

FERNANDO ESGAIB KAYATT

**ANÁLISE EXPERIMENTAL DE COPOLÍMERO NA
ESTABILIDADE PRIMÁRIA DE IMPLANTES
OSSEOINTEGRÁVEIS. AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA EM
RATOS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do “Campus de Araçatuba – UNESP”, para obtenção do Título de DOUTOR EM ODONTOLOGIA. (Área de concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial).

Orientador: Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior

Araçatuba – Estado de São Paulo

2006

FERNANDO ESGAIB KAYATT

Nascimento	29.03.1962 – São Paulo-SP
Filiação	João Kayatt Labibe Esther Esgaib Kayatt
1979 – 1982	Curso de Graduação Curso de Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
1992	Pós-graduação – Especialização em Implantodontia – Conselho Federal de Odontologia.
1997	Diretor Substituto da Faculdade de Ciências Administrativas de Ponta Porã-FAP.
2001 – 2002	Pós-graduação – Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
2003 - 2006	Pós-graduação – Doutorado em Odontologia – Área de concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Vó Lola (*in memoriam*) aos meus pais e aos meus filhos, Fernando, Daniel e Fábio que me deram todo apoio, carinho e compreensão por essa jornada.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. **IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR** pelos ensinamentos transmitidos, carinho, amizade e confiança que sempre fui distinguido e orientação constante na confecção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **TETUO OKAMOTO** pelo exemplo de integridade e humildade. Todo o meu respeito.

À Profa. Dra. **ROBERTA OKAMOTO** pelo seu conhecimento científico indispensável na confecção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **WILSON ROBERTO POI** pela disponibilidade, sempre com uma palavra amiga e sincera.

Ao Prof. Dr. **PAULO SÉRGIO PERRI DE CARVALHO** pelo conhecimento e auxílio na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **OSVALDO MAGRO FILHO**, Dinho, pela grande amizade, companheirismo e pela capacidade de percepção.

À **THALLITA PEREIRA QUEIROZ** e **LEANDRO CARVALHO CARDOSO** pelo auxílio na confecção deste trabalho.

Aos Amigos **OSCAR LUIZ MOSELE, PAULO GUSTAVO PAHAL** e **HERLEY TOBIAS**, pelo companheirismo e compreensão.

Ao meu filho e colega **DANIEL LIMA KAYATT** pela paciência em me auxiliar em todas as fases deste trabalho.

Ao meu sobrinho, afilhado e colega **MARCELO KAYATT LACOSKI** colaborador incansável. Pelas idéias e horas na frente do computador.

AGRADECIMENTOS

À **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DO CAMPUS DE ARAÇATUBA, UNESP**, na pessoa do seu Diretor **PAULO ROBERTO BOTACIN**, pelas condições oferecidas para realização da pesquisa.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pela concessão de bolsa de estudo para efetivação da formação universitária.

Aos **FUNCIONÁRIOS** do **DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E CLÍNICA INTEGRADA**, da **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DO CAMPUS DE ARAÇATUBA – UNESP**: **ANA CLÁUDIA MACEDO, BERNADETE MARIA NUNES KIMURA, GILMAR MARTINS DE OLIVEIRA, GLAUCO JOSÉ DE CARVALHO, MARIA DIRCE C. BOATTO**, pela forma carinhosa com que nos acolheram.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA BIBLIOTECA**: **CLÁUDIA, CLÁUDIO, HELENA, IZAMAR DA SILVA FREITAS, LUZIA, PATRÍCIA, MARIA CLÁUDIA, MARINA, MARTA E IVONE**, pela atenção e ajuda sempre que solicitadas. Em especial agradeço a **ISABEL PEREIRA DE MATOS**, pela ajuda na correção bibliográfica neste trabalho.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA PÓS-GRADUAÇÃO**, em especial à **MARINA MIDORI S. KAWAGOE, ADÉLIA BARRETO C. da SILVA e VALÉRIA DE QUEIROZ ZAGATTO**, sempre com sorriso e atenção que sempre dispensaram.

Ao Médico Veterinário **BISMARCK BARROS**, pela colaboração no tratamento dos animais envolvidos neste estudo.

Aos **ANIMAIS** que participaram neste estudo, permitindo que esse trabalho pudesse ser realizado.

Aos amigos da pós-graduação: **ANDRÉ DOTTO SOTTOVIA, CAROLINA CHIANTELI CLAUDIO COUTINHO, CRISTIANO GAUJAC, EDUARDO FACO, FÁBIO TANAKA, HELEN RAMON ESPER, JORDAN LIMA DA SILVA, JOSÉ LUÍS LELES, LEANDRO CARVALHO CARDOSO, MARCELO KAYATT LACOSKI, NATASHA MAGRO ÉRNICA, PAULO ALMEIDA JÚNIOR, THAIS MARA MANFRIN, THAIS SILVEIRA RODRIGUES, THALLITA PEREIRA QUEIROZ, VINÍCIUS PALMA CANAVARROS**. No caminhar de nossa evolução, permanecer com vocês, foi uma experiência dignificante.

Aqueles que direta ou indiretamente participaram deste estudo.

EPIGRAFE

“Temos que perder nossas cabeças
para penetrar nossos corpos
ter um tempo para as mentes,
um tempo para despojarmos nossas mentes
e um tempo para recuperá-las.”

David Cooper

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
INTRODUÇÃO.....	11
MATERIAL E MÉTODO.....	14
1. CIRURGIA EXPERIMENTAL.....	14
2. PROCESSAMENTO LABORATORIAL.....	18
3. ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	20
3.1. ANÁLISE DA ÁREA PERIFÉRICA MARCADA PELOS FLUOROCROMOS.....	21
3.2. ANÁLISE DA ÁREA MARCADA PELOS FLUOROCROMOS NOS VALES.....	23
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
RESULTADO.....	25
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	33
ABSTRACT.....	37
ANEXOS.....	38

Resumo

KAYATT, F. E. *Análise experimental de copolímero na estabilidade primária de implantes osseointegráveis. Avaliação microscópica em ratos.* Araçatuba, 2006. 38p Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

A estabilidade primária na instalação de implantes dentários é uma das determinantes principais no processo de osseointegração. Algumas situações clínicas impossibilitam o travamento adequado do implante. A diástase provocada por sobrefresagem ou implantações pós-exodônticas indicam o uso de materiais para ocupar este espaço. O objetivo deste estudo foi analisar o uso de copolímero a base de ácido polilático na estabilidade primária de implantes osseointegráveis, realizando uma avaliação microscópica através de fluorocromos. Para isso, foram utilizados 14 cilindros de Ti cp GII instalados na tíbia de ratos, divididos em: Grupo Implante Travado (GIT) e Grupo Implante e Biomaterial (GIB), nos períodos de 7, 15 e 21 dias. Resultado: Os implantes suportaram 3N.cm de torque reverso e não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, nos períodos finais, entre as médias das áreas ao redor do implante. O copolímero de PLA/PGA proporcionou o posicionamento dos implantes e não obstruiu a deposição óssea. **Palavras-chave: implante dentário, osseointegração, ácido polilático, remodelação óssea, corantes fluorescentes.**

INTRODUÇÃO

O sucesso a longo prazo de implantes dentários depende de uma fixação rígida do implante ao osso hospedeiro pelo processo de osseointegração.¹

Vários fatores interferem na formação tecidual periimplantar e subsequente mineralização, dentre os quais se destaca o envolvimento mecânico local na interface entre o osso e o implante.² Portanto a estabilidade primária do implante tem sido destacada como um pré-requisito para obtenção da osseointegração.^{3, 4}

Experimentalmente tem sido mostrado que pode ocorrer um crescimento ósseo na presença de uma movimentação relativa entre o implante e o osso hospedeiro, enquanto a presença de uma movimentação excessiva pode resultar na formação de uma membrana fibrosa ao redor do implante.⁵

A interface entre o implante e o enxerto ósseo constitui uma situação de reparo complexa, que envolve a revascularização, a incorporação do enxerto e a integração dos implantes.⁶

Embora a estabilidade primária exerça papel fundamental no processo de obtenção da osseointegração, algumas

situações clínicas não possibilitam um travamento adequado do implante, destacando-se corticais e trabéculas ósseas delgadas, espaços medulares amplos, bem como limitada disponibilidade óssea.

A diástase freqüente quando da inserção de implante em alvéolo fresco compromete um aceitável contato entre o osso e o implante, como demonstrado em 1988 por Carlsson et al.⁷, que instalaram implantes em sítios receptores com distância entre o osso hospedeiro e o implante de variados tamanhos (Grupo A: 0mm; Grupo B: 0,35mm; Grupo C: 0,85mm) e observaram a presença de espaços residuais nos Grupos B e C.

Akimoto et al.,⁸ avaliaram o preenchimento ósseo em defeitos variando de 0,5 a 1,4mm entre osso e a superfície do implante, instalados em alvéolos pós-exodônticos e concluíram que o tamanho do defeito é inversamente proporcional ao contato entre o osso e o implante.

Entretanto Botticelli et al.,⁹ compararam a instalação convencional de implantes a fixações estáveis inseridas em sítios receptores com amplo defeito marginal e concluíram que em defeitos de até 1mm ocorre neoformação óssea e alto grau de osseointegração.

Na tentativa de corrigir estes espaços a combinação de implante com enxertos e biomateriais ainda se faz necessária.¹⁰

Os enxertos ósseos autógenos destacam-se como o padrão ouro dentro do processo de regeneração, entretanto, apresentam

algumas desvantagens que limitam o seu uso como a morbidade cirúrgica e o tempo de tratamento prolongado.¹¹

Substitutos ósseos sintéticos têm sido desenvolvidos como alternativa à utilização dos enxertos autógenos, incluindo cerâmicas, compósitos e polímeros.¹²

Os materiais poliméricos têm recebido atenção especial por sua biocompatibilidade, boas propriedades biomecânicas e seu fácil manuseio.¹³ Os polímeros biodegradáveis freqüentemente utilizados na regeneração óssea são os poliésteres derivados do ácido poliláctico (PLA), poliglicólico (PGA) e caprolactone.¹⁴

Numerosos estudos têm mostrado efeitos benéficos destes copolímeros em animais e humanos,^{15,16,17} destacando a biocompatibilidade, biodegradação e suas propriedades osseocondutoras, funcionando como arcabouço para a substituição da matriz extracelular.^{18,14}

Dentro desse contexto, a utilização de biomateriais em implantodontia, principalmente em casos onde o leito receptor do implante apresenta quantidade e qualidade óssea inadequadas, se torna importante. Assim, o objetivo deste estudo é analisar o uso do copolímero a base de ácido poliláctico e ácido poliglicólico na estabilidade primária de implantes osseointegráveis, através de avaliação microscópica com fluorocromos em ratos.

MATERIAL E MÉTODO

Após a aprovação obtida junto à Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA), de acordo com protocolo nº 122/05 (anexo 1), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Araçatuba, foram utilizados 14 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, com idade variando entre 70 a 90 dias, pesando aproximadamente 250 a 300 gramas.

Procedentes do Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, os animais foram transportados ao Biotério do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada e mantidos em gaiolas comuns, que possibilitavam espaço suficiente para sua movimentação, contendo 3 a 4 animais cada, sob temperatura ambiente, iluminação e higiene controlada; alimentados com ração sólida (Ração Ativada Produtor[®], Anderson & Clayton S.A., – Laboratório Abbott do Brasil, São Paulo, Brasil) e água “*ad libitum*” durante todo o experimento.

1. Cirurgia experimental

Os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de oito horas e pré-anestesiados, via intramuscular, com Cloridrato de Ketamina (Ketamina Agener[®], União Química Farmacêutica Nacional S.A., São Paulo, SP, Brasil) e Xilazina (Dopaser[®], Laboratório Calier do Brasil,

Osasco, SP, Brasil), na dosagem de 0,2ml e 0,1ml para 250 gramas de peso corpóreo, respectivamente. Em seguida foi realizada tricotomia na superfície anterior do membro posterior direito, anti-sepsia com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante[®], Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil) e instalação de campos estéreis.

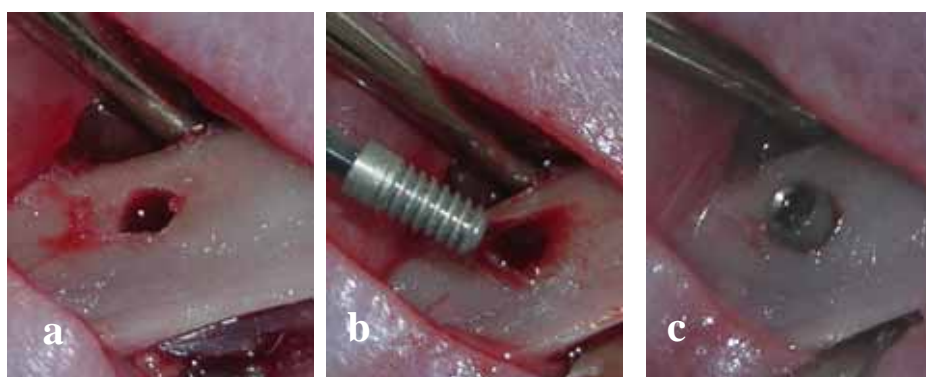
No terço superior da tíbia foi infiltrado 0,1ml de Cloridrato de Lidocaína com Epinefrina 1:100.000 (Alphacaíne Lidocaína 2% Epinefrina 1:100.000 DFL[®], Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para hemostasia local e realizadas duas incisões com lâmina nº 15 (Feather[®], Feather Safety, Japan) montada em cabo de bisturi nº 3, a primeira envolvendo o tecido cutâneo com 10mm de extensão e a segunda no tecido muscular para acesso à face medial da tíbia. Em seguida, foi realizado o descolamento dermo-mio-periosteal do retalho e exposição do tecido ósseo para realização da osteotomia.

Neste momento dois grupos foram constituídos:

Grupo Implante Travado (GIT):

Foram instalados implantes de titânio comercialmente puro grau II (Ti cp GII) em forma de parafuso e superfície modificada por ataque ácido, com 1,6mm de diâmetro e 3,0mm de comprimento, na porção medial da tíbia direita. A osteotomia foi executada com uma fresa espiral de 1,4mm de diâmetro montada em motor elétrico (BLM 600[®]; Driller, São Paulo, SP, Brasil) a uma velocidade de 1500 rpm, sob

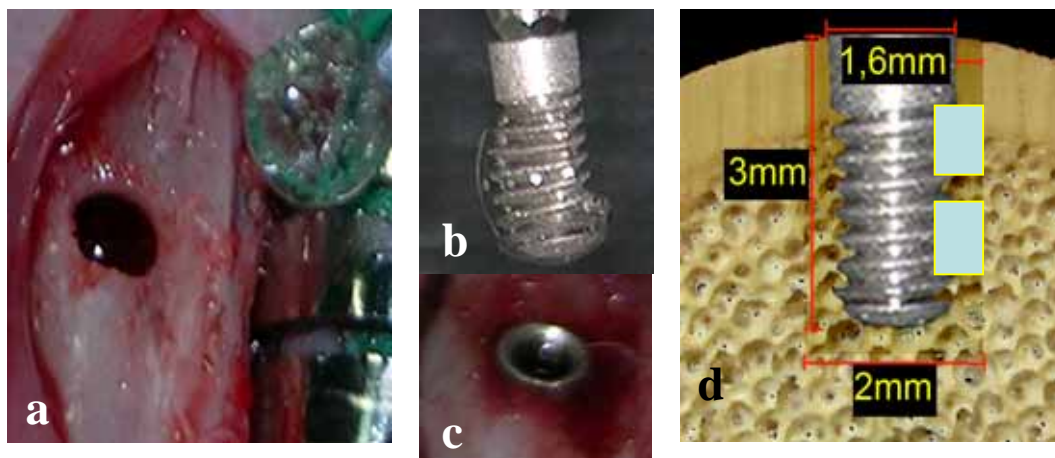
irrigação com solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9% (Fisiológico[®], Laboratórios Biosintética Ltda[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil), e contra-ângulo com redução 1:16 (Peça angular 3624N 1:4, Cabeça 67RIC 1:4, KaVo[®], Kaltenbach & Voigt GmbH & Co., Biberach, Germany) e profundidade de 3,0mm, com travamento e estabilidade inicial (Figuras 1a, 1b e 1c).



Figuras 1a, 1b e 1c – (a)Osteotomia realizada e (b)implante sendo levado ao leito receptor, (c)implante inserido com estabilidade.

Grupo Implante e Biomaterial (GIB):

Neste experimento foram inseridos implantes, conforme o grupo anterior (GIT), mas a osteotomia realizada com fresa espiral de 2,0mm de diâmetro, ou seja, os implantes foram depositados na cavidade experimental, porém envolvidos em PGA/PLA e os leitos preenchidos com o mesmo copolímero, na proporção de 1:1 (VETEC Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil), aquecido entre 100 e 150°C, 24 horas antes do ato cirúrgico (Figuras 2a, 2b, 2c e 2d).



Figuras 2a, 2b, 2c e 2d – (a)Osteotomia realizada com sobrefresagem (b)implante associado ao PLA/PGA (c)implante instalado sem estabilidade (d)desenho esquemático ilustrando o experimento.

Na seqüência o retalho foi reposicionado e suturado por planos com pontos interrompidos, com fio de Poliglactina 910 4-0 (Vycril[®], Etchicon[®], Johnson & Johnson[®], São José dos Campos, SP, Brasil) e fio de nylon 5-0 (Mononylon[®], Ethilon[®], Etchicon[®], Johnson & Johnson[®], São José dos Campos, SP, Brasil).

Após a colocação dos implantes, todos os animais receberam dose única de 20.000 U.I. de penicilina G benzatina (Fontoura Wyeth S.A. Indústrias Farmacêuticas, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) por via intramuscular.

Seis dias após foram iniciadas as injeções dos fluorocromos (20mg/Kg de peso corporal), por via intramuscular, para posterior análise em microscopia de fluorescência do tecido ósseo. Aos 7 dias, foi injetado a calceína (Calcein[®], Sigma Chemical St. Louis, MO, USA), aos 15 dias a alizarina (Alizarin Red S[®], Sigma Chemical St. Louis, MO, USA) e aos 21

dias a oxitetraciclina (Oxytetracycline Hydrochloride, minimum 95% HPCL[®], Sigma Chemical St. Louis, MO, USA).

Esses animais foram sacrificados por injeção excessiva de anestésico, após 35 dias. Neste momento os implantes foram submetidos a análise mecânica de torque reverso, até uma possível ocorrência de rompimento da interface osso/implante, utilizando torquímetro analógico [ATG3CN(S), Tohnichi, Tokyo, Japan] com escala graduada de 0 a 3N.cm acoplado a uma chave adaptadora intermediária com ponta hexagonal de 1,2mm (Figura 3).



Figura 3 – Torquímetro utilizado para realização do teste de torque reverso.

2. Processamento laboratorial

As peças obtidas foram fixadas em solução de Formalina Tamponada a 10% (Reagentes Analíticos[®], Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltda, Catanduva, SP, Brasil) durante 48 horas e banhadas em água corrente durante 24 horas. Após a fixação, as peças passaram pela etapa

de desidratação a partir da seqüência crescente de álcoois 70, 90, 95 e 100 gradativamente, com troca de solução a cada 3 dias, em agitador orbital (Line CT – 150[®], Cientec – Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil) todos os dias durante 4 horas.

Ao término da desidratação, as peças foram imersas em acetona (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil) por 24 horas, a seguir em solução de acetona e polimetil metacrilato lento (PMMAL) (Classico[®], Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil) proporção 1:1. Na seqüência, recebeu 3 banhos de PMMAL, sendo que no último banho, foi acrescentado o catalisador peróxido de benzoíla a 1% (Riedel[®] – De Haën AG, Seelze – Hannover, Germany).

O último banho (PMMAL e catalisador) foi realizado com as peças colocadas em tubos de ensaio com tampa e mantidas à temperatura ambiente por 1 semana aproximadamente, para que a resina polimerizasse.

Após a polimerização, os blocos com as peças foram inicialmente desgastados em esmeril. Em seguida, através do desgaste manual progressivo com lixas d'água 3M[®] granulação 220, 400 e 600 (3M do Brasil, Sumaré, SP, Brasil), ao abrigo da luz fluorescente, gradativamente até a espessura de 100µm no sentido longitudinal dos implantes.

Os cortes obtidos foram colocados em lâminas de vidro e as lamínulas montadas utilizando Óleo Mineral (Óleo Mineral 100% Puro[®],

Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda, São José do Rio Preto, SP, Brasil) como meio de montagem. Após a fixação das lamínulas, as bordas foram isoladas com esmalte para evitar o esvaziamento do óleo, como consequência, impedindo o ressecamento do corte.

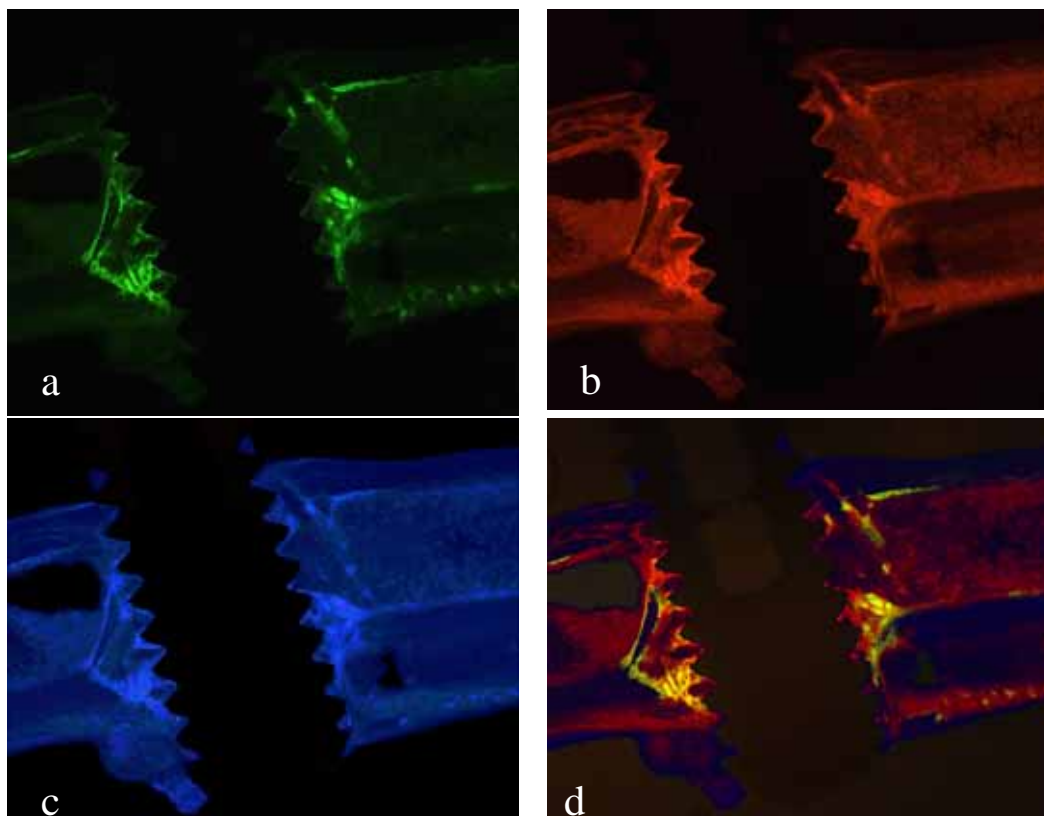
3. Análise microscópica

A análise das lâminas foi realizada através de microscopia de epifluorescência (Leica® DMLB, Heerbrugg, Switzerland), acoplado a uma fonte de luz externa para excitação dos fluorocromos (Leica® EL 6000, Heerbrugg, Switzerland), utilizando filtros com fotomultiplicador específicos para calceína, alizarina e oxitetraciclina correspondentes ao comprimento de onda excitado por cada fluorocromo.

Tabela 1 – Parâmetros para obtenção das imagens.

Fluorocromos	Calceína	Alizarina Red	Oxitetraciclina
Filter Cube	I.3	N2.1	D
Excitação	Azul	Verde	Ultravioleta
Filtro de excitação – <i>band pass filter</i>	BP 450-490	BP 515-560	BP 355-425
Espelho dicromático	510	580	455
Filtro de supressão – <i>long pass filter</i>	LP 515	LP 590	LP 470

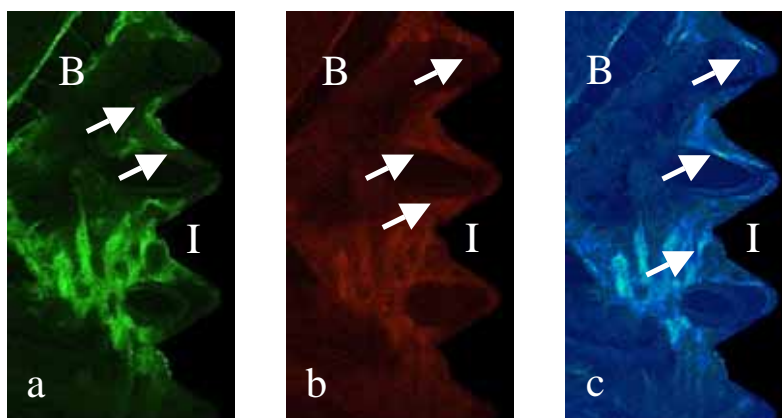
Para a aquisição das imagens utilizou-se uma câmera digital (Leica® DC 300F microsystems ltd, Heerbrugg, Switzerland) acoplada a um microscópio de fluorescência e conectada ao computador pelo programa Leica® DC 300F onboard. Para a padronização das imagens, capturou-se toda a extensão do implante em um aumento de 25x (Figuras 4a, 4b, 4c e 4d).



Figuras 4a, 4b, 4c e 4d – Imagem digitalizada evidenciando as marcações pelos fluorocromos: (a)7 dias (b)15 dias (c)21 dias e (d)sobreposição dessas imagens, demonstrando a dinâmica do reparo ósseo. Aumento de 25X.

3.1. Análise da área periférica marcada pelos fluorocromos

As imagens adquiridas foram analisadas, individualmente, por área padrão de $660\mu\text{m}^2$, devido ao comprimento do implante e da sobrefresagem, correspondente a 1,1mm de altura com largura 0,6mm, posicionadas ao longo do implante. Para uma melhor visualização da dinâmica do reparo ósseo, as imagens coradas pela oxitetraciclina foram digitalmente apresentadas em azul (Figuras 5a, 5b, e 5c).



Figuras 5a, 5b e 5c - Imagens dos quadrantes estudados marcados pelos fluorocromos (a)7 dias (b)15 dias (c)21dias. Observar nas setas áreas de deposição de cálcio. B (osso) I (implante). Aumento de 100X.

Com o auxílio do programa ImageLab 2000, versão 2.4, calibrado em escala métrica (micrometros - μm) a imagem foi capturada e mensurada através das funções “selecionar região” e “cálculo de regiões”, confirmando a área que passamos a chamar de Área Total (AT). Em seguida mensuramos a área correspondente ao implante a qual denominamos de Área Descartada (AD), uma vez subtraída da AT obtivemos o valor nominal da área a ser estudada (AE). Realizamos a demarcação, com a função “cálculo de regiões” da área marcada pelo fluorocromo correspondente em todas as imagens obtendo assim a Área Marcada (AM) bem como a demarcação do perímetro, através da função “planilha”, “nova” (Figura 6).

Os dados foram tabulados e apresentados em forma de gráficos e tabelas.

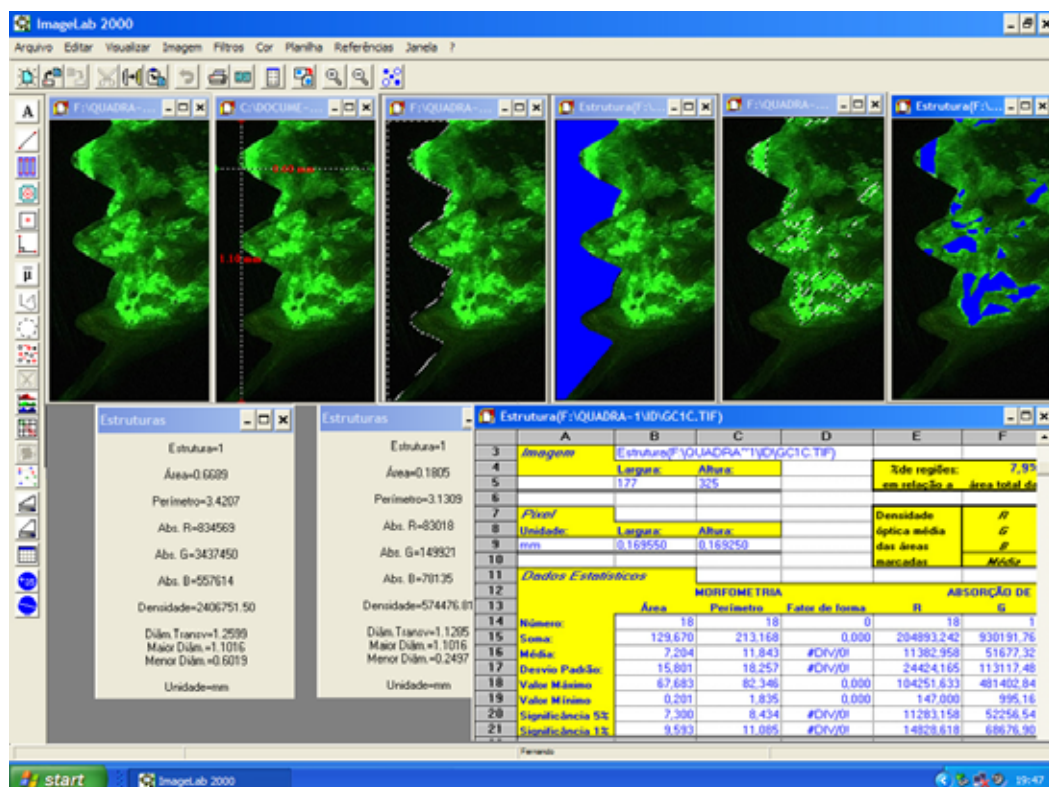


Figura 6 – Ilustração “passo a passo” da quantificação da área marcada pelo fluorocromo nos quadrantes.

3.2. Análise da área marcada pelos fluorocromos nos vales

Para análise das imagens obtidas foi utilizado o mesmo programa, executando-se a ferramenta “Selecionar região”, com a qual foi delimitada apenas a área compreendida pelos vales dos implantes.

Em seguida, a ferramenta “Cálculo de região” foi empregada para obtenção destas medidas, exibidas, logo após, na função “Planilha”.

Visando-se destacar a área estudada a ferramenta “Recortar Região” foi utilizada, a partir de então, iniciou-se o processo de demarcação das áreas coradas pelos fluorocromos e outra vez realizado o “Cálculo de Região”. A soma das áreas coradas, novamente, foi demonstrada com a ferramenta “Planilha” (Figura 7).

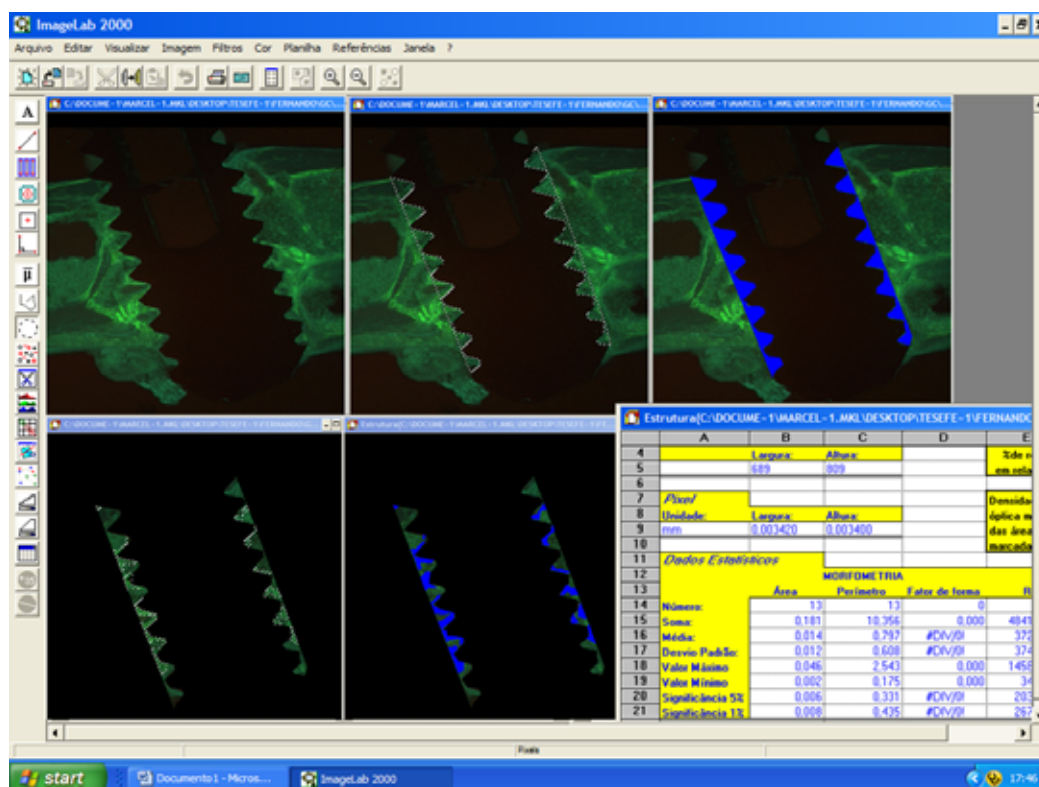


Figura 7 – Ilustração “passo a passo” da quantificação da área delimitada marcada pelo fluorocromo nos vales.

4. Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo programa GMC 2002.

Foram realizadas comparações entre as áreas absolutas e médias marcadas pelos fluorocromos de ambos os grupos, utilizando o teste não pareado “*t*” de Student.

RESULTADO

A análise com os fluorocromos permitiu avaliar a deposição de cálcio ocorrida para cada período de injeção. Foram utilizados os fluorocromos: calceína, injetada aos 7 dias após a instalação dos implantes (visualização do cálcio depositado em verde), alizarina, injetada aos 15 dias pós-operatórios (visualização do cálcio depositado em vermelho) e oxitetraciclina, injetada aos 21 dias pós-operatórios (visualização do cálcio depositado em azul). A sobreposição das imagens capturadas no mesmo campo permite uma análise da dinâmica do tecido ósseo, mostrando individualmente o cálcio depositado em cada período da análise. Além disso, a quantificação da área marcada pelo fluorocromo permite a realização de uma análise quantitativa do processo de mineralização do tecido ósseo nos 3 períodos de análise estabelecidos neste projeto.

Os valores obtidos no GIT, das áreas periféricas marcadas pelos fluorocromos, estão contidos na Tabela 2.

Tabela 2 – Áreas periféricas (μm^2) marcadas pelos fluorocromos, no GIT.

GIT	Área Estudada	7 dias	15 dias	21 dias
		Área Marcada	Área Marcada	Área Marcada
Média	470,3	46,4	57,8	47,7
%	100%	9,9%	12,30%	10,14%

Os valores obtidos no GIB, das áreas periféricas marcadas pelos fluorocromos, estão contidos na Tabela 3.

Tabela 3 – Áreas periféricas (μm^2) marcadas pelos fluorocromos no GIB.

GIB	Área Estudada	7 dias	14 dias	21 dias
		Área Marcada	Área Marcada	Área Marcada
Média	512,1	28,6	29,04	27,68
%	100%	5,58%	5,67%	5,40%

Estes valores foram submetidos ao teste “t” de Student não pareado, sendo considerados significante, ao nível de 1% alfa = 0,01, nas áreas marcadas aos 7 dias e 15 dias com probabilidade de igualdade de 0,84% e 0,12% respectivamente. Nas áreas marcadas aos 21 dias, foram consideradas estatisticamente significantes, ao nível de 5% alfa = 0,05, com probabilidade de igualdade de 1,02%.

Os valores obtidos no GIT, das áreas marcadas pelos fluorocromos, na região dos vales estão contidos na Tabela 4.

Tabela 4 – Áreas (μm^2) delimitadas nos vales e marcadas pelos fluorocromos, no GIT.

GIT	Área Total	7 dias	15 dias	21 dias
		Área Marcada	Área Marcada	Área Marcada
Média	0,54	0,11	0,18	0,12
%	100%	20,3%	33,3%	22,2%

Os valores obtidos no GIB, das áreas marcadas pelos fluorocromos, na região dos vales estão contidos na Tabela 5.

Tabela 5 – Áreas (μm^2) delimitadas nos vales e marcadas pelos fluorocromos, no GIB.

GIB	Área Total	7 dias	15 dias	21 dias
		Área Marcada	Área Marcada	Área Marcada
Média	0,345	0,059	0,086	0,067
%	100%	17,1%	24,93%	19,42%

Estes valores foram submetidos ao teste “t” de Student, sendo considerados significante, ao nível de 5% alfa = 0,05, nas áreas marcadas aos 7 dias com probabilidade de igualdade de 4,48%. Nas áreas marcadas aos 15 e 21 dias, foram consideradas estatisticamente não significantes, amostras iguais alfa >0,05%, com probabilidade de igualdade de 24,16 % e 31,04%, respectivamente.

Todos os implantes, quando submetidos ao teste de torque de rotação reversa, resistiram a 3N.cm, sem a ocorrência de rompimento da interface osso/implante.

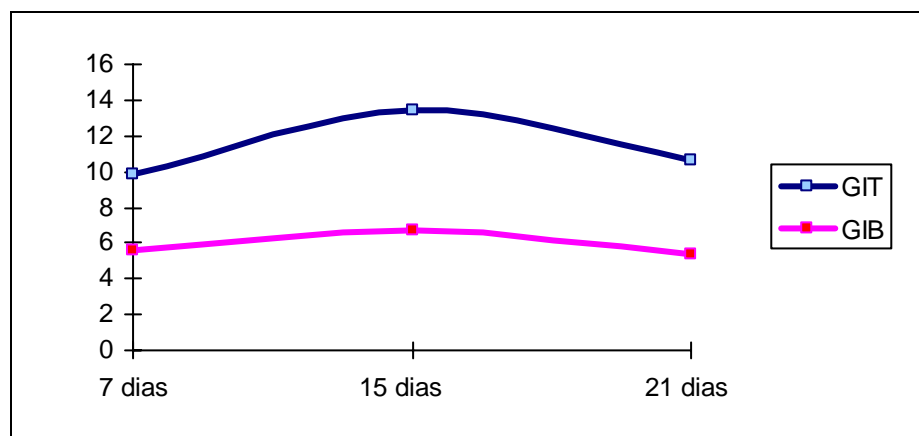


Gráfico 1 – Médias das áreas periféricas (μm^2) marcadas pelos fluorocromos.

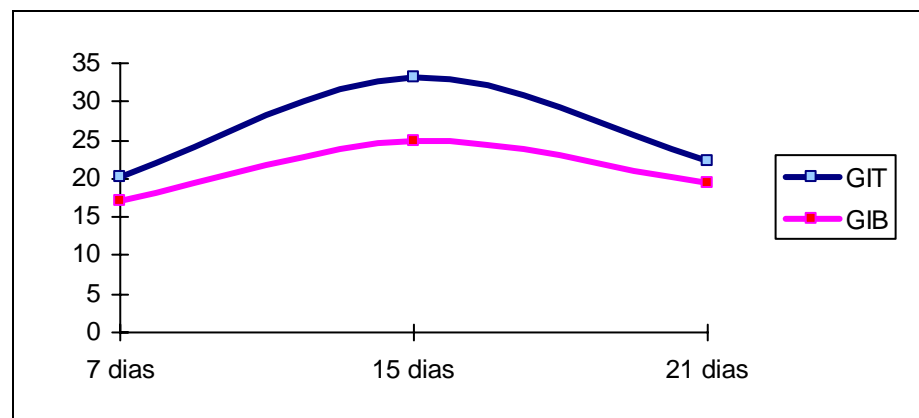


Gráfico 2 – Médias das áreas (μm^2) marcadas pelos fluorocromos, na região dos vales.

DISCUSSÃO

Neste estudo buscou-se observar características do processo de osseointegração em duas formas de instalação de implantes: com travamento primário, consagrado pela literatura com altos índices de sucesso, comparando-o com implantes sem estabilidade inicial, hipótese estudada por Ivanoff,¹⁹ porém, preenchendo-se o sítio receptor com o copolímero de PLA/PGA.

Com esta pesquisa, procuramos encontrar uma alternativa a ocasiões críticas como tecido ósseo de baixa qualidade ou a diástase entre osso e o implante provocada por sobrefresagem ou em implantações pós-exodônticas, para melhoria do travamento primário e estabilidade dos implantes.

Muitos autores discutem a distância permitida entre o implante e a parede alveolar, associado ou não a biomateriais. Harris et al.,²⁰ afirmam que a distância entre a parede óssea e o implante maior que 0,5mm comprometia o estabelecimento de um aceitável contato osso-implante. Schenk & Willeneger²¹ relatam esse comprometimento em defeitos acima de 1mm.

Entretanto Botticelli et al.⁹, Paolantonio et al.²², encontraram diferentes resultados em defeitos criados com 1mm e 2mm,

respectivamente, concluindo que estes defeitos marginais são preenchidos por osso e com alto grau de osseointegração, independentemente da utilização de barreiras mecânicas.

Avaliando o copolímero de PLA/PGA, nenhuma região experimental apresentou indícios de reação inflamatória. É reabsorvível pela sua hidrossolubilidade e escassamente relatado na literatura como substituto ósseo; É citado, comumente, como sendo altamente biocompatível quando aplicado como barreira sintética ou como carreador de moléculas bioativas.¹⁴

O uso do copolímero em nosso estudo auxiliou na estabilização e no posicionamento do implante, fato que clinicamente contribui com o resultado protético. Houve atraso na deposição de cálcio na periferia do implante no grupo GIB, tendo em vista que a substituição do copolímero ocorreu lentamente, justificando a menor velocidade de formação de tecido ósseo, quando comparada ao grupo controle (GIT). Clinicamente nestas situações esperamos um pouco mais para iniciar a fase protética, o que pode colaborar para uma deposição óssea que não interfira nos resultados clínicos finais. Entretanto, em nossos resultados o copolímero permitiu o crescimento ósseo nos defeitos criados ao redor dos implantes.

O copolímero utilizado neste experimento, mostrou clinicamente uma homeostasia local, situação que pode contribuir com o processo de deposição óssea como relata Davies et al.,²³ No entanto,

essa característica do biomaterial não proporcionou um aumento no processo de ossificação, o que pode ser explicado pela presença temporária do mesmo no sítio receptor. Estudos como os de Davies et al.,²³ enfatizam o papel fundamental do coágulo no processo de reparação óssea, justificando os resultados que obtidos.

Clinicamente, todos os implantes instalados resistiram ao teste de torque reverso, contrariando os resultados encontrados na literatura,^{3, 24, 4} que definem a estabilidade primária como pré-requisito para a osseointegração.

Os resultados encontrados na análise com fluorocromos corroboram os estudos histológicos de Okamoto & Russo²⁵ pela maior deposição de cálcio, o que sugere a maior formação óssea, no período de 15 dias. Entretanto, a metodologia consiste na ausência da delimitação das células do tecido ósseo, uma vez que esta permite a avaliação apenas da deposição de cálcio, não sendo possível a realização de uma análise das células do tecido ósseo formado ao redor do implante.

Na análise da deposição de cálcio, o GIT apresentou maior média de área marcada pelos fluorocromos em todas as regiões e períodos estudados, justificado pelo maior contato entre o osso e o implante inicial, porém, aos 15 e 21 dias, na região dos vales dos implantes, não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sinalizando neoformação de tecido ósseo no GIB.

Nenhuma evidência de deficiência no processo de mineralização foi encontrada, conforme as marcações de deposição de cálcio realçada pelos fluorocromos. Apesar da expectativa de uma menor superfície de osseointegração no GIB, ambos os grupos apresentaram, em todas as análises, resultados compatíveis com neoformação óssea ao redor dos implantes.

Embora os resultados desta pesquisa tenham sido encorajadores, novos estudos são necessários para a comprovação dos benefícios promovidos pelo copolímero.

CONCLUSÃO

Baseado neste estudo e na revista de literatura, pode-se concluir que:

- Houve neoformação óssea em todos os grupos estudados;
- O uso de copolímero a base de ácido poliláctico e poliglicólico manteve o posicionamento primário dos implantes.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1 Olsen S, Ferguson SJ, Sigrist C, Fritz W-R, Nolte LP, Hallermann W, Caversaccio M. A novel computational method for real-time preoperative assessment of primary dental implant stability. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:53-59.
- 2 Szmukler-Moncler S, Salama S, Reingewirtz Y, Dubruille JH. Timing of loading and effect of micro-motion on bone-implant interface. *J Biomed Mater Res* 1998;43:192-203.
- 3 Brånemark P-I, Adell R, Albrektsson T. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from 10-year period. *Scand J Plast Reconst Surg Suppl. Stockholm* 1977;16:1-132.
- 4 Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. *Acta Orthop Scand* 1981; 52:155-70.
- 5 Soballe K, Hansen ES, Brockstedt-Rasmussen H, Jorgensen PH,

- Bunger C. Tissue ingrowth into titanium and hydroxyapatite-coated implants during stable and unstable mechanical conditions. *J Orthop Res* 1992;10:285-99.
- 6 Sjöström M, Lundgren H, Sennerby L. Monitoring of implant stability in grafted bone using resonance frequency analysis. A clinical study from implant placement to 6 months of loading. *Int J Maxillofac Surg* 2005;34:45-51.
 - 7 Carlsson L, Röstlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal Torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;3:21-4.
 - 8 Akimoto K, Becker WR, Baker DA, Rohrer MD, O'Neal RB. Evaluation of titanium implants placed into simulated extraction sockets: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:351-60.
 - 9 Botticelli D, Berglundh T, Buser D, Lindhe J. The jumping distance revisited. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:35-42.
 - 10 Huys LW. Replacement therapy and the immediate post-extraction dental implant. *Implant Dent* 2001;2:93-102.
 - 11 Trejo PM, Weltman R, Cafesse R. Treatment of intraosseous defects with bioabsorbable barriers alone or in combination with decalcified freeze-dried bone allograft: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2000;71:1852-61.
 - 12 Carmagnola D, Adriaens P, Berglund T. Healing of human extraction

- sockets filled with Bio-Oss®. Clin Oral Impl Res 2003;14:137-43.
- 13 Griffith LG. Polymeric biomaterials. Acta Mater 2000;48:263-77.
 - 14 Rimondini L, Nicoli-Aldini N, Fini M, Guzzardella G, Tschon M, Giardino R. In vivo experimental study on bone regeneration in critical bone defects using a injectable biodegradable PLA/PGA copolymer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. Endod 2005;99:148-54.
 - 15 Holy CE, Dang SM, Davies JE, Shoichet MS. In vitro degradations of a novel poly (lactide-co-glicolide) 75/25 foam. Biomaterials 1999;20:1177-85.
 - 16 Holy CE, Fialkov JA, Davies JE, Shoichet MS. Use of a biomimetic strategy to engineer bone. J Biomed Mater Res 2003;65:447-53.
 - 17 Nair Pn PR, Schug J. Observations on healing of human tooth extraction sockets implanted with bioabsorbable polylactic-polyglycolic acids (PLGA) copolymer root replicas: a clinical, radiographic, and histologic follow-up report of 8 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004;97:559-69.
 - 18 Saito N, Okada T, Horiuchi H, Ota H, Takahashi J, Murakami N, Nawata M, Kojima S, Nozaki K, Takaoka K. Local bone formation by injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 contained in polymer carriers. Bone 2003;32:381-6.
 - 19 Ivanoff CJ, Sennerby L, Lekholm U. Influence of initial implant mobility on the integration of titanium implants. Clin Oral Impl Res

1996;2:120-7.

- 20** Harris WJ, White, RE, Mccarthy JC, Walker PS Weinbrg EH. Bony ingrowth fixation of the acetabular component in canine hip joint arthroplasty. Clin Orthop Rel Res 1983; 176:7-11.
- 21** Schenk R. & Willeneger, H. Zur histologic der primären knochenheilung. Modifikationen und grenzen der spalthheilung in abhängigkeit von der defktgrösse. Unfallheilkund 1977; 80:155.
- 22** Paolantonio M, Dolci M, Scarano A. Immediate implantation in fresh extraction sockets: a controlled clinical and histological study in man. J Periodontol 2001; 11:1560-71.
- 23** Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. J Dent Educ 2003; 8:932-49.
- 24** Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark P-I. A 15-years study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Int J Oral Surg 1981; 10:387-416.
- 25** Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. Rev Fac Odont Araçatuba 1973; 2: 153-69.

Abstract

KAYATT FE. Experimental analysis of copolymer in the primary stability of osseointegrated dental implants. Microscopic evaluation in rats. Araçatuba, 2006. 38p. Thesis (Doctor's Degree in Oral Maxillofacial Surgery and Traumatology) – Dental School, Paulista State University.

The primary stability in the installation of dental implants is one of the main prerequisite in the osseointegration process. Some clinical situations disable the adequate stability of the implantation. A gap occurred between the bone and the implant provoked by overdrilling or tooth extractions sockets implantations indicates the use of biomaterials to occupy this space. The aim of this study was to analyze the use of PLA/PGA copolymer in the primary stability of osseointegrated implants, through removal torque test and a microscopic evaluation with fluorescent bone markers. For this, 14 cylinders of Ti cp GII had been installed in the tibia of rats, divided in: Group Implant with Stability (GIT) and Group Implant and Biomaterial (GIB), in the periods of 7, 15 and 21 days. Result: The implantations had supported 3N.cm of removal torque and had not been found differences statistically significant, in the final periods, between the averages of the areas of the periphery of the implants. The PLA/PGA copolymer kept the implants position and did not hinder the bone deposition.

Key words: dental implant, osseointegration, polilactic acid, bone remodeling, fluorescent dyes.

ANEXOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba

**COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)****CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DE IMPLANTES SEM ANCORAGEM PRIMÁRIA APÓS A UTILIZAÇÃO DE POLÍMERO ABSORVÍVEL. ANÁLISE ATRAVÉS DE MARCADORES ÓSSEOS EM RATOS" sob responsabilidade de IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR e FERNANDO ESGAIB KAYATT e MARCELO KAYATT LACOSKI está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião ordinária de 13 de setembro de 2005, de acordo com o protocolo nº 122/05.

Araçatuba, 13 de setembro de 2005.


Prof.^a Ass. Dr.^a Maria Gisela Laranjeira
Presidente