UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA FACULDADE DE ODONTOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

ISABELLA DE ALMEIDA FRANCISQUINI

OSTEOTOMIA PARA IMPLANTES E A FORMAÇÃO DE DANOS NO OSSO: INFLUÊNCIA DA VELOCIDADE DE FRESAGEM E DO TIPO ÓSSEO

> JUIZ DE FORA 2018

ISABELLA DE ALMEIDA FRANCISQUINI

OSTEOTOMIA PARA IMPLANTES E A FORMAÇÃO DE DANOS NO OSSO: INFLUÊNCIA DA VELOCIDADE DE FRESAGEM E DO TIPO ÓSSEO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Karina Lopes Devito Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Neuza Maria Souza Picorelli Assis

> JUIZ DE FORA 2018 ISABELLA DE ALMEIDA FRANCISQUINI

OSTEOTOMIA PARA IMPLANTES E A FORMAÇÃO DE DANOS NO OSSO: INFLUÊNCIA DA VELOCIDADE DE FRESAGEM E DO TIPO ÓSSEO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Aprovada em 21 de novembro de 2018.

Prof^a. Dr^a. Karina Lopes Devito Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dra. Neuza Maria Souza Picorelli Assis Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Gustavo Davi Rabelo Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Pietro Mainenti Universidade Presidente Antônio Carlos

Dedico este trabalho aos

meus amados pais, ao meu noivo,

familiares, professores e

amigos que de alguma forma

contribuíram participando desse momento.

Agradeço a Deus por guiar meus passos na realização de mais este sonho e por estar sempre presente em minha vida, me abençoando com mais essa conquista. Obrigada por me dar forças necessárias para lutar, sem nunca desistir. Sem a Sua proteção nenhuma conquista seria possível!

Aos meus pais, Angilene e Antônio, pelo amor, incentivo e apoio incondicionais. Obrigada por desejarem sempre o melhor para mim e pelo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho. Tenho muito orgulho de vocês!

Ao meu noivo, Lucas, meu amigo e companheiro. Obrigada pelo amor e apoio em todas as horas.

À vocês, agradeço pela compreensão ao serem privados em muitos momentos da minha companhia e atenção, sempre me estimulando nos momentos mais difíceis. Amo vocês!

À todos os familiares, agradeço pelo incentivo e torcida.

À minha orientadora, professora Karina Devito, pela competência, eficiência e auxílio durante todo esse tempo. Levo comigo seu exemplo de dedicação ética e profissionalismo. A você, meu carinho e gratidão.

À minha co-orientadora, professora Neuza Picorelli, pela confiança em mim depositada, por todo o conhecimento transmitido, pelo convívio e amizade, que tornaram possível a conclusão deste trabalho. A você, minha admiração e respeito.

Ao professor Gustavo pelo exemplo de pesquisador. Agradeço as providenciais orientações, os ensinamentos e sugestões sempre pertinentes e por todo apoio e atenção para a conclusão dessa dissertação.

À professora Maria Inês Campos, pela valiosa ajuda durante esse período, pela constante disponibilidade e por abrir portas para que a conclusão deste trabalho fosse possível.

Ao professor Bruno Sotto-Maior, pelo auxilio durante essa pesquisa, pelas idéias e opiniões, meu muito obrigada.

Ao Pós-doutorando Pedro Henrique Limirio, da Universidade Federal de Uberlândia, pelo auxílio durante a pesquisa e pelos válidos comentários. Ao Prof. Pietro Mainenti, pela participação na banca de Defesa, pela disponibilidade e leitura crítica deste trabalho.

Aos professores da disciplina de Cirurgia Maxilofacial, Prof. Eduardo Vilela, Prof. Breno Nogueira e Prof. Matheus Furtado, pela transmissão de conhecimentos e pelo agradável convívio.

Ao professor Roberto Sotto-Maior, pela disponibilidade e por ceder as lentes utilizadas durante a pesquisa.

Aos amigos que conquistei no decorrer deste curso, pela amizade e troca de conhecimentos, em especial à Larissa, Maraísa e Molise, pela ótima companhia durante esse tempo. Obrigada pelas boas risadas e conselhos!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa no segundo ano do mestrado possibilitando meu crescimento científico.

Aos funcionários da Pós-Graduação, Claudio e Letícia, por estarem sempre disponíveis, me auxiliando sempre que precisei.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Odontologia pela atenção e solicitude durante a confecção desse trabalho.

À professora Marcela e à técnica Mariana, funcionárias do Centro de Biologia da Reprodução, pela disponibilidade e desprendimento profissional e por me ajudarem com os equipamentos do laboratório.

Ao funcionário do laboratório de histologia, pela educação e presteza.

À Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal de Juiz de Fora, pelo acolhimento e pela grande importância em minha vida acadêmica, tanto durante a Graduação, quanto na Pós-Graduação.

A todos que acreditaram e torceram por mim e que de alguma maneira contribuíram participando de mais essa conquista, o meu Muito Obrigada!

RESUMO

Introdução: Durante a instalação de implantes dentários, o procedimento de osteotomia é necessário para a criação do sítio cirúrgico. Os danos ósseos podem ser gerados tanto durante a osteotomia quanto nos procedimentos de instalação do implante. O objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de dano ósseo durante o procedimento de osteotomia para instalação de implante em estudo experimental ex vivo avaliando, também, a influência de diferentes protocolos de velocidade de fresagem na criação desses danos. Materiais e Métodos: Os espécimes consistiram de 6 fragmentos ósseos (90x40mm), extraídos de duas costelas bovinas frescas e divididos em 3 grupos de acordo com a velocidade de fresagem: 1200 rpm (Grupo 12, n = 6), 800 rpm (Grupo 8, n = 6) e 400 rpm (Grupo 4, n = 6). Após o procedimento de osteotomia, os fragmentos ósseos foram segmentados e um total de dezoito blocos ósseos foram corados com Xylenol Orange, desidratados e incluídos em metilmetacrilato. Duas lâminas foram obtidas por bloco, uma incluindo a perfuração (L1) e a outra na área adjacente (L2). As amostras foram avaliadas nas regiões corticais e trabeculares sob microscopia de fluorescência e de luz polarizada (total de 32 lâminas, com 4 lâminas perdidas durante o processamento). A formação de dano ósseo foi avaliada juntamente com a área óssea total (B.Ar). A densidade das fraturas foi avaliada (Fr.D=Número/mm²), juntamente com a morfologia e a densidade (Cr.D=Número/mm²) dos microdanos (linear ou difuso). Ainda, a presença de espículas ósseas foi avaliada por escores (S). Para melhor visualização e caracterização em profundidade, duas lâminas foram utilizadas para avaliar a estrutura tridimensional de microtrincas lineares por microscopia confocal. Resultados: Foram encontrados todos os tipos de danos avaliados (fratura, microdano linear, microdano difuso e presença de espículas ósseas) nos três grupos avaliados e nas duas regiões da osteotomia. Houve uma associação significativa entre a formação de danos e o tipo de osso, (p=0,0016) com mais danos no osso trabecular do que no cortical. Uma correlação positiva entre as densidades de fratura e de microdanos (p = 0.05, r 0.54) foi encontrada. Não houve diferença entre os três grupos de velocidade. A visualização tridimensional das microtrincas lineares foi útil para distinguir a profundidade dos danos. Conclusão: Os danos ósseos foram gerados após o procedimento de osteotomia, incluindo: microdanos lineares, microdanos difusos, fraturas e formação de espículas ósseas. A formação dos danos

foi associada mais com o osso trabecular do que com o cortical. Dentro das limitações do estudo, sugere-se que diferentes velocidades de perfuração não foram relevantes para aumentar a formação de danos ósseos.

Palavras-chave: Osso, osteotomia, perfuração, microtrincas, fratura.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate bone damage formation and the influence of speed protocols during implant site preparation in an ex vivo experimental study. Method: Six bone fragments (90x40 mm) extracted from two fresh bovine ribs were used to simulate implant drilling procedures using a sequence of three drills. A total of 18 implant site preparations were performed and 3 groups were designed according to the drilling speed: 1200 rpm (Group 12, n=6), 800 rpm (Group 8, n=6) and 400 rpm (Group 4, n=6). After the osteotomy procedure, the bone fragments were cut into eighteen blocks and were stained with xylenol, dehydrated and covered in methylmethacrylate. Two slides were obtained per block, one at the preparation site and one adjacent to it. Cortical and cancellous bone were evaluated under fluorescence and polarized light. Bone damage formation was evaluated with total bone area (B.Ar). Fracture density was assessed (Fr.D=N/mm²), along with microdamage morphology (linear or diffuse) and density (Cr.D=N/mm²). Two slides were used to assess the three-dimensional structure of linear microcracks by confocal microscopy. Results: There was a significant association with damage formation and the type of bone (p=0.0016), with more damage in cancellous than in cortical bone. Positive correlation between fracture and microdamage densities (p=0.05, r 0.54) was found. There was no difference among the three speed groups. Tridimensional visualization of the linear microcracks was helpful to distinguish the damage. **Conclusion:** Bone damage was generated after the drilling osteotomy procedure, including: microcracks, diffuse damage, fractures and the formation of bone chips. More damage formation was associated with cancellous than cortical bone. Different speeds of drilling were not relevant to increasing the formation of bone damage within the limits of this study.

Key words: Bone, osteotomy, perforation, microcracks, fracture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Peças de costela em solução fisiológica 0,9% até seu total 19 descongelamento.
- Figura 2 Fragmentos de costela bovina adaptados em suporte de aço inox, 19 presos por braçadeiras de alumínio e mantidos em temperatura ambiente (24°C- 26°C).
- Figura 3 Confecção dos alvéolos no sentido da largura da costela, com 19 profundidade de 13 mm.
- Figura 4 Brocas do kit cirúrgico (S.I.N., Sistema de Implante, SP, Brasil) 20 para implantes odontológicos osseointegráveis, sendo composto por: 1 broca lança, 1 broca helicoidal de 2 mm diâmetro, 1 broca helicoidal de 3 mm de diâmetro.
- Figura 5 Brocas adaptadas com *stops* para a padronização da perfuração. 20
- Figura 6 Motor elétrico com rotação, irrigação e torque controlados 21 digitalmente (D Force 1000, DentFlex, SP, Brasil).
- Figura 7 A) Blocos ósseos seccionados, cada um contendo uma perfuração. 22
 B) Blocos ósseos imersos em álcool absoluto (99,7%).
- Figura 8 (A-C) Blocos ósseos sendo clivados ao meio, no sentido do longo 22 eixo.
- Figura 9 A) Processo de inclusão dos blocos em MMA. B) Blocos incluídos 23 em MMA em fase de polimerização. C) Quebra dos frascos de vidro. D-E) Blocos de MMA obtidos.
- Figura 10 A) Representação esquemática mostrando a segmentação 24 orientada pelo longo eixo do bloco (seta vermelha) e os pontos de corte das lâminas L1 (contendo a perfuração) e L2 (adjacente à perfuração) (setas pretas). B) Corte do bloco de MMA utilizando disco diamantado em uma cortadeira de precisão. C) Lâmina obtida antes do processo de polimento.
- Figura 11 Processo de polimento das lâminas, utilizando lixa de gramatura 24
 80 (A), acabamento com lixa de gramatura 600 (B) e finalização com pasta de polimento contendo óxido de alumínio (C).

- Figura 12 A) Microtrinca encontrada na análise com luz fluorescente e B) 25 confirmação na análise com luz polarizada (seta laranja). C) Microtrinca encontrada na análise com luz fluorescente e D) confirmação na análise com luz polarizada (seta laranja). Barra de escala branca: 100 µm.
- Figura 13 A) Fratura trabecular encontrada na análise com luz fluorescente e 26
 B) confirmação na análise com luz polarizada (seta azul). C)
 Fratura cortical encontrada na análise com luz fluorescente e D)
 confirmação na análise com luz polarizada (seta azul).
- Figura 14 A) Microtrinca linear representada por um halo brilhante em luz 27 fluorescente B) e confirmação na análise com luz polarizada (seta branca). C) Dano difuso representado por uma área de alta intensidade em luz fluorescente e D) confirmação na análise com luz polarizada (seta branca).
- Figura 15 A) Espículas ósseas (estrelas vermelhas) ao lado de um 28 trabeculado mostrando uma mancha amarela brilhante, encontradas na análise com luz fluorescente e B) confirmação na análise com luz polarizada. C-D) Aglomerado de espículas ósseas sob luz fluorescente, com halo brilhante.
- Figura 16 Avaliação tridimensional de microtrincas lineares por microscopia 30 confocal. A) Imagem mesclada de luz fluorescente e contraste de fase, com visualização bidimensional em luz fluorescente (B) e em contraste de fase (C). DF) Reconstrução 3D, com organização da pilha das imagens do fundo para o topo da microtrinca (D), evidenciada separadamente para melhor visualização em fluorescência (E) e contraste de fase (F), com as duas últimas imagens mostrando duas escalas para os dois eixos X e Y.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Distribuição do dano ósseo no osso cortical e trabecular.	39
Tabela 2	-	Comparação dos danos ósseos entre os três grupos de velocidade.	39
Tabela 3	-	Danos difusos entre os três grupos de velocidade.	39
Tabela 4	-	Correlação entre microdanos ósseos e velocidade de	40
		perfuração.	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BC	-	Espículas ósseas
BC.D	-	Densidade de espículas ósseas
BV	-	Volume ósseo
°C	-	Graus Celsius
CBR	-	Centro de Biologia da Reprodução
cm	-	Centímetros
CPBio	-	Centro de Pesquisa em Biomecânica, Biomateriais e Biologia Celular
Cr.D	-	Densidade da microtrinca
Cr.Le	-	Comprimento da microtrinca
FO	-	Faculdade de Odontologia
Fr.D	-	Densidade de fratura
Kg	-	Quilogramas
L1	-	Corte 1 (onde estava a perfuração)
L2	-	Corte 2 (adjacente à perfuração)
mL	-	Mililitros
mm	-	Milímetros
mm²	-	Milímetros quadrados
MMA	-	Metilmetacrilato
μm	-	Micrômetros
μm²	-	Micrômetros quadrados
Ν	-	Número
nm	-	Nanômetros
r.p.m.	-	Rotações por minuto
S	-	Escore
S.I.N.	-	Sistema de Implante
3D		Tridimensional
UFJF	-	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFU	-	Universidade Federal de Uberlândia

SUMÁRIO

15
17
18
18
18
21
25
29
30
31
47
49
50
61
62

1 INTRODUÇÃO

O uso de implantes dentários osseointegrados foi estabelecido como uma opção para a reabilitação funcional em pacientes edêntulos totais ou parciais (GEHRKE, NETO e MARDEGAN, 2013). Para a instalação do implante, é necessário produzir uma cavidade por meio de um procedimento de osteotomia, que utiliza brocas cirúrgicas na preparação do alvéolo. Essas brocas são utilizadas em uma sequência de fresagem progressiva, proporcionando a criação de um sítio cirúrgico que receberá o implante (FAVERO et al., 2018). Ercoli et al. (2004), sugere com este protocolo de fresagem, minimizar o trauma, reduzindo assim o potencial de formação de dano ósseo que pode resultar em falha na osseointegração

Os danos ósseos podem ser gerados tanto durante a osteotomia quanto nos procedimentos de instalação dos implantes (GEHRKE, NETO e MARDEGAN, 2013). A colocação de implantes com alto torque de inserção foi relacionada a maior quantidade de zonas de osteócitos mortos, resultando no acúmulo de microtrincas peri-implantares, com aumento na reabsorção óssea e diminuição na formação óssea (CHA et al. 2015). A formação do dano é esperada, já que a carga de compressão ocorre como resultado da força circunferencial do implante até o osso. A questão é saber se a carga antes e durante a instalação do implante pode levar a uma ruptura no equilíbrio entre o dano e seu reparo (XU et al., 2015; BARTOLD et al., 2011). Um estudo revelou que a maioria das microtrincas no osso foi gerada pela preparação da osteotomia e que a inserção do implante não teve efeitos adicionais importantes na criação de danos (WARRETH et al., 2009). Em contrapartida, um outro trabalho revelou que a preparação de um sítio de osteotomia sem inserção de implante não apresentou microdanos (BARTOLD et al., 2011).

As microtrincas atuam como alvos da remodelação óssea e regulam a fisiologia óssea (MORI e BURR, 1993; VASHISHTH et al., 2000). O acúmulo de microdanos afeta as propriedades biomecânicas do osso, reduzindo a resistência óssea (VASHISHTH et al., 2000; CHAPULART e DELMAS, 2009). Além das microtrincas, outros danos ósseos podem ser encontrados relacionados ao procedimento de osteotomia, tais como fraturas corticais e trabeculares e formação

de espículas ósseas. Com relação à fratura trabecular, sabe-se que o processo de cicatrização ocorre de maneira diferente da cortical, com remodelamento resultando em uma área com mais osteoclastos presentes (HAN et al., 2015). Um estudo mostrou que à medida em que a profundidade de corte aumenta, a produção de partículas muda do tipo fragmentado para contínuo (HUIYU et al., 2017).

A relação entre a velocidade de perfuração durante o procedimento de osteotomia e a geração de dano ósseo no sítio cirúrgico não é totalmente compreendida. Para a avaliação adequada do microdano ósseo, formação de espículas ósseas e fraturas, um estudo experimental em ossos de animais parece ser a opção mais viável, uma vez que o protocolo de osteotomia pode ser controlado e a morfologia do dano ósseo pode ser estimada.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo do trabalho foi realizar um estudo experimental *ex vivo* sobre a formação de danos ósseos durante o procedimento de osteotomia de perfuração para instalação de implantes avaliando, também, a influência de diferentes protocolos de velocidade de fresagem e do tipo de osso na criação desses danos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi realizado por experimentos *ex vivo* no Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Odontologia (FO), no Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e no Centro de Pesquisa em Biomecânica, Biomateriais e Biologia Celular (CPBio) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os espécimes foram constituídos de fragmentos de costela de origem bovina, considerados como opções viáveis para estudos ósseos em implantodontia, uma vez que a densidade óssea e a relação entre osso cortical e trabecular são muito semelhantes ao osso mandibular humano (ERCOLI et al., 2004).

Para a pesquisa foram utilizados 6 fragmentos ósseos, extraídos de duas costelas coletadas de um bovino esqueleticamente maduro, no dia da morte do animal, medindo 90 mm de comprimento e 40 mm de largura. Os fragmentos ósseos foram obtidos por meio de corte manual, limpos e todo o periósteo foi removido, para que não interferisse nas propriedades mecânicas. Foram mantidos sob refrigeração a -18 graus Celsius (°C) até o uso. Em cada fragmento de costela bovina, foram realizadas todas as condições de estudo.

3.2 PREPARO DAS PERFURAÇÕES

Antes de serem submetidas à fresagem, as peças de costelas foram descongeladas em temperatura ambiente por três horas. Em seguida, foram colocadas em solução fisiológica 0,9% até seu total descongelamento (Figura 1). Posteriormente, os fragmentos de costela foram adaptados em um suporte de aço inox, presos por braçadeiras de alumínio, sendo mantidos em temperatura ambiente (24°C- 26°C). A temperatura foi monitorada com um termômetro digital durante todo o experimento (Figura 2) (Protocolo modificado de Barbosa (2009)).



Figura 1 - Peças de costela em solução fisiológica 0,9% até seu total descongelamento.



Figura 2 - Fragmentos de costela bovina adaptados em suporte de aço inox, presos por braçadeiras de alumínio e mantidos em temperatura ambiente (24°C- 26°C).

Em cada fragmento de costela, foram feitas marcações determinando os locais para a confecção dos preparos. O tempo de fresagem foi aquele gasto para atingir a profundidade previamente determinada. O local escolhido para osteotomia foi o córtex na parte superior do bloco ósseo (Figura 3).



Figura 3 - Confecção dos alvéolos no sentido da largura da costela com profundidade de 13 mm.

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com a velocidade de perfuração: 1200 rpm (Grupo 12, n = 6), 800 rpm (Grupo 8, n = 6) e 400 rpm (Grupo 4, n = 6). Foram utilizados três jogos de brocas novas do kit cirúrgico para fresagem para instalação de implantes odontológicos osseointegráveis (S.I.N., Sistema de Implante, SP, Brasil) para os diferentes grupos de velocidade (Figura 4).



Figura 4 - Brocas do kit cirúrgico (S.I.N., Sistema de Implante, SP, Brasil) para implantes odontológicos osseointegráveis, sendo composto por: 1 broca lança, 1 broca helicoidal de 2 mm diâmetro, 1 broca helicoidal de 3 mm de diâmetro.

A osteotomia foi conduzida de acordo com o seguinte protocolo: a primeira perfuração foi realizada utilizando uma broca lança até atingir 10 mm de profundidade; em seguida foram utilizadas as brocas helicoidais de 2 e 3 mm, até a profundidade de 13 mm. Para padronizar a perfuração na profundidade exata, foram utilizados *stops* (Figura 5).



Figura 5 - Brocas adaptadas com *stops* para a padronização da perfuração.

Toda a sequência de osteotomia foi realizada com o uso de uma peça de mão 20:1 (W&H, Dentalwerk, Bürmoos, Áustria), sob irrigação externa e constante (solução salina a 0,9%, em temperatura ambiente, com fluxo de 100 mL/min). A peça de mão foi acoplada a um motor elétrico com rotação, irrigação e torque controlados digitalmente (DForce1000, DentFlex, São Paulo, Brasil) (Figura 6). As perfurações foram realizadas manualmente com carga aproximada de 2 kg (SUMER et al. 2011; MISIR et al., 2009), à temperatura ambiente (24°C). Todos os preparos foram realizados pelo mesmo operador.



Figura 6 - Motor elétrico com rotação, irrigação e torque controlados digitalmente (D Force 1000, DentFlex, SP, Brasil).

3.3 AVALIAÇÕES DOS DANOS ÓSSEOS

Após a realização das osteotomias, cada fragmento ósseo contendo os preparos foi segmentado manualmente com auxílio de uma serra para obtenção de 3 blocos ósseos individuais, cada um com uma perfuração, totalizando 18 blocos ósseos (Figura 7A). Os blocos foram primeiramente fixados em solução de formol tamponado por um mês e antes do experimento foram imersos em álcool absoluto (99,7%) por uma semana (Figura 7B).



Figura 7: A) Blocos ósseos seccionados, cada um contendo uma perfuração. B) Blocos ósseos imersos em álcool absoluto (99,7%).

Os dezoito blocos ósseos obtidos, foram corados em Xylenol Orange 5 mM (5 milimolar: 0.4 g de pó em 100 ml álcool 70%, Sigma-Aldrich/Merck, Alemanha) por um período de 7 dias, com intuito de evidenciar os microdanos, de acordo com a metodologia de Rabelo et al. (2018a). Cada bloco ósseo foi clivado ao meio no sentido do longo eixo usando a perfuração como guia para o processo de corte. Para isso, utilizou-se um disco diamantado acoplado a uma cortadeira de precisão (ISOMET 1000, Buehler, Estados Unidos) (Figura 8 A, B e C). A metade de cada bloco foi desidratada e incluída em metilmetacrilato (MMA) para posterior preparo das lâminas.



Figura 8 A-C – Blocos ósseos sendo clivados ao meio, no sentido do longo eixo.

Para inclusão, os blocos foram imersos em soluções contendo o MMA e quantidades crescentes do ativador (peróxido de benzoíla), mantidos sob refrigeração por um período de seis dias. No último passo do processo de inclusão,

os blocos foram posicionados em recipientes de vidro com a face de corte incluindo a região da perfuração voltada para baixo. Estes frascos foram acondicionados em estufa à 36ºC por 5 dias para completar o processo de polimerização (Figura 9 A-B).



Figura 9: A) Processo de inclusão dos blocos em MMA. B) Blocos incluídos em MMA em fase de polimerização. C) Quebra dos frascos de vidro. D-E) Blocos de MMA obtidos.

Duas lâminas foram obtidas por bloco: a primeira (L1) na região onde estava a perfuração e a segunda (L2) adjacente à perfuração (0,4 mm de distância L1 de L2). As lâminas foram obtidas utilizando a cortadeira de precisão ISOMET 1000 (Buehler, Estados Unidos), com disco diamantado de 15,2 cm X 0,3 mm de espessura e velocidade 350 rpm (Figura 10 A-C).



Figura 10: A) Representação esquemática mostrando a segmentação orientada pelo longo eixo do bloco (seta vermelha) e os pontos de corte das lâminas L1 (contendo a perfuração) e L2 (adjacente à perfuração) (setas pretas). B) Corte do bloco de MMA utilizando disco diamantado em uma cortadeira de precisão. C) Lâmina obtida antes do processo de polimento.

A espessura do corte variou entre 0,25 e 0,4 mm. De acordo com Rabelo et al. (2018) A, para a obtenção da espessura ideal (variação entre 80 e 100 micrômetros (µm)), os cortes foram preparados em lixadeira (Politriz, Brasil), utilizando lixas de gramatura 80 e 600. Posteriormente, foi realizado o polimento dos cortes com uma sequência de materiais: pó de carbeto de silício, pasta de polimento contendo óxido de alumínio e lavagem manual em água corrente (Figura 11 A, B e C). Os cortes foram montados em lâminas de vidro fixados às lamínulas por meio de verniz (Vitral, Acrilex, Brasil). Um total de 32 lâminas foram utilizadas para análise, sendo que 4 lâminas foram perdidas durante os procedimentos de corte e polimento.



Figura 11- Processo de polimento das lâminas, utilizando lixa de gramatura 80 (A), acabamento com lixa de gramatura 600 (B) e finalização com pasta de polimento contendo óxido de alumínio (C).

3.3.1- Analise Histomorfométrica Qualitativa e Quantitativa

Na análise qualitativa, as lâminas (≅100 µm) foram utilizadas para a identificação e avaliação dos danos ósseos em microscopia de fluorescência. A confirmação dos microdanos em profundidade foi realizada utilizando um filtro de luz polarizada (PORTERO-MUZY et al. 2011; RABELO et al. 2018b). As amostras foram avaliadas em sua totalidade, compreendendo as áreas corticais e trabeculares.

Para confirmar se o microdano era verdadeiro e não um artefato de técnica, o mesmo foi avaliado em duas análises microscópicas distintas, acopladas no mesmo microscópio, para permitir identificação e confirmação do dano sem mudança da posição da plataforma (platina) da seguinte forma: primeiramente, foi identificado na luz fluorescente, e caso fosse encontrado, posteriormente, o mesmo foi confirmado na luz polarizada, por meio da alteração do foco e da visualização da trinca em sua profundidade. Desta forma, o microscópio utilizado continha luz fluorescente com seu respectivo filtro verde, e também o filtro e lente necessários para polarização.



Figura 12 – A) Microtrinca encontrada na análise com luz fluorescente e B) confirmação na análise com luz polarizada (seta laranja). C) Microtrinca encontrada na análise com luz fluorescente e D) confirmação na análise com luz polarizada (seta laranja).

Para caracterização dos microdanos, foram obedecidos os critérios propostos por Chapurlat e Delmas (2009):

a) tamanho intermediário maior que os canalículos dos osteócitos e menor que os canais vasculares;

- b) bordas afiadas circundadas por um halo;
- c) a coloração atingindo os planos mais profundos;
- d) a profundidade é passível de identificação com a alteração do foco.

Cada lâmina foi avaliada por um mesmo operador, com treinamento prévio na identificação de microdanos. Todos microdanos e fraturas identificados foram fotografados para posterior análise, em lente objetiva com aumento original de 10X (Microscópio AXIOPHOT HB 50 ZEISS, Oberkochen, Alemanha, acoplado a câmera AxioCam ICc3, ZEISS, Oberkochen, Alemanha). As fotografias de cada situação analisada foram inseridas no software ImageJ (NIH, USA).

Os danos ósseos foram considerados como:

 a) fraturas corticais ou trabeculares (Figura 13 A-D) (uma fratura foi definida como a separação de dois fragmentos independentes, com sua superfície corada de amarelo a laranja e com um halo brilhante sob luz de fluorescência);



Figura 13 – A) Fratura trabecular encontrada na análise com luz fluorescente e B) confirmação na análise com luz polarizada (seta azul). C) Fratura cortical encontrada na análise com luz fluorescente e D) confirmação na análise com luz polarizada (seta branca).

 b) microdanos, definidos pela sua morfologia, tais como: lineares (fissura linear de arestas agudas, com profundidade em campo visualizada pelas paredes coradas e brilhantes, menores que canais (contendo vasos sanguíneos) e maiores que canalículos dos processos dendríticos dos osteócitos (Figura 12C) (CHAPURLAT e DELMAS, 2009), ou difusos (caracterizados como os danos contendo um aglomerado de fissuras submicroscópicas curtas, identificáveis por fluorescência em uma determinada área, por vezes organizadas paralelamente, e por vezes organizadas em arranjo em cruz formando intersecções em 90 graus, Figura 14C), ambos confirmados em sua profundidade através da luz polarizada, nestes casos identificadas em coloração negra, com a movimentação do foco ajustando o parafuso micrométrico (Figura 14 A-D);



Figura 14 – A) Microtrinca linear representada por um halo brilhante em luz fluorescente B) e confirmação na análise com luz polarizada (seta branca). C) Dano difuso representado por uma área de alta intensidade em luz fluorescente e D) confirmação na análise com luz polarizada (seta branca).

c) espículas ósseas, definidas como micro partículas ósseas produzidas durante a osteotomia (Figura 15 A-D), caracterizadas por tamanho pequeno, geralmente formando um aglomerado, com um halo brilhante envolvendo toda a quantidade de partículas sob a luz de fluorescência, e identificadas pelas características ósseas na luz polarizada, como por exemplo, presença de lacunas de osteócitos e canais.



Figura 15 – A) Espículas ósseas (estrelas vermelhas) ao lado de um trabeculado mostrando uma mancha amarela brilhante, encontradas na análise com luz fluorescente e B) confirmação na análise com luz polarizada. C-D) Aglomerado de espículas ósseas sob luz fluorescente, com halo brilhante.

Os danos foram avaliados considerando a área óssea total (B.Ar), que foi medido nas mesmas lâminas usando uma lente de aumento estereoscópica (1x, Discovery.V8, Stereo, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). As fraturas trabeculares ou corticais foram analisadas pelo seu número e localização, e foi calculada a densidade de fratura (Fr.D), com o número total de fraturas dividido pela área óssea total (F/B.Ar; N/mm²). Para a avaliação dos microdanos, a densidade linear da microtrinca (Cr.D) foi expressa por unidade de área óssea (Cr.N/B.Ar; N/mm²).

Além disso, todos os microdanos foram avaliados de acordo com os seguintes critérios elaborados pelos autores:

a) localização, se eles estavam presentes na parte cortical ou trabecular;

b) tipo de microdano presente sendo linear (microtrinca) ou dano difuso;

c) o tamanho do dano, sendo o comprimento para as microtrincas lineares (Cr.Le, μ m) e toda a área para o dano difuso (μ m²).

Para a avaliação das espículas ósseas (BC), uma medida proporcional foi realizada pelo escore (S), como segue:

0) ausência de espículas ósseas;

1) presença de menores quantidades de espículas ósseas;

2) presença de uma quantidade média de espículas ósseas;

3) presença de grande quantidade de espículas ósseas.

Para este propósito mencionado, todos as espículas ósseas e seus aglomerados, foram identificados e então capturadas em imagens separadas, com a pontuação dada pelo número de imagens feitas de cada lâmina.

Ao final, os valores mencionados anteriormente de número de microdanos por amostra, juntamente com o cálculo de volume ósseo, foram utilizados para o cálculo final dos parâmetros: densidade de microdanos, que quer dizer, o número de microdanos por área de tecido ósseo analisado (Cr.D; N/mm²) e tamanho das microtrincas em micrômetros (Cr.Le, µm), sendo a média de todos os microdanos lineares encontrados na amostra.

3.3.2- Caracterização tridimensional das microtrincas

Para fins de ilustração e frente à necessidade de se caracterizar a real profundidade das microtrincas, duas lâminas selecionadas aleatoriamente foram usadas para avaliar a estrutura tridimensional de microtrincas lineares, tentando assim, observá-las ao longo de sua profundidade. Durante a análise de microtrincas no microscópio de luz polarizada, a visualização foi obtida, mas não a quantificação em profundidade. Para este propósito, uma análise de microscopia confocal de varredura a laser foi realizada, usando o laser de argônio de 458nm com espectro de emissão entre 521-628nm (LSM 510 Meta, Zeiss, Oberkochen, Alemanha) e o programa Zen 2.1 Zeiss. Para cada microtrinca linear evidenciada foi criada uma stack, ou seja, uma pilha contendo diversas fatias do microdano, de baixo para cima, seguindo os princípios de uma tomografia computadorizada, por exemplo. Ambos os filtros fluorescentes e de contraste foram utilizados e uma reconstrução tridimensional (3D) foi obtida por microtrinca evidenciada, separadamente (Figura 16). Estas imagens tridimensionais foram resultado de uma reconstrução das várias fatias que foram calculadas automaticamente para formar um volume que compreendeu toda a extensão em profundidade do dano no tecido ósseo.



Figura 16 – Avaliação tridimensional de microtrincas lineares por microscopia confocal. A) Imagem mesclada de luz fluorescente e contraste de fase, com visualização bidimensional em luz fluorescente (B) e em contraste de fase (C). DF) Reconstrução 3D, com organização da pilha das imagens do fundo para o topo da microtrinca (D), evidenciada separadamente para melhor visualização em fluorescência (E) e contraste de fase (F), com as duas últimas imagens mostrando duas escalas para os dois eixos X e Y.

3.4– Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e mediana. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPadPrism 5 (La Jolla, Califórnia, EUA). A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade D'Agostino & Pearson. A comparação dos grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis. A diferença de tamanho dos microdanos entre osso cortical e trabecular foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney e a associação dos microdanos com sua presença em cada tipo ósseo foi testada pelo teste do Qui-quadrado. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para identificar as correlações entre os parâmetros de velocidade e dano ósseo. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando p \leq 0,05.

ARTIGO

Título: Formação de dano ósseo durante o procedimento de osteotomia: influência da velocidade de perfuração e do tipo de osso.

Título curto: Dano ósseo e osteotomia.

Afiliação dos autores:

1) Isabella de Almeida Francisquini, DDS.

Mestranda pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

2) Gustavo Davi Rabelo, PhD.

Professor Visitante da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

3) Neuza Maria Souza Picorelli Assis, PhD.

Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

4) Bruno Salles Sotto-Maior, PhD.

Professor Adjunto da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

5) Pedro Henrique Justino de Oliveira Limirio, PhD.

Pós-doutorando pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

6) Karina Lopes Devito, PhD.

Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

Autor correspondente:

Karina Lopes Devito

Faculdade de Odontologia - Campus Universitário

Bairro Martelos - Juiz de Fora - MG

CEP: 36036-300

e-mail: karina.devito@ufjf.edu.br

Telefone / Fax: (32) 2102-3881

Palavras-chave: Osso, osteotomia, perfuração, dano ósseo, fratura.

RESUMO

Introdução: Durante a instalação de implantes dentários, o procedimento de osteotomia é necessário para a criação do sítio cirúrgico. Os danos ósseos podem ser gerados tanto durante a osteotomia quanto nos procedimentos de instalação do implante. O objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de dano ósseo durante o procedimento de osteotomia para instalação de implante em estudo experimental ex vivo avaliando, também, a influência de diferentes protocolos de velocidade de fresagem na criação desses danos. Materiais e Métodos: Os espécimes consistiram de 6 fragmentos ósseos (90x40mm), extraídos de duas costelas bovinas frescas e divididos em 3 grupos de acordo com a velocidade de fresagem: 1200 rpm (Grupo 12, n = 6), 800 rpm (Grupo 8, n = 6) e 400 rpm (Grupo 4, n = 6). Após o procedimento de osteotomia, os fragmentos ósseos foram segmentados e um total de dezoito blocos ósseos foram corados com Xylenol Orange, desidratados e incluídos em metilmetacrilato. Duas lâminas foram obtidas por bloco, uma incluindo a perfuração (L1) e a outra na área adjacente (L2). As amostras foram avaliadas nas regiões corticais e trabeculares sob microscopia de fluorescência e de luz polarizada (total de 32 lâminas, com 4 lâminas perdidas durante o processamento). A formação de dano ósseo foi avaliada juntamente com a área óssea total (B.Ar). A densidade das fraturas foi avaliada (Fr.D=Número/mm²), juntamente com a morfologia e a densidade (Cr.D=Número/mm²) dos microdanos (linear ou difuso). Ainda, a presença de espículas ósseas foi avaliada por escores (S). Para melhor visualização e caracterização em profundidade, duas lâminas foram utilizadas para avaliar a estrutura tridimensional de microtrincas lineares por microscopia confocal. Resultados: Foram encontrados todos os tipos de danos avaliados (fratura, microdano linear, microdano difuso e presença de espículas ósseas) nos três grupos avaliados e nas duas regiões da osteotomia. Houve uma associação significativa entre a formação de danos e o tipo de osso, (p=0,0016) com mais danos no osso trabecular do que no cortical. Uma correlação positiva entre as densidades de fratura e de microdanos (p = 0.05, r 0.54) foi encontrada. Não houve diferença entre os três grupos de velocidade. A visualização tridimensional das microtrincas lineares foi útil para distinguir a profundidade dos danos. Conclusão: Os danos ósseos foram gerados após o procedimento de osteotomia, incluindo: microdanos lineares, microdanos difusos, fraturas e formação de espículas ósseas. A formação dos danos foi associada mais com o osso trabecular do que com o cortical. Dentro das limitações do estudo, sugere-se que diferentes velocidades de perfuração não foram relevantes para aumentar a formação de danos ósseos.

Palavras-chave: Osso, osteotomia, perfuração, microtrincas, fratura.

Introdução

O uso de implantes dentários osseointegrados foi estabelecido como uma opção viável para a reabilitação funcional em pacientes total ou parcialmente desdentados¹. Para a instalação do implante, a realização de uma osteotomia é necessária para a preparação do local do implante com o uso de diferentes brocas cirúrgicas em uma seqüência de etapas². O protocolo de perfuração para a instalação do implante foi recomendado para minimizar o trauma durante a osteotomia, reduzindo assim o potencial de formação de dano ósseo que pode resultar em falha na obtenção da osseointegração³.

Danos ósseos podem ser gerados pelos procedimentos de perfuração e / ou a inserção de um implante. A colocação de implantes com alto torque de inserção foi relacionada a mais zonas de osteócitos mortos, resultando em microtrincas ósseas peri-implantares, com aumento da reabsorção óssea e diminuição da formação óssea4. A formação de dano é esperada, pois a carga de compressão ocorre como resultado da força circunferencial do implante sobre o osso. A questão é se a carga antes da instalação do implante, pode levar à formação de danos excessivos e a uma quebra no equilíbrio entre o dano e o reparo.

As microtrincas atuam como alvo para a remodelação óssea e regulam a fisiologia óssea7,8. O acúmulo de microdanos afeta as propriedades biomecânicas do osso, reduzindo a resistência óssea8,9. Além das microtrincas, outros danos ósseos podem ser encontrados relacionados ao procedimento de osteotomia. Em relação às fraturas trabeculares, sabe-se que o processo de cicatrização ocorre de maneira diferente do córtex, com remodelamento resultando em uma área com mais osteoclastos presentes10. Outro dano que pode acontecer durante uma osteotomia é a formação de lascas de ossos. Já se sabe que à medida que a profundidade de corte aumenta, a formação de espículas ósseas muda de tipo fragmentário para tipo contínuo11. Outra questão surge à medida que enormes quantidades de fragmentos de ossos podem culminar com um remodelamento excessivo ao mesmo tempo da osseointegração do implante. No final, a relação entre a velocidade de perfuração durante o procedimento de osteotomia e a geração de danos ósseos no local da cirurgia não é totalmente compreendida.

Para avaliar adequadamente os microdanos ósseos, a criação de espículas ósseas e fraturas, um estudo experimental em osso animal parece ser a opção mais viável, pois o protocolo de osteotomia pode variar e a morfologia do dano ósseo pode ser estimada.

Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar um estudo experimental *ex vivo* sobre a formação de dano ósseo durante o procedimento de osteotomia de perfuração para instalação do implante, além de avaliar a influência de diferentes protocolos de velocidade e do tipo de osso na criação desses danos.

Métodos

Procedimento experimental

Seis fragmentos de osso (90x40 mm) extraídos de duas costelas frescas de um animal bovino esqueleticamente maduro foram utilizados neste estudo. O osso bovino foi selecionado devido às semelhanças com o osso mandibular humano, em termos de densidade e relação osso cortical / esponjoso3. Os fragmentos ósseos foram obtidos por meio de serra manual e tiveram todo o tecido mole removido, a fim de garantir que o resíduo não interferisse nas propriedades mecânicas. Os fragmentos foram então segmentados em 18 blocos ósseos, cada um contendo um sítio de osteotomia. O procedimento de perfuração foi realizado a fim de criar um local de osteotomia antes da instalação do implante dentário, com os espécimes previamente mantidos à temperatura ambiente (24 ° C) por 3 horas.

Para perfuração, os espécimes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com a velocidade de perfuração: 1200 rpm (Grupo 12, n = 6), 800 rpm (Grupo 8, n = 6) e 400 rpm (Grupo 4, n = 6). A osteotomia foi conduzida de acordo com as instruções do fabricante: uma broca-piloto foi usada a 10 mm de profundidade, seguida por brocas helicoidais de 2 e 3 mm até 13 mm de profundidade. Toda a sequência de perfuração foi feita com o uso de uma peça de mão de 20: 1 (W & H, Dentalwerk, Bürmoos, Áustria), sob irrigação contínua (solução salina com fluxo de 100 mL / min). A peça de mão utilizada foi ligada ao motor de implante com controle digital da rotação, irrigação e torque (DForce1000, DentFlex, São Paulo, Brasil). As perfurações foram realizadas manualmente com carga de 2 kg12,13, à temperatura ambiente (24°C). Todas as perfurações foram realizadas pelo mesmo operador. O local da osteotomia escolhido foi a área cortical na parte superior do bloco ósseo (Fig.1A-B).

Avaliação de dano ósseo

Os blocos foram primeiramente fixados em uma solução de formol tamponado e armazenados por um mês. Depois disso, eles foram imersos em álcool absoluto (99,7%) por uma semana. Os blocos ósseos foram corados em Xylenol Orange 5 Mm (Sigma-Aldrich / Merck, Alemanha) durante 7 dias. Cada bloco foi seccionado no meio (orientação pelo longo

eixo), usando a perfuração como guia para o processo de corte. Um disco diamantado acoplado a um cortador de precisão (ISOMET 1000, Buehler, Estados Unidos) foi utilizado (Fig.1A). Metade do bloco foi desidratado e imerso em metilmetacrilato (MMA). Duas lâminas foram obtidas por bloco: L1) incluindo o local da perfuração; e L2) adjacente à perfuração (0,4 mm de distância L1 de L2, Fig.1B). As lâminas foram obtidas usando um cortador de precisão ISOMET 1000 (Buehler, Estados Unidos) com um disco de diamante de 15,2 cm x 0,3 mm de espessura a uma velocidade de 350 rpm (Fig. 1C). Posteriormente, foram polidos com uma sequência de materiais: pós de carbeto de silício, pasta de polimento contendo óxido de alumínio e lavagem manual em água corrente. Um total de 32 lâminas foram analisadas, sendo que 4 lâminas foram perdidas durante os processos de corte e polimento.

As lâminas (\cong 100 µm, fig. 1D) foram utilizadas para avaliação do dano ósseo por meio de avaliação microscópica sob luz de fluorescência, com a confirmação da profundidade do dano na luz polarizada14,15.



Figura 1: Representação esquemática dos métodos. A) Segmentação do bloco ósseo usando um cortador de precisão. B) Ilustração mostrando a segmentação orientada pelo longo eixo do bloco (seta vermelha) e os pontos de corte das lâminas L1 e L2 (setas pretas). C) Obtenção da lâmina usando um disco de diamante no cortador de precisão. D) Lâmina antes do processo de polimento.

As amostras foram completamente avaliadas, tanto as partes corticais, quanto as trabeculares. Danos ósseos foram considerados como: a) fraturas corticais ou trabeculares (uma fratura foi definida como a separação de dois fragmentos independentes, com sua superfície corada de amarelo a laranja e com um halo brilhante sob luz de fluorescência) (Fig. 2A e 2B), b) microdanos, definidos pela morfologia: lineares (arestas vivas, profundidade em campo com paredes coradas, menores que vasos e maiores que canalículos, Fig. 2C) 9 ou difusos (um aglomerado de microtrincas e fissuras submicroscópicas difusas, identificáveis por fluorescência em uma determinada área, Fig. 2E), ambos confirmados sua profundidade através da luz polarizada (Fig. 2D e 2F), c) espículas ósseas, definidas como micro-partículas

ósseas produzidas durante a osteotomia (Fig. 2G e 2H), caracterizadas por tamanho menor, geralmente formando um agrupamento, com um halo brilhante ao redor de todas as partículas sob a luz de fluorescência.



Figura 2: Representação esquemática dos danos ósseos na avaliação histológica. A-B) Fratura óssea (seta preta) representada em luz fluorescente microscópica (A) e luz polarizada (B). C-D) Microtrinca linear (seta vermelha) representada por um halo brilhante em luz fluorescente (C) e confirmação através de sua profundidade em luz polarizada (D). E-F) Dano difuso delimitado por setas azuis representadas por uma área de alta intensidade à luz fluorescente (E), com confirmação por microtrincas agrupadas, formando, por vezes, um padrão hachurado em luz polarizada (F). G-H) Espículas ósseas (estrelas pretas) próximas a um trabeculado mostrando uma mancha amarela brilhante em fluorescência (G) e confirmadas por luz polarizada (H). Barra de escala branca: 100 µm.

O dano ósseo foi avaliado considerando-se toda a área óssea (B.Ar), a qual foi medida nas mesmas lâminas usando uma lente de aumento estereoscópica (1x, Discovery .V8, Stereo, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). As fraturas trabeculares ou corticais foram analisadas pelo seu número e localização, e calculadas a densidade de fratura (Fr.D) como o número total de fraturas dividido pela quantidade total de osso (F / B.Ar; N / mm2). Para a avaliação de microdanos, a densidade linear da microtrinca (Cr.D) foi expressa por unidade de área óssea (Cr.N / B.Ar; N / mm2). Além disso, todos os microdanos foram avaliados de acordo com os seguintes critérios: a) localização, se estivessem presentes na parte cortical ou trabecular; b) tipo de microdano presente, seja linear (microtrinca) ou difuso; c) o tamanho do dano, o comprimento das microtrincas lineares (Cr.Le, μ m) e toda a área para o dano difuso (μ m2). Para a avaliação das espículas ósseas (BC), foi realizada uma medida proporcional pelo score (S): 0) ausência de espículas ósseas; 1) presença de baixa quantidade elevada de espículas; Para este propósito mencionado, todos os fragmentos de ossos e seus aglomerados formadores foram identificados e então capturados em imagens separadas, com a pontuação dada pelo número de imagens.

Para ilustração e posterior avaliação, duas lâminas aleatórias foram utilizadas para avaliar a estrutura tridimensional das microtrincas lineares, tentando assim observá-las através de sua profundidade. Para este propósito, uma análise de microscopia confocal foi realizada, usando o laser de argônio de 458 nm com um espectro de emissão entre 521-628nm (LSM 510 Meta, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Uma *stack* de baixo para cima do microdano foi criada para cada microtrinca linear evidenciada. Ambos os filtros fluorescentes e de contraste foram utilizados e uma imagem tridimensional (3D) foi obtida por cada microtrinca evidenciada separadamente (Fig.3A-F).



Figura 3: Avaliação tridimensional de microtrincas lineares por microscopia confocal. A) Imagem mesclada de luz fluorescente e fase de contraste, com visualização bidimensional em luz fluorescente (B) e em contraste de fase (C). DF) Reconstrução 3D, com organização da pilha das imagens do fundo para o topo da microfissura (D), evidenciada separadamente para melhor visualização em fluorescência (E) e fase de contraste (F), com as duas últimas imagens mostrando duas escalas para os dois eixos X e Y.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e mediana. Os dados foram analisados usando o software GraphPad Prism 5 (La Jolla, Califórnia, EUA). A

distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade D'Agostino & Pearson. A comparação dos grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis. As diferenças entre osso cortical e esponjoso foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney, e a associação foi testada pelo teste do Qui-quadrado. O coeficiente de correlação de Spearman foi usado para identificar as correlações entre os parâmetros de velocidade e dano ósseo. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p \le 0,05$.

Resultados

A análise microscópica revelou o osso cortical e suas estruturas, como canais de Havers, osteons de diferentes tamanhos e inúmeras lacunas de osteócitos incluídos na matriz. No osso esponjoso, foram identificadas trabéculas distribuídas em sua organização espacial, circundadas por espaços medulares preenchidos por tecido medular. Na fluorescência, foi observado brilho intenso, não apenas nos danos ósseos, mas também em toda a superfície óssea. Isto incluiu superfícies trabeculares e intracorticais, superfícies de canal e todos os aglomerados de espículas ósseas coradas com uma alta intensidade.

Danos ósseos foram identificados em todas as amostras, incluindo todos os tipos de danos analisados, tais como: microtrincas, danos difusos, fraturas e espículas ósseas. A avaliação histomorfométrica mostrou que o comprimento médio das microtrincas apresentado tanto no osso trabecular $(144,9 \pm 73,01\mu\text{m})$ como no osso cortical $(121,4 \pm 85,10 \mu\text{m})$ não diferiu significativamente (p 0,18, Tabela 1). Houve uma associação significativa entre o tipo de dano ósseo e o tipo de osso (p 0,0016), com mais dano na parte esponjosa do que no córtex (Tabela 1). Curiosamente, para danos difusos, a ocorrência foi uma vez e meia maior no osso trabecular do que no osso cortical (Tabela 1). O dano difuso foi bastante incomum quando comparado com microtrincas lineares. Para microtrincas, foi aproximadamente 3,8 vezes maior no osso trabecular (23 microtrincas) do que no osso cortical (6 microtrincas) (Tabela 1). Em relação às fraturas, a ocorrência foi muito maior no osso trabecular (55 fraturas) em comparação com o osso cortical (2 fraturas) (Tabela 1). Em relação à visualização 3D dos danos ósseos, duas microtrincas foram encontradas durante a avaliação microscópica confocal. Após a criação da *stack*, foi possível identificar que uma das microtrincas tinha 35,13 µm de profundidade e a outra, 60,81 µm.

Danos ósseos	Cortex	Cancellous	р
Comprimento das microtrincas (µm)	121.4 ± 85.10	144.9 ± 73.01	0.18^{F}
Dano difuso (N)	4	6	
Microtrincas lineares (N)	6	23	0.0016 [†] *
Fraturas (N)	2	55	

Tabela 1 - Distribuição do dano ósseo no osso cortical e trabecular.

¥ Teste de Mann-Whitney. † Teste do qui-quadrado. * Diferença significativa ≤0,05.

Quando comparados os danos ósseos entre os três grupos de velocidade para os parâmetros avaliados, não foram observadas diferenças estatísticas quanto à quantidade de espículas ósseas, densidade de fratura, densidade de microtrincas e comprimento (Tabela 2). No G12, eles foram mais prevalentes no osso cortical (75%, n = 3) do que no osso trabecular (25%, n = 1). Pelo contrário, para o G8 e G4 eles eram mais comuns no osso trabecular, com 33,4% (n = 2) no córtex contra 66,6% (n = 4) no osso esponjoso para o G8. Nenhuma ocorrência foi encontrada no osso cortical e uma foi encontrada no osso trabecular para o G4 (Tabela 3).

Tabela 2 - Comparação dos danos ósseos entre os três grupos de velocidade.

Danâmatrag	Grupos de velocidades					
Parametros	G12 (n=12)	G8 (n=11)	G4 (n=9)	р		
BC (S)	1.5 <u>+</u> 0.7 / 1	1.8 <u>+</u> 1 / 2	1.6 <u>+</u> 0.7 / 2	0.80		
Fr.D (N/mm ²)	0.06 <u>+</u> 0.06 / 0.05	0.04 <u>+</u> 0.03 / 0.02	0.08 <u>+</u> 0.11 / 0.04	0.98		
Cr.D (N/mm ²)	$0.03 \pm 0.03 / 0.02$	$0.02 \pm 0.03 / 0.0$	$0.01 \pm 0.02 / 0.0$	0.41		
Cr.Le (µm)	147.6 <u>+</u> 84.9 / 112.1	126.1 <u>+</u> 42.5 / 99.13	122.2 <u>+</u> 19.4 / 133	0.86		
Média + DP / Mediana. Teste de Kruskal Wallis. Diferença significativa ≤0,05. BC: lascas						

Média + DP / Mediana. Teste de Kruskal Wallis. Diferença significativa $\leq 0,05$. BC: lascas de osso. S: score. Fr.D: densidade de fratura. Cr.D: densidade de microdanos. Cr.Le: comprimento da microtrinca.

	Tabela 3 -	Danos	difusos	entre	os três	s grupos	de v	velocidad	e
--	------------	-------	---------	-------	---------	----------	------	-----------	---

Dono Difuso	Grupos			
Dano Difuso	G12	G8	G4	
Osso cortical (N, %)	3 (75)	2 (33.4)	0 (0)	
Osso trabecular (N, %)	1 (25)	4 (66.6)	1 (100)	
Total	4 (100)	6 (100)	1 (100)	

Além disso, houve uma correlação entre a densidade de fraturas e a densidade de microdanos (p = 0,05, Tabela 4), revelando que, se a densidade da fratura aumenta, as microtrincas também aumentam. As demais comparações e correlações não foram estatisticamente significantes (Tabela 4).

	Velocidade (RPM)	Fr.D (N/mm ²)	Cr.D (N/mm ²)
Fr.D (N/mm ²)	r' = 0.08 p = 0.76		
Cr.D (N / mm ²)	r' = 0.04 p = 0.89	r' = 0.54 $p = 0.05^{\dagger}$	
Cr.Le (µm)	r' = 0.08 p = 0.80	r' = -0.03 p = 0.92	r' = -0.05 p = 0.88

Tabela 4 - Correlação entre microdanos ósseos e velocidade de perfuração.

Coeficiente de correlação de Spearman. † Diferença significativa $\leq 0,05$. Fr.D: densidade de fratura. Cr.D: densidade de microdanos. Cr.Le: comprimento da microtrinca.

Discussão

Microtrincas lineares, danos difusos, fraturas e a formação de espículas ósseas foram encontradas durante o procedimento de osteotomia para instalação do implante sob as condições do nosso estudo. Esses danos estavam predominantemente presentes no osso esponjoso e não no córtex, e poderiam estar ligados à arquitetura natural inerente de ambos os tipos de osso e à força aplicada na região. Além disso, os danos ocorreram não apenas na área de perfuração, mas também no osso adjacente. Microtrincas lineares foram formadas mais do que danos difusos, com o dano difuso sendo bastante incomum. As diferentes velocidades de perfuração não influenciaram na criação ou propagação de danos, com ausência de diferenças significativas entre os grupos testados.

Os resultados supracitados estão de acordo com um estudo anterior5 que relatou que a principal causa da criação de microtrincas foi o preparo da osteotomia antes da colocação do implante e a inserção do implante parece não ter efeitos adicionais importantes na criação do dano. Concluiu-se que microdanos podem estimular os processos de remodelação, o que é importante na integração inicial do implante. No entanto, outro estudo6 defendeu que o microdano era induzido apenas pela inserção do implante e que não havia evidência de microdanos adjacentes às perfurações (microfissuras, cross-hatch ou dano difuso) nos sítios de osteotomia de controle. De acordo com nossos resultados, o procedimento de osteotomia para colocação de implantes é suficiente para criar danos ósseos de todos os tipos, desde pequenos microdanos até fraturas amplas.

O microdano ósseo surge quando um osso não consegue absorver uma carga de energia16. Se o dano se acumula a um ritmo mais rápido do que o reparo, ele enfraquece o osso e, consequentemente, pode reduzir a resistência óssea8, levando à fratura. Além disso, se o dano acumular na taxa normal, mas a capacidade de reparo ósseo for diminuída, então fraturas por fragilidade podem ocorrer17,18. Durante a inserção do implante, se as tensões forem altas o suficiente para produzir microdanos, que mais tarde não serão reparados pelo remodelamento, isso pode contribuir para isquemia, necrose e reabsorção óssea local19. O microdano extenso deve ser considerado como um fator de risco para a estabilidade do implante20. Assim, a preparação da perfuração do local do implante deve ser cuidadosamente conduzida, bem como a inserção do implante3. Além disso, pode-se supor que o remodelamento após a osteotomia, seguido da instalação do implante, é necessário, mas deve manter um certo nível. Dentro dos resultados deste estudo, pode-se supor que diferentes tipos de danos em todo o local da perfuração (incluindo fraturas, microtrincas e formação de espículas ósseas) podem levar a um remodelamento mais pronunciado, interferindo de alguma forma na estabilidade primária do implante.

Como eles influenciam a presença e o tipo de dano formado durante a osteotomia, as diferenças entre o córtex e o osso esponjoso devem ser consideradas, uma vez que foram cruciais para ditar a formação de mais danos na parte esponjosa do que no osso cortical. O osso cortical é mais espesso e apresenta organização osteonal típica, circundada por linhas de cimento e tecido intersticial21. O remodelamento osteonal é desencadeado por microdanos e microtrincas associadas à reabsorção óssea7. O osso trabecular é caracterizado por uma rede de trabéculas cuja distribuição é organizada paralelamente às linhas de tensão resultantes22. O microdano é também um estímulo para a reabsorção óssea no osso esponjoso, embora nesse tipo específico de osso um remodelamento excessivo possa ter um efeito prejudicial em seu comportamento mecânico23.

Apenas duas fraturas foram encontradas no córtex contra 55 fraturas do osso trabecular, além de um grande número de microtrincas. Estes resultados mostraram que este tipo de osso é mais propenso a danos. A dissipação de carga durante a osteotomia terá mais consequências na parte trabecular. Além disso, é importante considerar que, além da osteotomia, este osso será submetido às forças impostas pela instalação e estabilidade do implante. Já foi sugerido que há um comportamento diferente desses dois tipos diferentes de osso na carga aplicada após a inserção do implante24.

Além disso, nossos achados revelaram uma correlação entre a densidade de fraturas e a densidade de microtrincas. Era esperado que os quatro tipos de danos avaliados no estudo seguissem uma tendência a ocorrer simultaneamente, o que foi evidenciado por resultados de correlação significativos em relação a dois deles. A perfuração de osteotomia foi suficiente para produzir microtrincas, fraturas e quebrar-se para formar os fragmentos ósseos.

Em relação à morfologia de microdanos, sabe-se que diferem em tensão e compressão. Os danos difusos são caracterizados como danos compressivos, e diferem das microtrincas lineares, que são orientadas perpendicularmente ao estresse de tração e caracterizadas como microtrincas de tração9,25. Neste estudo, encontramos tanto microtrincas lineares quanto danos difusos, embora as microtrincas lineares estivessem mais presentes que os danos difusos. Dessa forma, pode-se sugerir que a perfuração pode estar relacionada a uma tensão proporcionalmente maior do que ao estresse compressivo no local da perfuração e no osso adjacente. Além disso, microtrincas lineares foram mais presentes, e este fato pode estar ligado ao esperado processo de ativação e recrutamento de osteoclastos para a área lesionada, após osteotomia. Quantidades mais baixas de dano difuso no córtex em nossas amostras (apenas 4) podem estar relacionadas às características inerentes de cortar o osso usando uma broca helicoidal de torção, e que as maiores quantidades desse tipo específico de dano podem aparecer somente após a instalação do implante. Herman et al. (2010) 26 avaliando o processo de remodelação óssea e a resposta diferencial ao tipo de dano no córtex revelou que não houve ativação de reabsorção em resposta a dano difuso isolado. Assim, pode-se afirmar que para ativar os osteoclastos e promover a reabsorção, o dano durante a osteotomia (microtrincas lineares) é de alguma forma mais relevante do que aqueles durante a instalação do implante (dano difuso). Além disso, microtrincas e danos difusos têm respostas e resultados biomecânicos diferenciados. O dano difuso é uma característica dos ossos que apresentam melhor resistência à fratura, diferentemente das microtrincas lineares, que podem se acumular e se propagar sem reparo adequado25,27.

Ao observar as diferentes velocidades de perfuração durante o procedimento de osteotomia, teorizamos que velocidades distintas podem gerar mais ou menos microdanos. No entanto, não encontramos diferença entre as três variações de velocidade em 1200, 800 e 400 rpm. De qualquer forma, pode-se explicar este fato usando 6 espécimes por grupo e, como conseqüência, um número limitado de sítios de osteotomia. Além disso, a ausência de um grupo que mostre se há microdano fisiológico produzido in vivo é uma limitação deste estudo. No entanto, apesar da falta de informações sobre a interferência da velocidade de rotação durante a osteotomia para instalação de implantes, acreditamos que este estudo traz novas visões sobre o assunto. Até onde sabemos, nenhum estudo anterior comparou diferentes

velocidades de rotação durante a preparação do alvéolo cirúrgico e suas conseqüências nos tecidos ósseos.

Em conclusão, a osteotomia *in vitro*, simulando uma preparação do local do implante produz danos ósseos resultando na formação de microtrincas, danos difusos, espículas ósseas ou fraturas. Não apenas microdanos pequenos foram encontrados, mas fraturas estavam presentes em uma frequência razoável. O osso esponjoso foi mais propenso a danificar a formação do que o osso do córtex, e microtrincas lineares apareceram com mais frequência do que o dano difuso. O microdano ósseo ocorreu independentemente da velocidade de perfuração.

Agradecimentos

A autora Isabella de Almeida Francisquini gostaria de agradecer à Faculdade de Odontologia e ao Centro de Biologia da Reprodução da Universidade de Juiz de Fora pelo fornecimento de instalações e materiais para a realização dos procedimentos experimentais. Agradecimentos especiais à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia e à Profa. Maria Inês da Cruz Campos pelo apoio científico. A autora também gostaria de agradecer à FAPEMIG (Minas Gerais, Brasil) pela bolsa de mestrado. Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código do Financiamento 001.

Referências

- Gehrke SA, Neto HL, Mardegan FEC. Investigation of the effect of movement and irrigation systems on temperature in the conventional drilling of cortical bone. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2013;51(8):953-957. doi:10.1016/j.bjoms.2012.10.023.
- Favero V, Sakuma S, Apaza Alccayhuaman KA, Benedetto GA, Bengazi F, Botticelli D. Healing at sites prepared using different drilling protocols. An experimental study in the tibiae of sheep. *PLoS One*. 2018;13(8):e0202957. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202957.
- Ercoli C, Funkenbusch PD, Lee H-J, Moss ME, Graser GN. The influence of drill wear on cutting efficiency and heat production during osteotomy preparation for dental implants: a study of drill durability. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(3):335-349. doi:10.11607/jomi.2854.
- 4. Cha JY, Pereira MD, Smith AA, et al. Multiscale analyses of the bone-implant interface. *J Dent Res.* 2015;94(3):482-490. doi:10.1177/0022034514566029.
- Warreth A, Polyzois I, Lee CT, Claffey N. Generation of microdamage around endosseous implants. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(12):1300-1306. doi:10.1111/j.1600-0501.2009.01808.x.
- Bartold PM, Kuliwaba JS, Lee V, Shah S, Marino V, Fazzalari NL. Influence of surface roughness and shape on microdamage of the osseous surface adjacent to titanium dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(6):613-618. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.02024.x.
- Mori S, Burr DB. Increased intracortical remodeling following fatigue damage. *Bone*. 1993;14(2):103-109. doi:10.1016/8756-3282(93)90235-3.
- Vashishth D, Tanner KE, Bonfield W. Contribution, development and morphology of microcracking in cortical bone during crack propagation. *J Biomech*. 2000;33(9):1169-1174. doi:10.1016/S0021-9290(00)00010-5.
- Chapurlat RD, Delmas PD. Bone microdamage: a clinical perspective. *Osteoporos Int*. 2009;20(8):1299-1308. doi:10.1007/s00198-009-0899-9.
- Han D, Han N, Chen Y, Zhang P, Jiang B. Healing of cancellous fracture in a novel mouse model. *Am J Transl Res.* 2015;7(11):2279-2290.

- Huiyu H, Chengyong W, Yue Z, et al. Investigating bone chip formation in craniotomy. *Proc Inst Mech Eng Part H J Eng Med.* 2017;231(10):959-974. doi:10.1177/0954411917727245.
- Sumer M, Misir AF, Telcioglu NT, Guler AU, Yenisey M. Comparison of heat generation during implant drilling using stainless steel and ceramic drills. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(5):1350-1354. doi:10.1016/j.joms.2010.11.001.
- Misir AF, Sumer M, Yenisey M, Ergioglu E. Effect of Surgical Drill Guide on Heat Generated From Implant Drilling. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(12):2663-2668. doi:10.1016/j.joms.2009.07.056.
- Portero-Muzy NR, Chavassieux PM, Arlot ME, Chapurlat RD. Staining procedure for the detection of microcracks: application to ewe bone. *Bone*. 2011;49(4):917-919. doi:10.1016/j.bone.2011.07.001.
- Rabelo GD, Portero-Muzy N, Gineyts E, Roux JP, Chapurlat R, Chavassieux P. Spatial Distribution of Microcracks in Osteoarthritic Femoral Neck: Influence of Osteophytes on Microcrack Formation. *Calcified Tissue International*. 2018.
- Chavassieux P, Seeman E, Delmas PD. Insights into material and structural basis of bone fragility from diseases associated with fractures: How determinants of the biomechanical properties of bone are compromised by disease. *Endocr Rev.* 2007;28(2):151-164. doi:10.1210/er.2006-0029.
- O'Brien FJ, Hardiman DA, Hazenberg JG, et al. The behaviour of microcracks in compact bone. In: *European Journal of Morphology*. Vol 42. ; 2005:71-79. doi:10.1080/09243860500096131.
- O'Brien FJ, Taylor D, Lee TC. Microcrack accumulation at different intervals during fatigue testing of compact bone. *J Biomech*. 2003;36(7):973-980. doi:10.1016/S0021-9290(03)00066-6.
- Xu C, Wei Z, Liu N, et al. The effect of implant shape and screw pitch on microdamage in mandibular bone. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015;17(2):365-372. doi:10.1111/cid.12100.
- 20. Raghavendra S, Wood MC, Taylor TD, et al. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20(3):425-

431. doi:10.1016/S0084-3717(08)70105-3.

- 21. Farlay D, Boivin G. Bone mineral quality. Osteoporosis. 2012:953-978. doi:10.5772/29091.
- 22. Chappard D, Baslé MF, Legrand E, Audran M. Trabecular bone microarchitecture: A review. *Morphologie*. 2008;92(299):162-170. doi:10.1016/j.morpho.2008.10.003.
- 23. Slyfield CR, Tkachenko E V., Fischer SE, et al. Mechanical failure begins preferentially near resorption cavities in human vertebral cancellous bone under compression. *Bone*. 2012;50(6):1281-1287. doi:10.1016/j.bone.2012.02.636.
- 24. Guan H, van Staden R, Loo YC, Johnson N, Ivanovski S, Meredith N. Evaluation of multiple implant-bone parameters on stress characteristics in the mandible under traumatic loading conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(3):461-472. https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-77955906609&partnerID=40&md5=322644fb7a7942b4f4aca0f6a90ca33d.
- Diab T, Condon KW, Burr DB, Vashishth D. Age-related change in the damage morphology of human cortical bone and its role in bone fragility. *Bone*. 2006;38(3):427-431. doi:10.1016/j.bone.2005.09.002.
- Herman BC, Cardoso L, Majeska RJ, Jepsen KJ, Schaffler MB. Activation of bone remodeling after fatigue: Differential response to linear microcracks and diffuse damage. *Bone*. 2010;47(4):766-772. doi:10.1016/j.bone.2010.07.006.
- Dooley C, Tisbo P, Lee TC, Taylor D. Rupture of osteocyte processes across microcracks: The effect of crack length and stress. *Biomech Model Mechanobiol*. 2012;11(6):759-766. doi:10.1007/s10237-011-0349-4.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A geração de microdanos durante a instalação de implantes dentários é um assunto pouco estudado e discutido na literatura, porém, de grande importância na osseointegração, uma vez que apresenta direta relação com a remodelação óssea subsequente e sua influência na estabilidade primária e secundária dos implantes. Esta pesquisa foi desenvolvida buscando avaliar a geração de danos ósseos de acordo com a variação de diferentes velocidades de rotação durante a osteotomia, que teoricamente poderiam apresentar resultados variados.

A pesquisa demonstrou que qualquer uma das três velocidades utilizadas, foi capaz de causar algum tipo de dano ao osso, seja microtrinca linear, dano difuso, espículas ósseas ou fraturas ósseas. Além disso, o osso trabecular apresentou-se mais propenso a danos do que o cortical.

Diante das limitações do estudo, com um número limitado de sítios de osteotomia (usando 6 espécimes por grupo) e ausência de um grupo que mostre se os danos encontrados são pré-existentes, ou seja, microdanos fisiológicos produzidos *in vivo*, podemos concluir que os microdanos foram gerados independentemente da velocidade utilizada durante a perfuração e que a força gerada nos dois tipos ósseos resulta em diferentes danos.

ANEXOS

ANEXO A – COMUNICAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Bom dia,

Em resposta a sua pergunta informamos que em conformidade com a lei Nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, todo projeto de pesquisa científica ou atividades de ensino em que serão usados animais vivos do filo Chordata, subfilo Vertebrata devem ser submetidos a analise da CEUA da Instituição de ensino e ou pesquisa.E se tratando de estudo com material biológico (peça anatômica) proveniente de fontes devidamente identificadas e não com animal vivo, a CEUA comunica o registro.

Atenciosamente,

Cleusa Maria

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/PROPESQ

<u>www.ufjf.br/ceua/</u>

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Em 20/08/2017 11:54, Isabella IAF escreveu:

Boa tarde!

Gostaria de uma informação à respeito da necessidade de enviar um trabalho ao comitê de ética animal.

Estamos com um projeto de uma pesquisa de Implantodontia na Faculdade de Odontologia

utilizando fragmentos de costela bovina cedidos pelo matadouro. Por ser material de descarte,

temos a necessidade de dar entrada com o projeto no comitê?

Obrigada!

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA

Notice to Contributors

The Journal of Oral and Maxillofacial Surgery (JOMS) publishes articles reflecting a wide range of ideas, results, and techniques, provided they are original, contribute new information, and meet the journal's standards of scientific thought, rational procedure, and literary presentation.



Ethics in Publishing

The JOMS requires compliance with the **World Medical Association Declaration of Helsinki** on medical research protocols and ethics. The JOMS requires **institutional review board** (IRB) approval of the study protocol of **all** prospective studies; retrospective studies and chart reviews may be granted exemption by an IRB by the author's institution or must be approved in accord with local IRB standards. The JOMS requires that a statement of such approval or exemption be provided in the Methods section of manuscripts.

For example:

1) "This study was approved by the ____ Hospital IRB and all participants signed an informed consent agreement"; or

2) "This study followed the Declaration of Helsinki on medical protocol and ethics and the regional Ethical Review Board of _____ approved the study"; or

"Due to the retrospective nature of this study, it was granted an exemption in writing by the University of ______
 IRB."

For authors in private practice, commercial or independent IRBs exist whose services should be sought; private practice does not exempt one from the responsibility to seek ethical approval of study protocols prospectively.

For studies featuring animal subjects, the JOMS requires confirmation that the research was approved by the appropriate animal care and use committee(s), and this information must be stated in the Methods section of the manuscript. Declaration of Helsinki: External link <u>http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html</u>

Financial Interests. As specified in the AAOMS disclosure statement regarding duality of interest, any commercial associations that might create a conflict of interest in connection with a submitted manuscript must be disclosed. All sources of external funds supporting the work and all corporate affiliations of the authors must be indicated in a footnote, if the manuscript is accepted.

Permissions and Waivers. Formal consents are not required for the use of entirely anonymized images from which the individual cannot be identified - for example, x-rays, ultrasound images, pathology slides or laparoscopic images - provided that these do not contain any identifying marks and are not accompanied by text

that might identify the individual concerned. If consent has not been obtained, it is generally not sufficient to anonymize a photograph simply by using eye bars or blurring the face of the individual concerned. The policy on patient consent can be found here: <u>https://www.elsevier.com/about/company-information/policies/patient-consent</u>

It is the responsibility of the author to ensure that the form of written consent complies with each requirement of all applicable Data Protection and Privacy Laws.

Waivers (Signed Patient Release Forms) must be obtained for full-face photographs. Please click here <u>http://ees.elsevier.com/joms/img/Patient%20release%20form.doc</u> for waiver forms.

Preparation of Manuscripts

Submission of an article is the author's assurance that the article has not been accepted or published and is not under consideration by another publication. Correct preparation of the manuscript by the author will expedite the reviewing and publication procedures. Authors who are not fluent in American English are strongly advised to seek help in the preparation of their manuscripts, in order to enhance the review process, improve the chance of acceptance, and greatly reduce the time until publication, if the article is accepted.

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Authorship

Authors listed on the title page must have made substantive intellectual contributions to the manuscript and all be prepared to accept responsibility for the manuscript. No more than 4 authors may be listed for case reports, brief communications or technical reports; and no more than 6 authors may be listed for full-length or review articles. If a greater number of authors are listed, a detailed description of each author's substantive contribution must be provided in the article's cover letter. Generally, editing a manuscript or permitting access to patients or their records will not be considered substantive intellectual contributions to qualify as a co-author.

Reporting Clinical Trials

Contributors to the JOMS must refer to the Consort statement on clinical research design: www.consortstatement.org and are expected to comply with its recommendations when reporting on a randomized clinical trial. When reporting observational studies, e.g. cohort or case-series, case-control, or cross-sectional studies the editors recommend that authors refer to the STROBE guidelines (External link <u>http://www.strobe-statement.org/</u>).

The Journal of Oral and Maxillofacial Surgery strongly encourages all interventional clinical trials be registered in a public trials registry that is in conformity with the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). It

is valuable to researchers hoping to eventually publish the results of their clinical trial to register their project at its inception since many major publications now require such registration in order for articles based on the investigation to be considered for acceptance. The *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* is considering implementing such a requirement. Registering a trial is easy, is free of charge, and helps improve scientific transparency among researchers, as well as for readers evaluating the results of clinical trials in peer-reviewed publications. Trials can be registered in http://www.clinicaltrials.gov/ or in one of the registries meeting the ICMJE criteria that can be found listed at http://www.who.int/ictrp/network/primary/en/index.html

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see <u>more</u> <u>information</u> on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. <u>Permission</u> of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has <u>preprinted forms</u> for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of <u>user license</u>.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of <u>existing agreements</u> are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

• Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our <u>universal access programs</u>.

• No open access publication fee payable by authors.

• The Author is entitled to post the <u>accepted manuscript</u> in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The <u>published journal article</u> cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

• Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.

• A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following <u>Creative Commons user</u> <u>licenses</u>:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <u>https://www.elsevier.com/openaccesspricing</u>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our <u>green open access page</u> for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. <u>Find out more</u>.

This journal has an embargo period of 12 months.

Informed Consent and Patient Details

Figures must be numbered and cited in the text in order, and all patient-identifying information must be removed or masked. Signed patient releases must accompany manuscripts in which there are photos of identifiable patients. Formal consents are not required for the use of entirely anonymized images from which the individual cannot be identified - for example, x-rays, ultrasound images, pathology slides or laparoscopic images - provided that these do not contain any identifying marks and are not accompanied by text that might identify the individual concerned. If consent has not been obtained, it is generally not sufficient to anonymize a photograph simply by using eye bars or blurring the face of the individual concerned. Release forms can be downloaded from the Web site during the submission process.

The JOMS uses EES, an online, electronic submission system. The Web site, <u>http://ees.elsevier.com/joms</u>, guides authors through the submission process. Authors must specify the article type (full length article, case report, etc.) and select from a set of classifications provided online.

The following statements MUST be included in the Cover Letter:

"In consideration of the Journal of Oral and Maxillofacial Surgery taking action in reviewing and editing my (our) submission, the author(s) undersigned hereby transfer(s), assign(s), or otherwise convey(s) all copyright ownership to the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons in the event that such work is published in the JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY. The undersigned author(s) understands that if the manuscript is accepted, the Editors reserve the right to determine whether it will be published in the print edition or solely in the Internet edition of the Journal. Articles accepted for publication are subject to editorial revision."

Permission of original author and publisher must be obtained for direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that is not your own. (Up to 100 words of prose material usually may be quoted without obtaining permission, provided the material quoted is not the essence of the complete work.)

Authors are responsible for applying for permission for both print and electronic rights for all borrowed materials and are responsible for paying any fees related to the applications of these permissions.

Original articles are considered and accepted for publication on the condition that they have not been published in another journal or are not currently submitted or accepted for publication elsewhere. The Editor reserves the right to edit manuscripts to fit the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency.

Case reports. Routine case reports add little to our knowledge, but may be published if the report: 1) contains new information; for example, new disease process, diagnostic technique or maneuver, treatment, or operative approach; or 2) contains information that needs to be reinforced periodically; or 3) includes a comprehensive review on a topic requiring an updated review; or 4) is of an extremely unusual case.

Submissions to Perspective Section: Perspective articles represent succinct opinion pieces that address various topics of relevance to oral-maxillofacial surgeons. These topics may include, for example, public policy, patient safety, health care or surgical trends, government actions, and commentaries on other subjects. Articles in this section are limited to no more than 1200 words, no more than 1 figure or table, and no more than 5 references. Articles accepted for publication do not necessarily represent the views of the AAOMS or the editorial staff. (Perspective articles do not require an abstract).

Correspondence. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office at joms@aaoms.org. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be via e-mail.

Letters to the Editor may be directed to the Editor-in-Chief:

James R. Hupp, DMD, MD, JD and must be submitted via the EES system to be considered

(http://ees.elsevier.com/joms).

Letters to the Editor must be in reference to a specific article or editorial that has been published by the JOMS on which you would like to comment; letters must be under 500 words (body of the letter, not including the references). One figure may accompany the letter if it is essential to understanding the subject. Please limit the number of references to no more than 5.

Letters must be submitted within 8 weeks of the article's print publication or for online-only articles, within 8 weeks of the date of the print issue in which they appear in the table of contents.

Submit your article

Please submit your article via http://ees.elsevier.com/joms.



Articles, including all tables, must be formatted in a recent version of Microsoft Word; the manuscript and references must be double-spaced. The use of appropriate subheadings throughout the body of the text (Abstract, Introduction, Methods, Results, and Discussion sections) is required. For ideas and suggestions to aid preparation of clinical research papers, consider this reference: Dodson TB. A guide for preparing a patient-oriented research manuscript.Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 104:307, 2007.

The Title Page should include the title of the manuscript, the authors' names, degrees, titles (e.g Professor, Department Head, Resident, Private Practitioner) and affiliations. It should also include the complete mailing address (including street number), and the telephone number, fax number, and e-mail address for the corresponding author. (There may only be one corresponding author). Titles of articles should be descriptive and concise.

Abstracts are required for full-length articles, review articles, and case reports. Structured abstracts should be submitted for full-length and review articles in the following format and must be limited to 300 words (case report abstracts should not be structured):

Purpose: One sentence background (if necessary) and one sentence purpose stated as a declarative sentence or as a research question:

The investigators hypothesized [insert hypothesis statement].

Given the audience, commonly a background sentence is not necessary as it will be evident from the study purpose or research questions.

Methods: This can be as short as 5 or 6 declarative sentences:

The investigators implemented a [insert type of study design]. The sample was composed of [describe eligible sample]. The predictor variable was... The outcome variable was... Other study variables were... Descriptive and

bivariate statistics were computed and the P value was set at .05.

Results: This section can be as short as 2 sentences: The sample was composed of [insert sample size and a few representative descriptive statistics such as age and sex and any key differences between the study groups]. There was a statistically significant association between [insert the predictor and outcome variables and report the key statistics with *P* values and appropriate confidence intervals] after adjusting for [list other variables].

Conclusion: Example:

The results of this study suggest [insert key conclusion(s)]. Future studies will focus on [insert future research plans as indicated].

Abstract Example (Hypothesis driven patient-oriented research)-

Comparative Effectiveness of Maxillomandibular Advancement and Uvulopalatopharyngoplasty for the Treatment of Moderate to Severe Obstructive Sleep Apnea

Scott B. Boyd, DDS, PhD, Arthur S. Walters, MD, Yanna Song, MS, Lily Wang, PhD

Purpose

To directly compare the clinical effectiveness of maxillomandibular advancement (MMA) and uvulopalatopharyngoplasty (UPPP)—performed alone and in combination—for the treatment of moderate to severe obstructive sleep apnea (OSA).

Patients and Methods

The investigators designed and implemented a retrospective cohort study composed of patients with moderate to severe OSA (baseline AHI >15). The predictor variable was operative treatment and included MMA, UPPP, and UPPP followed by MMA (UPPP/MMA). The primary outcome variable was the apnea-hypopnea index (AHI) measured preoperatively and 3 months to 6 months postoperatively. Other variables were grouped into the following categories: demographic, respiratory, and sleep parameters. Descriptive and bivariate statistics were computed.

Results

The sample was composed of 106 patients grouped as follows: MMA (n = 37), UPPP (n = 34), and UPPP/MMA (n = 35) for treatment of OSA. There were no significant differences between the 3 groups for the study variables at baseline, except for AHI. Surgical treatment resulted in a significant decrease in AHI in each group: MMA (baseline AHI, 56.3 ± 22.6 vs AHI after MMA, 11.4 ± 9.8; P < .0001), UPPP/MMA (baseline AHI, 55.7 ± 49.2 vs AHI after UPPP/MMA, 11.6 ± 10.7; P < .0001), and UPPP (baseline AHI, 41.8 ± 28.0 vs AHI after UPPP, 30.1 ± 27.5; P = .0057). After adjusting for differences in baseline AHI, the estimated mean change in AHI was significantly larger for MMA compared with UPPP (MMA AHI, -40.5 vs UPPP AHI, -19.4; P = < .0001). UPPP/MMA was no more effective than MMA (P = .684).

Conclusion

The results of this study suggest that MMA should be the surgical treatment option of choice for most patients with moderate to severe OSA who are unable to adequately adhere to CPAP.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's <u>Illustration Services</u> to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Acknowledgments. Only persons who have made significant contributions to an article may be acknowledged.

Figures/Illustrations. Color art and color photography submissions are strongly encouraged. Figures must be submitted electronically as separate files (not embedded in the manuscript file). Use arrows or other indicators to point out key findings in images or photomicrographs. Images must be high-resolution digital illustrations (EPS or TIFF files): line artwork = minimum of 1,000 dpi; halftone artwork (photographic/continuous tone) = minimum of 300 dpi; combination artwork (line/tone) = minimum of 500 dpi; recommended dimensional size is a minimum of 5 x 7 inches. PowerPoint or other presentation software are not of sufficient quality for publication. Authors may contact Elsevier for more information or should download a copy of the Specifications for Supplying Digital Artwork from External link <u>http://www.elsevier.com/artwork</u>. This provides detailed information on file formats, artwork guidelines, and color.

Legends. All figures require a legend. For photomicrographs, magnification and stain must be specified. Please use arrows or some other indicator to point out the key findings in the figures. A list of figure legends must appear after the References and Tables, in Microsoft Word.

Tables. Each table in the manuscript should stand alone and be interpreted without referencing the text of the manuscript. As such, tables must be logically organized and supplement the article. Where possible, consider summarizing the information as text in the manuscript rather than using a table. Tables should include descriptive titles. Tables must be numbered consecutively and cited in the text in order. Title and footnotes must be on the same page with the table. Use of footnotes is encouraged to explain abbreviations and symbols used in the table. Do not draw vertical rules in tables. Tables must follow the references in the manuscript document and be in Microsoft Word.

References. (type with double spacing). References must be cited in numerical order in the text.

Bibliographies and reading lists may not be submitted. For journal references, give the author's name, article title, journal name as abbreviated in Index Medicus, volume, pagination, and year, for example:

Boyd SB, Walters AS, Song Y, Wang L: Comparative effectiveness of maxillomandibular advancement and uvulopalatopharyngoplasty for the treatment of moderate to severe obstructive sleep apnea. J Oral MaxillofacSurg 71:743, 2013

For books, give the author's name, book title, location and name of publisher, and year of publication (exact page

numbers are required for direct quotations), for example:

Bagheri, SC: Clinical Review of Oral and Maxillofacial Surgery: A Case-based Approach. 2nd Ed. St. Louis, MO, Mosby, 2013, pp 48-57, 60

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support <u>Citation Style Language styles</u>, such as <u>Mendeley</u> and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. <u>More information on how to remove field codes</u>.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <u>http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-oral-and-maxillofacial-surgery</u> When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video and Computer Graphics. Authors are encouraged to submit videos and computer-generated graphics; eg, a slide presentation with or without animation and sound. Authors who wish to supply such material should notify the editors in the Cover Letter and in the Author Comments of the online submission. Although the publisher will not edit any video or computer graphic, editors and reviewers may suggest changes. All patient-identifying information must be removed or masked.

The maximum length of a video or computer graphic is 8 minutes. Longer submissions may be divided into smaller clips, each of which should be identified at the beginning of the section (eg Video Clip 1, graphic 10). A concise legend for each videoclip or computer graphic presentation must be included with the manuscript. Videos are to be submitted in MGEG-1 or MPEG-2 (*mpg) or QuickTime (*mov) format. More detailed instruction can be found at External link http://www.elsevier.com/artwork.

The *JOMS* requires that a completed **AAOMS disclosure statement** signed by ALL authors be submitted with the article.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions <u>here</u> to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the <u>research data</u> page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the <u>database linking page</u>.

For <u>supported data repositories</u> a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the <u>Data Statement page</u>.

Checklist for authors:

_Cover letter (including copyright statements, disclosures).

- _Title page (including authors' information).
- _Manuscript (including abstract, article, references, tables and figures legends---all in Microsoft Word format).

_Statement of IRB in the Methods and Materials section.

- _Figures (individually submitted as separate files).
- _AAOMS Disclosure Statement.
- _Patient release forms for photographs.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized <u>Share Link</u> providing 50 days free access to the final published version of the article on <u>ScienceDirect</u>. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's <u>Webshop</u>. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Correspondence. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office at joms@aaoms.org. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be via e-mail.

ANEXO C – CARTA DE SUBMISSÃO

Track your recent Co-Authored submission to JOMS



Journal of Oral and Maxillofacial Surgery <eesserver@eesmail.elsevier.com> Hoje, 14:12 Você ×

*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Isabella Francisquini,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Journal of Oral and Maxillofacial Surgery Title: Bone damage formation during the osteotomy procedure: the influence of drilling speed and the type of bone Corresponding Author: Karina Devito Co-Authors: Isabella Francisquini; Gustavo Rabelo; Neuza Assis; Bruno Sotto-Maior; Pedro Limirio;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: https://ees.elsevier.com/joms/default.asp? acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Isabella&Iname=Francisquini&email=isabella_iaf@hotmail.com

Or log in: https://ees.elsevier.com/joms/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=isabella_iaf@hotmail.com

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at karina.devito@ufjf.edu.br.

Thank you,

Journal of Oral and Maxillofacial Surgery

REFERÊNCIAS

BARBOSA, B.A. Análise microscópica da necrose óssea provocada pelo aquecimento friccional durante a confecção de alvéolos cirúrgicos para implantes osseointegráveis. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia de Bauru. p.107. 2009

BARTOLD PM, KULIWABA JS, LEE V, SHAH S, MARINO V, FAZZALARI NL. Influence of surface roughness and shape on microdamage of the osseous surface adjacent to titanium dental implants. **Clin. Oral. Implants. Res.** v.22, p.613-618, 2011.

CHA JY, PEREIRA MD, SMITH AA, HOUSCHYAR KS, YIN X, MOURARET S, BRUNSKI JB, HELMS JA. Multiscale analyses of the bone-implant interface. **J. Dent. Res.** v.94, n.3, p.482-490. 2015.

CHAPURLAT RD, DELMAS PD. Bone microdamage: a clinical perspective. **Osteoporos. Int**. v.20, p.1299-1308. 2009.

ERCOLI C, FUNKENBUSCH PD, LEE H-J, MOSS ME, GRASER GN. The influence of drill wear on cutting efficiency and heat production during osteotomy preparation for dental implants: a study of drill durability. **Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.** v.19, n.3, p.335-349. 2004.

FAVERO V, SAKUMA S, APAZAALCCAYHUAMAN KA, BENEDETTO GA, BENGAZI F, BOTTICELLI D. Healing at sites prepared using different drilling protocols. An experimental study in the tibiae of sheep. **PLoS One** 13: e0202957, 2018. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202957

GEHRKE SA, NETO HL, MARDEGAN FEC. Investigation of the effect of movement and irrigation systems on temperature in the conventional drilling of cortical bone. **Br. J. Oral. Maxillofac. Surg**. v.51, p.953-957. 2013. HAN D, HAN N, CHEN Y, ZHANG P, JIANG B. Healing of cancellous fracture in a novel mouse model. **Am. J. Transl. Res.** v.7, n.11, p. 2279-2290. 2015.

HUIYU H, CHENGYONG W, YUE Z, YANBIN Z, LINLIN X, GUONENG X, DANNA Z, BIN C, HAOAN C. Investigating bone chip formation in craniotomy. **Proc. Inst. Mech. Eng. Part. H. J. Eng. Med.**. v.231, p. 1-16. 2017.

MISIR AF, SUMER M, YENISEY M, ERGIOGLU E. Effect of Surgical Drill Guide on Heat Generated From Implant Drilling. **J. Oral. Maxillofac. Surg.** v.67, p.2663-2668. 2009.

MORI S, BURR DB. Increased intracortical remodeling following fatigue damage. **Bone**. v.14, p.103-109. 1993.

PORTERO-MUZY NR, CHAVASSIEUX PM, ARLOT ME, CHAPURLAT RD. Staining procedure for the detection of microcracks: application to ewe bone. **Bone**. v.49, p.917-924, 2011.

RABELO GD, COUTINHO-CAMILLO C, KOWALSKI LP, PORTERO-MUZY N, ROUX JP, CHAVASSIEUX P, ALVES FA. Evaluation of cortical mandibular bone in patients with oral squamous cell carcinoma. Clin. Oral. Investig. v.22, n.2, p.783-790, Mar. 2018a.

RABELO GD, PORTERO-MUZY N, GINEYTS E, ROUX JP, CHAPURLAT R, CHAVASSIEUX P. Spatial Distribution of Microcracks in Osteoarthritic Femoral Neck: Influence of Osteophytes on Microcrack Formation. **Calcif. Tissue. Int.** Jul 18. 2018b. doi: 10.1007/s00223-018-0456-7. [Epub ahead of print].

SUMER M, MISIR AF, TELCIOGLU NT, GULER AU, YENISEY M. Comparison of heat generation during implant drilling using stainless steel and ceramic drills. J. Oral. Maxillofac. Surg. v. 69, p.1350-1354. 2011.

VASHISHTH D, TANNER KE, BONFIELD W. Contribution, development and morphology of microcracking in cortical bone during crack propagation. **J. Biomech.** v.33, p.1169-1174. 2000.

WARRETH A, POLYZOIS I, LEE CT, CLAFFEY N: Generation of microdamage around endosseous implants. **Clin. Oral. Implants. Res**. v.20, p.1300-1310. 2009.

XU C, WEI Z, LIU N, SUN F, CHEN H, LIN T, ZHANG B, TANG T, LU E: The effect of implant shape and screw pitch on microdamage in mandibular bone. **Clin. Implant. Dent. Relat. Res.** v.17, n.2. 2015.