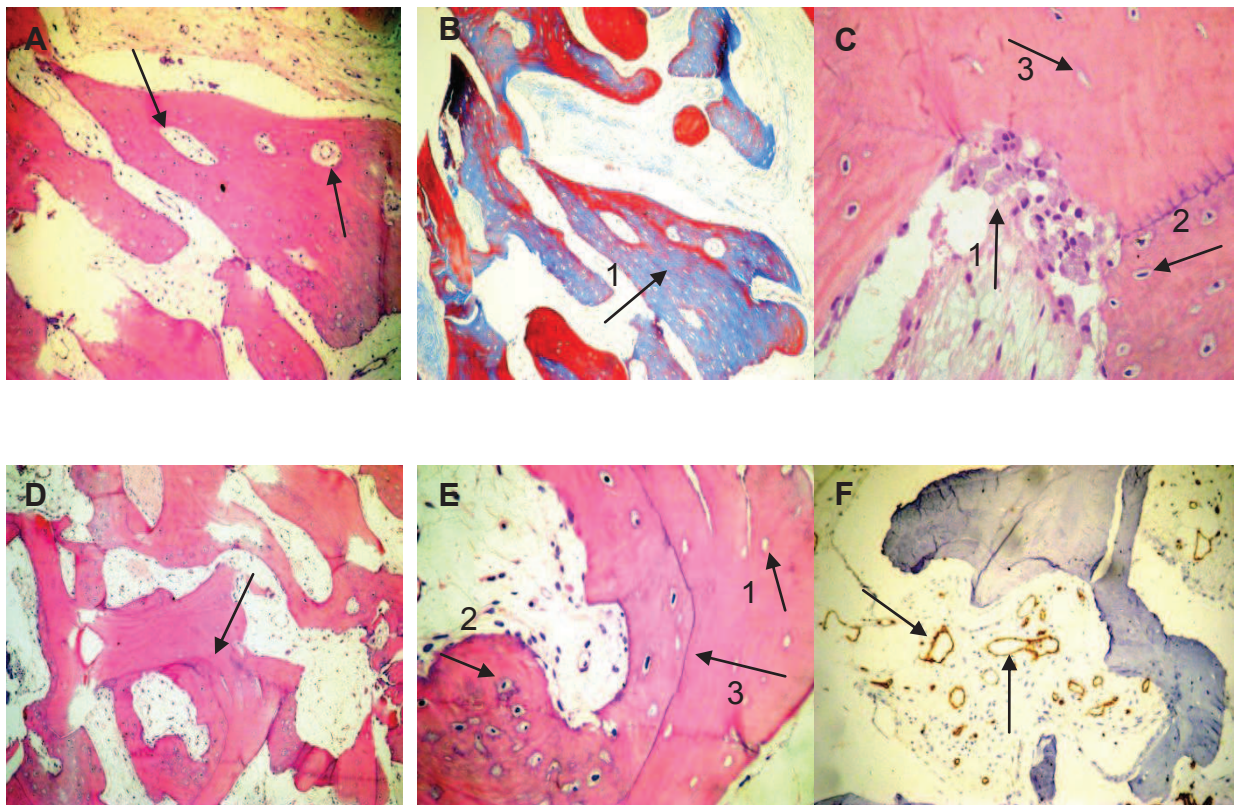


Figura 5. Comparação do parâmetro broto endotelial em 6 e 10 meses com o teste *t* de student.

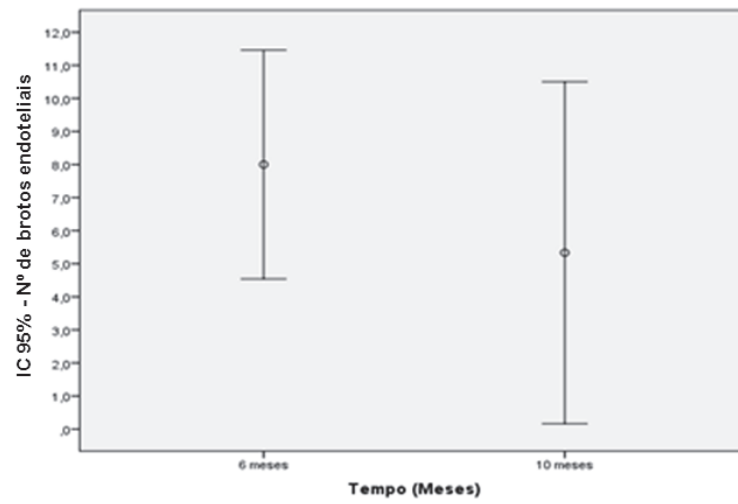


Figura 6. Comparação do parâmetro proliferação endotelial sem lúmen vascular em 6 e 10 meses com o teste *t* de student.

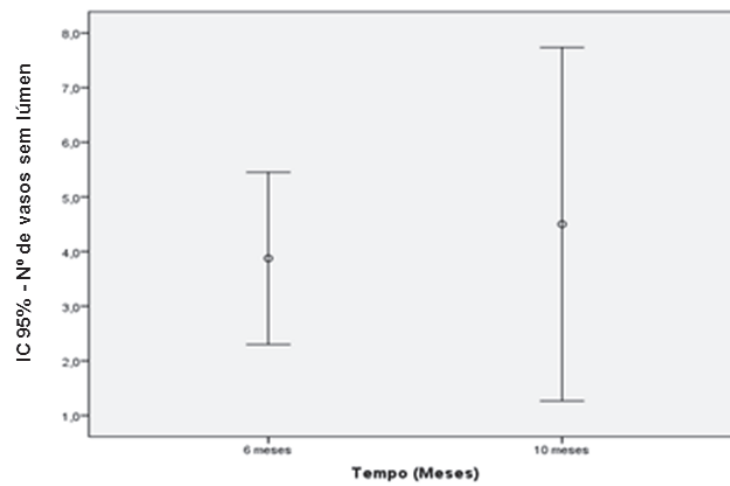


Figura 7. Comparação do parâmetro presença do lúmen vascular em 6 e 10 meses com o teste *t* de student.

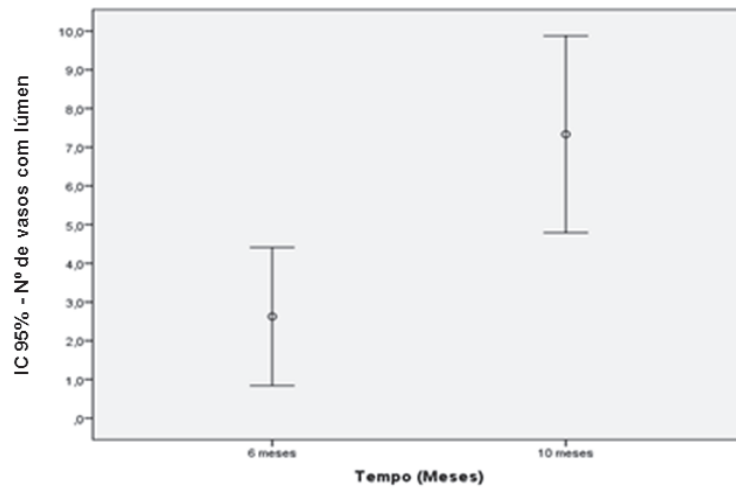
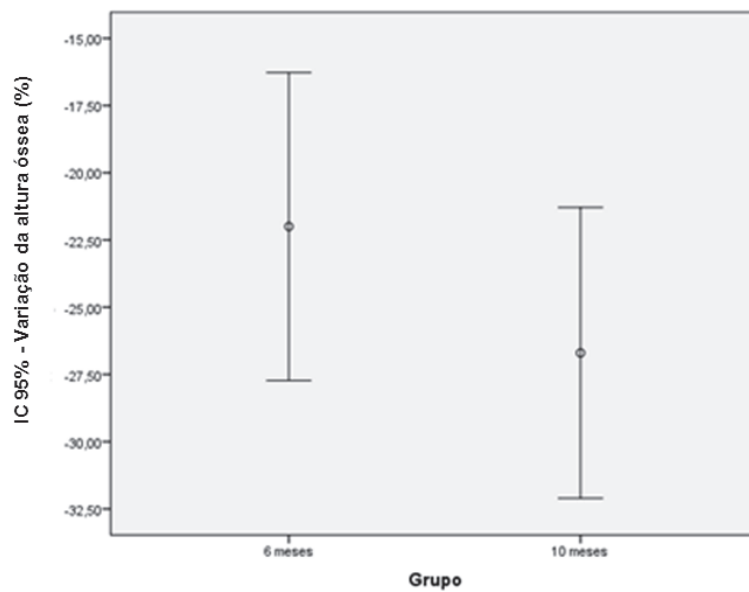


Figura 8. Comparação da variação da altura óssea radiográfica em 6 e 10 meses com o teste *t* de student.



Parecer de comitê de ética



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Núcleo de Bioética
Comitê de Ética em Pesquisa
Ciência com Consciência

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº 0005531/11

Protocolo CEP Nº 6229

Título do projeto **AValiação Histológica da Remodelação Óssea em Enxertos de Blocos Córtico-Medulares de Íliaco Homógeno em Seio Maxilar**

Grupo

Protocolo CONEP 0260.0.084.000-11

Pesquisador responsável **CESAR AUGUSTO THOMÉ**

Versão 3

Instituição **Pontifícia Universidade Católica do Paraná**

Objetivos

OBJETIVO(S) GERAL(ES)

Definir o momento ideal para a instalação dos implantes dentários considerando a viabilidade celular do osso enxertado dentro do seio maxilar, através de análise histológica.

Não há objetivos específicos.

Comentários e considerações

Estudo experimental, prospectivo. Serão incluídos neste estudo 15 indivíduos. A característica comum dos indivíduos desse estudo é a presença de edentulismo total ou parcial, uni ou bilateral, em rebordo alveolar superior e posterior com reabsorção óssea acentuada, com necessidade de enxertia óssea para a instalação de implantes dentários.

Critérios de inclusão: Pessoas com ausência total ou parcial de dentes posteriores na maxila, em um ou ambos os lados, com osso alveolar remanescente de 4 mm ou menos de altura; condições sistêmicas de saúde adequadas; que aceitem receber osso homogêneo como material de enxertia óssea; aceitem o plano de tratamento proposto.

Critérios de exclusão: Sinusopatia infecciosa crônica; presença de doença autoimune; higiene bucal deficiente; menores de 21 anos.

Riscos: Discreto aumento do tempo cirúrgico devido a necessidade de remoção do fragmento ósseo para análise histológica.

Benefícios: Conhecer o estágio de remodelação e integração do enxerto ósseo utilizado na reconstrução óssea, determinando a viabilidade do material enxertado.

Cronograma e orçamento: adequados.

Termo de consentimento livre e esclarecido e/ou Termo de compromisso para uso de dados.

TCUD: não se aplica.

TCLE: adequado.

Conclusões

Corrigidas as inadequações das versões anteriores.
Sem impedimentos éticos.

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **16/11/2011**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado**.

Situação Aprovado

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Curitiba, 16 de Novembro de 2011.

Prof. MSc. Naim *[Assinatura]* Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
PUC PR



TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu, CESAR AUGUSTO THOMÉ, brasileiro, 46 anos, casado, cirurgião dentista, residindo à rua Raphael Papa 1115, RG 4405409-4, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado **Enxerto de bloco ósseo córtico-medular alógeno em seio maxilar**, cujos objetivos e justificativas são: Recuperar o volume ósseo necessário para a colocação de implantes dentários, utilizando enxerto de osso de banco de tecidos. Este estudo tem por objetivo acompanhar o processo de cicatrização do osso enxertado, e verificar o comportamento clínico destes enxertos ao longo do tempo.

A minha participação no referido estudo será no sentido de permitir a coleta de material para análise microscópica quando forem colocados os implantes. Isto será feito sem prejuízo ou risco desnecessário por se tratar de procedimento de rotina na referida cirurgia. Será tirado um “pedacinho” do osso colocado na primeira cirurgia para análise microscópica. Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: Após realizar os exames microscópicos, terei certeza que meus enxertos de osso evoluíram adequadamente, sem custo algum.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Assim, desconfortos normais a qualquer procedimento cirúrgico como pequenos inchaços e sensibilidade podem acontecer e serão tratados prontamente pelo Dr. Cesar Thomé, responsável pela pesquisa. Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo. Foi-me esclarecido, igualmente, que eu posso optar por métodos alternativos, que são: Usar vários tipos de próteses removíveis, como pontes móveis e dentaduras para recuperar meus dentes, que não necessitam de implantes dentários ou enxerto de osso. Estes tratamentos serão instituídos tão logo eu opte por desistir do tratamento proposto. Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto é o Dr. Cesar Augusto Thomé, aluno do curso de pós graduação em odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, e com ele poderei manter contato pelos telefones 41-3252 3537 ou 41-91683537.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha

participação.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: Reembolso da despesa em dinheiro . De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devo ligar para o CEP PUCPR (41) 3271-2292 ou mandar um *email* para nep@pucpr.br

Curitiba, ... de ... de 2010.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável(responsáveis)

Normas para publicação

International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery

Guide for Authors

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

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.

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.

Language Editing Services

Papers will only be accepted when they are written in an acceptable standard of

English. Authors, particularly those whose first language is not English, who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission should visit <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note, Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms and Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions.

Article

Types

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

- editorials (commissioned by the editor)
- clinical papers: no more than 5000 words and 30 references
- research papers: no more than 6000 words and 40 references
- review papers - no limit on length or number of references
- technical notes (surgical techniques, new instruments, technical innovations) - no more than 2000 words, 10 references and 4 figures
- case reports - no more than 2000 words, 10 references and 4 figures
- book reviews
- 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.

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 accuracy of references is the responsibility of the author; please refer to a recent issue of the journal to familiarise yourself with the reference style. All authors or groups of authors cited in the article must appear in the list of references and vice versa. References in the text should use superscript numerals with or without the name(s) of the author(s): "Kenneth and Cohen¹⁴ showed?", "it has been shown¹⁴ that?" When a cited paper has more than two authors; the citation in the text should appear as "Halsband et al."**The list of references at the end of the paper should be arranged alphabetically and numbered, and must contain the name of all authors.** All references cited in the text must be included in the list of references. Clinical and research articles should have a maximum of 25 references and case reports no more than 10.

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.

Patient confidentiality: Where illustrations must include recognizable individuals, living or dead, great care must be taken to ensure that consent for publication has been obtained. If identifiable features are not essential to the illustration, please indicate where the illustration can be cropped. In cases where consent has not been obtained and recognizable features may appear, it will be necessary to retouch the illustration to mask the eyes or otherwise render the individual unrecognizable.

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.