

**FLÁVIA PRISCILA PEREIRA**

*Reconstrução imediata de  
diferentes defeitos peri-implantares  
em implantes pós-exodônticos.  
Análise histomorfométrica em cães.*

**Araçatuba – SP**

**2013**

**FLÁVIA PRISCILA PEREIRA**

**Reconstrução imediata de diferentes defeitos peri-  
implantares em implantes pós-exodônticos. Análise  
histomorfométrica em cães.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do  
Campus de Araçatuba – UNESP, para obtenção do  
Título de “Doutor em Odontologia” - Área de  
Concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof.Dr. Eduardo Hochuli Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Daniele Botticelli

**Araçatuba – SP**

**2013**

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Pereira, Flávia Priscila.

P436r      Reconstrução imediata de diferentes defeitos peri-implantares em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães/ Flávia Priscila Pereira. - Araçatuba : [s.n.], 2013  
163 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Orientador: Prof. Eduardo Hochuli Vieira  
Coorientador: Prof. Daniele Botticelli

1. Implantes dentários 2. Regeneração óssea 3. Materiais biocompatíveis 4. Substitutos ósseos 5. Regeneração óssea  
I. T.

Black D7  
CDD 617.64

## *Dados curriculares*

Flávia Priscila Pereira

- Nascimento** 03/03/1981, Piacatu SP
- Filiação** José Valter Pereira  
Sonia Aparecida Gonçalves Pereira
- 1999/2002:** Curso de Graduação em Odontologia  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade  
Estadual Paulista – Araçatuba – Brasil
- 2006/2007:** Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de  
Concentração Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial,  
nível Mestrado, Faculdade de Odontologia de Araçatuba –  
Universidade Estadual Paulista – Araçatuba – Brasil
- 2010/2013:** Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de  
Concentração Implantodontia, nível Doutorado, Faculdade  
de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual  
Paulista – Araçatuba – Brasil

## ***DEDICATÓRIA***

### ***A DEUS,***

pelo conforto espiritual e por sempre iluminar o meu caminho, guiando cada passo da vida. Obrigada por me proteger e acolher nas horas difíceis e igualmente me proporcionar inúmeras felicidades.

### ***Ao meu pai JOSÉ VALTER,***

que mesmo distante fisicamente nunca deixou de se fazer sentir. Com certeza você foi o responsável por me proporcionar momento de paz e iluminação nos momentos mais obscuros e difíceis da minha vida. Foi por você que eu não me deixei abalar diante dos obstáculos para conquistar meus objetivos. Espero ter retribuído um pouquinho toda a confiança e apoio dedicado a mim em vida.

### ***A minha mãe SONIA,***

que juntamente com meu pai foram os grandes responsáveis pela minha formação moral e pessoal. Sem dúvida, vocês foram os responsáveis pela minha primeira formação e se hoje eu consegui chegar até aqui, devo isso a vocês que nunca deixaram de me incentivar.

### ***Aos meus irmãos MILTON e PAULA,***

de que tanto tenho orgulho e que se alegravam com minhas conquistas, dando-me ânimo para nunca desistir dos meus objetivos.

**Ao meu sobrinho *ARTHUR*,**

que com sua alegria e inocência é capaz de fazer surgir sorrisos nos momentos mais difíceis e inesperados.

**Ao *EDUARDO FRANCISCO DE SOUZA FACO*,**

por ter se tornado meu porto-seguro não só na vida profissional, mas também pessoal. Durante este tempo você me ensinou muitas coisas com suas atitudes, dentre elas que o conhecimento e a humildade são características que devem estar sempre juntas para que realmente contribuam para um mundo melhor . Seu apoio e ajuda foram fundamentais para a finalização deste trabalho.

## *AGRADECIMENTOS ESPECIAIS*

Ao meu orientador **PROF. DR. EDUARDO HOCHULI VIEIRA**, pela recepção, confiança, respeito e apoio a mim depositado. Agradeço por todo o carinho e por ter sido a luz e calma diante das tempestades que surgiram no decorrer do desenvolvimento deste trabalho. A sua orientação é a prova de que a distância física não cria barreiras, pelo contrário, nos faz amadurecer e sermos cada vez mais responsáveis e independentes.

Ao meu co-orientador **PROF. DR. DANIELE BOTTICELLI**, grande amigo e mestre, que com sua atenção e carinho me ofereceu todo o seu precioso saber e que, de coração aberto, acolheu-me e tornou-se indispensável em minha vida acadêmica. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim durante todos esses anos, transmitindo seus conhecimentos com muita paciência, atenção e dedicação.

Ao **PROF. DR. IDELMO RANGEL GARCIA JUNIOR** pela convivência durante estes anos e pelo exemplo de profissionalismo, caráter e humanidade. Agradeço por ter sido o primeiro e maior incentivador da minha vida acadêmica, mostrando que é necessário maturidade para entender que os melhores caminhos, nem sempre são aqueles que almejamos em determinados momentos, ou seja, devemos aproveitar as outras oportunidades abertas, quando apenas uma porta se fecha.

# *AGRADECIMENTOS*

À **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA – UNESP**, sob direção da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Ana Maria Pires Soubhia e vice direção do Prof. Dr. Wilson Roberto Poi, pela oportunidade de realização dos cursos de graduação, mestrado e Doutorado.

A **ARDEC** (Ariminum Odontológica SRL) – Rimini-Itália pelo auxílio financeiro e infra-estrutura fornecida para a realização de parte deste trabalho.

A todos os **PROFESSORES DA PÓS-GRADUAÇÃO** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, por terem contribuído com a minha formação profissional e acadêmica.

A **COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **PROFA. DRA. MARIA JOSÉ HITOMI NAGATA** e **VICE-COORDENADOR CELSO KOOGI SONODA** pela competência e dedicação.

Ao Professor **WILSON ROBERTO POI**, exemplo de professor e pesquisador no sentido amplo da palavra, cuja visão vai muito além do ambiente da sala de aula e dos laboratórios. Obrigada por ter sido um dos responsáveis por tornar o doutorado um inesquecível aprendizado de vida.

Ao **PROF. DR. LUIZ ANTONIO SALATA** e **SEBASTIÃO BIANCO** por sua colaboração no processamento histológico.

À funcionária **CLEIDE LEMES DA SILVA** por estar sempre disposta a ajudar, cuidando de cada pós-graduando como se fosse um de seus filhos, incentivando e ao mesmo tempo corrigindo-nos para que nos tornássemos pessoas melhores.



Aos **FUNCIONÁRIOS DA BIBLIOTECA**: Cláudio, Fernando, Ivone, Junior, Izamar, Luzia, Cláudia e Maria Cláudia pela disponibilidade e carinho.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA PÓS-GRADUAÇÃO** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Valéria de Queiroz M. Zagatto, Cristiane Regina Lui Matos e Lilian Sayuri Mada, pela paciência, disponibilidade, alegria e admirável interesse em nos ajudar sempre.

A todos os **COLEGAS DO MESTRADO E DOUTORADO** do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP pela convivência e momentos de alegria

Ao amigo **GABRIELE BAFFONE** pelo carinho e por ter me acolhido na Itália. Sua amizade será para a vida toda.

Ao amigo **ENZO DE SANTIS**, indispensável na realização do procedimentos experimental e análise histológica.

Ao grande parceiro de todas as horas **RODOLPHO VALENTIM NETO**.

Aos italianos **DR ALESSANDRO SCALA, DR.FABIO ROSSI E DR.MARCO CANEVA** que tornaram-se verdadeiros amigos para toda vida.

Aos funcionários do Setor do Biotério **CAMILO, ODAIR e JOÃO** por seu trabalho nas etapas experimentais desta pesquisa, bem como no cuidado com os animais.

Aos Prof.(s). Dr.(s) da Disciplina de Clínica Integrada da FOA-UNESP: **WILSON ROBERTO POI, SÔNIA REGINA PANZARINI BARIONI, CELSO KOOGI SONODA, DANIELA ATILI BRANDINI, DENISE PEDRINI OSTINI, JOSÉ CARLOS MONTEIRO DE CASTRO** pela amizade, harmonia de trabalho compartilhando conhecimentos e filosofias.

Ao **PROF.DR. PAULO CESAR PERRI DE CARVALHO**, exemplo de caráter, humildade e profissionalismo. Agradeço por estar sempre disposto a ajudar e contagiar a todos com seu grande potencial como clínico e pesquisador.

Aos Prof(s). Dr(s). da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOA-UNESP: **ALESSANDRA MARCONDES ARANEGA, MICHEL SAAD NETO, OSVALDO MAGRO FILHO, ANA PAULA FARNEZI BASSI, DANIELA PONZONI E FRANCISLEY ÁVILA AGUIAR.**

A amiga **ROSSEMARY FALCÓN ANTENUCCI**, exemplo de dedicação ao meio acadêmico e de persistência. A pós-graduação nos deu a oportunidade de convivemos juntas, mas o destino se encarregou de manter nossa amizade durante todos esses anos.

Aos meus amigos do curso de graduação em Direito - UNITOLEDO **THAÍS L. BRANCO, MARCOS K. FUZITA, MURILO TREVISAN, DANÍRIO MEDEIROS e APARECIDO SALVADOR**, sem os quais não teria conseguido conciliar duas áreas tão distintas e encantadoras. Muitas vezes vocês foram os responsáveis por transformar as aulas do curso de direito em momentos de descontração.

A todos os funcionários e professores das Faculdades Integradas Santa Fé do Sul- FUNEC, representada pela diretora pedagógica **PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>.SÂMIRA ÂMBAR LINS** e coordenador do curso de Odontologia **PROF. GUILHERME HIROSHI YAMANARI** por todo apoio e pelo carinho que fizeram com que eu me sentisse em uma verdadeira família.

Aos **PROF.(S) CASSIO EDVARD SVERZUT e MICHEL REIS MESSORA** pela prontidão com que acolheram meu convite para comporem a banca examinadora e pela dedicação em examinar minuciosamente este trabalho.

Ao veterinário **MURILO RODRIGUES**, por sua ajuda profissional e paciência.

A Empresa **NEODENT**, pelo fornecimento dos implantes utilizados no experimento.

A **FAPESP** (processo nº 2010-15286-9) pela bolsa concedida, durante o doutorado.

Aos animais que sublimaram a própria vida por um bem maior.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

# *EPÍGRAFE*

*“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o  
período mais difícil da vida de alguém”*

**Dalai Lama**

Pereira FP. Reconstrução imediata de diferentes defeitos peri-implantares em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães. [tese]. Araçatuba:Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2013.

### **Resumo geral**

**Objetivo:** A proposta deste estudo foi avaliar a regeneração óssea de defeitos criados cirurgicamente e naturais circunferenciais (gap) de implantes pós-exodônticos.

**Materiais e método:** Para este estudo foram utilizados 8 cães da raça labrador, nos quais foram instalados implantes imediatos (pós-exodônticos) nos alvéolos dos dentes P2 (2º pré-molar) e M1 (1º molar) inferiores bilaterais. Nos implantes da região dos 2º pré-molares bilaterais foram criados cirurgicamente defeitos peri-implantares vestibulares que foram preenchidos de um lado por osso autógeno – OA e do outro por osso bovino inorgânico Bio-Oss®- OB. Nos alvéolos correspondentes aos primeiros molares (M1) os implantes foram instalados e os gaps (defeitos naturais) existente entre a tábua óssea vestibular e o implante, foram preenchidos por Bone Ceramic® - (grupo BC) ou somente coágulo (grupo COA). Todos os sítios cirúrgicos foram posteriormente recobertos por membrana de colágeno reabsorvível (Biogide®) e mantidos com cicatrizador. Após 4 meses de pós-operatório, os animais foram eutanasiados e os blocos ósseos processados laboratorialmente para análise histomorfométrica.

**Resultados:** Os resultados obtidos nos implantes instalados na região do P2 mostraram que os valores do IS-C foram ligeiramente maior ( $2.3 \pm 0.8$ mm) no grupo OA, comparado ao grupo OB ( $1.7 \pm 0.7$  mm), enquanto o IS-B dos grupos OA e OB foram respectivamente de  $2.7 \pm 0.7$ mm e  $2.2 \pm 1.0$  mm no lado

vestibular e de  $1.6\pm 0.8\text{mm}$  e  $0.8\pm 0.5\text{mm}$  no lado lingual. As médias dos valores de PM-C, PM-B e PM-IS no grupo OA e OB foram respectivamente de  $4.3\pm 0.9\text{mm}$ ,  $4.7\pm 0.9\text{mm}$ ,  $2.0\pm 1.6\text{mm}$  e  $4.3\pm 0.6\text{mm}$ ,  $4.8\pm 0.6\text{mm}$ ,  $2.5\pm 0.8\text{mm}$ . A diferença estatística significativa foi observada somente na espessura da crista óssea vestibular de 2 a 5 mm em direção ao IS (“pescoço do implante”), incluindo o biomaterial (S-OCbt) que se apresentou maior no grupo OB. Nos implantes instalados na região do M1, o gap vestibular horizontal foi de 1.1 (COA) e 1.4 mm (BC) e vertical de 3 e 4 mm nos sítios controle e teste respectivamente. No lado vestibular, os valores do IS-C foram maiores no grupo preenchido por coágulo ( $COA-0.6\pm 1.6\text{mm}$ ) do que por biomaterial (BC;  $0.1\pm 1.8\text{mm}$ ) e o IS-B foi de  $1.2\pm 0.7\text{mm}$  (COA) e  $1.5\pm 1.8\text{mm}$  (BC). As mensurações dos tecidos moles PM-C, PM-B e PM-IS foram de  $4.7\pm 1.4\text{mm}$ ,  $5.3\pm 1.5\text{mm}$ ,  $4.1\pm 0.6\text{mm}$  e  $4.0\pm 1.0\text{mm}$ ,  $5.5\pm 1.3\text{mm}$ ,  $3.9\pm 1.1\text{mm}$  no grupo COA e BC respectivamente. No lado vestibular a %BICs foi de  $36.4\pm 17.3\%$  (COA) e  $34.9\pm 25.9\%$  (BC) e na lingual de  $42\pm 16.1\%$  (COA) e  $37.4\pm 23.7\%$  (BC). Não houve diferenças estatisticamente significativas.

**Conclusões:** Conclui-se que em defeitos peri-implantares vestibulares criados cirurgicamente o uso do biomaterial osso bovino inorgânico Bio-oss® e do osso autógeno apresentaram resultados semelhantes. E em defeitos naturais obtidos após a instalação de implantes pós-exodônticos, não houve diferenças no preenchimento com Bone Ceramic® ou somente com coágulo.

**Palavras-chave:** estudo animal, regeneração óssea; osso bovino desproteínizado, alvéolo dental, osseointegração; implantes imediatos, defeitos peri-implantares, substitutos ósseos, osso autógeno, Bone-ceramic

Pereira FP.Reconstruction of buccal different defects at implants placed immediately into extraction sockets. A histomorphometric analysis in dogs.

[ thesis ] . Araçatuba: UNESP – Univ Estadual Paulista; 2013.

## **General Abstract**

**Objective:** The purpose of these studies were to evaluate bone regeneration at natural or surgically-created buccal defects at implants placed immediately into extraction sockets (IPIES).

**Material and methods:** Eight Labrador dogs were used and implants were placed immediately into the extraction sockets of P2 (second premolar ) and M1 (first molar), bilaterally. At P2, the buccal wall of the extraction sockets was removed bilaterally to create a standardized defect, 4 mm wide coronally, 2 mm wide apically, and 6 mm height. At P2 sites, Bio-Oss at the test (OB) or autogenous bone at the control (OA) sites were used to fill the defects. At M1 sites, Bone Ceramic ® at the test (BC) or the clot alone (COA) were used to fill the defects. All surgical sites were subsequently covered by a resorbable collagen membrane and a non-submerged healing was allowed . After 4 months the animals were euthanized, bone blocks harvested and processed for histomorphometric analysis .

**Results:** at P2 sites, IS- C values were slightly higher ( $2.3 \pm 0.8$ mm) in the OA compared to the OB ( $1.7 \pm 0.7$  mm). IS- B were  $2.7 \pm 0.7$ mm and  $2.2 \pm 1.0$ mm on the buccal side and  $1.6 \pm 0.8$ mm and  $0.8 \pm 0.5$ mm on the lingual side at OA and OB groups, respectively. The average values of PM- C , B - PM and PM -IS in OA and OB groups were  $4.3 \pm 0.9$ mm ,  $4.7 \pm 0.9$ mm ,  $2.0 \pm 1.6$ mm and  $4.3 \pm$

0.6mm ,  $4.8 \pm 0.6\text{mm}$  ,  $2.5 \pm 0.8\text{mm}$ , respectively. A statistically significant difference was only observed in the thickness of the buccal bony crest at 2-5 mm apically to IS (the implant neck) when the biomaterial (S -OCbt ) was included in the measurement, which appeared to be higher in the OB group. At M1 sites, at the time of installation, the horizontal buccal gap was 1.1 at the COA and 1.4 mm at the BC sites while the vertical remaining defect was 3 mm and 4 mm deep in the control and test sites, respectively. At the buccal aspect, IS-C was higher in the COA ( $0.6 \pm 1.6\text{mm}$ ) compared to the BC ( $0.1 \pm 1.8\text{mm}$ ) groups and IS- B was  $1.2 \pm 0.7\text{mm}$  at the COA and  $1.5 \pm 1.8\text{mm}$  at the BC groups. PM-C, B-AM and PM-IS was  $4.7 \pm 1.4\text{mm}$ ,  $5.3 \pm 1.5\text{mm}$ ,  $4.1 \pm 0.6\text{mm}$  and  $4.0 \pm 1.0\text{mm}$ ,  $5.5 \pm 1.3\text{mm}$ ,  $3.9 \pm 1.1\text{mm}$  in the COA and BC groups, respectively. At the buccal aspects, BIC% s was  $36.4 \pm 17.3\%$  and  $34.9 \pm 25.9\%$  in the COA and BC groups, respectively. At the lingual aspect, BIC% was  $42 \pm 16.1\%$  and  $37.4 \pm 23.7\%$  in the COA and BC groups, respectively. No statistically significant differences were found.

**Conclusions:** The treatment of surgically created buccal defects at IPIES sites using Bio-Oss ® or autogenous bone showed similar results. The treatment of residual buccal defects at IPIES sites using Bone Ceramic ® or leaving the clot alone yielded similar results as well.

Keywords : animal study , bone regeneration ; deproteinized bovine bone , dental socket , osseointegration , immediate implants , peri-implant defects , bone substitutes , autogenous bone , Bone- ceramic



*LISTAS*

## *LISTA DE FIGURAS*

**Capítulo 1:** Reconstrução imediata de defeitos vestibulares criados cirurgicamente em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.

**Figura 1a:** Implante instalado em contato com a tábua óssea lingual, em nível da crista óssea e confecção de defeitos padronizados de 6 mm de altura, 4mm de base superior e 2 mm de base inferior. 67

**Figura 1b:** Defeito vestibular preenchido por osso autógeno. 67

**Figura 1c:** Defeito preenchido por osso bovino inorgânico particulado Bio-Oss ®. 67

**Figura 1d:** Recobrimento dos defeitos com membrana de colágeno. 67

**Figura 2:** Pontos de referências para avaliação histométrica. 68

**Figura 3a:** Cortes histológicos da regeneração óssea após 4 meses. Coloração Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina (12X). Grupo osso autógeno (OA). 69

**Figura 3b:** Cortes histológicos da regeneração óssea após 4 meses. Coloração Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina (12X). Grupo osso bovino (OB). 69

**Figura 4:** Espessura da crista óssea (tecidos duros) de 0 a 5 mm nos grupos comparados, incluindo-se ou não o biomaterial. 70

**Figura 5:** Espessura dos tecidos moles peri-implantares nos grupos estudados. 70

**Figura 6:** Cortes histológicos de 4 meses de regeneração óssea de defeitos preenchidos por osso bovino inorgânico (Grupo OB). Azul de 71

Stevenel e vermelho de alizarina (12X).

**Capítulo 2:** Preenchimentos de defeitos naturais circunferenciais em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.

<b>Figura 1a:</b> Instalação do implante na região do 1º molar inferior.	112
<b>Figura 1b:</b> Implante posicionado lingualmente e ligeiramente abaixo da crista óssea.	112
<b>Figura 1c:</b> Preenchimento do defeito (gap) na vestibular com Bone Ceramic® e protegido por membrana.	112
<b>Figura 1d:</b> Sutura.	112
<b>Figura 2:</b> Pontos de referências para avaliação histométrica.	113
<b>Figura 3:</b> Espessura dos tecidos moles peri-implantares nos grupos estudados.	114
<b>Figura 4:</b> Espessura da crista óssea (tecidos duros) de 0 a 5 mm nos grupos comparados.	114
<b>Figura 5a:</b> Neoformação óssea em contato com o implante - Grupo COA (coágulo). 12X, Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina).	115
<b>Figura 5 b:</b> Neoformação óssea e pequena quantidade de remanescente do biomaterial (seta amarela) - Grupo BC (Bone Ceramic®) (12X, Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina).	115

## *LISTA DE TABELAS*

**Capítulo 1:** Reconstrução imediata de defeitos vestibulares criados cirurgicamente em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.

**Tabela 1.** Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos OA e OB. 72

**Tabela 2.** Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos OA e OB. 73

**Tabela 3.** Mensurações histológicas após 4 meses de regeneração óssea Entre os grupos OA e OB. n=7. Dados em milímetros. % Contato osso Implante (BIC) e histomorfometria. 74

**Capítulo 2:** Preenchimentos de defeitos naturais circunferenciais em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.

**Tabela 1.** Dimensões dos tecidos duros e moles em milímetros entre os Grupos COA e BC, 116

**Tabela 2.** Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos COA e BC. 117

**Tabela 3.** Mensurações histológicas após 4 meses de regeneração óssea Entre os grupos COA e BC. n=7. Dados em milímetros. % Contato osso Implante (BIC) e histomorfometria. 118

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

<b>%</b>	porcentagem
<b>β</b>	beta
<b>®</b>	marca registrada
<b>μm</b>	micrômetro
<b>B</b>	ponto mais cervical de contato entre o osso e o implante
<b>BC</b>	Bone-ceramic
<b>BIO</b>	Bio- Oss
<b>C</b>	topo da crista óssea adjacente ao implante
<b>Cbt</b>	topo dos tecidos duros
<b>CM</b>	Cone Morse
<b>COA</b>	coágulo
<b>DBBM</b>	osso bovino inorgânico
<b>DP</b>	desvio padrão
<b>HA</b>	hidroxiapatita
<b>IPIES</b>	Implants placed immediately into extraction sockets
<b>IS</b>	região cervical do implante (pescoço)
<b>Kg</b>	quilograma
<b>M1</b>	1º molar inferior
<b>mg</b>	miligramas
<b>ml</b>	mililitro
<b>mm</b>	milímetros
<b>OA</b>	osso autógeno
<b>OC</b>	contorno da crista óssea, incluindo o ponto do biomaterial (OCbt).
<b>P2</b>	2º pré-molar inferior
<b>PM</b>	margem cervical da mucosa peri-implantar
<b>S</b>	superfície do implante, no topo das roscas
<b>TCP</b>	tricalcio fosfato

# *SUMÁRIO*

## SUMÁRIO

1.	Introdução Geral.....	25
2.	Capítulo 1: Reconstrução imediata de defeitos vestibulares criados cirurgicamente em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.	
	2.1 Resumo .....	30
	2.2 Abstract .....	33
	2.3 Introdução .....	36
	2.4 Proposição .....	40
	2.5 Material e método .....	42
	2.6 Resultados .....	50
	2.7 Discussão .....	54
	2.8 Conclusão .....	61
	2.9 Referências .....	63
	Figuras .....	67
3.	Capítulo 2: Preenchimentos de defeitos naturais circunferenciais em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães.	
	3.1 Resumo .....	77
	3.2 Abstract .....	80
	3.3 Introdução .....	83
	3.4 Proposição .....	86
	3.5 Material e método .....	88
	3.6 Resultados .....	95
	3.7 Discussão .....	98
	3.8 Conclusão .....	104
	3.9 Referências .....	106
	Figuras .....	112
Anexos		
	Anexo A - Certificado do comitê de ética.....	120
	Anexo B - Normas do Periódico selecionado para publicação.....	121
	Anexo C -. Referências (Introdução Geral) .....	127
	Anexo D - Versão em inglês dos artigos a serem enviados para publicação .....	129

# *1. INTRODUÇÃO*

*GERAL*



## **1. Introdução Geral <sup>1</sup>**

Os implantes dentários osseointegráveis representam uma excelente alternativa na reabilitação bucal e nas reconstruções maxilofaciais, entretanto, o sucesso a longo prazo depende de um íntimo contato do tecido ósseo com o implante pela osseointegração (Olsen *et al.*, 2005).

A presença de alterações ósseas como fenestrações, defeitos residuais, alvéolos pós-exodônticos, diástases entre o osso/implante por sobrefresagem e tecido ósseo de baixa qualidade, podem afetar o prognóstico desta modalidade de tratamento (Gotfredsen *et al.*, 1991; Piattelli *et al.*, 1997).

No intuito de melhorar o processo de osseointegração em casos específicos como sobre fresagem, fenestrações da tábua óssea vestibular, complemento de um alvéolo em casos de implantes instalados imediatamente após uma exodontia ou osso de baixa densidade, o uso de substitutos ósseos naturais ou sintéticos pode ser indicado a fim de melhorar as condições do leito cirúrgico. (Zechner *et al.*, 2003) .

Em regiões de defeitos peri-implantares, tem-se estudado inúmeras técnicas regenerativas para que se obtenha uma adequada osseointegração dos implantes imediatos. Dentre as terapias, o uso de enxerto autógeno é considerado o “padrão ouro”, devido as suas propriedades biológicas osteocondutivas, osteoindutivas e osteogênicas que contribuem para a neoformação óssea (Hassan *et al.*, 2008). No entanto, há alguns inconvenientes e limitações como a necessidade de uma segunda cirurgia na

---

<sup>1</sup> As referências estão de acordo com as normas da ABNT e constam no Anexo C

região doadora, susceptibilidade à infecção e aumento da morbidade cirúrgica (Raghoobar *et al.* 2001).

A instalação de implantes em alvéolos frescos foi descrita pela primeira vez em 1978 por Schulte *et al.* e vários estudos mostraram bons resultados desta técnica em implantodontia.

A instalação imediata de implantes em alvéolos pós-exodônticos apresenta como vantagens a redução do tempo de tratamento e do número de sessões cirúrgicas, pois não é necessário aguardar o processo de reparo alveolar para a instalação do implante na região. No entanto, apresenta como desvantagem o fato da anatomia do alvéolo dificultar a adequada instalação e estabilidade inicial do implante (Hammerle *et al.*, 2004), além de que ocorre a formação de espaços (gap) entre as paredes circundantes do alvéolo e a superfície do implante, que pode resultar em falhas no processo de osseointegração, principalmente nas áreas em que esses defeitos se apresentam com maior extensão.

Os benefícios dos implantes imediatos são acompanhados por uma desvantagem, pois nestes casos há uma adaptação deficiente do osso alveolar na região cervical do implante. Este espaço peri-implantar pode ser comparado a um defeito vertical circunferencial, apresentando-se quase sempre mais largo na porção coronal do alvéolo, ocasionando muitas vezes, a alteração da estabilidade imediata do implante e posteriormente a ocupação por tecidos moles durante o processo de osseointegração (Brunel *et.al*, 1998; Hassan *et al.*, 2008).

A preservação dos tecidos duros e moles periimplantares com a instalação de implantes pós-exodônticos não é consenso na literatura, uma vez

que a remodelação e a reabsorção do alvéolo ocorre, mesmo que de forma menos significativa.

Os critérios para o sucesso dos implantes pós-exodônticos é dependente de inúmeros fatores, dentre os quais: o diâmetro do implante em relação às dimensões do alvéolo (Caneva et al., 2010), o posicionamento dos implantes em relação às tábuas ósseas vestibular e lingual remanescente (Caneva et al., 2010), a utilização ou não de materiais de preenchimento nos defeitos residuais peri-implantares (Araújo et al., 2011; Sanz et al., 2010), emprego de regeneração óssea guiada por meio do uso de membranas (Caneva et al., 2010), a aplicação ou não de carga funcional protética (Blanco et al., 2011).

É comum em implantes pós-exodônticos a presença de espaço (gaps) que se formam entre a tábua óssea remanescente do alvéolo e a superfície do implante. Em relação ao preenchimento ou não desse tipo de defeito peri-implantar residuais circunferenciais é importante que dimensões sejam analisadas. Em defeitos menores de 1mm o uso de biomaterial apresentou resultados positivos em relação a preservação da crista alveolar( Caneva et al., 2011). Já em defeitos maiores de 1 mm os benefícios em relação ao uso ou não de substitutos ósseos apresentou resultados controversos na literatura (Araújo et al., 2011; Favero et al., 2012).

É notável a carência econtroversa dos estudos que buscam elucidar a melhor conduta de tratamento diante da técnica dos implantes pós-exodônticos (imediate) em relação a utilização ou não procedimentos de reconstrução óssea.

## *2. CAPÍTULO 1:*

*Reconstrução imediata de defeitos vestibulares criados  
cirurgicamente em implantes pós-exodônticos.*

*Análise histomorfométrica em cães.*

**Periódico:** "Clinical Oral Implants Research" (Anexo B)

## *2.1. RESUMO*

Pereira FP. Reconstrução imediata de defeitos vestibulares criados cirurgicamente em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães. [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2013.

## 2.1. Resumo

**Objetivo:** A proposta deste estudo foi avaliar a regeneração óssea de defeitos vestibulares cirurgicamente criados após a instalação de implantes pós-exodônticos que foram preenchidos com osso autógeno e osso bovino inorgânico associados à membrana de colágeno.

**Materiais e método:** Para este estudo foram utilizados 8 cães da raça labrador, nos quais foram instalados implantes imediatos (pós-exodônticos) nos alvéolos dos dentes P2 (2º pré-molar inferior) bilateralmente. Após a instalação dos implantes foram criados cirurgicamente defeitos peri-implantares vestibulares (deiscência) que foram preenchidos de um lado por osso autógeno (grupo OA) e do outro por osso bovino inorgânico Bio-Oss® (grupoOB). Os sítios cirúrgicos foram posteriormente recobertos por membrana de colágeno reabsorvível (Biogide®) e mantidos com cicatrizador. Após 4 meses de pós-operatório, os animais foram eutanasiados e os blocos ósseos processados laboratorialmente para análise histomorfométrica.

**Resultados:** Os resultados mostraram que os valores do IS-C foram ligeiramente maior ( $2.3 \pm 0.8$ mm) no grupo OA, comparado ao grupo OB ( $1.7 \pm 0.7$  mm), enquanto o IS-B dos grupos OA e OB foram respectivamente de  $2.7 \pm 0.7$ mm e  $2.2 \pm 1.0$ mm no lado vestibular e de  $1.6 \pm 0.8$ mm e  $0.8 \pm 0.5$ mm no lado lingual. As médias dos valores de PM-C, PM-B e PM-IS no grupo OA e OB foram respectivamente de  $4.3 \pm 0.9$ mm,  $4.7 \pm 0.9$ mm,  $2.0 \pm 1.6$ mm e  $4.3 \pm 0.6$ mm,

4.8±0.6mm, 2.5±0.8mm. A diferença estatística significativa ( $P<0.05$ ) foi observada somente na espessura da crista óssea vestibular de 2 a 5 mm em direção ao IS (“pescoço do implante”), incluindo o biomaterial (S-OCbt) que se apresentou maior no grupo OB.

**Conclusão:** Conclui-se que em defeitos peri-implantares vestibulares criados cirurgicamente o uso do biomaterial osso bovino inorgânico Bio-oss<sup>®</sup> e do osso autógeno apresentaram resultados semelhantes.

**Palavras-chave:** estudo animal, regeneração óssea; osso bovino desproteinizado, alvéolo dental, osseointegração; implantes imediatos, defeitos peri-implantares, substitutos ósseos, osso autógeno.

## *2.2. ABSTRACT*



PEREIRA FP. Reconstruction of buccal defects surgically created at implants placed immediately into extraction sockets. A histomorphometric analysis in dogs . [ thesis ] . Araçatuba: UNESP – Univ Estadual Paulista; 2013.

## 2.2. Abstract

**Objective:** to evaluate bone regeneration at surgically created buccal defects at implants placed immediately into extraction sockets (IPIES) filled with autogenous bone or deproteinized bovine bone mineral (DBBM) associated with a collagen membrane .

**Materials and methods:** Eight Labrador dogs were used and implants were placed immediately into the extraction sockets of P2 (second premolar ). The buccal wall of the extraction sockets was removed bilaterally to create a standardized defect, 4 mm wide coronally, 2 mm wide apically, and 6 mm height. DBBM granules at the test (OB) or autogenous bone at the control (OA) sites were used to fill the defects. All surgical sites were subsequently covered by a resorbable collagen membrane and a non-submerged healing was allowed . After 4 months the animals were euthanized, bone blocks harvested and processed for histomorphometric analysis .

**Results:** IS- C values were slightly higher ( $2.3 \pm 0.8$  mm) in the OA compared to the OB ( $1.7 \pm 0.7$  mm). IS- B were  $2.7 \pm 0.7$  mm and  $2.2 \pm 1.0$  mm on the buccal side and  $1.6 \pm 0.8$  mm and  $0.8 \pm 0.5$  mm on the lingual side at OA and OB groups, respectively. The average values of PM- C , B - PM and PM -IS in OA and OB groups were  $4.3 \pm 0.9$  mm ,  $4.7 \pm 0.9$  mm ,  $2.0 \pm 1.6$  mm and  $4.3 \pm 0.6$  mm ,  $4.8 \pm 0.6$  mm ,  $2.5 \pm 0.8$  mm, respectively. A statistically significant difference was only observed in the thickness of the buccal bony crest at 2-5

mm apically to IS (the implant neck) when the biomaterial (S -OCbt ) was included in the measurement, which appeared to be higher in the OB (test) group.

**Conclusion:** The treatment of surgically created buccal defects at IPIES sites using Bio-Oss ® or autogenous bone showed similar results.

**Keywords :** animal study , bone regeneration ; deproteinized bovine bone , dental socket , osseointegration , immediate implants , peri-implant defects , bone substitutes , autogenous bone .

## *2.3. INTRODUÇÃO*

## **2.3 Introdução <sup>2</sup>**

Os defeitos ósseos resultantes da instalação de implantes pós-exodônticos, frequentemente podem resultar em exposição das roscas do implante, prejudicando sua estabilidade e conseqüente levando ao insucesso ou falhas no processo de osseointegração.

Inúmeros substitutos ósseos sintéticos têm sido utilizados com segurança, como o osso bovino inorgânico que foi utilizado em vários estudos clínicos (Cornellini et al. 2004; Chen et al. 2007) e em animais (Araújo et al. 2011; Caneva et al. 2010b, 2011, 2012a,b) e apresentou-se efetivo na manutenção da crista óssea alveolar, quando utilizado como material de preenchimento de defeitos em alvéolos.

É comum durante o processo de reabsorção fisiológica, que ocorre após as extrações dentárias, a reabsorção da crista óssea alveolar correspondente (Schropp et al. 2003; Araújo & Lindhe 2005). Apesar da indicação de implantes pós-exodônticos (IPIES) para se tentar evitar a perda de tecidos peri-implantares, estudos demonstram que mesmo com a instalação imediata de implantes em alvéolos pós-extração, essa perda ainda se mostra significativa (Botticelli et al. 2004, Araújo et al. 2005).

O osso bovino inorgânico apresenta características químicas e estruturais semelhantes ao osso desmineralizado e estudos mostraram que quando aplicado em defeitos criados após a instalação de implantes imediatos, apresentaram contato osso-implante localizado mais coronalmente que aqueles preenchidos somente por coágulo. No entanto, apesar dos resultados

---

<sup>2</sup> Artigo preparado segundo as normas do periódico "Clinical Oral Implants Research" (AnexoB)

favoráveis, este material não impediu a reabsorção da tábua óssea vestibular (Caneva et.al, 2011; De Santis et.al, 2010).

Estudos buscam a melhor forma de se preservar a espessura do rebordo alveolar utilizando-se a técnica dos implantes imediatos pós-exodônticos, no entanto, os resultados ainda não são totalmente satisfatórios (Caneva et al., 2011, 2012a, b, 2013).

A situação clínica é ainda mais complicada quando ocorre a perda da tábua óssea vestibular após as exodontias, em razão da utilização de técnica trumática ou a presença de processos infecciosos, cáries, doença periodontal, problemas endodônticos ou fratura radicular.

Estudos realizados em sítios livres de infecção, em mandíbula de cães, em que a tábua óssea vestibular foi removida, criando-se defeitos, imediatamente a instalação de implantes pós-exodônticos, observou-se a regeneração espontânea, sem o preenchimento por biomateriais ou membranas (Bressan et al. 2013). Os implantes foram instalados em posição vestibular ou lingual no interior dos alvéolos e os resultados mostraram a regeneração parcial desses defeitos, mais significativa naqueles instalados lingualmente, ou seja, notou-se que nestas situações ocorreu regeneração sem a necessidade de técnicas de reconstrução, independente das diferentes posições de instalação dos implantes.

Em outro estudo com implantes pós-exodônticos realizados em incisivos superiores de cães, nos quais foram criados defeitos vestibulares, preenchidos por osso bovino particulado desproteínizado (inorgânico) ou osso autógeno e recobertos por membrana de colágeno, também foi observada a regeneração parcial do defeito. No entanto, nesse estudo a anatomia da região favoreceu a

instalação do implante em uma posição profunda em relação plano horizontal (De Santis et al. 2011). Logo, são necessários mais estudos em regiões diferentes desta e mais próximas a situação clínica em humanos para elucidar o comportamento do osso autógeno e do osso bovino em defeitos vestibulares de implantes pós-exodônticos.

## *2.4. PROPOSIÇÃO*

## **2.4 Proposição**

Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar o osso bovino inorgânico - Bio-oss® e o osso autógeno associados à membrana de colágeno e utilizados para reconstrução de defeitos vestibulares criados cirurgicamente após a instalação de implantes pós-exodônticos (imediatos) em mandíbula de cães, através da análise histomorfométrica.



## *2.5. MATERIAIS E MÉTODOS*

## **2.5 Materiais e métodos**

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP sob o nº de protocolo 05417/2010 (anexo A)

Para este estudo foram utilizados 8 cães machos, de mesma ninhada, adultos jovens da raça Labrador, com idade aproximada de 24 meses, com peso aproximado de 30 Kg (quilos). Os animais foram mantidos em lojas individuais com dieta padrão, ração pastosa (Faro, Primor) e água *ad libitum* no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, observando-se os cuidados diários de manipulação, limpeza e alimentação, realizados por pessoal treinado. Todos os animais receberam a vacinação anti-rábica (Rasad, Lema Biologic do Brasil Ltda, Contagem, MG, Brasil), as vermifugações com pamoato de pirantel/praziquantel (Drontal, Bayer S.A. Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 1 comprimido/10 kg, via oral, e 1 ml/50 kg de ivermectina (Imectin, Irfa – Química e Biotecnologia Industrial Ltda. Porto Alegre, RS, Brasil), via subcutânea, além de hemogramas para controle de saúde.

### **2.5.1 Cirurgia Experimental (procedimento cirúrgico)**

Os animais foram mantidos em jejum durante 8 horas prévias ao procedimento cirúrgico. Inicialmente receberam uma pré-anestesia constituída de uma injeção intramuscular da associação dos medicamentos Acepran® (0,05 mg / Kg Univet-Vetnil, São Paulo, Brasil) e Ketamina®, (Cristália, São Paulo, Brasil) na proporção de 1/1 ml, com finalidade de sedá-los, tornando-os

dóceis e receptivos às manobras da anestesia. Em seguida, foi realizada a sedação pela administração endovenosa de uma solução contendo Zoletil® 10 mg / Kg (Virbac, EUA) e Xilazina® (1 mg / Kg Cristália, São Paulo, Brasil). Os animais foram mantidos com acesso venoso realizado com cateter 22 (nipro), pelo qual foi administrado Solução de Ringer com Lactato (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil) durante todo o período experimental. Quando necessário, a anestesia foi complementada com Ketamine®, (¼ da dose de 10 mg / Kg, Cristália, São Paulo, Brasil) para manter o efeito durante todo o período operatório. Após a sedação dos animais, foi realizada a anti-sepsia da região extra-oral com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil), da região intra-oral com PVPI tópico e aposição dos campos cirúrgicos.

Após anestesia local com cloridrato de mepivacaína 0.3 ml/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000 (Septodont, França) para auxiliar na hemostasia do campo operatório. Na região correspondentes aos 2º pré-molares inferiores bilaterais (P2) foi realizada a incisão intra-sulcular com lâmina número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão), seguida da extração destes elementos dentários, através de osteotomia e seccionamento das raízes mesiais e distais com broca Carbide 702 longa montada em alta rotação e luxação com extrator reto e fórceps adaptado.

Após a extração foram realizadas as mensurações das distâncias vestibulo-lingual (V-L) e mesio-distal (M-D) dos alvéolos (tendo como referência a crista óssea), com auxílio de instrumentos apropriados (Castoviejo, KLS Martin Group, Umkirch Germany) Group).

Nos alvéolos distais remanescentes foram instalados lingualmente seguindo-se o protocolo do sistema adotado, implantes de 3,5 (diâmetro) x 11,5 mm (comprimento) (Alvim CM, Neodent, Curitiba Paraná, Brasil - com superfície duplamente tratada - jateamento e ataque ácido), mantendo-se a região cervical do implante (pescoço) inserida em nível da crista da tábua óssea vestibular.

Após a instalação dos implantes, foi mensurado o gap (defeito) horizontal e vertical entre a superfície do implante e as tábuas ósseas vestibular e lingual com auxílio de uma sonda milimetrada (Hu-Friedy, Chigago, IL, USA).

Após a estabilidade e completa instalação dos implantes, em ambos os pré-molares (P2) foram confeccionados defeitos cirúrgicos na tábua óssea vestibular, por meio de brocas e refinamento com lâmina de bisturi (BD Beaver 376400; BD Ophthalmic System, Waltham, MA US) a fim de serem obtidos defeitos padronizados de 6 mm de altura, largura de 4 mm na cervical (base superior) e 2 mm na apical (base inferior) (Fig. 1a).

O defeito do lado direito foi preenchido por osso autógeno (Fig. 1b) obtido da região da linha oblíqua com auxílio de raspadores ósseos (Safe-Scraper. Micross; Reggio, Emilia, Italy) e do lado esquerdo por osso bovino particulado inorgânico -(Bio-Oss®, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland) (Fig.1c).

De acordo com o material utilizado para a reconstrução dos defeitos vestibulares, obtiveram-se 2 grupos:

- a) Grupo OA- preenchido por osso autógeno

b) Grupo OB – preenchido por osso bovino inorgânico -(Bio-Oss®, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland).

Após o preenchimento dos defeitos, os mesmos foram recobertos por membranas de colágeno absorvível (Fig.1d) (Bio-Gide®; Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland), e sobre os implantes foram rosqueados cicatrizadores de 3,3 (diâmetro) x 3,5 mm (altura) (Neodent, Curitiba Paraná, Brasil) para que os mesmos não permanecessem submersos durante o processo de regeneração óssea. Os retalhos foram reposicionados e suturados com pontos contínuos e interrompidos com fio absorvível Vycril 4.0 (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil).

No pós-operatório, os animais receberam Pentabiótico IM® (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) em dose única, analgésico/antiinflamatório (Banamine®, Schering-Plough Animal Health, Campinas, Brazil). A dieta dos animais manteve-se líquida - pastosa durante todo o período experimental, com higienizações da boca através de escovação e aplicação de antisséptico bucal (clorexidina 0,12 %).

As feridas cirúrgicas foram limpas e inspecionadas durante todo o período experimental, três vezes por semana.

### ***2.5.2 Eutanásia e coleta do material***

Decorridos 4 meses pós-operatório, os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia por meio de dose excessiva do anestésico tiopental (Cristalia Ltd., Campinas, Brazil), e perfusão através da artéria carótida com solução de formaldeído 4%. Os blocos ósseos foram seccionados com auxílio

de serra manual, destacados da mandíbula, e removidos o excesso de tecido mole.

### ***2.5.3 Processamento histológico***

Os blocos ósseos individualizados contendo os implantes e tecidos moles e duros peri-implantares foram fixados em solução de formaldeído 4%. Após fixação, as peças passaram pela etapa de desidratação com uma seqüência crescente de álcoois (70, 80,90 e 100), com a troca da solução a cada 3 dias, sendo agitadas (Agitador orbital, Kline CT-150, Cientec – equipamentos para laboratório) todos os dias, durante 4 horas. Ao término da desidratação as peças foram imersas em resina LR White® hard grade, London Resin Company Ltd, Berkshire, UK). Os blocos foram cortados no sentido vestibulo-lingual usando um disco diamantado e uma máquina de corte de precisão (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany), obtendo-se cortes com espessura de 50-60µm, que foram corados com azul de Stevenel's e vermelho de alizarina para análise histomorfométrica em microscópio óptico.

### ***2.5.4 Avaliação histomorfométrica***

Por meio de uma câmera digital Nikon Digital DS-Fi2 (Nikon Corporation, Tóquio, Japan) acoplada a um microscópio Eclipse Ci, utilizando-se o software NIS Elements versão 4.1 (Nikon) obteve-se as imagens, nas quais foram definidos os pontos (marcações), referência para a histometria.

Para isto, foram criadas algumas abreviaturas para identificar as regiões de referência a serem analisadas (Fig.2):

- IS: região cervical do implante (pescoço)
- B: ponto mais cervical de contato entre o osso e o implante
- C: topo da crista óssea adjacente ao implante
- Cbt: topo dos tecidos duros (bt), no qual é considerado o tecido ósseo ou biomaterial remanescente no defeito.
- PM: margem cervical da mucosa peri-implantar
- S; superfície do implante, no topo das roscas
- OC: contorno da crista óssea, incluindo o ponto do biomaterial (OCbt)

Em aumentos de 100 X, foram obtidas as medidas verticais entre IS-B, IS-C, IS-Cbt, PM-IS; e a distância horizontal S-C. A partir destas medidas, calculou-se o valor de C-B.

Também foi obtida a espessura da crista óssea alveolar do ponto S até OCbt, começando-se do IS (0 mm), até 5 mm apicalmente ao implante, em aumentos de 40X. A espessura da mucosa peri-implantar foi mensurada iniciando-se no IS (0 mm) e em direção cervical e apical até 3 mm. Para esta mensuração foi utilizada uma grade de 1 mm, considerando o IS o ponto 0.

Com aumento de 100 X, foi calculado o contato osso-implante (%BIC), mensurando-se toda extensão do implante do lado vestibular e lingual (100%) a partir do ponto IS e toda extensão de contato do osso com a superfície do implante, incluindo nesta mensuração o contato de remanescentes do biomaterial com o implante.

Com aumento de 200X e por meio da sobreposição na região de uma grade de 50  $\mu\text{m}$  foi calculada a porcentagem de osso mineralizado, osso não mineralizado (osso medular), biomaterial remanescente e tecido conjuntivo na região vestibular, iniciando-se do ponto OCbt em direção apical ao implante, não excedendo 6 mm do ponto IS.

### ***2.5.5 Análise estatística***

Nos grupos analisados foram calculadas as médias, desvios-padrão e as porcentagens a 25<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> (mediana) e 75<sup>th</sup> para cada uma das variáveis.

As diferenças entre os grupos osso autógeno (AO) e Osso bovino (OB) foi analisada por meio do teste de Wilcoxon usando o software SPSS Statistics 19 (IBM® Inc. Chicago IL, USA), com nível de significância de  $p=0.05$ .



## *2.6 RESULTADOS*

## **2.6 Resultados**

### **2.6.1 Avaliação clínica**

Após a instalação dos implantes, nos grupos autógeno (OA) e osso bovino (OB), observou-se na vestibular um gap horizontal menor que 1 mm e vertical de 2 mm em ambos os grupos. No lado lingual, o implante foi instalado em contato com a tábua óssea lingual.

Durante todo o período experimental (4 meses), todos os animais foram avaliados em relação ao processo de regeneração tecidual e os implantes se apresentaram em condições satisfatórias de higienização, sem acúmulo de placa e sem sinais de mobilidade.

### **2.6.2 Avaliação histomorfométrica**

Durante o processamento histológico não houve a perda de tecidos e nem artefatos que pudessem dificultar a visualização das imagens. No entanto, um implante do grupo osso bovino (OB) não se apresentava integrado ao tecido ósseo, motivo pelo qual foi excluído da amostra, juntamente com o contralateral do grupo osso autógeno (OA), obtendo-se uma amostra de n=7.

Nos cortes histológicos representados na Figura 3a (grupo osso autógeno) e 3b (grupo osso bovino), é possível analisar qualitativamente o processo de regeneração óssea aos 4 meses pós operatório.

No período analisado, foi possível observar remanescentes do biomaterial osso bovino inorgânico, já no grupo osso autógeno, não foi possível a diferenciação das partículas do enxerto do osso pré-existente, razão pela qual as medidas Cbt e Ocbt foram obtidas somente no grupo OB.

Na tabela 1 observa-se as dimensões dos tecidos duros peri-implantares. No grupo autógeno (OA), no lado vestibular, a média da distância IS-C foi ligeiramente maior ( $2.3 \pm 0.8$ mm) que no grupo osso bovino ( $1.7 \pm 0.7$  mm), no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa. A média da distância IS-Cbt no grupo OB foi de  $1.2 \pm 1.1$  mm.

A média dos valores de IS-B dos grupos OA e OB no lado vestibular foram respectivamente de  $2.7 \pm 0.7$ mm e  $2.2 \pm 1.0$ mm e de  $1.6 \pm 0.8$ mm e  $0.8 \pm 0.5$ mm no lado lingual, sem diferenças estatisticamente significativas.

Em ambos os grupos observou-se pequenos defeitos horizontais residuais entre o tecido ósseo e a superfície do implante, no entanto a diferença de valores não se apresentou estatisticamente significativa.

Na tabela 2 está expresso os valores das dimensões dos tecidos moles peri-implantares. As médias dos valores de PM-C, PM-B e PM-IS no grupo OA e OB foram respectivamente de  $4.3 \pm 0.9$ mm,  $4.7 \pm 0.9$ mm,  $2.0 \pm 1.6$ mm e  $4.3 \pm 0.6$ mm,  $4.8 \pm 0.6$ mm,  $2.5 \pm 0.8$ mm, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

A espessura da crista óssea vestibular, incluindo o biomaterial Bio-Oss® (S-OCbt) foi maior no grupo OB (Fig.4), com diferenças estatisticamente significativas de 2 a 5 mm em direção apical ao implante (IS). No entanto,

quando se considerou somente o osso, a diferenças entre os grupos deixou de ser significativa estatisticamente.

Apesar da espessura da mucosa peri-implantar no grupo OB ter se apresentado ligeiramente maior, esta diferença também não foi estatisticamente significativa (Fig.5).

A média dos valores da %BIC no lado vestibular dos grupos OA e OB foram de  $34.0\pm 12.1\%$  e  $36.4\pm 14\%$  e no lado lingual de  $38.8\pm 15.8\%$  e  $43.5\pm 18.9\%$  respectivamente. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas (Tabela 3).

Após 4 meses de regeneração óssea, não foi possível diferenciar o enxerto autógeno do osso remanescente do alvéolo. No grupo OB foram observadas a média de  $13.5\pm 7.6\%$  de partículas de osso bovino (Bio-oss®) nos limites definidos pela medida de OCbt (Fig.3b; Fig.6a). Este biomaterial se apresentou em sua maior parte circundado por tecido conjuntivo e uma pequena quantidade (média  $23\pm 17.2\%$ ) integrada ao tecido ósseo. Também foram observadas partículas de Bio-oss ® abaixo dos limites do defeito, possivelmente em razão de terem migrado para a direção apical durante o processo de regeneração óssea (Fig.6b).

O tecido ósseo mineralizado foi evidenciado em maior parte no grupo OB (média de  $68.9\pm 7.5\%$ ) do que no grupo OA (média de  $42.6\pm 5.9\%$ ), diferença esta não estatisticamente significativa. O tecido conjuntivo teve uma pequena representação na região do defeito no grupo OA (média de  $0.8\pm 0.7\%$ ) e OB ( $6.6\pm 10.1$ ), diferenças estatisticamente não significativa.

## *2.7 DISCUSSÃO*

## **2.7 Discussão**

Neste estudo, foram comparados os resultados da regeneração óssea em IPIES (Implants placed immediately into extraction sockets), ou seja, em implantes instalados imediatamente em alvéolos dentais (implantes imediatos) apresentando defeitos padronizados criados cirurgicamente na tábua óssea vestibular, os quais foram preenchidos por osso autógeno (grupo OA) ou osso bovino particulado Bio-oss® (grupo OB) associado à membrana de colágeno. Os melhores resultados foram observados no grupo OB em relação ao grupo OA, embora esta diferença não seja estatisticamente significativa.

O tratamento regenerativo foi realizado em 4mm de exposição da superfície do implante (altura do defeito), no entanto, o topo (limite superior) da crista óssea e o nível de osseointegração, localizaram-se mais coronalmente no grupo OB (1.7mm and 2.2mm, respectivamente) do que no grupo OA (2.3mm and 2.7mm, respectivamente). O contato osso-implante apresentou-se ligeiramente maior no grupo OB, diferença esta não significativa estatisticamente.

O nível coronal da crista óssea e de osseointegração deste estudo são compatíveis com os resultados obtidos por Caneva et al. (2010a, 2013) em implantes imediatos em alvéolos de segundo pré-molares superiores, no qual em sítios não tratados com retalho de espessura total, estes níveis localizaram-se respectivamente a 1.7-2.1 mm e 2.1-2.3 mm.

Os resultados deste estudo estão de acordo com outros estudos realizados em cães. De Santis et al. (2011) realizou um experimento em que foram extraídos os segundos incisivos superiores bilateralmente e instalados implantes pós-exodônticos, seguido da confecção de defeitos vestibulares

padronizados, preenchidos por osso bovino (teste) ou osso autógeno (controle) e posteriormente recobertos por membrana de colágeno, permanecendo submersos durante o período. Aos 2 meses, os resultados em ambos os grupos foram semelhantes, no entanto aos 4 meses observou-se a posição mais cervical da crista óssea (ponto C), ou seja, o nível mais cervical de osseointegração e o contato-osso-implante (BIC%) maior no grupo osso bovino (teste), sem diferença estatisticamente significativa.

A influência do uso do osso bovino na regeneração óssea de defeitos em implantes imediatos também foi testada em defeitos naturais (Araújo et al., 2011; Caneva et al. 2012) e em defeitos criados cirurgicamente (Hammerle et al., 1998).

Araújo et al., 2011 em um estudo em cães realizou o tratamento endodôntico da raiz mesial de todos os pré-molares bilateralmente seguido do seccionamento e exodontia das raízes mesiais, nos quais foram instalados implantes imediatos. No grupo teste os defeitos vestibulares remanescentes entre o implante e a tábua óssea vestibular foram preenchidos por osso bovino, enquanto no grupo controle os defeitos foram preenchidos somente por coágulo. Os implantes permaneceram submersos e os animais foram eutanasiados após 6 meses. Os resultados mostraram que o nível da crista óssea (C-ponto mais cervical da crista óssea) e o nível de osseointegração foi maior no grupo tratado com osso bovino.

Em outro experimento em cães (Caneva et al., 2012), as partículas de osso bovino foram utilizadas para o preenchimento de defeitos naturais vestibulares de implantes instalados nos alvéolos das raízes distais de terceiros pré-molares e protegidos por membranas de colágeno, enquanto no lado

contralateral os implantes não receberam tratamento e permaneceram submersos durante o processo de regeneração óssea. Após 4 meses, foi observado que o nível de osseointegração e a localização da crista óssea foram maiores no grupo preenchido por osso bovino.

No período analisado neste estudo, não foi possível observar diferença entre o enxerto autógeno e o osso remanescente, uma vez que se apresentara completamente incluído. Já no grupo OB, havia 13,5% de partículas do osso bovino inorgânico remanescente no tecido. Em sua maior parte, o biomaterial apresentava-se envolvido por tecido conjuntivo e apenas uma pequena quantidade (23%) apresentava-se aderido ao tecido ósseo neoformado. As partículas localizavam-se além dos limites da crista óssea, o que provavelmente influenciou na maior espessura dos tecidos duros no sentido vertical e horizontal. Este achado está de acordo com outros estudos em cães (De Santis et al. 2011; Favero et al. 2012) em que aos dois meses, as partículas de osso bovino foram encontradas nos limites superiores a crista óssea, no entanto aos 4 meses de regeneração óssea as partículas de biomaterial apresentavam-se fora da crista, dispersas no tecido conjuntivo

No estudo em cães de Favero et al. (2012), foram instalados implantes pós-exodônticos nos alvéolos distais de molares inferiores. No lado teste, o gap foi preenchido por osso bovino (Bio-oss®) e membrana de colágeno, enquanto no lado controle não houve preenchimento do gap (coágulo). Após 3 meses de regeneração, as partículas do biomaterial localizavam-se 0.6mm abaixo da crista óssea envolvidas por tecido conjuntivo.

De uma forma geral, os resultados deste estudo, embora não estatisticamente significante, foram discretamente melhores nos defeitos



preenchidos por osso bovino (Bio-oss), quando comparado ao osso autógeno, em concordância com o estudo em cães de Araújo & Lindhe (2011), em que as raízes distais dos terceiros e quarto pré-molares foram extraídos e os alvéolos preenchidos por osso autógeno ou osso bovino inorgânico. O melhor resultado em relação à manutenção da crista alveolar também foi observado no grupo tratado com osso bovino inorgânico.

Observou-se também que as dimensões dos tecidos moles peri-implantares neste experimento foram semelhantes entre os grupos estudados. No entanto, nos defeitos preenchidos por osso bovino, a mucosa peri-implantar localizou-se 0,5 mm mais cervical em relação ao grupo osso autógeno, embora não tenha ocorrido significância estatística, o uso do biomaterial parece ter contribuído para manter os tecidos moles em um nível mais cervical.

Outros estudos experimentais corroboram com este achado (Caneva et al. 2012) ao comparar o uso ou não do osso bovino Bio-oss® (grupo teste), através da análise histológica por microscopia óptica de cortes de implantes não foram observadas diferenças nas dimensões dos tecidos moles entre o grupo teste e controle, no entanto, a mucosa peri-implantar vestibular localizou-se 0,9 mm mais cervicalmente no grupo teste comparado ao controle. O deslocamento vertical da mucosa marginal em relação à posição original ao redor do dente foi de 1 mm e 2,7 mm nos grupos teste e controle respectivamente.

No estudo citado acima, após 4 meses de regeneração óssea, a diminuição da espessura de região vestibular foi de 5.9mm<sup>2</sup> no grupo preenchido por osso bovino (Bio-oss®) e de 11.5mm<sup>2</sup> naquele em que não houve qualquer tipo de tratamento. Isto, por sua vez, significa que a utilização

de partículas de osso bovino, associadas à membrana de colágeno, pode contribuir para a preservação parcial dos volumes da crista óssea vestibular, como demonstrado também em estudos clínicos (Cornelini et al. 2004; Chen et al. 2007).

Contudo, deve-se salientar que defeitos vestibulares semelhantes aos utilizados neste estudo também tendem a se regenerar sem o uso de biomateriais, tanto em defeitos criados artificialmente (Schwarz, et al. 2010), como em sítios de IPIES- implantes pós-exodônticos (Bressan et al. de 2013).

Em modelos experimentais em cães foram preparados defeitos vestibulares em crista alveolares regeneradas (Schwarz et al. 2010), no qual não foi utilizado nenhum material regenerativo e após 8 semanas, 45-90 % dos defeitos apresentaram-se preenchidos por osso neoformado.

Em um experimento em cães (Bressan et al. De 2013), foram instalados implantes pós-exodônticos (IPIES) nos alvéolos distais dos quarto pré-molares. Os implantes foram posicionados em contato com a tábua óssea vestibular (teste) ou lingual (controle) dos alvéolos. Foram criados defeitos de deiscência óssea triangulares na vestibular com aproximadamente 2,7 mm de profundidade e 3,5 mm de largura, e os implantes permaneceram submersos sem a realização de qualquer procedimento regenerativo. Após 4 meses de regeneração, a análise histológica revelou que a regeneração da crista óssea vestibular foi de 2 mm no grupo controle e de 1 mm no grupo teste. Por meio deste estudo foi demonstrado que defeitos vestibulares podem reparar-se parcialmente sem a utilização de procedimentos regenerativos e que o posicionamento lingualizado do implante proporcionou melhores resultados.

O posicionamento do implante no alvéolo exerce uma importante influência no processo de osseointegração, como demonstrado em estudos clínicos (Sanz et al 2010; Tomasi, et al. 2010.) e experimentais (Caneva et al 2010; Favero et al. 2012), nos quais se observou que quanto mais lingualizado, menor será a porção vestibular cervical do implante exposta acima da crista óssea vestibular.

## *2.8 CONCLUSÃO*

## **2.8 Conclusão**

Diante da metodologia empregada, conclui-se que aos 4 meses de regeneração óssea, o uso do biomaterial osso bovino inorgânico ou do osso autógeno em defeitos criados cirurgicamente na tábua óssea vestibular, após a instalação de implantes pós-exodônticos apresentaram resultados semelhantes.

## *2.9 REFERÊNCIAS*

## 2.9 Referências <sup>3</sup>

Araújo, M.G., Linder, E. & Lindhe, J. (2011) Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **22**: 1-8.

Araújo, M.G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 212–218.

Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 645-652.

Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* **31**: 820-828.

Bressan, E., Sivoletta, S., Stellini, E., Almagro Urrutia, Z. & Lang, N.P. & Botticelli, D. (2013) Healing of buccal dehiscence defects at implants installed immediately into extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 270-277.

Caneva, M., Botticelli, D., Pantani, F., Baffone, G.M., Rangel, I.G. Jr. & Lang, N.P. (2012a) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 106-112.

Caneva, M., Botticelli, D., Morelli, F., Cesaretti, G., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2012b) Alveolar process preservation at implants installed immediately into extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral - an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 789-796.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Souza, S.L.S., Bressan, E. & Lang, N.P. (2010a). Flap versus “flap-less” surgical approach at immediate implants- A

---

<sup>3</sup> Artigo preparado segundo as normas do periódico “Clinical Oral Implants Research”

histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 21: 1314-1319.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Souza, S.L.S., Carvalho Cardoso, L. & Lang, N.P. (2010b). Collagen membranes at immediate implants. A histomorphometric study in dogs *Clinical Oral Implants Research* 21: 891-897.

Caneva, M., Botticelli, D., Stellini, E., Salata, L.A., Souza, S.L.S. & Lang, N.P. (2011). Magnesium-enriched hydroxyapatite at immediate implants. A histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 22: 512-517.

Caneva, M., Botticelli, D., Viganò, P., Morelli, F., Rea, M. & Lang, N.P. (2013) Connective tissue grafts in conjunction with implants installed immediately into extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 24: 50-56.

Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Baffone, G., Lang, N.P. & Botticelli, D. (2010c) Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration: histomorphometric analyses in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 21: 43-49.

Chen, S.T., Darby, I.B. & Reynolds, E.C. (2007) A prospective clinical study of non-submerged immediate implants. Clinical outcomes and esthetic results. *Clinical Oral Implants Research* 18: 552-562.

Cornelini, R., Cangini, F., Martuscelli, G. & Wennström J. (2004) Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membrane to support healing following immediate placement of transmucosal implants: A short-term controlled clinical trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* 24: 555-563.

De Santis, E., Botticelli, D., Pantani, F., Pereira, F.P., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2011) Bone regeneration at implants placed into extraction sockets of maxillary incisors in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 22: 430-437.

Favero, G., Botticelli, D., Rea, M., Pantani, F., León Grau, I. & Lang, N.P. (2013a) Influence of presence or absence of teeth adjacent to implants installed



immediately into extraction sockets on peri-implant hard tissue levels: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 262-269.

Favero, G., Lang, N.P., De Santis, E., Gonzalez, B.G., Schweikert, M.T. & Botticelli, D. (2013b) Ridge preservation at implants installed immediately after molar extraction. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 255-261.

Favero, G., Lang, N.P., Favero, G., León Grau, I., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012) Role of teeth adjacent to implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 402-408.

Hämmerle, C.H., Chiantella, G.C., Karring, T. & Lang, N.P. (1998) The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. *Clinical Oral Implants Research* **9**: 151-162.

Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla *Clinical Oral Implants Research* **21**: 13-21.

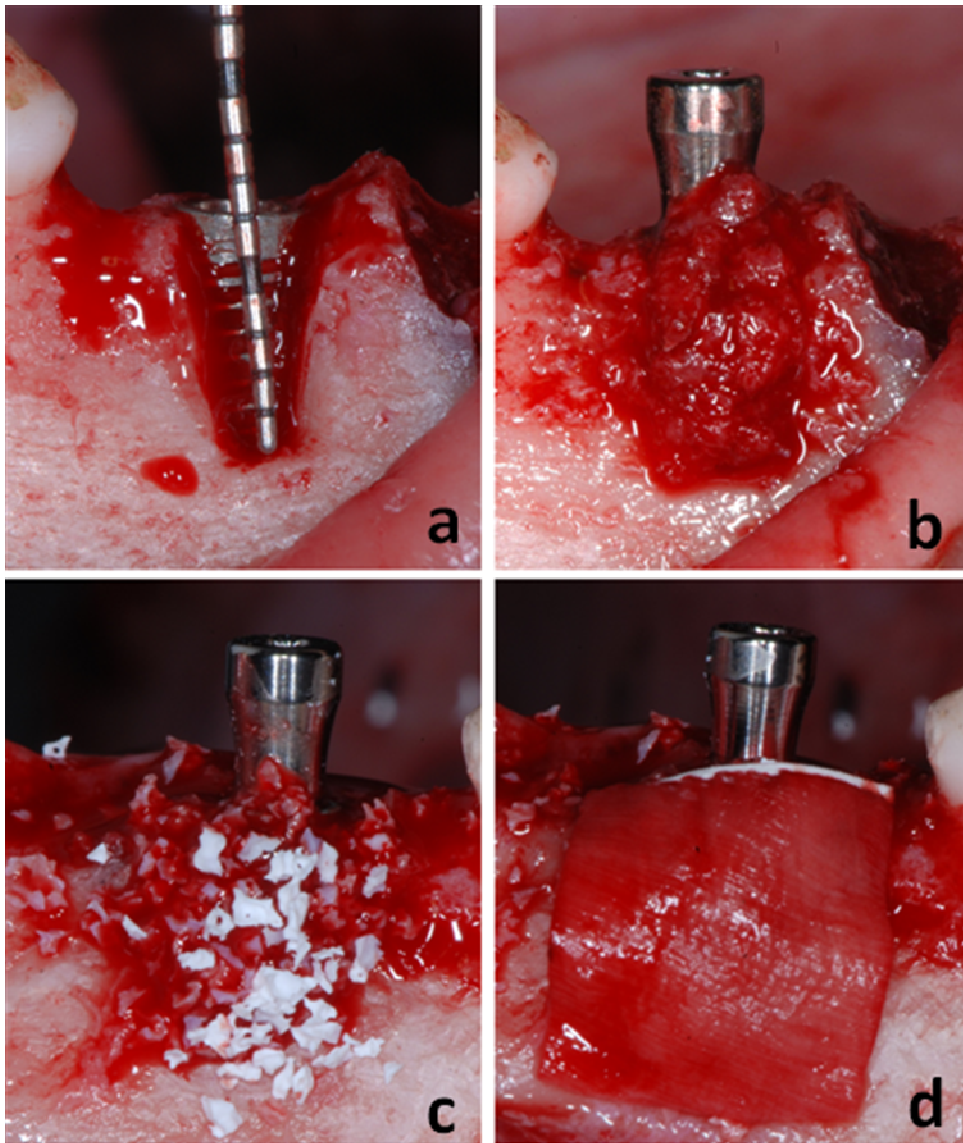
Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **23**: 313-323.

Schwarz, F., Sager, M., Kadelka, I., Ferrari, D. & Becker, J. (2010) Influence of titanium implant surface characteristics on bone regeneration in dehiscence-type defects: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **37**: 466-473.

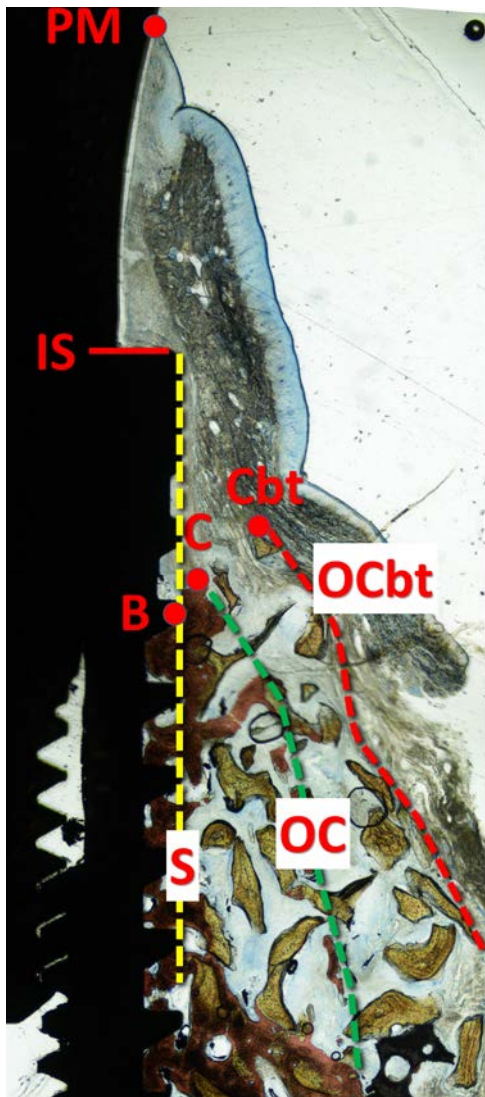
Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevel multivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 30-36.

*FIGURAS*

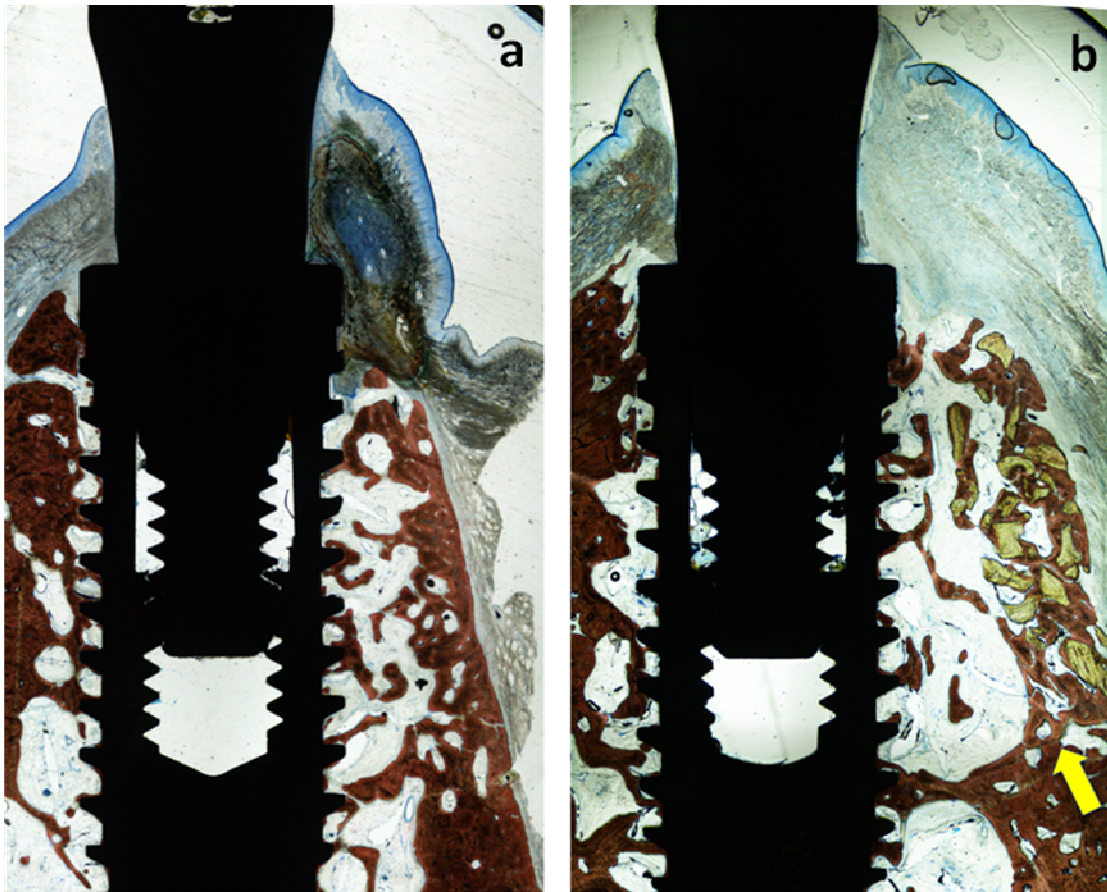
## Figuras



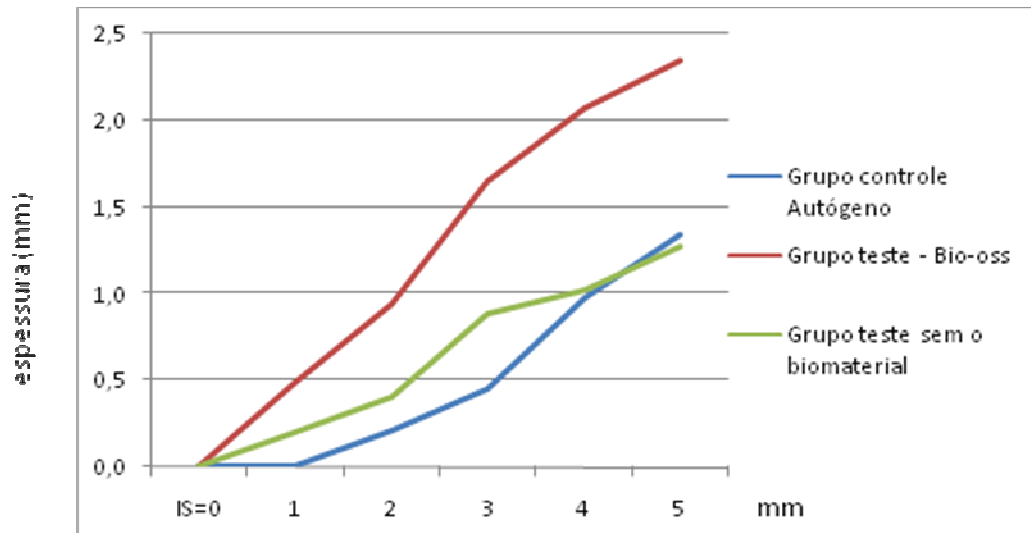
**Figura 1:** Procedimento cirúrgico **a)** Implante instalado em contato com a tábua óssea lingual, em nível da crista óssea e confecção de defeitos padronizados de 6 mm de altura, 4mm de base superior e 2 mm de base inferior; **b)** defeito vestibular preenchido por osso autógeno; **c)** defeito preenchido por osso bovino inorgânico particulado Bio-Oss ®; **d)** Recobrimento dos defeitos com membrana de colágeno.



**Figura 2:** Pontos de referências para avaliação histométrica. IS: região cervical do implante (pescoço); B: ponto mais cervical de contato entre o osso e o implante; C: topo da crista óssea adjacente ao implante; Cbt: topo dos tecidos duros (bt), no qual é considerado o tecido ósseo ou biomaterial remanescente no defeito; PM: margem cervical da mucosa periimplantar; S; superfície do implante, no topo das roscas; OC: contorno da crista óssea, incluindo o ponto do biomaterial (OCbt)

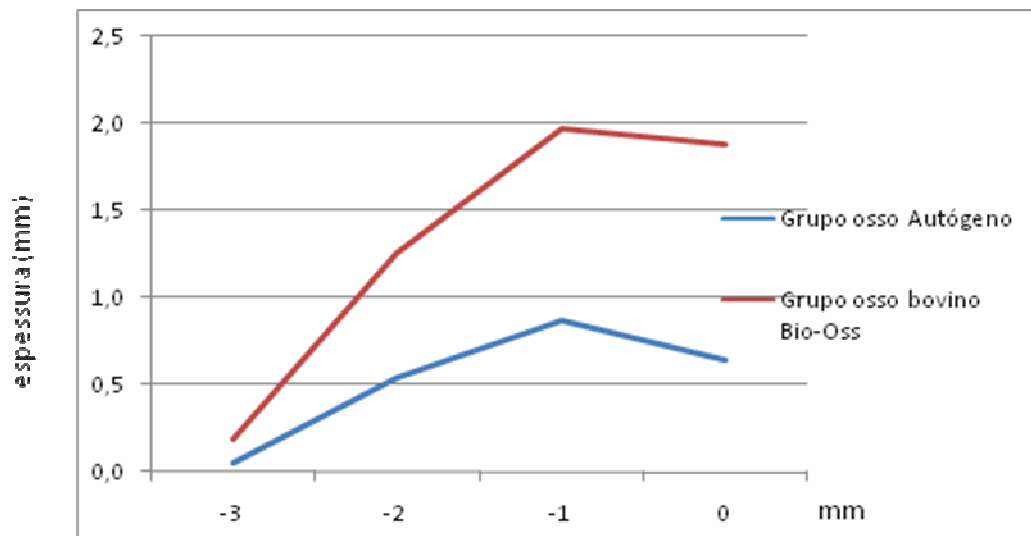


**Figura 3:** Cortes histológicos da regeneração óssea após 4 meses. Coloração Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina (12X). **a)** Grupo osso autógeno em que foi possível observar a regeneração da tábua óssea vestibular. **b)** Grupo osso bovino em que se observa a manutenção da crista óssea com a reconstrução do defeito com o biomaterial. Grande quantidade de partículas do biomaterial se apresentava incluído por tecido ósseo, formando a base do defeito (seta amarela).



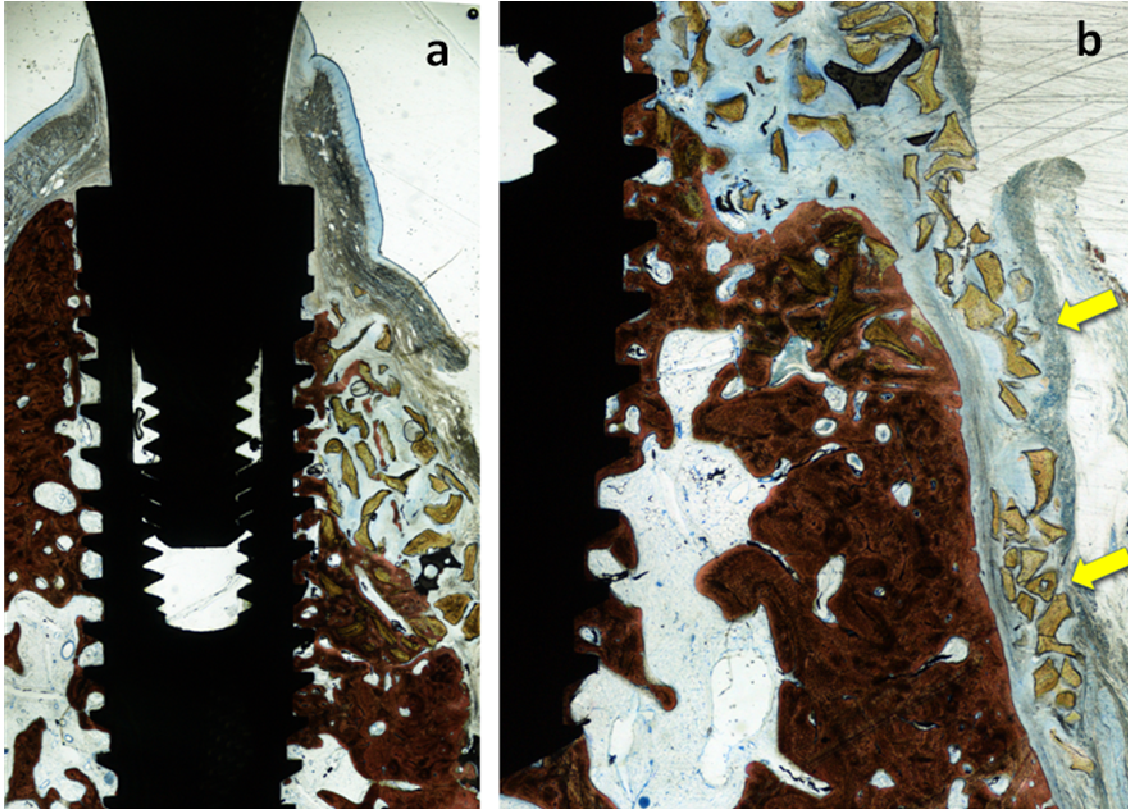
**Figura 4:** Espessura da crista óssea (tecidos duros) de 0 a 5 mm nos grupos comparados, incluindo-se ou não o biomaterial.

Gráfico representando a média dos valores da espessura da crista óssea, incluindo ou não o biomaterial, mensurada da superfície do implante (S) até OC ou de S até OCbt, iniciando-se no ponto IS correspondente a 0 mm até 5 mm apicalmente.



**Figura 5:** Espessura dos tecidos moles peri-implantares nos grupos estudados.

Gráfico que representa a média da espessura horizontal da mucosa peri-implantar medido a partir da superfície do implante até o contorno externo da mucosa peri-implantar, iniciando-se no ponto IS correspondente a 0 mm (milímetros) até 3 mm coronalmente.



**Figura 6:** Cortes histológicos de 4 meses de regeneração óssea de defeitos preenchidos por osso bovino inorgânico (Grupo OB). Azul de Stevenel e vermelho de alizarina (12X). **a)** O biomaterial apresentou-se em partes disperso no tecido conjuntivo, não envolto por tecido ósseo neoformado. **b)** O osso bovino inorgânico migrou apicalmente ao defeito (setas), influenciando na regeneração óssea do defeito.

**Tabela 1.** Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos OA e OB.

		IS-C		IS-Cbt	IS-B		S-C	
		B	L	B	B	L	B	I
<b>Grupo Osso Autógeno (OA)</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>2.3</b> (0.8)	<b>1.0</b> (0.6)	NA	<b>2.7</b> (0.7)	<b>1.6</b> (0.8)	<b>0.2</b> (0.4)	<b>0.4</b> (0.2)
	25 <sup>th</sup> ; <b>50<sup>th</sup></b> ; 75 <sup>th</sup>	1.9; <b>2.0</b> ; 2.7	0.7; <b>1.1</b> ; 1.3	NA	2.3; <b>2.6</b> ; 2.8	1.2; <b>1.8*</b> ; 2.0	-0.2; <b>0.1</b> ; 0.6	0.3; <b>0.4</b> ; 0.4
<b>Grupo Osso Bovino (OB)</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>1.7</b> (0.7)	<b>0.5</b> (0.5)	<b>1.2</b> (1.1)	<b>2.2</b> (1.0)	<b>0.8</b> (0.5)	<b>0.5</b> (0.8)	<b>0.3</b> (0.3)
	25 <sup>th</sup> ; <b>50<sup>th</sup></b> ; 75 <sup>th</sup>	1.3; <b>1.8</b> ; 2.1	0.3; <b>0.5</b> ; 0.8	0.4; <b>1.4</b> ; 2.0	1.5; <b>2.2</b> ; 2.5	0.5; <b>0.5*</b> ; 1.1	0.1; <b>0.2</b> ; 0.7	0.2; <b>0.3</b> ; 0.3

$p < 0.05$  entre os grupos OA e OB.



<b>Tabela 2.</b> Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos OA e OB.							
		<b>PM-C</b>		<b>PM-B</b>		<b>PM-IS</b>	
		<b>B</b>	<b>L</b>	<b>B</b>	<b>L</b>	<b>b</b>	<b>L</b>
<b>Osso Autógeno</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>4.3</b> (0.9)	<b>3.0</b> (0.3)	<b>4.7</b> (0.9)	<b>3.6</b> (0.4)	<b>2.0</b> (1.6)	<b>2.0</b> (0.6)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	4.1; <b>4.3</b> ; 4.7	2.7; <b>2.9*</b> ; 3.2	4.4; <b>4.8</b> ; 5.3	3.3; <b>3.4*</b> ; 4.0	1,6; <b>2.3</b> ; 2.8	1.6; <b>1.9</b> ; 2.1
<b>Osso bovino</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>4.3</b> (0.6)	<b>2.7</b> (0.3)	<b>4.8</b> (0.6)	<b>3.0</b> (0.4)	<b>2.5</b> (0.8)	<b>2.2</b> (0.4)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	3.8; <b>4.3</b> ; 4.5	2.5; <b>2.6*</b> ; 2.9	4.4; <b>4.7</b> ; 5.0	2.8; <b>3.0*</b> ; 3.3	2.3; <b>2.7</b> ; 3.1	2.1; <b>2.3</b> ; 2.4
* = p<0.05 entre os grupos osso autógeno e osso bovino; # = p<0.05 entre b-Cbt e C do grupo osso autógeno; § = p<0.05 entre b-Cbt e C no grupo osso bovino.							

Tabela 3. Mensurações histológicas após 4 meses de regeneração óssea entre os grupos OA e OB. n=7. Dados em milímetros. % Contato osso- Implante (BIC) e histomorfometria.								
		BIC %		HISTOMORFOMETRIA				
		B	L	Osso mineralizado	Osso medular	Tecido conjuntivo	Biomaterial	
O.Autógeno	Média e desvio padrão	<b>34.0</b> (12.1)	<b>38.8</b> (15.8)	<b>68.9</b> (7.5)	<b>30.3</b> (6.9)	<b>0.8</b> (0.7)		
	Porcentagem 25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	27.0; <b>29.6</b> ; 37.3	30.9; <b>38.3</b> ; 45.5	65.6; <b>70.8*</b> ; 73.4	25.7; <b>29.2</b> ; 33.3	0.3; <b>07*</b> ; 1.4		
O.Bovino	Média e desvio padrão	<b>43.5</b> (18.9)	<b>23.0</b> (17.2)	<b>23.0</b> (17.2)	<b>42.6</b> (5.9)	<b>37.2</b> (9.4)	<b>6.6</b> (10,1)	<b>13.5</b> (7.6)
	Porcentagem 25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	34.4; <b>39.0</b> ; 53.3	11.4; <b>17.9</b> ; 26.3	11.4; <b>17.9</b> ; 26.3	38.9; <b>45.4*</b> ; 46.5	30.2; <b>32.9</b> ; 41.9	2.4; <b>3.4*</b> ; 3.9	9.7; <b>16.4</b> ; 18.7
Média , desvio padrão e porcentagem a 25 <sup>th</sup> , 50 <sup>th</sup> (mediana) e 75 <sup>th</sup> . b= bucal/ vestibular, l= lingual, IS=pescoço do implante, C= topo da crista óssea alveolar; Cbt= porção de tecido duro localizado mais cervical ao implante, B= contato-osso-implante mais cervical <i>p &lt; 0.05 entre osso autógeno e osso bovino</i>								

## *3. CAPÍTULO 2:*

*Preenchimento de defeitos naturais circunferenciais  
com Bone Ceramic® em implantes pós-exodônticos.*

*Análise histomorfométrica em cães.*

**Periódico:** "Clinical Oral Implants Research" (Anexo B)

### *3.1. RESUMO*

Pereira FP. Preenchimentos de defeitos naturais circunferenciais com Bone Ceramic® em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfométrica em cães. [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2013.

### **3.1 Resumo**

**Objetivo:** A proposta deste estudo foi avaliar a regeneração óssea de defeitos (gaps) naturais de implantes pós-exodônticos, preenchidos ou não por biomaterial.

**Materiais e método:** Para este estudo foram utilizados 8 cães da raça labrador, nos quais foram instalados implantes imediatos (pós-exodônticos) nos alvéolos dos dentes M1 (1º molares inferiores) bilateralmente. Após a instalação dos implantes, os gaps (defeitos naturais) existente entre a tábua óssea vestibular e o implante, foram preenchidos por Bone Ceramic® - (grupo BC) ou somente coágulo (grupo COA), recobertos por membrana de colágeno reabsorvível (Biogide®) e mantidos com cicatrizador. Após 4 meses de pós-operatório, os animais foram eutanasiados e os blocos ósseos processados laboratorialmente para análise histomorfométrica.

**Resultados:** Os resultados mostraram que o gap vestibular horizontal foi de 1.1 (COA) e 1.4 mm (BC) e vertical de 3 e 4 mm nos sítios COA e BC respectivamente. No lado vestibular, os valores do IS-C foram maiores no grupo COA ( $0.6 \pm 1.6$ mm) que no BC ( $0.1 \pm 1.8$ mm) e o IS-B foi de  $1.2 \pm 0.7$ mm (COA) e  $1.5 \pm 1.8$ mm (BC). As mensurações dos tecidos moles PM-C, PM-B e PM-IS foram de  $4.7 \pm 1.4$ mm,  $5.3 \pm 1.5$ mm,  $4.1 \pm 0.6$ mm e  $4.0 \pm 1.0$ mm,  $5.5 \pm 1.3$ mm,  $3.9 \pm 1.1$ mm no grupo COA e BC respectivamente. No lado vestibular o %BIC foi

de  $36.4 \pm 17.3\%$  (COA) e  $34.9 \pm 25.9\%$  (BC) e na lingual de  $42 \pm 16.1\%$  (COA) e  $37.4 \pm 23.7\%$  (BC). Não houve diferenças estatisticamente significativas.

**Conclusão:** Em defeitos naturais obtidos após a instalação de implantes pós-exodônticos, não houve diferenças durante o processo de regeneração óssea no preenchimento com Bone Ceramic® ou somente com coágulo.

**Palavras-chave:** estudo animal, regeneração óssea; alvéolo dental, osseointegração; implantes imediatos, defeitos peri-implantares, substitutos ósseos, Bone-ceramic

## *3.2. ABSTRACT*

PEREIRA, FP. Bone Ceramic ® in residual marginal defects at implants placed immediately into extraction sockets. A histomorphometric analysis in dogs. [ thesis ] . Araçatuba: UNESP – Univ Estadual Paulista; 2013.

### **3.2 Abstract**

**Objective:** To evaluate the healing of buccal defects at implants placed immediately into extraction sockets (IPIES) filled with Bone Ceramic ® or left with the clot alone.

**Material and methods:** Eight Labrador dogs were used and implants were placed immediately into the extraction sockets of M1 (first molar), bilaterally. Bone Ceramic ® at the test (BC) or the clot alone (COA) were used to fill the defects. All surgical sites were subsequently covered by a resorbable collagen membrane and a non-submerged healing was allowed . After 4 months the animals were euthanized, bone blocks harvested and processed for histomorphometric analysis .

**Results:** At the time of installation, the horizontal buccal gap was 1.1 at the COA and 1.4 mm at the BC sites while the vertical remaining defect was 3 mm and 4 mm deep in the control and test sites, respectively. At the buccal aspect, IS-C was higher in the COA ( $0.6 \pm 1.6\text{mm}$ ) compared to the BC ( $0.1 \pm 1.8\text{mm}$ ) groups and IS- B was  $1.2 \pm 0.7\text{mm}$  at the COA and  $1.5 \pm 1.8\text{mm}$  at the BC groups. PM-C, B-AM and PM-IS was  $4.7 \pm 1.4\text{mm}$ ,  $5.3 \pm 1.5\text{mm}$ ,  $4.1 \pm 0.6\text{mm}$  and  $4.0 \pm 1.0\text{mm}$ ,  $5.5 \pm 1.3\text{mm}$ ,  $3.9 \pm 1.1\text{mm}$  in the COA and BC groups, respectively. At the buccal aspects, BIC% s was  $36.4 \pm 17.3\%$  and  $34.9 \pm 25.9\%$  in the COA and BC groups, respectively. At the lingual aspect, BIC% was  $42 \pm 16.1\%$  and  $37.4 \pm 23.7\%$  in the COA and BC groups, respectively. No statistically significant differences were found.



**Conclusions:**The use of Bone Ceramic ® to fill residual buccal defects at IPIES sites or leaving the clot alone yielded similar results.

**Keywords :** animal study , bone regeneration , dental socket , osseointegration, immediate implants , peri-implant defects , bone substitutes , Bone- ceramic

### *3.3 INTRODUÇÃO*

### **3.3 Introdução <sup>4</sup>**

Mesmo em situações adversas, a instalação de implantes pós-exodôntico (IPIES - Implants placed immediately into extraction sockets) apresenta-se como uma alternativa clínica atrativa por apresentar algumas vantagens dentre as quais: melhor preservação dos tecidos ósseo e gengival, menor risco de necrose óssea por se realizar menos osteotomias durante o preparo do sítio cirúrgico, facilitação da técnica, uma vez que a anatomia do alvéolo funciona como um guia para o correto posicionamento do implante, além da redução do tempo cirúrgico e do período de remodelação óssea.

Apesar da melhor preservação dos tecidos, a reabsorção fisiológica do rebordo alveolar que ocorre após as exodontias (Tan et al. 2012) não é totalmente evitada pela instalação imediata de implantes nos alvéolos (Botticelli et al 2004; Araújo et al 2005, Wang Lang & 2012; Sicilia e Botticelli 2012), por isto, cada vez mais se tem indicado o uso de biomateriais para preencher o defeito vestibular residual no alvéolo, que ocorre frequentemente entre o implante e a tábua óssea alveolar (Wilson et al.1998, Lang et al. 2007).

Quando foram utilizados implantes de maior diâmetro, com o objetivo de diminuir os gaps existentes no alvéolo, foi observado uma maior reabsorção da crista óssea vestibular, comparada a sítios em que se utilizaram implantes de diâmetros convencionais (Caneva et al. 2012). Isto ocorre porque o uso de implantes maiores proporciona um contato mais próximo da tábua óssea vestibular com a superfície do implante. Assim, quanto maior a superfície do

---

<sup>4</sup> Artigo preparado segundo as normas do periódico "Clinical Oral Implants Research"

implante em contato com a tábua óssea vestibular, maior a exposição do implante acima dessa crista óssea (Caneva et al 2010;. Tomasi et al 2010).

Vários estudos clínicos (Cornelini et al. 2004; Chen et al. 2007) e em animais (Araújo et al. 2011; Caneva et al. 2010, 2011, 2012) mostraram que o preenchimento do alvéolo com osso bovino inorgânico pode atuar de forma benéfica preservando o volume da crista óssea alveolar. No entanto, o tamanho do gap é uma variável importante a ser considerada, pois em defeitos horizontais menores observou-se uma melhor preservação da crista óssea vestibular após o preenchimento com o biomaterial (Caneva et al. 2012; Favero et al. 2011, 2012b).

Apesar dos estudos já realizados, os resultados em relação aos benefícios e vantagens do uso do biomaterial no preenchimento de defeitos vestibulares (gaps) após a instalação de implantes pós-exodônticos ainda apresentam-se controversos.

Existem inúmeros biomateriais disponíveis no mercado, recentemente surgiu o Bone Ceramic ® que consiste em uma mistura de 60% de hidroxiapatita (HA) sintética e 40% de  $\beta$  tricálcio fosfato (TCP). Apesar de recente, este substituto ósseo já foi testado em estudos clínicos (Mardas et al 2011; Frenken et al. 2010; Cordaro et al. 2008; Froum et al. 2008; De Coster et al. 2011) e em animais (Antunes et al. 2013; Zambon et al 2012; Rokn et al. 2011). No entanto, os resultados em relação aos benefícios e vantagens do uso deste biomaterial no preenchimento de defeitos vestibulares (gaps) após a instalação de implantes pós-exodônticos ainda se apresentam controversos.

### *3.4. PROPOSIÇÃO*

### **3.4 Proposição**

Este estudo teve como objetivo avaliar a ação do substituto ósseo Bone Ceramic® em defeitos previamente existentes em alvéolos (“gaps” naturais) após a instalação de implantes pós-exodônticos (imediatos) associados a membrana de colágeno, durante o processo de regeneração óssea em mandíbula de cães, por meio da análise histomorfométrica.

### *3.5. MATERIAIS E MÉTODOS*

### **3.5 Materiais e métodos**

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP sob o nº de protocolo 05417/2010 (anexo A)

Para este estudo foram utilizados 8 cães machos, de mesma ninhada, adultos jovens da raça Labrador, com idade aproximada de 24 meses, com peso aproximado de 30 Kg (quilos). Os animais foram mantidos em lojas individuais com dieta padrão, ração pastosa (Faro, Primor) e água *ad libitum* no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, observando-se os cuidados diários de manipulação, limpeza e alimentação, realizados por pessoal treinado. Todos os animais receberam a vacinação anti-rábica (Rasad, Lema Biologic do Brasil Ltda, Contagem, MG, Brasil), as vermifugações com pamoato de pirantel/praziquantel (Drontal, Bayer S.A. Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 1 comprimido/10 kg, via oral, e 1 ml/50 kg de ivermectina (Imectin, Irfa – Química e Biotecnologia Industrial Ltda. Porto Alegre, RS, Brasil), via subcutânea, além de hemogramas para controle de saúde.

#### **3.5.1 Cirurgia Experimental (procedimento cirúrgico)**

Os animais foram mantidos em jejum durante 8 horas prévias ao procedimento cirúrgico. Inicialmente receberam uma pré-anestesia constituída de uma injeção intramuscular da associação dos medicamentos Acepran® (0,05 mg / Kg Univet-Vetnil, São Paulo, Brasil) e Ketamina®, (Cristália, São Paulo, Brasil) na proporção de 1/1 ml, com finalidade de sedá-los, tornando-os



dóceis e receptivos às manobras da anestesia. Em seguida, foi realizada a sedação pela administração endovenosa de uma solução contendo Zoletil® 10 mg / Kg (Virbac, EUA) e Xilazina® (1 mg / Kg Cristália, São Paulo, Brasil). Os animais foram mantidos com acesso venoso realizado com cateter 22 (nipro), pelo qual foi administrado Solução de Ringer com Lactato (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil) durante todo o período experimental. Quando necessário, a anestesia foi complementada com Ketamine®, (¼ da dose de 10 mg / Kg, Cristália, São Paulo, Brasil) para manter o efeito durante todo o período operatório. Após a sedação dos animais, foi realizada a anti-sepsia da região extra-oral com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil), da região intra-oral com PVPI tópico e aposição dos campos cirúrgicos.

Após anestesia local com cloridrato de mepivacaína 0.3 ml/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000 (Septodont, França) para auxiliar na hemostasia do campo operatório, foi realizada a incisão intra-sulcular com lâmina número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão) na região dos 1º molares (M1) inferiores bilaterais.

Como descrito por Caneva et.al (2010), na primeira etapa do procedimento foi realizado o tratamento endodôntico das raízes mesiais dos 1º molares inferiores bilateralmente, por meio da abertura coronária, pulpectomia, instrumentação, irrigação abundante e obturação dos canais radiculares com guta-percha e cimento endodôntico (Mtwo®, Endopocket®, Efill®, Sweden & Martina, Due Carrare, Padova, Italy) e restauração com resina composta (Adonis®, Sweden & Martina, Due Carrare, Padova, Italy).

Em seguida foi realizada a extração das raízes distais (juntamente com a porção da coroa correspondente) dos 1º molares inferiores, através de osteotomia e seccionamento das raízes com broca Carbide 702 longa montada em alta rotação e luxação com extrator reto e fórceps adaptado.

Nos alvéolos distais remanescentes foram instalados lingualmente seguindo-se o protocolo do sistema adotado, implantes de 5,0 (diâmetro) x 11,5 mm (comprimento) (Alvim CM, Neodent, Curitiba Paraná, Brasil - com superfície duplamente tratada - jateamento e ataque ácido), cuja estabilidade inicial foi obtida por meio do travamento apical (Fig.1a).

Após a instalação dos implantes, foi mensurado o gap (defeito) horizontal e vertical entre a superfície do implante e as tábuas ósseas vestibular e lingual com auxílio de uma sonda milimetrada (Fig.1b) (Hu-Friedy, Chigago, IL, USA).

Na região dos alvéolos distais das raízes dos molares, o gap formado entre a superfície do implante e a tábua óssea vestibular foi preenchido no lado esquerdo por Bone Ceramic ® (Straumann) composto por 60% de hidroxiapatita (HA) e 40% de  $\beta$ -TCP (tricálcio fosfato) e no lado direito por coágulo.

Assim, foram obtidos 2 grupos, os quais foram comparados:

- a) M1 D (direito) – COA (coágulo)
- b) M1E (esquerdo) – BC (Bone Ceramic ®)

Em todos os grupos, após o preenchimento dos defeitos, os mesmos foram recobertos por membranas de colágeno reabsorvível (Fig.1c) (Bio-Gide®; Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland), e sobre os implantes foram rosqueados cicatrizadores de 4,5 (diâmetro) x 3,5 mm (altura)

(Neodent, Curitiba Paraná, Brasil) para que os mesmos não permanecessem submersos durante o processo de regeneração óssea. Os retalhos foram reposicionados e suturados com pontos contínuos e interrompidos com fio absorvível Vycril 4.0 (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil) (Fig.1d).

No pós-operatório, os animais receberam Pentabiótico IM® (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) em dose única, analgésico/antiinflamatório (Banamine®, Schering-Plough Animal Health, Campinas, Brazil). A dieta dos animais manteve-se líquida - pastosa durante todo o período experimental, com higienizações da boca através de escovação e aplicação de antisséptico bucal (clorexidina 0,12 %).

As feridas cirúrgicas foram limpas e inspecionadas durante todo o período experimental, três vezes por semana.

### **3.5.2 Eutanásia e coleta do material**

Decorridos 4 meses pós-operatório, os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia por meio de dose excessiva do anestésico tiopental (Cristalia Ltd., Campinas, Brazil), e perfusão através da artéria carótida com solução de formaldeído 4%. Os blocos ósseos foram seccionados com auxílio de serra manual, destacados da mandíbula, e removidos o excesso de tecido mole.

Os blocos ósseos individualizados contendo os implantes e tecidos moles e duros peri-implantares foram fixados em solução de formaldeído 4%.

Após fixação, as peças passaram pela etapa de desidratação com uma seqüência crescente de álcoois (70, 80,90 e 100), com a troca da solução a cada 3 dias, sendo agitadas (Agitador orbital, Kline CT-150, Cientec – equipamentos para laboratório) todos os dias, durante 4 horas. Ao término da desidratação as peças foram imersas em resina LR White® hard grade, London Resin Company Ltd, Berkshire, UK). Os blocos foram cortados no sentido vestibulo-lingual usando um disco diamantado e uma máquina de corte de precisão (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany), obtendo-se cortes com espessura de 50-60µm, que foram corados com azul de Stevenel's e vermelho de alizarina para análise histomorfométrica em microscópio óptico.

### **3.5.3 Avaliação histomorfométrica**

Por meio de uma câmera digital Nikon Digital DS-Fi2 (Nikon Corporation, Tóquio, Japan) acoplada a um microscópio Eclipse Ci, utilizando-se o software NIS Elements versão 4.1 (Nikon) obteve-se as imagens, nas quais foram definidos os pontos (marcações), referência para a histometria.

Para isto, foram criadas algumas abreviaturas para identificar as regiões de referência a serem analisadas (Figura 2):

- IS: região cervical do implante (pescoço)
- B: ponto mais cervical de contato entre o osso e o implante
- C: topo da crista óssea adjacente ao implante
- Cbt: topo dos tecidos duros (bt), no qual é considerado o tecido ósseo ou biomaterial remanescente no defeito.
- PM: margem cervical da mucosa peri-implantar

- S: superfície do implante, no topo das roscas
- OC: contorno da crista óssea, incluindo o ponto do biomaterial (OCbt)

Foram obtidas em aumentos de 100 X as medidas verticais entre IS-B, IS-C, IS-Cbt, PM-IS; e a distância horizontal S-C. A partir destas medidas, calculou-se o valor de C-B.

Também foi obtida a espessura da crista óssea alveolar do ponto S até OCbt, começando-se do IS (0 mm), até 5 mm apicalmente ao implante, em aumentos de 40X. A espessura da mucosa peri-implantar foi mensurada iniciando-se no IS (0 mm) e em direção cervical e apical até 3 mm. Para esta mensuração foi utilizada uma grade de 1 mm, considerando o IS o ponto 0.

Com aumento de 100 X, foi calculado o contato osso-implante (%BIC), mensurando-se toda extensão do implante do lado vestibular e lingual (100%) a partir do ponto IS e toda extensão de contato do osso com a superfície do implante, incluindo nesta mensuração o contato de remanescentes dos biomateriais com o implante.

Com aumento de 200X e por meio da sobreposição na região de uma grade de 50  $\mu$ m foi calculada a porcentagem de osso mineralizado, osso não mineralizado (osso medular), biomaterial remanescente e tecido conjuntivo na região vestibular (Figura 8), iniciando-se do ponto OCbt em direção apical ao implante.

#### **3.5.4 Análise estatística**

Em cada grupo foram calculadas as médias, desvios-padrão e as porcentagens a 25<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> (mediana) e 75<sup>th</sup>, diferenças de valores entre os

grupos COA e BC foi analisada por meio do teste de Wilcoxon usando o software SPSS Statistics 19 (IBM® Inc. Chicago IL, USA), com nível de significância de  $p=0.05$ .

## *3.6 RESULTADOS*

## **3.6 Resultados**

### **3.6.1 Avaliação clínica**

Após a instalação dos implantes, foi observado um gap horizontal vestibular de 1.1 e 1.4 mm e vertical de 3 e 4 mm nos grupos coágulo (COA) e Bone ceramic® (BC) respectivamente. No grupo COA, a região do pescoço do implante (IS) localizou-se em média a 0.5 mm da crista óssea vestibular e a 2.5 mm da lingual. No grupo BC, na vestibular o IS estava a 0.4 mm e 2.4 mm na lingual.

### **3.6.2 Avaliação histomorfométrica**

Durante o processamento histológico os tecidos se apresentaram preservados, no entanto um implante do lado esquerdo (Bone Ceramic) não se apresentou integrado ao tecido ósseo, motivo pelo qual foi excluído da amostra, juntamente com o implante contralateral.

A distância média do IS-C no lado vestibular foi discretamente maior no grupo COA ( $0.6 \pm 1.6$ mm) que no grupo BC (BC;  $0.1 \pm 1.8$ mm), no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa. As partículas de Bone Ceramic® foram encontradas acima da crista óssea a uma distância média de IS-Cbt de  $-1.3 \pm 0.4$ mm no grupo BC.

No lado vestibular, a média dos valores do IS-B foi de  $1.2 \pm 0.7$ mm (grupo COA) e  $1.5 \pm 1.8$ mm (grupo BC), sem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 1).



Após a instalação dos implantes, observou-se a presença de pequenos defeitos residuais marginais no lado vestibular e lingual. As dimensões dos tecidos moles peri-implantares no lado vestibular foram maiores no grupo BC comparado ao grupo COA (Tabela 2), no entanto, sem diferenças estatisticamente significativas. A média dos valores de PM-C, PM-B e PM-IS foi de  $4.7\pm 1.4\text{mm}$ ,  $5.3\pm 1.5\text{mm}$ ,  $4.1\pm 0.6\text{mm}$  e  $4.0\pm 1.0\text{mm}$ ,  $5.5\pm 1.3\text{mm}$ ,  $3.9\pm 1.1\text{mm}$  nos grupos COA e BC respectivamente (Figuras 3 e 4).

A análise histomorfométrica revelou que os valores médios do BIC% no lado vestibular foram de  $36.4\pm 17.3\%$  (COA) e  $34.9\pm 25.9\%$  (BC) e na lingual de  $42\pm 16.1\%$  (COA) e  $37.4\pm 23.7\%$  (BC), sem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 3),

Na figura 5 é possível observar a neoformação óssea que ocorreu tanto no grupo COA como BC e o osso em contato com o implante no terço médio e apical. No grupo BC notou-se a presença de uma pequena quantidade de remanescente do biomaterial.

Nos limites definidos pelo OCbt foi observado no grupo BC uma média de  $2.1\pm 2.3\%$  de partículas de Bone Ceramic®. A pequena quantidade de Bone Ceramic® se apresentava envolvida por tecido conjuntivo. Observou-se maior quantidade de tecido ósseo mineralizado no grupo COA ( $52.3\pm 18.9\%$ ) do que no BC ( $43.5\pm 13.6\%$ ), contudo, sem diferença estatisticamente significativa. Foi evidenciada pequena quantidade de tecido conjuntivo no grupo COA ( $1.6\pm 1.3\%$ ) e no BC ( $4.0\pm 4.6$ ), sem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 3).

## *3.7 DISCUSSÃO*

### **3.7 Discussão**

Neste estudo os defeitos vestibulares (defeitos naturais) formados após a instalação de implantes pós-exodônticos (IPIES) foram preenchidos por Bone Ceramic ® (BC) de um lado ou somente por coágulo (COA) 3 protegido por membrana. Após 4 meses de regeneração óssea, as mensurações dos tecidos moles e duros peri-implantares não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos analisados.

O uso do biomaterial para preenchimento de defeitos vestibulares após a instalação de implantes em alvéolos pós-exodônticos já foi estudado por diferentes autores, particularmente quando os defeitos apresentavam um gap horizontal de 1 a 2 mm (Wilson et al. 1998; Lang et al.2007). Neste estudo, o defeito vestibular horizontal foi de 1.1 mm no grupo coágulo (COA) e de 1.4 mm no grupo Bone-Ceramic®. Apesar da indicação de procedimentos regenerativos com o uso de biomateriais e membrana nestes tipos de defeitos, os resultados mostraram que o grupo COA, em que foi utilizado somente a membrana, não apresentou desvantagens em relação ao grupo preenchido por Bone Ceramic ® e membrana.

Os resultados deste estudo estão de acordo com o experimento em implantes pós-exodônticos (IPIES) em cães de Araújo et al., (2011), no qual defeitos horizontais de 1 a 2 mm na vestibular foram preenchidos por Bio-oss® (teste) ou somente por coágulo (controle). Os melhores resultados foram observados no grupo teste, no entanto, esta diferença pode ter sido influenciada em razão da diferença da dimensão do defeito vestibular (1 a 2 mm), e da posição de instalação do implante em relação à tábua óssea vestibular

Em uma análise multivariada (Tomasi et al. 2010), baseada em estudos clínicos multicêntricos (Sanz et al. 2010) concluiu-se que quando o implante é posicionado lingualmente, há um menor contato da superfície do implante com a tábua óssea vestibular durante o processo de osseointegração.

Estes achados concordam com os resultados do experimento em implante pós-exodônticos em cães (Favero et al. 2012b), no qual se avaliou a influência da presença da raiz do dente adjacente ao implante. No grupo teste, foram extraídas ambas as raízes dos terceiros (P3) e quarto (P4) pré-molares e no grupo controle foi realizada a extração das raízes distais e tratamento endodôntico das mesiais. Na região dos terceiros pré-molares (P3) os implantes foram instalados em posição central e nos quarto pré-molares (P4) lingualmente, obtendo-se defeitos vestibulares de 0.2 a 0.4 mm na região dos P3 e de 1.5–1.7 mm nos P4. Analisando-se os tecidos peri-implantares no lado vestibular, os implantes posicionados lingualmente no alvéolo se apresentaram menos expostos na região cervical e não apresentaram diferenças em relação a presença ou não de dentes adjacentes.

Nos estudos em defeitos vestibulares preenchidos com biomateriais e protegidos por membranas, o tamanho do gap horizontal é de fundamental importância nos resultados. No estudo de Caneva et al (2012), em que foram obtidos defeitos pós-exodônticos vestibulares horizontais de 0.6mm, que foram preenchidos por Bio-Oss® e membrana de colágeno no grupo teste e somente por coágulo no grupo controle, observou-se que após 4 meses de regeneração óssea, os resultados mostraram uma melhor preservação da tábua óssea vestibular e o posicionamento da crista óssea mais cervical no grupo teste. Além disso, a análise das variações dimensionais realizadas em modelos de

gesso antes das extrações dentárias e no momento da eutanásia mostrou que houve uma diminuição acentuada (dobro) do volume dos tecidos no lado vestibular no grupo controle quando comparado ao grupo teste.

Em outro experimento com implantes imediatos em cães (Favero et al. 2012a), defeitos vestibulares horizontais (naturais) de aproximadamente 1,7 mm, foram preenchidos por partícula de Bio-oss® (osso bovino inorgânico) e membrana de colágeno (grupo teste), e do outro lado não houve qualquer tratamento (grupo controle). Após 3 meses de regeneração foram observados resultados semelhantes entre os sítios de implante em relação às dimensões da crista óssea e o nível de osseointegração. Concluiu-se que, neste tipo de defeito, a utilização de procedimentos regenerativos com partículas de osso bovino (Bio-oss®) e membrana de colágeno não apresentou vantagens significativas.

No estudo de Favero et al. de (2012b), foram instalados implantes nos alvéolos frescos dos 1º molares inferiores de cães, obtendo-se defeitos horizontais de 2,5 mm (grupo teste) e 2,7 mm (grupo controle). Como no estudo já citado, somente no grupo teste o defeito vestibular foi preenchido por partículas de osso bovino inorgânico (Bio-oss®) e membrana de colágeno. Após 3 meses, os melhores resultados foram observados no grupo que não recebeu qualquer tipo de procedimento regenerativo.

Neste estudo, o gap horizontal foi de 1,1 mm no grupo BC e de 1,4 mm no grupo COA. O uso de biomateriais associado à membrana de colágeno não apresentou melhores resultados quando comparado ao grupo tratado somente com membrana, em concordância com o estudo descrito anterior, cujas dimensões dos defeitos apresentaram-se semelhantes (Favero et al. 2012b).

Vários estudos clínicos utilizando o Bone Ceramic ® relataram bons resultados (Mardas et al 2011; Frenken et al 2010;. Cordaro et al 2008;. Froum et al 2008). No experimento de De Coster et al.(2011), o Bone Ceramic ® foi utilizado para preencher alvéolos pós-extração e os resultados foram comparados com os alvéolos não tratados (controle). Foram observadas menor quantidade de osso neoformado e maior quantidade de tecido conjuntivo frouxo nos grupos com biomaterial comparado ao grupo controle. Concluiu-se que o Bone ceramic ® utilizado como material de preenchimento de alvéolos atrasou o processo de reparo alveolar.

Também foram realizados diferentes estudos em animais com Bone Ceramic ® (Antunes et al. 2013; Zambon et al. 2012; Rokn et al 2011), apresentando resultados diferentes para cada metodologia empregada. No estudo de Zambon et al. (2012) em minipigs, observou-se melhores resultados em defeitos do tipo deiscência ao redor dos implantes preenchidos com Bone Ceramic ®. Rokn et al. (2011) conclui que no preenchimento de defeitos criados em calota de coelhos não foram observadas diferenças utilizando o Bone Ceramic ®, Bio-Oss ou somente coágulo. Já na regeneração óssea de implantes imediatos com defeitos em mandíbula de cães, Antunes et al. (2013), observou um maior contato osso-implante naqueles sítios preenchidos somente por coágulo quando comparados aos sítios tratados com Bone Ceramic ® ou Bio-Oss ®.

Neste estudo, foi observado pouco biomaterial na análise histomorfométrica (2,1%). Este achado está de acordo com outros ensaios semelhantes em cães nos quais foi inserido biomaterial em defeito vestibulares naturais de implantes pós-exodônticos. Apenas 1,4-4,7% do biomaterial foi

encontrado após 3 meses de regeneração (Favero et al. 2012a, b), o que pode estar relacionado com os processos de reabsorção (Busenlechner et al. 2012) ou a um deslocamento do biomaterial durante o processo de regeneração óssea.

## *3.8 CONCLUSÃO*



### **3.8 Conclusão**

Conclui-se que em defeitos naturais (gaps) obtidos após a instalação de implantes pós-exodônticos (IPIES), o preenchimento por Bone Ceramic® e membrana de colágeno ou somente por membrana de colágeno apresentou resultados semelhantes.

## *3.9 REFERÊNCIAS*

### 3.9 Referências <sup>5</sup>

Antunes, A.A., Oliveira Neto, P., De Santis, E., Caneva, M., Botticelli, D. & Salata, L.A. (2013) Comparisons between Bio-Oss(®) and Straumann(®) Bone Ceramic in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects. *Clinical Oral Implants Research* **24**:135-42.

Araújo, M.G., Linder, E. & Lindhe, J. (2011) Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **22**:1-8.

Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**:645-52.

Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:820-8.

Busenlechner D., Tangl S., Arnhart C., Redl H., Schuh C., Watzek G., Gruber R. (2012) Resorption of deproteinized bovine bone mineral in a porcine calvaria augmentation model. *Clinical Oral Implants Research* **23**:95-9.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Scombatti, Souza S.L., Carvalho, Cardoso L. & Lang N.P. (2010) Collagen membranes at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**:891-7.

Caneva, M., Botticelli, D., Morelli, F., Cesaretti, G., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2011) Alveolar process preservation at implants installed immediately into

---

<sup>5</sup> Artigo preparado segundo as normas do periódico "Clinical Oral Implants Research"

extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral - an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**:789-96.

Caneva, M., Botticelli, D., Pantani, F., Baffone, G.M., Rangel, I.G. Jr & Lang N.P. (2012) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**:106-12.

Chen, S.T., Darby, I.B.& Reynolds, E.C. (2007) A prospective clinical study of non-submerged immediate implants: clinical outcomes and esthetic results. *Clinical Oral Implants Research* **18**(5):552-62.

Cordaro, L., Bosshardt, D.D., Palattella, P., Rao, W., Serino, G. & Chiapasco M. (2008) Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **19**:796-803.

Cornelini, R., Cangini, F., Martuscelli, G. & Wennstrom, J. (2004) Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membrane to support healing following immediate placement of transmucosal implants: a short-term controlled clinical trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **24**: 555–563.

De Coster, P., Browaeys, H.& De Bruyn H. (2011) Healing of extraction sockets filled with BoneCeramic® prior to implant placement: preliminary histological findings. *Clin Implant Dent Relat Res.* **13**:34-45.

Favero, G., Botticelli, D., Favero, G., García, B., Mainetti, T.& Lang, N.P. (2011) Alveolar bony crest preservation at implants installed immediately after tooth extraction: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**:7-12.

Favero, G., Lang, N.P., Favero, G., León, I.G., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012a) Role of teeth adjacent to implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **23**:402-8.

Favero, G., Lang, N.P., De Santis, E., Gonzalez, B.G., Schweikert, M.T. & Botticelli D. (2012b) Ridge preservation at implants installed immediately after molar extraction. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**(3):255-61.

Frenken, J.W., Bouwman, W.F., Bravenboer, N., Zijdeveld, S.A., Schulten, E.A. & Ten Bruggenkate, C.M. (2010) The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period *Clinical Oral Implants Research* **21**:201-8.

Froum, S.J., Wallace, S.S., Cho, S.C., Elian, N. & Tarnow, D.P. (2008) Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **28**:273-81.

Lang et al. 2007

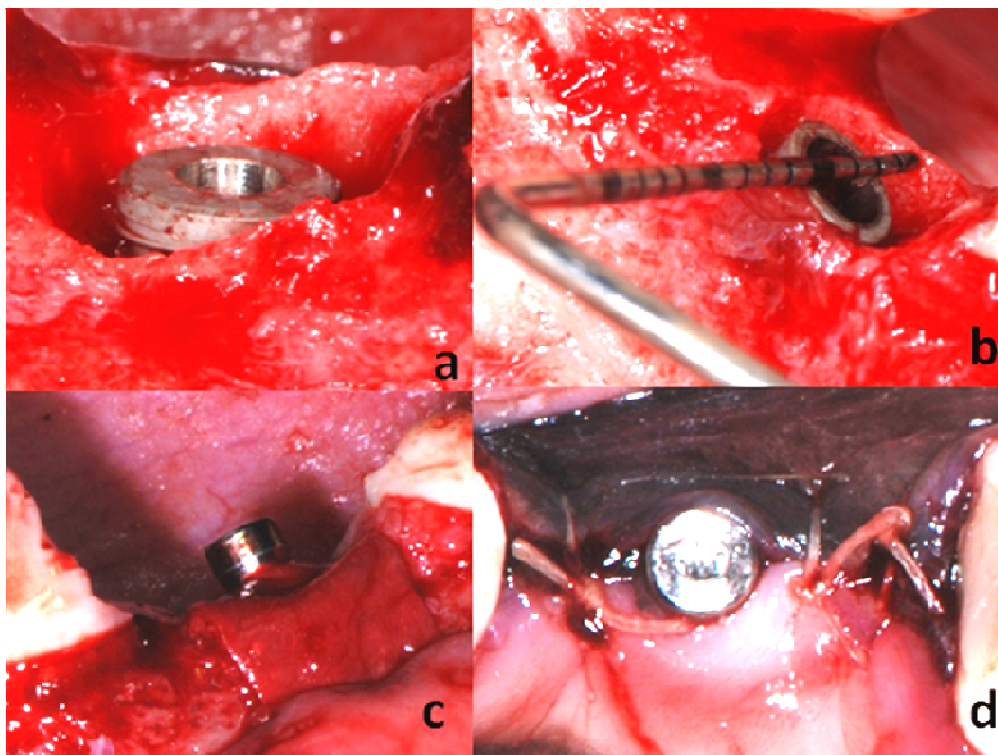
Mardas, N., D'Aiuto, F., Mezzomo, L., Arzoumanidi, M. & Donos, N. (2011) Radiographic alveolar bone changes following ridge preservation with two different biomaterials. *Clinical Oral Implants Research* **22**:416-23.

Rokn, A.R., Khodadoostan, M.A., Ghahroudi, A.A.R.R., Motahhary, P., Fard, M.J.K., Bruyn, H.D., Afzalifar, R., Soolar, E. & Soolari, A. (2011) Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. *The Open Dentistry Journal.* **5**:96-104.

- Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E.B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized- controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 13–21.
- Sicilia, A. & Botticelli, D.(2012) Working Group 3. Computer-guided implant therapy and soft- and hard-tissue aspects. The Third EAO Consensus Conference 2012. *Clinical Oral Implants Research* **23**:157-61.
- Tan, W.L., Wong, T.L.T., Wong, M.C.M., Lang, N.P. (2012) A systematic review of post-extractonal alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research* **23**(5): 1–21.
- Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevelmultivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 30–36.
- Wang R.E. & Lang N.P.(2012) Ridge preservation after tooth extraction. *Clinical Oral Implants Research* **23**:147-56.
- Wilson T.G. Jr, Schenk R., Buser D., Cochran D. (1998)Implants placed in immediate extraction sites: a report of histologic and histometric analyses of human biopsies. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **13**:333-41.
- Zambon, R., Mardas, N., Horvath, A., Petrie, A., Dard, M., & Donos, N. (2012) The effect of loading in regenerated bone in dehiscence defects following a combined approach of bone grafting and GBR. *Clinical Oral Implants Research* **23**:591-601.

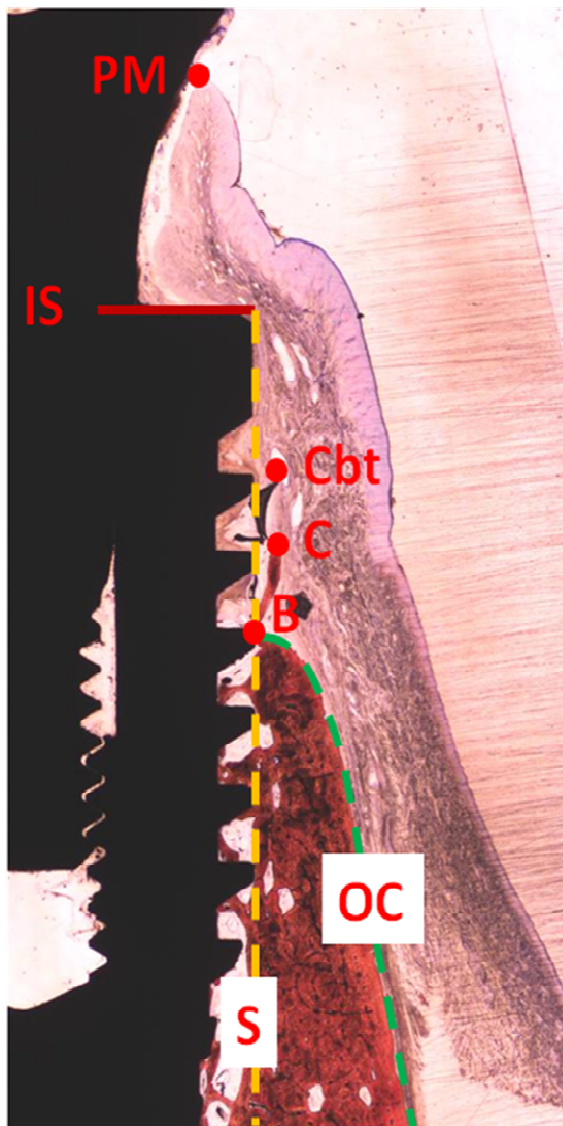
*FIGURAS*

## Figuras

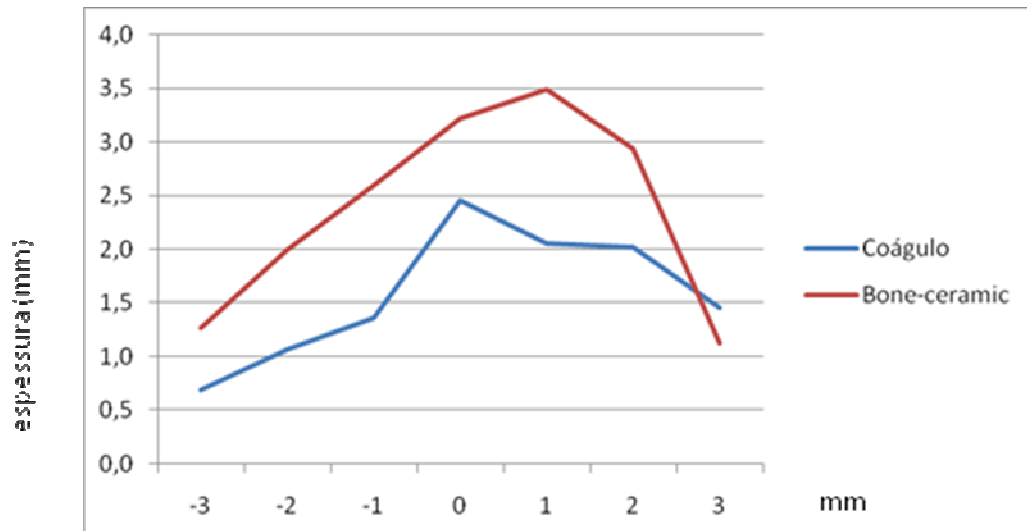


**Figura 1** a) Instalação do implante na região do 1º molar inferior; b) Implante posicionado lingualmente e ligeiramente abaixo da crista óssea; c) Preenchimento do defeito (gap) na vestibular com Bone Ceramic® e protegido por membrana; d) sutura.



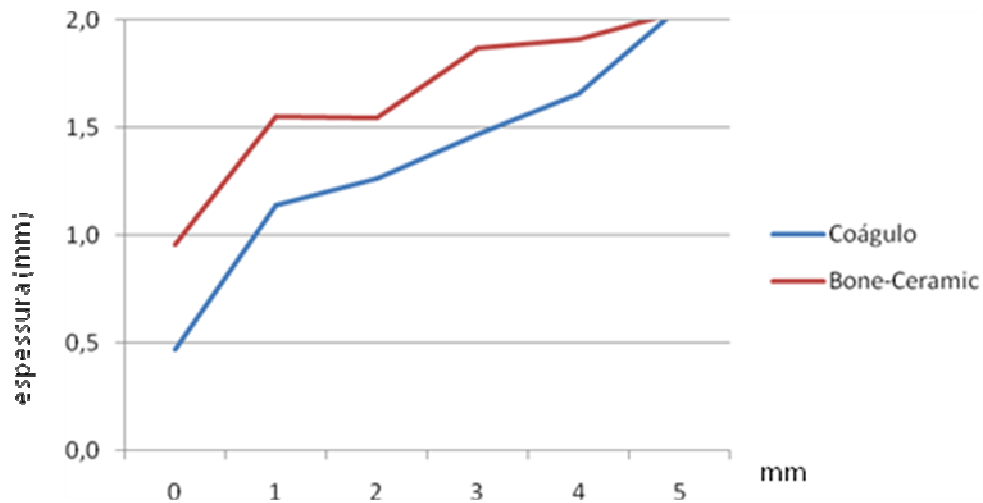


**Figura 2:** Pontos de referências para avaliação histométrica. IS: região cervical do implante (pescoço); B: ponto mais cervical de contato entre o osso e o implante; C: topo da crista óssea adjacente ao implante; Cbt: topo dos tecidos duros (bt), no qual é considerado o tecido ósseo ou biomaterial remanescente no defeito; PM: margem cervical da mucosa peri-implantar; S; superfície do implante, no topo das roscas; OC: contorno da crista óssea.



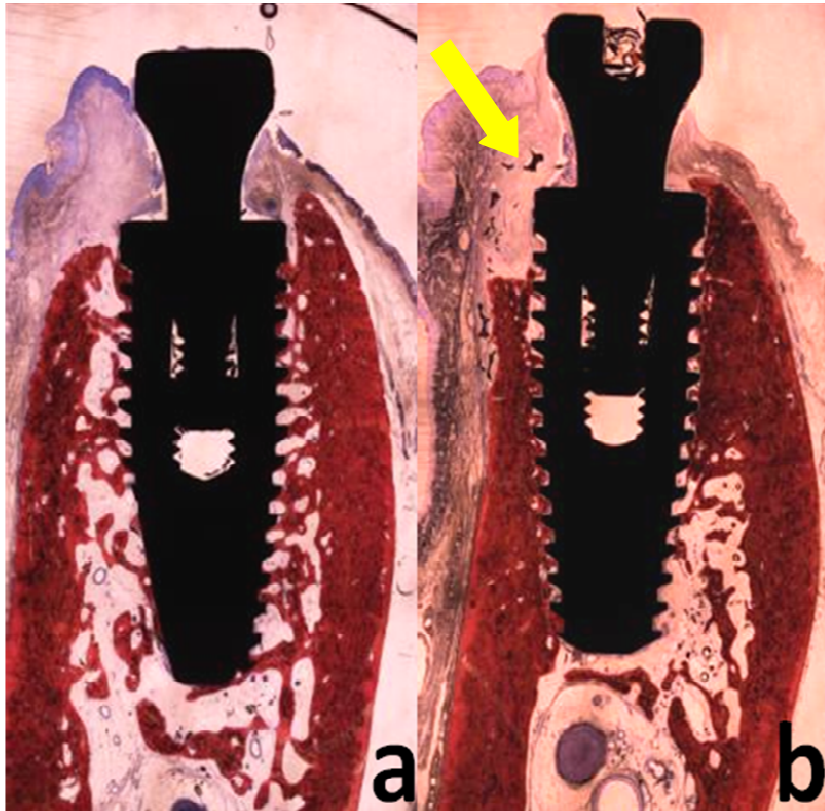
**Figura 3:** Espessura dos tecidos moles peri-implantares nos grupos estudados.

Gráfico que representa a média da espessura horizontal da mucosa peri-implantar medido a partir da superfície do implante até o contorno externo e interno da mucosa peri-implantar, iniciando-se no ponto IS correspondente a 0 mm (milímetros) até 3 mm coronalmente e apicalmente.



**Figura 4:** Espessura da crista óssea (tecidos duros) de 0 a 5 mm nos grupos comparados.

Gráfico representando a média dos valores da espessura da crista óssea, mensurada da superfície do implante (S) até OC ou de S até OCbt, iniciando-se no ponto IS correspondente a 0 mm até 5 mm apicalmente.



**Figura 5:** Avaliação histológica. **a)** Neoformação óssea em contato com o implante - Grupo COA (coágulo) **b)** Neoformação óssea e pequena quantidade de remanescente do biomaterial (seta amarela) - Grupo BC (Bone -Ceramic®) (12X, Azul de Stevenel's e vermelho de alizarina).

<b>Tabela 1.</b> Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos COA e BC.								
		<b>IS-C</b>		<b>IS-Cbt</b>	<b>IS-B</b>		<b>S-C</b>	
		<b>B</b>	<b>L</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>I</b>	<b>B</b>	<b>I</b>
<b>Grupo Coágulo (COA)</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>0.6</b> (1.6)	<b>-1.4</b> (1.1)		<b>1.2</b> (1.4)	<b>0.3</b> (0.3)	<b>0.4</b> (0.5)	<b>0.2</b> (0.4)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	-0.2; <b>0.3</b> ; 0.5	-1.9; <b>-1.6*</b> ; 1.4		0.5; <b>0.6</b> ; 0.9	0.2; <b>0.4</b> ; 0.4	0.0; <b>0.5</b> ; 0.6	0.0; <b>0.2</b> ; 0.4
<b>Grupo Bone Ceramic(BC)</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>0.1</b> (1.8)	<b>-0.8</b> (0.7)	<b>-1.3</b> (0.4)	<b>1.5</b> (1.8)	<b>0.7</b> (1.3)	<b>0.4</b> (0.6)	<b>-0.2</b> (0.5)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	-1.3; <b>0.8</b> ; 1.3	-1,1; <b>-1,1*</b> ; -0,5	-1.5; <b>-1.1</b> ; -1.1	1.3; <b>1.7</b> ; 2.4	0.0; <b>0.1</b> ; 0.6	0.0; <b>0.1</b> ; 0.9	-0.5; <b>-0.1</b> ; 0.1
* = p<0.05 entre os grupos COA e BC; # = p<0.05 entre b-Cbt e C no grupo COA; § = p<0.05 entre b-Cbt e C no grupo BC								

<b>Tabela 2.</b> Dimensões dos tecidos duros e moles em mm entre os grupos COA e BC.							
		<b>PM-C</b>		<b>PM-B</b>		<b>PM-IS</b>	
		<b>B</b>	<b>L</b>	<b>B</b>	<b>L</b>	<b>b</b>	<b>L</b>
<b>Grupo Coágulo</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>4.7</b> (1.4)	<b>1.6</b> (0.6)	<b>5.3</b> (1.5)	<b>3.4</b> (0.9)	<b>4.1</b> (0.6)	<b>3.1</b> (0.8)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	3.7; <b>4.2</b> ; 4.5	1.4; <b>1.5</b> ; 1.6	4.2; <b>5.2</b> ; 5.7	2.7; <b>3.0</b> ; 3.9	3.8; <b>3.8</b> ; 4.6	2.5; <b>3.0*</b> ; 3.3
<b>Grupo Bone Ceramic</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>4.0</b> (1.0)	<b>1.6</b> (0.4)	<b>5.5</b> (1.3)	<b>3.1</b> (1.1)	<b>3.9</b> (1.1)	<b>2.3</b> (0.6)
	25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	3.5; <b>3.7</b> ; 4.2	1.6; <b>1.6</b> ; 1.8	4.2; <b>6.1</b> ; 6.4	2.4; <b>2.5</b> ; 3.1	3.0; <b>3.7</b> ; 4.8	2.0; <b>2.3*</b> ; 2.7

\* = p<0.05 entre os grupos COA e BC; # = p<0.05 entre b-Cbt e C no grupo COA; § = p<0.05 entre b-Cbt e C no grupo BC.

Tabela 3. Mensurações histológicas após 4 meses de regeneração óssea entre os grupos COA e BC.. n=7. Dados em milímetros. % Contato osso Implante (BIC) e histomorfometria.

		BIC %		Bone-ceramic/ Contato-osso%	HISTOMORFOMETRIA			
		B	L		Osso mineralizado	Osso medular	Tecido conjuntivo	Biomaterial
COÁGULO	Média e desvio padrão (DP)	<b>36.4</b> (17.3)	<b>42.0</b> (16.1)		<b>52.3</b> (18.9)	<b>46.1</b> (18.8)	<b>1.6</b> (1.3)	
	Porcentagem 25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	27.1; <b>28.7</b> ; 45.7.3	37.2; <b>43.8</b> ; 49.1		36.3; <b>54.3</b> ; 69.0	29; <b>44.3</b> ; 62.2	0.7; <b>1.4</b> ; 2.4	
BONE-CERAMIC	Média e desvio padrão (DP)	<b>34.9</b> (25.9)	<b>37.4</b> (23.7)	<b>6.3</b> (11.0)	<b>43.5</b> (13.6)	<b>50.4</b> (15.4)	<b>4.0</b> (4.6)	<b>2.1</b> (2.3)
	Porcentagem 25 <sup>th</sup> ; 50 <sup>th</sup> ; 75 <sup>th</sup>	16.9; <b>19.9</b> ; 55.4	19.9; <b>21.8</b> ; 62.3	0.0; <b>0.0</b> ; 9.5	36.8; <b>47.5</b> ; 50.2	38.6; <b>43.7</b> ; 57.9	0.0; <b>3.8</b> ; 5.9	0.2; <b>0.7</b> ; 4.4

Média , desvio padrão e porcentagem a 25<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> (mediana) e 75<sup>th</sup> . b= bucal/ vestibular, l= lingual, IS=pescoço do implante, C= topo da crista óssea alveolar; Cbt= porção de tecido duro localizado mais cervical ao implante, B= contato-osso-implante mais cervical  
*p* < 0.05 entre coágulo e Bone-ceramic

*ANEXOS*

## ANEXO A – Certificado de aprovação do Comitê de ética




UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba

### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto *"Reconstrução imediata de defeitos perimplantares em implantes pós-exodônticos. Análise histomorfológica em cães"* sob responsabilidade do(a) *Pesquisador(a) Idelmo Rangel Garcia Júnior* e os colaboradores *Flávia Priscila Pereira, Eduardo Hochuli Vieira e Daniela Botticelli*, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela CEUA em 15/10/2010 de acordo com o Protocolo 054-17/2010.

Araçatuba, 19 de Outubro 2010



**João Eduardo Gomes Filho**  
Presidente da CEUA

ASSINAR

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Departamento de Anzo, Produção e Saúde  
Animal, Rua Cônis Petrona, 793 - F.P. 16050-600 Araçatuba - SP  
Tel: (18) 3896- 1350 Fax: (18) 3606- 1352 E-mail: clasa@fvrva.unesp.br



## ANEXO B- Normas do Periódico selecionado para publicação

### Clinical Oral Implants Research

Official publication of the European Association for Osseointegration

**Edited by:**

Niklaus P. Lang

**Print ISSN:** 0905-7161

**Online ISSN:** 1600-0501

**Frequency:** Monthly

**Current Volume:** 22 / 2011

**ISI Journal Citation Reports® Ranking:** 2009: Engineering, Biomedical: 13 / 59; Dentistry, Oral Surgery & Medicine: 6 / 64

**Impact Factor:** 2.812

#### TopAuthor Guidelines

**Content** of Author Guidelines: 1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Submission of Manuscripts, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance.

**Relevant Document:** Copyright Transfer Agreement

**Useful Websites:** Submission Site, Articles published in Clinical Oral Implants Research, Author Services, Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

#### 1. GENERAL

*Clinical Oral Implants Research* conveys scientific progress in the field of implant dentistry and its related areas to clinicians, teachers and researchers concerned with the application of this information for the benefit of patients in need of oral implants. The journal addresses itself to clinicians, general practitioners, periodontists, oral and maxillofacial surgeons and prosthodontists, as well as to teachers, academicians and scholars involved in the education of professionals and in the scientific promotion of the field of implant dentistry.

*Clinical Oral Implants Research* publishes:

**Original research articles** of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stoma-tognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

**Review articles** by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts.

**Case reports** and case series only if they provide or document new fundamental knowledge.

**Novel developments** if they provide a technical novelty for any implant system.

**Short communications** of important research findings in a concise format and for rapid publication.

**Treatment rational** by experts with evidence-based treatment approach.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Clinical Oral Implants Research*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

#### 2. ETHICAL GUIDELINES

*Clinical Oral Implants Research* adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

##### 2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the

data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

*Clinical Oral Implants Research* adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Up to 6 authors are accepted without need for justification. In the case of a specific and detailed justification of the role of every author, up to 8 authors may be mentioned. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

**Acknowledgements:** Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

## 2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version, 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

## 2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

*Clinical Oral Implants Research* encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

## 2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

*Clinical Oral Implants Research* requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. Information concerning conflict of interest and sources of funding should be included under Acknowledgements.

## 2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

## 2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

## 2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign copyright to Wiley-Blackwell if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author licences the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the copyright to publish their paper to Wiley-Blackwell. Assignment of the copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer

Agreement must be sent before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Copyright Transfer Agreement at submission. Please return your completed form to:

Production Editor  
Wiley Services Singapore Pte Ltd  
1 Fusionopolis Walk, #07-01  
Solaris South Tower, Singapore 138628

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to [clr@oxon.blackwellpublishing.com](mailto:clr@oxon.blackwellpublishing.com) or faxed to +65 6643 8599. For questions concerning copyright, please visit [Wiley-Blackwell's Copyright FAQ](#)

### 3. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Editorial Assistant Ms. Brigitte Baur. E-mail: [coir@zmk.unibe.ch](mailto:coir@zmk.unibe.ch)

#### 3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>

- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
  - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
  - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
  - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/coir> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select Corresponding Author Center.

#### 3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the 'Submit a Manuscript' link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
  - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
  - Select the designation of each file in the drop-down menu next to the Browse button.
  - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

#### 3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rtf) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

#### 3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Clinical Oral Implants Research* will be reviewed by two experts in the field. *Clinical Oral Implants Research* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

#### 3.5. Suggest a Reviewer

*Clinical Oral Implants Research* attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well.

#### 3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

### 3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation email after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our email server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

### 3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

### 3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit your revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

## 4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

**Original research articles** of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

**Review articles** by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts. Reviews are generally by invitation only and have to be approved by the Editor-in-Chief before submission.

**Case reports** and case series, but only if they provide or document new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician.

**Novel developments** if they provide a technical novelty for any implant system.

**Short communications** of important research findings in a concise format and for rapid publication.

**Treatment rational** by experts with evidence-based treatment approach.

**Proceedings of international meetings** may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

## 5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

### 5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 published pages are subject to a charge of USD 160 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

### 5.2. Format

**Language:** The language of publication is English. Authors for whom English is a second language might choose to have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers of editing services can be found at [http://authorservices.wiley.com/bauthor/english\\_language.asp](http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp). All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

**Abbreviations, Symbols and Nomenclature:** The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only standard abbreviations. All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of Webster's third new international dictionary will be adhered to.

**Scientific Names:** Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., *Ps.* for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

### 5.2. Structure

All manuscripts submitted to *Clinical Oral Implants Research* should include Title Page, Abstract, Main Text and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate.

**Title Page:** should contain the title of the article, full name(s) of the authors (no more than 6) and institutional affiliation(s), a running title not exceeding 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers, email and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

**Abstract:** should not to exceed 250 words. This should be structured into: objectives, material and methods, results, conclusions, and no other information.

**Main Text of Original Research Article** should include Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

**Introduction:** Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

**Material and Methods:** Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

**Results:** Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

**Discussion:** Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

**Main Text of Short Communications:** Short communications are limited to two printed pages including illustrations and references and need not follow the usual division into material and methods, etc., but should have an abstract.

**Acknowledgements:** Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support should be acknowledged.

### 5.3. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977). A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus: Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

c) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised, and followed by volume number in bold type, and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* **4**: 177-186.  
Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. Protein turnover and lysosome function, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: [www.refman.com/support/rmstyles.asp](http://www.refman.com/support/rmstyles.asp)

### 5.4. Tables, Figures and Figure Legends

**Tables:** Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

**Figures:** All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Each figure should have a legend

**Preparation of Electronic Figures for Publication:** Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures:  
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eacchecklist.asp>

**Permissions:** If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

## 6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

### 6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: [www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html](http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html). This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. Additional pages will be charged to the author(s) at the rate of USD 160 per page.

### 6.2 Early View (Publication Prior to Print)

*Clinical Oral Implants Research* is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

### 6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including

## ANEXO C

### Anexo C : Referências (Introdução Geral)

Araújo, M.G., Linder, E. , Lindhe, J. Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*, p.22:1-8, 2011.

Brunel, G., Benque, E., Elharar, F., Sansac, C., Duffort, J.F. Barthet, P., Baysse, E., Miller, N. Guided bone regeneration for immediate non-submerged implant placement using bioabsorbable material in Beagles dogs. *Clinical Oral Implants Research*, 9, p. 303-12, 1998.

Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Bressan, E., Botticelli, D., Lang, N.P. Hard tissue formation adjacent to implants of various size and configuration immediately placed into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*, 21, p. 885–90, 2010.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Scombatti, Souza S.L., Carvalho Cardoso, L., Lang, N.P. Collagen membranes at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 21, p.891-97, 2010.

Caneva, M., Salata, L.A., Souza, S.S., Baffone, G., Lang, N.P., Botticelli, D. Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration histomorphometric analyses in dogs. *Clinical Oral Implants Research*, 21, p. 43-49,2010.

Gotfredsen, K., Warrer, K., Hansen,H. , Karring, T. Effect of membranes and hydroxyapatite on healing in bone defects around titanium implants: an experimental study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research*, 2,p. 172-78, 1991.

Hämmerle, C.H.F., Chiantella, G.C., Karring, T., Lang, N.P. The effect of deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. *Clinical Oral Implants Research*, 9, p. 151–62, 1998.

Hassan, K.S., Kassim, A., Ogaly, R.A. A comparative evaluation of immediate dental implant with autogenous versus synthetic guide bone regeneration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* , 106, p. e8-e15, 2008.

Olsen, S., Fergusson, S.J., Sigrist, C., Fritz, W.R., Notte, L.P., Hallermann, W., Caversaccio M. A novel computational method for real-time preoperative assessment of primary dental implant stability. *Clinical Oral Implants Research*, 16, p. 53-59, 2005.

Piattelli, A., Podda, G., Scarano, A. Clinical and histological results in alveolar ridge enlargement using coralline calcium carbonate. *Biomaterials*,18,p.623-627, 1997.

Raghoobar, G.M., Timmenga, N.M., Reintsema, H., Stegenga, B., Vissink, A. Maxillary bone grafting for insertion of endosseous implants: results after 12-124 months. *Clinical Oral Implants Research*, 12, p.279-86, 2001.

Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E.B., Lang, N.P. & Lindhe, J. A prospective, randomized- controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research*, 21, p. 13–21, 2010.

Schulte, W, Kleineikenscheidt, H., Lindner, K.,shareyka, R. The Tübingen immediate implant in clinical studies. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*, 33, p.348-59, 1978.

Zechner, W., Tangi, S., Tepper, G., Fürst, G., Bernhart, T., Haas, R. , Mailath, G., Watzek, G. Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental



implants: A histologic and histomorphometric study in minipigs. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*,18, p.15-22,2008.

## ANEXO D

**Versão em inglês do capítulo 1 a ser enviado para publicação no periódico  
*Clinical Oral Implants Research***

**Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets. An experimental study in dogs.**

**Flavia Priscila Pereira, Niklaus P. Lang, Enzo De Santis,  
Hochuli-Vieira, Eduardo , Luiz A. Salata & Daniele Botticelli**

*Flavia Priscila Pereira, Eduardo Hochuli-Vieira, Daniele Botticelli, UNESP - Faculty of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University, São Paulo, Brazil*

*Niklaus Peter Lang, University of Zurich, Switzerland*

*Niklaus Peter Lang, Daniele Botticelli, Prince Philip Dental Hospital, The University of Hong Kong, Hong Kong SAR PR China*

*Enzo De Santis, Daniele Botticelli, ARDEC, Ariminum Odontologica, Rimini, Italy*

*Luiz Antonio Salata, USP, Faculty of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, São Paulo, Brazil*

*Daniele Botticelli, Faculty of Dentistry, University of Medical Science, La Habana (Cuba)*

**Key words:** animal study, bone healing, extraction socket, implant dentistry, bone ceramic, autologous bone, collagen membrane, osseointegration, regeneration, ridge preservation

**Corresponding author:**

Dott. Daniele Botticelli

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho",  
UNESP - Campus de Araçatuba,

Rua José Bonifácio 1193, 16015-050 Araçatuba, (SP) Brasil

e-mail: daniele.botticelli@ardec.it

tel: +55 02118 3636-3209 fax: +55 02118 3636-3340.

## Introduction

As a consequence of tooth extraction, a resorption of the adjacent alveolar bony crest will occur (Schropp et al. 2003; Araújo & Lindhe 2005). The use of implants placed immediately into the extraction sockets (IPIES) has been shown to fail to prevent this resorption (Botticelli et al. 2004; Araújo et al. 2005). Various attempts have been performed, aiming to preserve the alveolar ridge dimensions at IPIES sites that, however, resulted into only a partial success (Caneva et al. 2010b, 2011, 2012a,b, 2013).

To further complicate the clinical state, a loss of the buccal bony wall may be seen after tooth extraction for a bony traumatic fracture during extraction or for the presence of an infective process owing to caries, endodontic problems or root fracture.

To simulate this event, however without the presence of a local infection, the buccal wall was removed at IPIES in the mandible of dogs and the experimental sites were left heal without filler biomaterial or membranes (Bressan et al. 2013). The implants were placed in a buccal or lingual position within the alveoli. A partial healing of the buccal defects were obtained, meaning that such defects have the potential of regenerate without the help of preservation techniques. The outcome was, however, better at the implants placed lingually.

In another experiment on IPIES in the maxilla of dogs, buccal defects were produced and filled with autologous bone or deproteinized bovine bone mineral and covered with a collagen membrane (De Santis

et al. 2011). An almost complete regeneration was observed. However, in that experiment, the anatomy and dimensions of the region allowed the placement of the implant in a lingual position so that, 3 mm of horizontal distance were obtained between the implant surface and the outer contour of the bony ridge at the implant margin level.

The contribution of similar materials on bony crest regeneration at dehiscence type defects at sites that do not allow the placement of the implant deep in the horizontal plane needs further clarifications.

Hence, the aim of the present study was to compare the healing at dehiscence type buccal defects at implants placed immediately into extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral or autologous bone.

## **Material & methods**

The research protocol was submitted to and approved by the local Ethical Committee for Animal Research, University of the State of São Paulo, protocol number 05417/2010.

### *Clinical procedures*

Eight Labrador dogs, each approximately 30 kg and with a mean age of 2 years, were used. All animals were pre-anaesthetized with Acepran® (0,05 mg / Kg Univet-Vetnil, São Paulo, Brasil), and anesthetized with Zoletil® 10 mg / Kg (Virbac, EUA) e Xilazina® (1 mg / Kg Cristália, São Paulo, Brasil), complemented with Ketamine®, (¼ da dose de 10 mg / Kg, Cristália, São

Paulo, Brasil). During the entire surgery, the animals were kept in intravenous infusion of saline.

After injection of local anesthesia, full thickness flaps were elevated and the second premolars were extracted bilaterally. A recipient site was prepared, and a titanium implant of 3.5 mm in diameter and 11.5 mm in length (AlvimCM, Neodent, Curitiba, Paraná, Brazil), with a rough surface (sand-blasted and acid etched) up to the implant shoulder, was installed in a lingual position into the distal alveolus. The shoulder was placed flush to the buccal bone and, subsequently, the horizontal distance between the implant shoulder and the outer contour of the top of the bony crest was measured with an UNC 15<sup>TM</sup> probe (Hu-Friedy, Chigaco, IL, USA). The vertical distance between the implant shoulder and lingual plate was also evaluated with the same UNC 15<sup>TM</sup> probe. The buccal bony wall was removed using a drill and refined with a blade (BD Beaver 376400; BD Ophthalmic System, Waltham, MA USA) to obtain a standardized buccal defect, 6 mm high, and 4 mm and 2 mm wide at the coronal and apical aspects, respectively. The residual buccal vertical defect was measured with an UNC 15<sup>TM</sup> probe (Fig. 1a). Abutments were placed at the top of the implants.

Autologous bone was harvested from the lateral aspect of the retro-molar region of the mandible using a bone scraper (Safescraper Curve®, Meta, Reggio Emilia, Italia). The autologous bone was applied in the defect in the right side of the mandible (Control sites; Fig. 1b) while, the defects in the left side were filled with DBBM (deproteinized bovine bone mineral; Test sites; Fig. 1c) (Bio-Oss® 0.25-1 mm granules, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland). A collagen membrane (Bio-Gide®, Geistlich Biomaterials,

Wolhusen, LU, Switzerland) was applied to cover the grafted sites at the buccal aspect (Fig. 1d). The flaps were subsequently sutured to allow a non-submerged healing using Vicryl 4-0 (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil).

After the surgeries, the animals were given a vitamin compound (Potenay®, Fort Dodge Animal Health, Campinas, Brazil), anti-inflammatory/analgesic drugs (Banamine®, Schering-Plough Animal Health, Campinas, Brazil) and antibiotics (Pentabiotico®, Fort Dodge Animal Health, Campinas, Brazil).

The animals were kept in kennels and on concrete runs at the university's field laboratory with free access to water and feed of moistened balanced dog's chow. The wounds were inspected three times per week for clinical signs of complications and the abutment cleaned and disinfected with chlorhexidine during the first two weeks after surgery. Afterwards, abutment cleaning was performed 3 times per week.

The animals were euthanatized 4 months after the surgery applying overdoses of thiopental (Cristalia Ltd., Campinas, Brazil) and then perfused with a fixative (4% formaldehyde solution) through the carotid arteries.

#### *Histological preparation*

Individual bone blocks containing the implant and the surrounding soft and hard tissues were fixed in 4% formaldehyde solution followed by dehydration in a series of graded ethanol solutions, and finally embedded into resin (LR White® hard grade, London Resin Company Ltd, Berkshire, UK). The

blocks were cut in a bucco-lingual plane using a diamond band saw fitted in a precision slicing machine (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany) and then reduced to a thickness of about 50-60 µm using a cutting–grinding device (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany).

The histological slides were stained with Stevenel’s blue and alizarin red and examined in a standard light microscope for histometric analysis.

### *Histomorphometric evaluation*

The hard tissue that included bone and both residual bone graft or DBBM particles was defined as bulky tissue (bt).

The histological measurements were performed in an Eclipse Ci microscope (Nikon Corporation, Tokyo, Japan), equipped with a digital video-camera (Digital Sight DS-2Mv, Nikon Corporation, Tokyo, Japan) connected to a computer, and using the software NIS-Elements D 4.10 (Laboratory Imaging, Nikon Corporation, Tokyo, Japan).

The following landmarks were identified (Fig. 2): IS, shoulder of the implant; B, the most coronal point of contact between bone and implant; C, the top of the adjacent bony crest; Cbt, the top of the bulky tissue; PM, peri implant mucosal margin; S, the surface of the implant at the top of the threads; OC, the outer contour of the bony crest; OCbt, the outer contour of the bulky tissue, that included also the grafted material laying outside the bony crest.

The following measurements were performed at a magnification x100: the vertical distance between IS-B, IS-C, IS-Cbt, PM-IS; the horizontal distance S-C. The distance C-B was calculated.

At a magnification of x40, the horizontal width of the alveolar bony crest and of the bulky tissue was measured from S to OC or OCbt, respectively, at the IS level (0mm) and then, apically to it, at each subsequent millimeter, up to 5 mm (for details De Santis et al. 2011). The horizontal width of peri-implant mucosa was measured from the abutment surface and the outer contour of the peri-implant mucosa at IS level (0mm) and then coronally to it, at each subsequent millimeter, up to 3 mm.

At a magnification of x100, the amount of mineralized bone-to-implant contact (MBIC%) was evaluated from IS to the apical extension of the implant, both buccally and lingually. Moreover, the percentage of bone contact to the residual Bio-Oss particles was evaluated as well (Bio-Oss/ Bone contact%).

The percentages of mineralized bone, non-mineralized bone, residual grafting material and connective tissue were assessed at a magnification of x200 at the buccal aspect in an area included within OCbt and to an apical extension not exceeding 6 mm from IS (vertical dimension of the defect). Thus, a lattice with squares 50 microns of dimension was superposed over this tissue area.

### *Data analysis*

Mean values and standard deviations as well as 25<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> (median) and 75<sup>th</sup> percentiles were calculated for each outcome variable. Differences between the two groups were analyzed using Wilcoxon test for paired observations using SPSS Statistics 19 (IBM® Inc. Chicago IL, USA). The level of significance was set at  $\alpha=0.05$ .



## Results

### *Clinical evaluation*

After implant installation, the distance from the implant shoulder to the outer contour of the top of the bony crest was about 1 mm. No remaining buccal defects were found both at the control and test sites after the removal of the buccal bony wall. The lingual bony crest resulted at the same level of the implant shoulder both at the control and test sites.

After 4 months of healing, no complications occurred during the healing period and no implants were lost.

### *Histological evaluation*

No artifacts were generated during histological processing, nor were any tissue blocks destroyed. However, one implant at the test site (DBBM) was found not integrated so that it was excluded from analyses, together its contralateral control. Hence, test and control sites yielded an n=7.

Ground sections representing the result of healing are illustrated in Figure 3a (autologous bone site) and in Figure 3b (DBBM site).

While residues of DBBM particles were found, no bony graft particles were present after 4 months of healing. This, in turn, means that the data regarding to Cbt and OCbt were only applicable to the DBBM sites.

The hard tissue dimensions are reported in Table 1. The mean distance IS-C at the buccal aspect of the autologous bone sites was higher ( $2.3\pm 0.8$  mm) compared to the DBBM sites ( $1.7\pm 0.7$  mm). The differences, however, did

not yielded a statistically significance. The mean distance IS-Cbt was  $1.2\pm 1.1$  mm.

The mean values of IS-B at the buccal aspect were  $2.7\pm 0.7$ mm and  $2.2\pm 1.0$ mm at the autologous bone and DBBM sites, respectively. No differences were found to be statistically significant.

Small residual horizontal marginal defects were found both at buccal and lingual aspects. However, none of the differences were statistically significant.

Soft tissue dimensions are reported in Table 2. The buccal PM-C, PM-B and PM-IS mean values were  $4.3\pm 0.9$  mm,  $4.7\pm 0.9$  mm,  $2.0\pm 1.6$  mm and  $4.3\pm 0.6$  mm,  $4.8\pm 0.6$  mm,  $2.5\pm 0.8$  mm at the autologous and DBBM sites, respectively. None of the differences were statistically significant.

The buccal width S-OCbt, that included DBBM, was larger at the DBBM compared to the autologous bone sites (Fig. 4). The differences reached a statistical significance between 2- 5 mm apically to IS. However, when the width of the sole sound bony crest was taken into account, no differences were found between the two groups.

The width of the peri-implant mucosa was larger at the DBBM compared to the autologous sites without, however, meet a statistically significant difference at any of the levels evaluated (Fig. 5).

Osseointegration and bone morphometry are reported in Table 3. MBIC% mean values were  $34.0\pm 12.1\%$  and  $36.4\pm 14.1\%$  at the buccal aspect and  $38.8\pm 15.8\%$  and  $43.5\pm 18.9\%$  at the lingual aspect, at the autologous bone and DBBM sites, respectively. No statistically significant differences were found between groups.

No autologous bone was identified after 4 months of healing at the control sites. At the test sites, a mean of  $13.5 \pm 7.6\%$  of DBBM particles were found within the OCbt limits (Fig. 3b; Fig. 6a). This biomaterial was found in part integrated into newly formed bone (Bio-Oss/ Bone contact% mean  $23 \pm 17.2\%$ ) but also embedded into connective tissue, located outside of, or coronally to the bony crest. DBBM particles were also found apically to the base of the defect, outside the bony ridge, that appeared to be slipped away from the buccal defect during healing (Fig. 6b). Mineralized bony tissue was represented at a higher amount at the autologous bone (mean  $68.9 \pm 7.5\%$ ) compared to the DBBM sites (mean  $42.6 \pm 5.9\%$ ), the difference being statistically significant. Little connective tissue was found at the autologous bone (mean  $0.8 \pm 0.7\%$ ) and DBBM sites ( $6.6 \pm 10.1$ ), the difference being statistically significant.

## **Discussion**

The present study was performed to compare the results of healing at IPIES (implants placed immediately into extraction sockets) with buccal standardized defects at which autologous bone or DBBM granules were applied in conjunction with a collagen membrane.

Both treatments engender bony crest regeneration of about 4mm. The top of the bony crest and the level of osseointegration were, however, located more coronally at the DBBM (1.7mm and 2.2mm, respectively) compared to the autologous grafted sites (2.3mm and 2.7mm, respectively). The mineralized bone-to-implant contact was slightly higher at the DBBM compared to

autologous bone sites. However, none of the differences yielded a statistical significance.

The coronal level of the bony crest and osseointegration in the present study did not differ from other studies on implant placed immediately into the distal extraction socket of the second maxillary premolar in dogs (Caneva et al. 2010a, 2013). In fact, at untreated sites, with a full-thickness approach, these levels were located at 1.7-2.1 mm and 2.1-2.3 mm, respectively.

In the present experiment, at the time of implant installation, 1 mm of horizontal distance was measured between the implant surface and the outer contour of the bony ridge at the implant margin level.

The results from the present study is in agreement with those from another similar experiment in dogs (De Santis et al. 2011), in which, the second maxillary incisors were extracted bilaterally and implants were immediately installed. Standardized buccal defects were subsequently prepared and filled with DBBM particles or autologous bone. The horizontal distance between the implant surface and the outer contour of the bony ridge at the implant margin level was about 3mm. The experimental sites were covered with a collagen membrane and, subsequently, were fully submerged. Biopsies were harvested after 2 and 4 months. Similar amounts of coronal bony growth were observed after 2 months of healing. However, after 4 months of healing, a more coronal position of the bony crest, of the coronal level of the osseointegration and of the amount of mineralized bone-to-implant contact were found at the DBBM compared to the autologous grafted sites. None of the differences, however, showed a statistical significance.

The effect of the use of DBBM on healing was also tested in other experimental studies, both at IPIES sites (e.g. Araújo et al. 2011; Caneva et al. 2012a,b) or at artificially created defects (e.g. Hämmerle et al. 1998). In an experiment in dogs (Araújo et al. 2011), the mesial root of the fourth premolars were endodontically treated and the distal root hemisected and extracted bilaterally. Implants were installed into the extraction sockets and, at the test site, the residual buccal defect was filled with DBBM collagen while, the control was left untreated. A non-submerged healing was allowed and, after 6 months, biopsies were obtained. A more coronal location of the bony crest and of the level of osseointegration were found at the test compared to the control sites. In another experiments in dogs (Caneva et al. 2012a), DBBM particles were placed in the residual buccal defect at implants placed into the distal extraction socket of the third mandibular premolars and protected with a collagen membrane. The contralateral sites were left untreated and a non-submerged healing was allowed. After 4 months of healing, a more coronal location of the bone and level of osseointegration were found at the DBBM compared to the untreated sites.

No residual particles of autologous bone were identifiable in the present study after 4 months of healing. However, at the test sites, 13.5% of DBBM particles were present. This biomaterial was mostly embedded into connective tissue and only a reduced amount of the total surface was attached to the newly regenerated bone (23%). DBBM particles were found outside and also above the bony crest, contributing to increase both horizontal and vertical dimension of the bulky tissue. This is in agreement with other experimental studies in dogs (De Santis et al. 2011; Favero et al. 2013b). In a previous described study (De

Santis et al. 2011), particles of DBBM were found exceeding the envelope of the bony crest after 2 months of healing. However, after 4 months of healing, more limited amount of DBBM were found outside the bony crest, in the connective tissue.

In another experiment in dogs (Favero et al. 2013b), IPIES were placed into the distal alveoli of molars. DBBM and a collagen membrane were used at the test sites while, at the control sites, no treatment was performed. After 3 months of healing, DBBM material was found to be located up to 0.6 mm above the bony crest, embedded into connective tissue.

The dimensions of the soft tissue in the present study were similar at the test and control sites. However, at the DBBM grafted sites, the peri-implant mucosa was located 0.5 mm more coronally compared to the autologous grafted sites. Even though this difference did not yielded a statistical significance, it appeared to contribute to maintain the soft tissues more coronally. This is in agreement with other experimental studies (Caneva et al. 2012b) that compared the use of DBBM and collagen membrane with a control untreated sites. Cast models were obtained and analyzed using an optical system to evaluate dimensional variations. Block sections of the implant sites were also prepared for histological assessments. No differences in biological width were found between the test and control sites based on the histological assessments. The location of the soft tissue at the buccal aspect was, however, 0.9 mm more coronally at the test compared to the control sites. In that study, however, the DBBM was unable to maintain the original dimensions of the alveolar ridge. In fact, the apical dislocation of the mucosal margin, in respect of its original position around the tooth, was 1 mm and 2.7 mm at the DBBM and

untreated sites, respectively. The shrinkage of the buccal area after 4 months of healing was of 5.9 mm<sup>2</sup> and 11.5 mm<sup>2</sup> at the DBBM and untreated sites, respectively. This, in turn, means that the use of DBBM particles, concomitantly to a collagen membrane, may contribute to the partial preservation of the buccal volumes. This is in agreement also with clinical studies (Cornelini et al 2004; Chen et al. 2007).

It should be however emphasized that buccal defects similar to that used in the present study tend to heal also without the use of filler material, as shown in dogs experiments both at artificially created defects (e.g. Schwarz et al. 2010) as well as at IPIES sites (e.g. Bressan et al. 2013).

Buccal defects were prepared at implants placed in a healed alveolar bony ridge in a dog model (Schwarz et al. 2010). No regenerative material was used. After 8 weeks of healing, 45-90% of the defects were found filled with newly formed bone.

In an experiments in dogs (Bressan et al. 2013), IPIES were used in the distal alveoli of the fourth premolars. The implants were placed in contact with either the buccal or with the lingual bony walls of the extraction sockets. Triangular buccal bony dehiscence defects, about 2.7 mm deep and 3.5 mm wide, were prepared and a non-submerged healing was allowed, without using any regenerative procedures. After 4 months of healing, the histological assessments revealed that a regeneration for the buccal bony crest was of 2 mm and 1 mm at the lingual and buccal implant positioning sites, respectively. That study demonstrated that buccal defect may partly heal also without the use of a regenerative procedure and that a lingual positioning may offer better results.

It should be reiterated the importance of the positioning of the implant into the extraction socket. In fact, it was demonstrated by clinical (Sanz et al. 2010; Tomasi et al. 2010) and experimental studies (Caneva et al. 2010c; Favero et al. 2012, 2013a) that the more the implant is located lingually within the limit of the extraction socket, the less will be the coronal buccal portion of the implant exposed above the buccal bony crest.

In conclusion, both autologous bone and DBBM particles placed at buccal defects at IPIES sites, concomitantly to a collagen membrane, engender bone regeneration to a similar extent after 4 months of healing.

## **Acknowledgements**

This study has, in part, been supported by a grant from ARDEC, Ariminum Odontologica SRL, Rimini, Italy and FAPESP, SP, Brazil (processo 2010-15286-9).

The implants were provided by Neodent, Curitiba, PR, Brazil and Bio-Oss® and Bio-Gide® were provided by Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland

The competent contributions of Mr. Sebastião Bianco, Ribeirão Preto, Brazil in the histological processing are highly appreciated.



## References

Araújo, M.G., Linder, E. & Lindhe, J. (2011) Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **22**: 1-8.

Araújo, M.G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 212–218.

Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 645-652.

Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* **31**: 820-828.

Bressan, E., Sivoilella, S., Stellini, E., Almagro Urrutia, Z. & Lang, N.P. & Botticelli, D. (2013) Healing of buccal dehiscence defects at implants installed immediately into extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 270-277.

Caneva, M., Botticelli, D., Pantani, F., Baffone, G.M., Rangel, I.G. Jr. & Lang, N.P. (2012a) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 106-112.

Caneva, M., Botticelli, D., Morelli, F., Cesaretti, G., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2012b) Alveolar process preservation at implants installed immediately into extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral - an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 789-796.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Souza, S.L.S., Bressan, E. & Lang, N.P. (2010a). Flap versus “flap-less” surgical approach at immediate implants- A histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 1314-1319.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Souza, S.L.S., Carvalho Cardoso, L. & Lang, N.P. (2010b). Collagen membranes at immediate implants. A histomorphometric study in dogs *Clinical Oral Implants Research* **21**: 891-897.

Caneva, M., Botticelli, D., Stellini, E., Salata, L.A., Souza, S.L.S. & Lang, N.P. (2011). Magnesium-enriched hydroxyapatite at immediate implants. A histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **22**: 512-517.

Caneva, M., Botticelli, D., Viganò, P., Morelli, F., Rea, M. & Lang, N.P. (2013) Connective tissue grafts in conjunction with implants installed immediately into extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 50-56.

Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Baffone, G., Lang, N.P. & Botticelli, D. (2010c) Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration: histomorphometric analyses in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 43-49.

Chen, S.T., Darby, I.B. & Reynolds, E.C. (2007) A prospective clinical study of non-submerged immediate implants. Clinical outcomes and esthetic results. *Clinical Oral Implants Research* **18**: 552-562.

Cornelini, R., Cangini, F., Martuscelli, G. & Wennström J. (2004) Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membrane to support healing following immediate placement of transmucosal implants: A short-term controlled clinical trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **24**: 555-563.

De Santis, E., Botticelli, D., Pantani, F., Pereira, F.P., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2011) Bone regeneration at implants placed into extraction sockets of maxillary incisors in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **22**: 430-437.

Favero, G., Botticelli, D., Rea, M., Pantani, F., León Grau, I. & Lang, N.P. (2013a) Influence of presence or absence of teeth adjacent to implants installed immediately into extraction sockets on peri-implant hard tissue levels: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 262-269.

Favero, G., Lang, N.P., De Santis, E., Gonzalez, B.G., Schweikert, M.T. & Botticelli, D. (2013b) Ridge preservation at implants installed immediately after molar extraction. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 255-261.

Favero, G., Lang, N.P., Favero, G., León Grau, I., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012) Role of teeth adjacent to implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 402-408.

Hämmerle, C.H., Chiantella, G.C., Karring, T. & Lang, N.P. (1998) The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. *Clinical Oral Implants Research* **9**: 151-162.

Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla *Clinical Oral Implants Research* **21**: 13-21.

Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **23**: 313-323.

Schwarz, F., Sager, M., Kadelka, I., Ferrari, D. & Becker, J. (2010) Influence of titanium implant surface characteristics on bone regeneration in dehiscence-type defects: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **37**: 466-473.

Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevel multivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 30-36.

**Versão em inglês do capítulo 2 a ser enviado para publicação no periódico  
*Clinical Oral Implants Research***

**Bone Ceramic® at implants installed immediately into extraction sockets  
in molar region. An experimental study in dogs.**

**Flavia Priscila Pereira, Niklaus P. Lang, Enzo De Santis, Eduardo  
Hochuli-Vieira, Luiz A. Salata & Daniele Botticelli**

*Flavia Priscila Pereira, Eduardo Hochuli-Vieira, Daniele Botticelli, UNESP - Faculty  
of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University, São Paulo, Brazil*

*Niklaus Peter Lang, University of Zurich, Switzerland*

*Niklaus Peter Lang, Daniele Botticelli, Prince Philip Dental Hospital, The  
University of Hong Kong, Hong Kong SAR PR China*

*Enzo De Santis, Daniele Botticelli, ARDEC, Ariminum Odontologica, Rimini, Italy*

*Luiz Antonio Salata, USP, Faculty of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São  
Paulo, São Paulo, Brazil*

*Daniele Botticelli, Faculty of Dentistry, University of Medical Science, La  
Habana (Cuba)*

**Running Head:**

**Key words:** animal study, bone healing, extraction socket, implant dentistry,  
bone ceramic, autologous bone, collagen membrane, osseointegration,  
regeneration, ridge preservation

**Corresponding author:**

Dott. Daniele Botticelli  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho",  
UNESP - Campus de Araçatuba,  
Rua José Bonifácio 1193, 16015-050 Araçatuba, (SP) Brasil  
e-mail: daniele.botticelli@ardec.it  
tel: +55 02118 3636-3209 fax: +55 02118 3636-3340.

## Introduction

The physiological resorption of the alveolar ridge that occurs after tooth extraction (*for a review see* Tan and al. 2012) it is not avoided by the immediate placement of an implant into the extraction socket (Botticelli et al. 2004; Araújo et al. 2005; Wang & Lang 2012; Sicilia & Botticelli 2012).

For this reason, it has been suggested the use of biomaterial to fill the residual buccal defect that often occurs between the implant rod and the buccal bony wall of the extraction socket (e.g. Wilson et al. 1998; Lang et al. 2007).

When large implants were placed to fill completely the alveoli, a larger buccal bony crest resorption was observed compared to sites at which implants with smaller diameter were used (Caneva et al. 2010, 2012, conical). This may be explained with the fact that at the larger implants the surface was closer to the buccal bony wall compared to the smaller implants. In fact, the more the implant surface is close to the buccal bony wall, the more the implant surface will be exposed above the bony crest at the buccal aspect (Caneva et al. 2010; Tomasi et al. 2010).

Several clinical (e.g. Cornelini et al. 2004; Chen et al. 2007) as well as animal studies (e.g. Araújo et al. 2011; Caneva et al. 2010, 2011, 2012) have shown that applying deproteinized bovine bone mineral may be effective in preserving the volume of the alveolar crest. However, it has also been shown the smallest the horizontal buccal defects the better the preservation of the buccal bony crest (Caneva et al. Bio-Oss I; Favero et al. P4, M1).

Also a mixture of synthetic HA 60% and beta-TCP 40% as been use in several clinical (Mardas et al 2011; Frenken et al. 2010; Cordaro et al. 2008; Froum et al. 2008; De Coster et al. 2011) and animal studies (Antunes et al. 2013; Zambon et al 2012; Rokn et al. 2011). The results, however, did not clarify if this material may be effective when applied within the buccal defect at implant placed immediately into extraction sockets.

Hence, the aim of the present study was to study the healing at implants installed immediately into extraction sockets at which the residual buccal defects of horizontal dimensions comprised between 1-1.5mm mm were filled with a mixture of synthetic HA 60% and beta-TCP 40%.

## **Material & methods**

The research protocol was submitted to and approved by the local Ethical Committee for Animal Research, University of the State of São Paulo, protocol number 05417/2010.

### *Clinical procedures*

Eight Labrador dogs (each approximately 30kg and with a mean age of 2 years) were used. All animals were pre-anaesthetized with Acepran® (0,05 mg / Kg Univet-Vetnil, São Paulo, Brasil), and anesthetized with Zoletil® 10 mg / Kg (Virbac, EUA) e Xilazina® (1 mg / Kg Cristália , São Paulo, Brasil), complemented with Ketamine®, (¼ da dose de 10 mg / Kg, Cristália, São Paulo, Brasil). During the entire surgery, the animals were kept in intravenous infusion of saline and local anesthesia was added.

Before surgical treatment, the pulp tissue of the mesial roots of  $1M_1$  was removed, the root canals filled with gutta-percha and root canal cement (Mtwo®, Endopocket®, Epsil®<sup>®</sup>, Sweden & Martina, Due Carrare, Padova, Italy). The crowns were subsequently restored with composite (Adonis®, Sweden & Martina, Due Carrare, Padova, Italy).

The buccal and lingual alveolar bony plates exposed, the first molars were hemi-sectioned, and the distal roots removed including the corresponding portion of the crowns. The bucco-lingual and mesio-distal dimensions at the coronal margin were measured using calipers (Castroviejo®, KLS Martin Group, Umkirch, Germany). A recipient site was prepared bilaterally in the distal alveoli, and a titanium implant of 5mm diameter and 11.5mm length (AlvimCM, Neodent, Curitiba, Paraná, Brazil), with a rough surface (sand-blasted and acid etched) up to the implant shoulder, was installed in a lingual position into the distal alveolus. The shoulder was placed flush to the buccal bone and, subsequently, depth and width of the remaining buccal defect were measured with an UNC 15<sup>TM</sup> probe (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The vertical distance between the implant shoulder and lingual plate was also evaluated with the same UNC 15<sup>TM</sup> probe. An abutment was applied to the implant.

In left side of the mandible (Test site) Bone Ceramic ® (Straumann ....), composed of synthetic HA 60% and  $\beta$ -TCP 40%, was applied to overfill the remaining defect while, in the right side, the clot was left undisturbed to fill the defect (Control site). A collagen membrane (Bio-Gide®, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, LU, Switzerland) was applied to cover the buccal aspect at both sites. The flaps were sutured to allow a non-submerged healing using Vicryl 4-0 (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil).

After the surgeries, the animals were given a vitamin compound (Potenay®, Fort Dodge Animal Health, Campinas, Brazil), anti-inflammatory/analgesic drugs (Banamine®, Schering-Plough Animal Health, Campinas, Brazil) and antibiotics (Pentabiotico®, Fort Dodge Animal Health, Campinas, Brazil).

The animals were kept in kennels and on concrete runs at the university's field laboratory with free access to water and feed of moistened balanced dog's chow. The wounds were inspected three times per week for clinical signs of complications and the abutment cleaned and disinfected with chlorhexidine during the first two weeks after surgery. Afterwards, abutment cleaning was performed 3 times per week.

The animals were euthanatized 4 months after the surgery applying overdoses of thiopental (Cristalia Ltd., Campinas, Brazil) and then perfused with a fixative (4% formaldehyde solution) through the carotid arteries.

#### *Histological preparation*

Individual bone blocks containing the implant and the surrounding soft and hard tissues were fixed in 4% formaldehyde solution followed by dehydration in a series of graded ethanol solutions, and finally embedded in resin (LR White® hard grade, London Resin Company Ltd, Berkshire, UK). The blocks were cut in a bucco-lingual plane using a diamond band saw fitted in a precision slicing machine (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany) and then reduced to a thickness of about 50-60µm using a cutting-grinding device (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany).



The histological slides were stained with Stevenel's blue and alizarin red and examined in a standard light microscope for histometric analysis.

#### *Histomorphometric evaluation*

The hard tissue that included both bone and residual biomaterial was defined as bulky tissue (bt).

In an Eclipse *Ci* microscope (Nikon Corporation, Tokyo, Japan), connected to a computer via video camera Nikon Digital DS-Fi2 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) the following landmarks were identified: shoulder of the implant (IS), the most coronal point of contact between bone and implant (B), the top of the adjacent bony crest (C), The top of the bulky tissue (Cbt) peri implant mucosal margin (PM), the surface of the implant at the top of the threads (S), the outer contour of the bony crest (OC) and of the bulky tissue (OCbt), that included also the DBBM

The following measurements were performed using the software NIS-Element 4.1 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) at a magnification x100: the vertical distance between IS-B, IS-C, IS-Cbt, PM-IS; the horizontal distance S-C. The distance C-B was calculated.

At a magnification of x40, the width of the alveolar bony crest was measured from S to OCbt at the IS level (0mm) and then, apically to it, at each subsequent mm, up to 5mm. The width of peri-implant mucosa was measured at IS level (0mm) and then coronally to it, at each subsequent mm, up to 3mm.

At a magnification of x100, the amount of bone-to-implant contact (BIC%) was evaluated from IS to the apical extension of the implant, both buccally and

lingually. Moreover, the percentage of bone contact to the residual Bio-Oss particles was evaluated.

The percentages of mineralized bone, non-mineralized bone, residual grafting material and connective tissue were determined at a magnification of x200 at the buccal aspect of an area included within OCbt and to an apical extension not exceeding 6mm from IS (vertical dimension of the defect). Thus, a lattice with squares 50micron of dimension was superimposed over this tissue area.

### *Data analysis*

Mean values and standard deviations as well as 25<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup> (median) and 75<sup>th</sup> percentiles were calculated for each outcome variable. Differences between test and control sites were analyzed using Wilcoxon test for paired observations using SPSS Statistics 19 (IBM® Inc. Chicago IL, USA). The level of significance was set at  $\alpha=0.05$ .

### Results

#### *Clinical evaluation*

After implant installation, a horizontal buccal gap of 1.1 and 1.4mm and a vertical vertical buccal gap of about 3 and 4mm were found at the control and test sites, respectively. The implant shoulder IS was located as mean value at the control sites 0.5mm and 2.5mm below the buccal and lingual bony crests, respectively. At the test sites, IS was located 0.4mm and 2.4mm below buccal and lingual bony crests, respectively.

After 4 months of healing, no complications occurred during the healing period and no implants were lost.

#### *Histological evaluation*

No artifacts were generated during histological processing, nor were any tissue blocks destroyed. However, one implant at the test site (Bone-ceramic) was found poorly integrated so that it was excluded from analyses, together its contralateral control. Hence, test and control sites yielded an n=7.

The mean distance IS-C at the buccal aspect of the control site (clot) was higher ( $0.6\pm 1.6\text{mm}$ ) compared to the test site (BC;  $0.1\pm 1.8\text{mm}$ ). The difference, however, did not yielded a statistically significance. Bone Ceramic® particles were found above IS so that mean distance IS-Cbt of  $-1.3\pm 0.4\text{mm}$  was found.

The mean values of IS-B at the buccal aspect were  $1.2\pm 0.7\text{mm}$  and  $1.5\pm 1.8\text{mm}$  while at the control and test sites, respectively and no differences were found to be statistically significant.

Small residual horizontal marginal defects observed both at buccal and lingual aspect.

The vertical dimensions of the soft tissues at the buccal aspect were higher at the test compared to the control sites (Table 2). However, none of the differences were statistically significant. The buccal PM-C, PM-B and PM-IS mean values were  $4.7\pm 1.4\text{mm}$ ,  $5.3\pm 1.5\text{mm}$ ,  $4.1\pm 0.6\text{mm}$  and  $4.0\pm 1.0\text{mm}$ ,  $5.5\pm 1.3\text{mm}$ ,  $3.9\pm 1.1\text{mm}$  at the control and test sites, respectively.

Table 3 reports data on BIC% and the morphometric analyses. The BIC% mean values were  $36.4\pm 17.3\%$  and  $34.9\pm 25.9\%$  at the buccal aspect and  $42\pm 16.1\%$  and  $37.4\pm 23.7\%$  at the lingual aspect, at the control and test sites,

respectively. No statistically significant difference was found between test and control sites.

At the test sites, a mean of  $2.1 \pm 2.3\%$  of Bone Ceramic® particles were found within the OCbt limits. The small quantity of Bone Ceramic® found was mainly embedded into connective tissue. Mineralized bony tissue was found to be higher represented at a higher amount at the control (mean  $52.3 \pm 18.9\%$ ) compared to the test sites (mean  $43.5 \pm 13.6\%$ ), the difference however not being statistically significant. Little connective tissue was found both at control (mean  $1.6 \pm 1.3\%$ ) and test sites ( $4.0 \pm 4.6$ ), the difference not being statistically significant.

#### Discussion

In the present study, the use of Bone Ceramic® was placed into residual buccal defect at IPIES at the time of installation and covered with a collagen membrane was compared with a control sites treated with only the collagen membrane. No statistically significant differences were disclosed at the buccal aspect after 4 months of healing in hard and soft tissues dimensions and osseointegration.

The use of biomaterial to fill the buccal defect after the installation of an implant into extraction socket has been suggested by various authors, especially when the buccal defect reached a horizontal gap of 1-2mm (Wilson et al. 1998; Lang et al. 2007). In the present study, a horizontal buccal defect of 1.1mm and 1.4mm were obtained immediately after implant installation at the control and test sites, respectively, so that, the application of a biomaterial and a collagen membrane seemed to be appropriated. Nevertheless, no advantages

were obtained compared to the control sites, at which the sole collagen membrane was applied.

The results from the present study seem not to be in agreement with another experiment on IPIES in dogs (Araújo et al. 2011). Horizontal defect of 1-2mm were obtained, and DBBM collagen was placed into the buccal defect at the test sites while the control sites were left untreated. Better results were obtained at the test compared to the untreated sites. However, it should be considered that, a range of 1 to 2mm of the buccal defect that has been reported in that study also means a different location of the implant in respect of the buccal bony plate. This may have influenced the results of healing, as shown by clinical (Sanz et al. 2010; Tomasi et al. 2010) and animal studies (Caneva et al. 2010, 2010, 2011; Favero et al. 2012). In fact, in a multilevel multivariate analysis (Tomasi et al. 2010) based on data from a multicenter clinical study (Sanz et al. 2010) it was concluded that the more lingually the implant is positioned, the less the buccal implant surface will be exposed after healing. This outcome was also corroborated by the results from an experiment on IPIES in dogs (Favero et al. 2012). In that experiment, the influence of the presence of adjacent teeth was studied so that at the test sites both roots of the third and fourth premolars were extracted while, at the control sites, only the distal roots were extracted and the mesial roots treated endodontically. The implants at the third premolar sites were placed in a central position while those at the fourth premolars were placed lingually so that buccal defects of about 0.2–0.4 mm at the third premolars, and of about 1.5–1.7 mm at the fourth premolars were obtained. The buccal aspect of the implants resulted to be less exposed coronally when the implants were placed lingually compared to those

placed in a central position into the alveoli, showing the same trend independently from the presence or absence of the adjacent teeth.

The width of the horizontal gap seems to play an important role on the result of the use of filler material and membrane at buccal defect.

In an experimental study on IPIES in dogs (Caneva et al 2012a,b), a horizontal buccal defect of about 0.6mm were obtained both at test and control sites. The defects were filled with Bio-Oss and a collagen membrane at the test sites, while were left untreated at the control sites. A better preservation of the buccal bony crest and a more coronally location of the osseointegration was found at the test compared to the untreated control sites after 4 months of healing. Moreover, an analysis on dimensional variations performed on cast models obtained before tooth extractions and at sacrifice, revealed a shrinkage of the buccal volume about the double at the control compared to the test sites.

In another experiment on IPIES in dogs (Favero et al. 2012 P4), horizontal buccal defects of about 1.7mm were obtained both at the test and control sites. DBBM particles and a collagen membrane were placed into the defects at the test sites while, at the control sites, the defect were left untreated. After 3 months of healing, similar results were obtained at the test and control sites for bony crest dimensions and coronal level of osseointegration. It was concluded that, in such defect, the use of a regenerative procedure using DBBM particles and a collagen membrane did not improve the outcome.

In another experiment on IPIES in dogs (Favero et al. 2012, molar), the distal alveoli of the mandibular first molars were used. Horizontal defects of 2.5mm and 2.7mm were obtained at the test and control sites. At the test sites, again DBBM particles and a collagen membrane were used at the buccal

defects. After 3 months of healing, better outcomes were observed at the untreated compared to the grafted sites.

The horizontal gap in the present study was 1.1mm and 1.4mm at the test and control sites, respectively. The use of biomaterial and a collagen membrane did not improve the results compared to the site treated with the sole collagen membrane. This outcome is, consequently, in line with that obtained in the previous described study in which defect of similar dimensions were used (Favero et al. 2012, P4).

Bone Ceramic® has been used in several clinical studies that reported good outcomes (Mardas et al 2011; Frenken et al. 2010; Cordaro et al. 2008; Froum et al. 2008). In another clinical study (De Coster et al. 2011), Bone Ceramic® was used to fill extraction sockets and the results were compared with untreated sites. A lower amount of newly formed bone and a higher quantity of loose connective tissue were found at grafted sites compared to the control sites. It was concluded that Bone Ceramic® as a grafting material used to fill extraction sockets interfered with the healing.

Bone Ceramic® has been also studied in animal experiments and different outcomes were obtained (Antunes et al. 2013; Zambon et al 2012; Rokn et al. 2011). While in a study in minipigs (Zambon et al. 2012) better results were obtained at dehiscence type defects around implants treated with Bone Ceramic®, no differences were observed at calvaria defects in rabbits treated with Bone Ceramic®, Bio-Oss or left untreated. Finally, the healing at implants installed in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects was studied (Antunes et al. 2013). Implants placed in sites left

heal with a coagulum alone showed increased bone-to-implant contact compared to sites treated with Bone Ceramic or Bio-Oss®.

In the present study, very little biomaterial was found at the morphometric analysis in the augmented region (2.1%). This is in agreement with other similar experiments in dogs in which biomaterial was placed in the buccal residual defect at IPIES. Only 1.4-4.7% of biomaterial was found after 3 months of healing (Favero et al. 2012a,b, P4 and M1). This may be related to resorptive processes (Busenlechner et al. 2012) or to a displacement of the biomaterial during healing.

In conclusion, the present study showed that similar results were obtained at IPIES treated with Bone Ceramic® a collagen membrane or with a collagen membrane alone.

#### References

- Antunes, A.A., Oliveira Neto, P., De Santis, E., Caneva, M., Botticelli, D. & Salata, L.A. (2013) Comparisons between Bio-Oss® and Straumann® Bone Ceramic in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects. *Clinical Oral Implants Research* **24**:135-42.
- Araújo, M.G., Linder, E. & Lindhe, J. (2011) Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **22**:1-8.
- Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**:645-52.
- Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:820-8.



Busenlechner D., Tangl S., Arnhart C., Redl H., Schuh C., Watzek G., Gruber R. (2012) Resorption of deproteinized bovine bone mineral in a porcine calvaria augmentation model. *Clinical Oral Implants Research* **23**:95-9.

Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Scombatti, Souza S.L., Carvalho, Cardoso L. & Lang N.P. (2010) Collagen membranes at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**:891-7.

Caneva, M., Botticelli, D., Morelli, F., Cesaretti, G., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2011) Alveolar process preservation at implants installed immediately into extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral - an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**:789-96.

Caneva, M., Botticelli, D., Pantani, F., Baffone, G.M., Rangel, I.G. Jr & Lang N.P. (2012) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**:106-12.

Chen, S.T., Darby, I.B. & Reynolds, E.C. (2007) A prospective clinical study of non-submerged immediate implants: clinical outcomes and esthetic results. *Clinical Oral Implants Research* **18**(5):552-62.

Cordaro, L., Bosshardt, D.D., Palattella, P., Rao, W., Serino, G. & Chiapasco M. (2008) Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **19**:796-803.

Cornelini, R., Cangini, F., Martuscelli, G. & Wennstrom, J. (2004) Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membrane to support healing following immediate placement of transmucosal implants: a short-term controlled clinical trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **24**: 555–563.

De Coster, P., Browaeys, H. & De Bruyn H. (2011) Healing of extraction sockets filled with BoneCeramic® prior to implant placement: preliminary histological findings. *Clin Implant Dent Relat Res.* **13**:34-45.

Favero, G., Botticelli, D., Favero, G., García, B., Mainetti, T. & Lang, N.P. (2011) Alveolar bony crest preservation at implants installed immediately after tooth extraction: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**:7-12.

Favero, G., Lang, N.P., Favero, G., León, I.G., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012a) Role of teeth adjacent to implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **23**:402-8.

Favero, G., Lang, N.P., De Santis, E., Gonzalez, B.G., Schweikert, M.T. & Botticelli D. (2012b) Ridge preservation at implants installed immediately after molar extraction. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **24**(3):255-61.

Frenken, J.W., Bouwman, W.F., Bravenboer, N., Zijdeveld, S.A., Schulten, E.A. & Ten Bruggenkate, C.M. (2010) The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period *Clinical Oral Implants Research* **21**:201-8.

Froum, S.J., Wallace, S.S., Cho, S.C., Elian, N. & Tarnow, D.P. (2008) Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **28**:273-81.

Lang et al. 2007

Mardas, N., D'Aiuto, F., Mezzomo, L., Arzoumanidi, M. & Donos, N. (2011) Radiographic alveolar bone changes following ridge preservation with two different biomaterials. *Clinical Oral Implants Research* **22**:416-23.

Rokn, A.R., Khodadoostan, M.A., Ghahroudi, A.A.R.R., Motahhary, P., Fard, M.J.K., Bruyn, H.D., Afzalifar, R., Soolar, E. & Soolari, A. (2011) Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. *The Open Dentistry Journal.* **5**:96-104.

Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E.B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized- controlled clinical trial to evaluate bone preservation using

implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 13–21.

Sicilia, A. & Botticelli, D.(2012) Working Group 3. Computer-guided implant therapy and soft- and hard-tissue aspects. The Third EAO Consensus Conference 2012. *Clinical Oral Implants Research* **23**:157-61.

Tan, W.L., Wong, T.L.T., Wong, M.C.M., Lang, N.P. (2012) A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research* **23**(5): 1–21.

Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevelmultivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 30–36.

Wang R.E. & Lang N.P.(2012) Ridge preservation after tooth extraction. *Clinical Oral Implants Research* **23**:147-56.

Wilson T.G. Jr, Schenk R., Buser D., Cochran D. (1998)Implants placed in immediate extraction sites: a report of histologic and histometric analyses of human biopsies. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **13**:333-41.

Zambon, R., Mardas, N., Horvath, A., Petrie, A., Dard, M., & Donos, N. (2012) The effect of loading in regenerated bone in dehiscence defects following a combined approach of bone grafting and GBR. *Clinical Oral Implants Research* **23**:591-601.