



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LEONARDO SILVA GOMES KAMEZAWA

**EFEITOS DA RADIOTERAPIA NA OBTENÇÃO DA
OSSEOINTEGRAÇÃO EM RATOS**

2017

LEONARDO SILVA GOMES KAMEZAWA

**EFEITOS DA RADIOTERAPIA NA OBTENÇÃO DA OSSEOINTEGRAÇÃO EM
RATOS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Dr. Rubens Nisie Tango

São José dos Campos

2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Adj. Rubens Nisie Tango (Orientador)

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Tit. Estevão Tomomitsu Kimpara

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Rogério de Lima Romeiro

Faculdade de Pindamonhangaba (FAPI)
Faculdade de Odontologia

São José dos Campos, 11 de dezembro de 2017.

DEDICATÓRIA

A **Deus**, pelo tanto que fez, tem feito e fará por mim. As tantas conquistas obtidas não são méritos meus, mas frutos da graça que eu não imaginava receber. Agradeço pela fé que me sustém e não me permite corromper por temor a ti.

A minha esposa, **Janaína**, pelo incentivo para iniciar mais essa jornada, pelo apoio e paciência incondicionais em todos os momentos, pela compreensão nos períodos de ausência. Por ir além de estar não somente ao meu lado nessa caminhada, mas por constantemente demonstrar que é e sempre será parte mim. Colheremos frutos de tamanho esforço e abdicção de tempo para investimento nas nossas carreiras, nosso amor é maior que todas as adversidades.

A minha família, **Denise, Isabela, Oscarlina e Alexandre**, por se fazerem sempre presentes e por terem feito de mim quem sou hoje. Por compreenderem que esta fase atual me exige muito tempo, mas que sempre que possível estarei presente.

A **Alice**, pela verdadeira amizade, que minimiza a distância e se faz sempre presente. Sou grato pelas conversas, pelos conselhos e por enxergar de longe o que não vemos de perto.

A **Danilo Cesco Junior**, colega de profissão, vizinho de consultório e acima de tudo amigo. Sem sua generosidade e pronta disposição em sempre ajudar, não seria possível tantas conquistas pessoais e profissionais desde 2012. Agradeço por ser exemplo de bondade, tolerância, competência e profissionalismo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, na pessoa do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, **Prof. Tit. Estevão Tomomitsu Kimpara**. Por ser a minha casa acadêmica e por me proporcionar minha melhor formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, Especialidade Prótese Dentária, coordenado pelo **Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges**, pela oportunidade de crescimento concedida.

Ao **Prof. Adj. Rubens Nisie Tango**, primeiramente por ter me dado a oportunidade de retornar e continuar minha jornada acadêmica. Mas principalmente por extrapolar sua posição de orientador e assumir o papel de mestre, que ensina ao servir-se como exemplo. Admiro sua responsabilidade no ensino, por ter mudado radicalmente o modo de lecionar e por ter alcançado o objetivo de ensinar com foco no rendimento do aluno. Sempre te serei grato!

À **Prof. Adj. Luana Marotta Reis de Vasconcellos**, inicialmente por ter me aceitado como participante de seus trabalhos científicos. Agradeço pela abertura e humildade de sempre ouvir, cobrar quando preciso e acalmar quando necessário. Foram muitos momentos de incertezas e grandes preocupações, porém você nunca deixou de afirmar que tudo daria certo. Considero que tivemos uma ótima parceria de produção e aprendizado. Estarei à disposição para novos desafios.

Ao **Prof. Tit. Clóvis Pagani**, por ter me apadrinhado desde o início da minha carreira em odontologia e por manter o cuidado e preocupação. Agradeço por colaborar tanto com meu crescimento pessoal e profissional.

Ao **Prof. Adj. Cláudio Talge**, pois somente pela sua ajuda pude trilhar minha trajetória profissional e retornar para a formação acadêmica. Você foi um instrumento de Deus na minha vida. Obrigado por me inspirar profissional e pessoalmente.

Ao **Prof. Claudio Federico** e ao **Prof. Odair Lelis**, pela parceria nesse trabalho e paciência na difícil missão de ensinar física a um grupo de dentistas e biólogos. Estendo o agradecimento a toda a equipe do LRI que colaborou com o bom andamento desse trabalho.

Aos colegas de mestrado do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, **Bruno Costa, Fernanda Herrera e Mariana Vegian**, por fazerem parte desse extenso trabalho de pesquisa.

Aos técnicos do biotério, **Sr. Toninho e André**, pela ajuda no manejo e cuidado dos animais. O trabalho de vocês é essencial para obtenção dos resultados científicos.

Ao técnico do laboratório de prótese, **Márcio**, pela ajuda sempre prestativa, buscando soluções mesmo que fora do seu alcance. Seu empenho no trabalho é um diferencial para o andamento das pesquisas.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora que não hesitam em ensinar, cientes em demonstrar que esse é o melhor caminho para aprender. Agradeço especialmente os professores do crédito “Didática Aplicada ao Ensino Superior com Enfoque na Área da Saúde – Odontologia”. **Profa. Assit. Dra. Maria Filomena Rocha Lima Hutala, Profa. Taciana Ferraz Marco Canappele e Prof. Adj. Rubes Nisie Tango**, vocês me abriram os olhos para enxergar o outro lado da sala de aula, a verdadeira razão da docência, e me despertaram o prazer de ensinar com eficácia, com foco no rendimento do aluno. A transformação que os conhecimentos desse crédito fizeram foram fundamentais para minha formação.

Aos amigos de pós-graduação conquistados nessa caminhada, que amenizaram o fardo e tornaram esse caminho um pouco mais leve.

*"Olho nenhum viu, ouvido nenhum ouviu, mente nenhuma
imaginou o que Deus preparou para aqueles que o amam"*

Isaias 64.4

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS.	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Comitê de ética	22
4.2 Confeção dos implantes	22
4.3 Procedimento cirúrgico	23
4.4 Radioterapia.....	27
5 RESULTADOS.....	34
5.1 Avaliação por histomorfometria.....	34
5.2 Teste biomecânico de torque reverso	31
6 DISCUSSÃO.....	42
7 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Implante de 2.5mm x 6mm (Emfils)	23
Figura 2 – Cirurgia para instalação do implante. A. Início do preparo após incisão nos dois planos e exposição do fêmur; B. Implante instalado; C. Implante adaptador à chave 1.2 ao lado da fresa de 2,5mm.....	25
Figura 3 – Distribuição do número total de animais entre os diferentes tratamentos e períodos de eutanásia.....	26
Figura 4 – Animais posicionados no irradiador Eldorado 78.....	27
Figura 5 – Dosímetros posicionados para confirmação da dose absorvida.....	28
Figura 6 – Imagens de cada grupo para análise histomorfométrica.....	30
Figura 7 – Teste mecânico de torque reverso.....	31
Figura 8 – Padronização do fêmur, incluído em RAAQ, para realização do teste mecânico de torque reverso.....	33
Figura 9 – Análise histomorfométrica. Determinação da área total para análise da formação óssea (BAFO).....	34
Figura 10 – Análise histomorfométrica. Determinação da superfície total para análise do contato osso implante (BIC).....	35
Figura 11 – Gráfico da análise BIC em função do tempo de osseointegração.....	37

Figura 12 – Gráfico da análise BAFO em função do tempo de osseointegração..... 37

Figura 13 – Gráfico com média de cada grupo em função da cronologia..... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatística descritiva dos valores de BAFO e BIC.....	36
Tabela 2 - Análise de variância de 2 fatores para valores de BIC.....	38
Tabela 3 – Resultado do teste de Tukey para BIC.....	38
Tabela 4 – Análise de variância de 2 fatores para valores de BAFO.....	39
Tabela 5 – Resultado do teste de Tukey para BAFO.....	39
Tabela 6 - Tabela de estatística descritiva dos resultados dos grupos.....	40
Tabela 7 - Análise de variância de 2 fatores para valores de torque reverso.....	41
Tabela 8 – Teste de Tukey para resultados de torque reverso.....	41

Kamezawa LSG. Efeitos da radioterapia na obtenção da osseointegração em ratos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

RESUMO

A radioterapia é o uso da aplicação de radiação ionizante em áreas específicas, visando tratamento de tumores. Porém, a área irradiada e os tecidos normais circundantes estão sujeitos a danos agudos e crônicos. As injúrias no tecido ósseo variam desde osteopenia até osteorradionecrose e, devido a estas alterações, pacientes irradiados portadores de implantes vêm demonstrando maior taxa de insucesso. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da radioterapia, simulando uma dose total de um tratamento radioterápico convencional para pacientes oncológicos, na neoformação óssea e na osseointegração de implantes em fêmures de ratos. Foram utilizados neste estudo 66 ratos que receberam implantes cilíndricos de titânio comercialmente puro (TiCp) nos fêmures direito e esquerdo. Os animais foram divididos em 3 grupos: a) Grupo controle (C): cirurgia de colocação dos implantes (tecido sadio sem irradiação); b) Grupo irradiação precoce (Ip): cirurgia de colocação dos implantes seguido de irradiação após 24h; c) Grupo irradiado (I): irradiação e após 4 semanas, cirurgia de colocação dos implantes. Os animais dos grupos Ip e I foram submetidos a irradiação em 02 sessões de 15 Gy, totalizando a dose de 30 Gy. Os animais foram eutanasiados nos períodos de 2 e 7 semanas após o tratamento. Durante o experimento, os animais foram cuidadosamente monitorados quanto as alterações clínicas. Em cada período, 06 animais foram submetidos à análise histomorfométrica, visando avaliar a neoformação óssea e a interface osso-implante. Os outros 05 animais, dos períodos de 2 e 7 semanas após o tratamento, foram submetidos ao teste de torque reverso para avaliar a força de fixação osso-implante, obtida na osseointegração. Todos os dados foram estatisticamente analisados por meio da análise de variância de 2 fatores para torque reverso, porcentagem de área de formação óssea (BAFO) e porcentagem de superfície de contato osso implante (BIC) com nível de significância a 5%. O teste de Tukey foi realizado para determinação dos grupos homogêneos. A irradiação ionizante influenciou negativamente de maneira estatisticamente significativa, retardando o processo de osseointegração, porém, não sendo capaz de inibi-lo.

Palavras-chave: Implantação dentária. Osseointegração. Radiação ionizante. Radioterapia.

Kamezawa LSG. *Effects of radiotherapy in obtaining osseointegration in rats [dissertation].* São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.

ABSTRACT

The radiotherapy is ionizing radiation proceeding in specific areas, aiming at the treatment of tumors. However, the irradiated area and the surrounding normal tissue can develop acute and chronic damage. In bone tissue, injuries ranging from osteopenia to osteoradionecrosis and due to these changes patients irradiated with implants have shown higher failure rate. The objective of this study was to evaluate the effects of radiation, simulating a total dose of a conventional radiotherapy treatment for cancer, bone regeneration and osseointegration of implants in femurs of rats. It was used in this study 66 mice that receive cylindrical implants of commercially pure titanium (cpTi) on the right and left femurs. The animals were divided into 3 groups: a) control group (C): implant placement surgery (control group - healthy tissue without irradiation); b) Group early irradiation (Ip): placement of implants surgery followed by radiation after 24h; c) Group irradiated (I): irradiation and after 4 weeks of surgery implant placement. The animals of the Ip and I groups were subjected to irradiation in a double step at a dose of 15 Gy each, totalizing dose of 30 Gy. The animals were euthanized at periods of 2 and 7 weeks after treatment. During the experiment, the animals were carefully monitored for clinical changes. In each period 06 animals were submitted to histomorphometric analysis, to evaluate the bone formation and bone-implant interface. The other 05 animals, in periods of 2 and 7 weeks after treatment, were submitted to the reverse switch test to evaluate the strength of bone-implant fixation, obtained in osseointegration. All data were statistically analyzed by means of the 2-factor variance analysis for reverse torque, percentage of bone area fraction occupancy (BAFO) and percentage of bone implant contact (BIC) with significance level at 5%. The Tukey test was performed to determine the homogeneous groups. The ionizing radiation influenced negatively in a statistically significant way, delaying the process of osseointegration, but not being able to inhibit it.

Keywords: Dental implants. Osseointegration. Ionizing radiation. Radiotherapy.

1 INTRODUÇÃO

O uso da radiação ionizante como terapia de tratamento de tumores tem sido feita há mais de 100 anos (Edwards, 2002), sendo especialmente aplicada em carcinomas de cabeça e pescoço (Mitchell, Logan, 1998). Cerca de 80% dos pacientes com câncer necessitam de radioterapia em algum momento do tratamento para obter a cura, mas 60% dos pacientes irradiados apresentam complicações (Haubner et al., 2012).

A radioterapia ou radiação ionizante é bastante eficaz no tratamento de tumores, porém sua dose é limitada pela tolerância à radiação dos tecidos sadios circunjacentes, uma vez que a irradiação pode promover efeitos agudos ou acumulativos nestes tecidos (Sønstevold et al., 2015). Tanto a destruição do tumor quanto a indução de lesões indesejáveis nos tecidos normais podem ocorrer por um mecanismo de interação que age sobre o DNA nuclear, causando morte celular ou dificuldade de multiplicação. Este mecanismo pode ser consequência de uma ação direta, quando a irradiação interfere clivando o DNA, e/ou ação indireta, quando há dissociação da água em íons (H^+ e OH^-) e este íon OH^- reage com as bases nitrogenadas do DNA, interferindo também na multiplicação celular.

A radiação ionizante é uma onda eletromagnética, constituída de campos elétricos e magnéticos oscilantes, capaz de arrancar um elétron de um átomo (Okuno, 2013). As ondas eletromagnéticas são constituídas de raios gama e apresentam energia suficiente para ionizar um átomo. A radioterapia é um tratamento realizado utilizando uma fonte emissora de feixes de Radiação-Gama com uma distância padronizada do receptor radioativo.

A interação entre as radiações ionizantes e as células depende da energia absorvida pelas moléculas. Os efeitos biológicos dessa interação estão relacionados à dose, transferência linear de energia, fracionamento e radiosensibilidade celular. A dose total absorvida, para o tratamento de neoplasias malignas pode ser fracionada em doses menores durante o tratamento (Chandra et al., 2015; Russell, Connor, 2014; Sønstevold et al., 2015). As células neoplásicas provavelmente serão destruídas se a dose absorvida for eficiente, mas o fator limitante para determinar tal dose é a taxa de dose absorvida que o tecido normal adjacente pode tolerar (Ainsbury et al., 2011). A

unidade de dose absorvida de radiação é o gray, Gy, e corresponde à energia média de radiação ionizante por unidade de massa da matéria (Okuno, 2013).

Estudos relatam que doses únicas de 20-30Gy estão associadas com alterações na morfologia e fibrose muscular, enquanto que doses fracionadas maiores que 14 Gy causam apoptoses irreversíveis em células endoteliais (Gallet et al., 2011).

Pacientes submetidos a tratamentos oncológicos em região de cabeça e pescoço frequentemente são submetidos a exodontias prévias ao tratamento da neoplasia ou a exérese do tumor exige ressecção óssea cuja reabilitação futura necessite ser realizada por implantes dentários (Klokkevold, Han, 2007; Chen et al., 2013).

Os implantes dentários são uma realidade no processo de reabilitação de elementos perdidos pelo processo da osseointegração, descrita após a instalação de 3.000 implantes em regiões de tíbia, ossos temporais e ilíacos desde 1965 (Albrektsson et al., 1981). Inicialmente, foram utilizados para reabilitação de pacientes totalmente edêntulos com a instalação de prótese totais fixas (Brånemark et al., 1969), porém, com o passar dos anos, passou a ser solução para resolução de reabilitação de elementos unitários com alto índice de sucesso (Albrektsson, 1988). No entanto, para que ocorra a osseointegração dos implantes dentários, são necessárias condições relativas à área de instalação do implante e à saúde sistêmica do paciente (Davarpanah et al., 2013). Embora haja trabalhos que comprovem a possibilidade de osseointegração em tecido ósseo irradiado, ainda há muitas dúvidas sobre o momento da instalação dos implantes e a influência da radiação ionizante no processo de osseointegração.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Radiação ionizante

No campo da física, as radiações que possuem massa com elétrons, nêutrons e prótons, são denominadas como corpusculares, enquanto as radiações eletromagnéticas possuem ondas de comprimentos diferentes e mesma velocidade (Segreto, Segreto, 2000). A radiação ionizante é definida como eletromagnética, composta por campos elétricos e magnéticos oscilantes, capaz de remover elétrons de um átomo ou molécula, transformando-os em íons. Dentre as radiações ionizantes estão as partículas alfa e beta, as radiações gama e X e nêutrons (Okuno, 2013). A radiação ionizante é utilizada terapêuticamente em tratamento oncológicos.

A radioterapia consiste em um método local de tratamento do câncer com variadas técnicas e equipamentos para irradiar áreas do organismo comprometidas por neoplasias, previamente delimitadas e com dose dependente da finalidade de tratamento, localização do tumor e seu tipo histológico (BRASIL, 2015).

A teleterapia consiste na utilização de feixes de raios x, raios gama e elétrons de alta energia, através de um aparelho contendo uma fonte de radiação, colocado a aproximadamente um metro do receptor (Flôr, Gelbcke, 2009). Dessa maneira, ocorre o processo denominado ionização, com a formação de um par de íon negativo e positivo, sendo que quanto mais próximo do núcleo estiver localizado o átomo, maior é a força de atração com o núcleo, carregado positivamente (Okuno, 2013).

O mecanismo de ação da radiação ionizante pode ocorrer de maneira direta ou indireta. O mecanismo direto é caracterizado pela interação com moléculas importantes como o DNA, podendo causar desde mutação genética até a morte celular. Já o mecanismo indireto se dá pela quebra da molécula de água, gerando radicais livres capazes de atacar outras células importantes (Okuno, 2013).

As reações teciduais surgem acima de certa dose, denominada dose limiar, e depende do tipo de radiação e do tecido irradiado, podendo causar a morte celular. Existem também os chamados efeitos estocásticos, alterações que ocorrem em células normais, que podem ser induzidos por qualquer dose, porém, tem

probabilidade de ocorrência aumentada conforme a dose (Okuno, Yoshimura, 2016).

O sistema esquelético é um dos alvos mais relevantes que se correlaciona com a lesão induzida por radiação (Hu et al., 2010; Wang et al., 2016), sendo que a injúria causada no tecido ósseo varia desde osteopenia até osteoradionecrose (Williams, Davies, 2006), considerada uma das complicações clínicas mais severas da radioterapia (Mitchell, Logan, 1998). Os tumores de cabeça e pescoço apresentam uma sobrevida de 57% e estes pacientes geralmente são submetidos a radioterapia durante o tratamento (Mancha de la Plata et al., 2012). Muitos destes pacientes necessitam de reabilitação oral, para reposição de elementos unitários ou múltiplos ou o reestabelecimento de deformidades causadas por ressecção cirúrgica devido ao tumor. Os implantes dentários têm um papel crucial nesta terapia de reabilitação, entretanto, o tratamento com implantes torna-se um desafio, uma vez que o osso no qual os implantes dentários serão colocados foi irradiado (Pompa et al., 2015).

O tratamento do câncer bucal pode ser realizado por ressecção cirúrgica, radioterapia, quimioterapia ou associação de métodos, sendo comum a intervenção cirúrgica com comprometimento de elementos dentários. Quando indicada a radioterapia, exodontias múltiplas são frequentemente realizadas para evitar que esse tipo de intervenção cirúrgica seja necessária durante o período de irradiação, no qual o risco de osteoradionecrose é extremamente elevado (Barrowman et al., 2011). Dentre as complicações descritas após irradiação do tecido neoplásico estão fibroses, osteoradionecrose e perda de implantes dentários (Marx, Morales, 1998).

2.2 Osseointegração

Na década de 1950, Per-Ingvar Brånemark realizou estudos sobre a circulação sanguínea e a reparação óssea e, em sua metodologia, instalou câmaras ópticas de titânio em ossos longos de coelhos, porém, a remoção das câmaras mostrou-se difícil, sugerindo o estudo do comportamento ósseo junto a esse metal (Branemark, 1959).

Em estudo realizado em cães, Brånemark testou próteses implantossuportadas e relatou estabilidade a longo prazo da interface entre osso-

implante, sendo mantida por no mínimo 4 anos (Brånemark et al., 1969).

O termo osseointegração foi utilizado após acompanhamento de 10 anos de implantes dentários, sendo definido a partir de análises histológicas como uma união anatômica entre osso vivo remodelado e a superfície do implante em função (Brånemark et al., 1977). Relataram que, nesse processo, por menos traumática que fosse, a preparação cirúrgica não poderia evitar uma zona de necrose periférica originada pelo aumento da temperatura local (Brånemark, 1985).

O processo de osseointegração tem início a partir do contato sanguíneo com a superfície do implante e a formação de um coágulo nos espaços livres entre a linha de perfuração e o material. O fibrinogênio presente no sangue se deposita sobre o titânio, permitindo o contato das plaquetas à superfície, cuja degranulação libera elementos de crescimento e atraem células indiferenciadas. Durante a formação do coágulo, é formada uma rede tridimensional de fibrina, precursora da angiogênese local. Os capilares neoformados conduzem as células mesenquimais indiferenciadas ao local da reparação. Sendo respeitadas todas as condições biomecânicas locais, ocorre a diferenciação com a formação da linha osteoblástica. As fibras da rede de fibrina naturalmente sofrem retração e, quando resistem a essa tração, a osteogênese se desenvolve por osteogênese de contato. Quando não resistem, a osteogênese ocorre à distância. Quando a osteogênese se faz por contato, as células osteogênicas reconhecem a superfície do implante como estável e progridem a diferenciação em osteoblastos, células que secretam uma matriz proteica não colagênica, composta por osteopontina e sialoproteína, que passam por mineralização. A aposição óssea produz um osso trançado, que pode ser reconhecido pelo padrão desorganizado das fibras de colágeno mineralizadas. Posteriormente, os osteoblastos são incluídos na matriz óssea e se diferenciam em osteócitos. A aposição óssea continua de maneira centrífuga, da superfície do implante em direção ao osso, e centrípeta, do osso em direção à superfície do titânio, assegurando a imobilização do implante na estrutura óssea. A osteogênese à distância ocorre apenas na direção do osso para a superfície do implante, com a produção de osso laminar que será remodelado em haversiano. Após as etapas de maturação óssea do osso haversiano, em organização circular concêntrica de fibras de colágeno, as propriedades mecânicas aumentam (Davarpanah, 2013).

Implantes osseointegrados são considerados efetivos como tratamento

reabilitador, porém, embora altamente previsíveis e com alto índice de sucesso conforme documentado em muitos estudos (Klokkevold, Han, 2007), ainda são registradas falhas na reabilitação com implantes por diferentes razões (Chen et al., 2013). O sucesso da osseointegração está associada com a saúde do tecido periimplantar e com o restabelecimento da função e estética (Faggion et al., 2013). Contudo, há condições específicas que podem ser associadas à falha dos implantes tais como a radioterapia (Chambrone et al., 2013). Estudos recentes que revisaram os motivos de falha de implantes em pacientes, concluíram que a irradiação tem um papel fundamental no prognóstico dos pacientes tratados com implantes dentários, havendo uma relação direta entre a radioterapia e o risco de perda dos implantes (Chambrone et al., 2013, Chen et al., 2013) e o índice de sucesso dos implantes dentários em tecidos que foram submetidos à radioterapia varia de 43,6% à 98% (Chambrone et al., 2013).

A osseointegração pode ser prejudicada devido a diminuição da vascularização e da vitalidade óssea (Verdonck et al., 2008), além da radioterapia promover progressiva fibrose de vasos e tecidos moles (Pompa et al., 2015). Estes efeitos resultam em maior reabsorção periimplantar no osso irradiado (Brosseur et al., 2006; Brogniez et al., 2002) e menor capacidade de cicatrização (Pompa, 2015). A radioterapia focal promove efeitos prejudiciais no tecido ósseo quando ele está no campo irradiado (Chandra et al., 2015, Hu et al., 2010), e os sinais clínicos primários do dano ósseo inclui a perda da atividade funcional dos osteoblastos, maior quantidade de tecido adiposo no osso medular e diminuição da microvascularização (Williams, Davies, 2006). Esta perda funcional de osteoblastos foi confirmada recentemente em estudo no qual se observou maior quantidade de marcadores apoptóticos por meio da técnica de imunohistoquímica (Chandra, 2015).

Entretanto, a densidade mineral parece retornar à normalidade, permitindo a instalação de implantes nas áreas irradiadas (Brosseur et al., 2006; Brogniez et al., 2002; Verdonck et al., 2008). Provavelmente este retorno se deve a característica do tecido ósseo de ser um órgão extremamente dinâmico que se remodela constantemente, havendo um balanço entre a atividade osteoblástica e osteoclástica que garante a homeostasia no tecido.

Para que a osseointegração ocorra após a incidência de radiação ionizante no tecido ósseo, é necessário aguardar o período de revascularização e da

neoformação óssea, o que ocorre no intervalo de 3 a 6 meses (Marx, Johnson, 1987), porém, há controvérsia na literatura em relação ao período ideal de instalação dos implantes dentários após o tratamento radioterápico (Dholam, Gurav, 2012).

A irradiação de regiões com implantes instalados também não é consenso na literatura. Há autores que afirmam que a presença do metal do implante dentário não influencia nos efeitos da radiação ionizante (Alsaadi et al., 2008; Jäkel, Reiss, 2007; Kwon et al., 2010), porém, há trabalhos que defendem que o espalhamento da radiação gerado pela presença do implante causa efeitos biológicos (Bazalova et al., 2007; Chin et al., 2009; Friedrich et al., 2012).

Assim, os efeitos colaterais crônicos em pacientes irradiados tornaram-se um problema grave devido ao elevado número de indivíduos tratados com radioterapia, contudo, muitas dúvidas ainda precisam ser esclarecidas, sendo que há uma carência de identificar o momento ideal para a instalação de implantes visando a reabilitação oral em pacientes que já foram irradiados devido às sequelas no tecido ósseo, tornando mais desafiadora a prática clínica de implantodontia nestes pacientes.

2.3 Estudos em animais

Estudos correlacionam a idade dos ratos à dos humanos para comparação e expectativa de extrapolação dos achados científicos. Autores consideram a expectativa de vida e comportamentos metabólicos para afirmar que 13,7 dias da vida do rato equivale a 1 ano de vida do homem (Quinn, 2005), porém, essa relação varia entre estudos desde 12,2 dias do rato para 1 ano do humano (Andreollo et al., 2012) até 17,1 dias para 1 ano (Sengupta, 2011).

Em revisão da literatura sobre implantes instalados em osso irradiado, Dholam e Gurav (2012) citaram 14 estudos em animais, utilizando coelhos, cães, ratos e macacos para verificar o sucesso da osseointegração. Encontraram resultados conflitantes sobre formação óssea na área irradiada, com estudos que mostram redução da remodelação óssea em função da irradiação e outros que apontaram resultados contrários.

Estudos que avaliam diversos efeitos da radiação ionizante em tecido ósseo

em ratos utilizam como protocolo de irradiação fonte emissora de isótopo Cobalto 60 (^{60}Co) com variação de dose entre 18Gy (Nicholls et al., 2013), 30Gy (Cunha et al., 2007; Da Cunha et al., 2007; Lucatto et al., 2011) e 50Gy (Çakir et al., 2016).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da radioterapia, simulando uma dose total máxima de um tratamento radioterápico convencional para pacientes oncológicos, verificando a neoformação óssea e a osseointegração de implantes obtida em fêmur de ratos em situações associadas ou não a radioterapia, a partir de análises histomorfométrica de BIC e BAFO e teste biomecânico de torque reverso.

4 MATERIAL E MÉTODOS

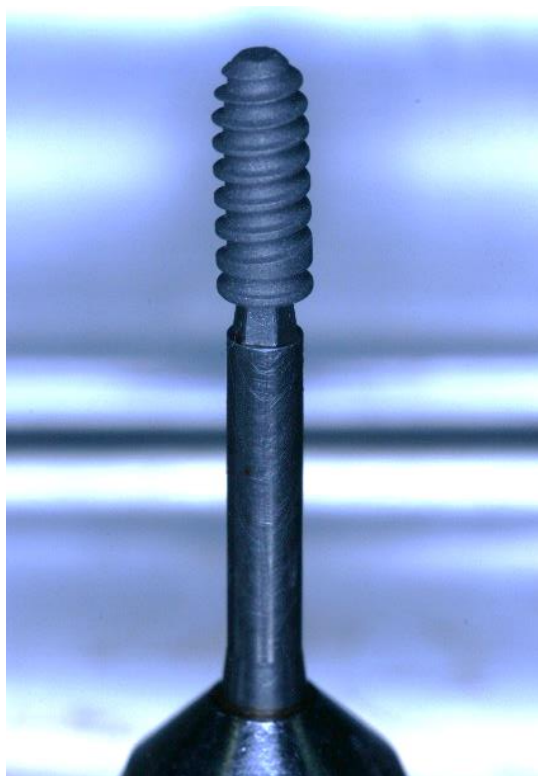
4.1 Comitê de Ética

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia do Campus de São José dos Campos/UNESP, aprovado e registrado com o número 009 / 20016 – CEUA-ICT-UNESP e foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2 Confeção dos implantes

Os implantes rosqueáveis cilíndricos de titânio foram confeccionados pela empresa de implantes Emfils, (Itu, SP, Brasil) análogos aos implantes comerciais, porém, com proporções reduzidas para obtenção de diâmetro de 2,5mm e altura de 6mm, com conexão para chave 1.2 na cabeça do implante para instalação com chave digital (Figura 1).

Figura 1 - Implante de 2.5mm x 6mm (Emfils)



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3 Procedimento Cirúrgico

Uma amostra composta de 66 ratos Wistar heterogêneo com 90 dias e pesando cerca de 300g foram usados neste estudo. Os animais foram provenientes do Biotério Central da Unesp, situado em Botucatu e permaneceram durante o experimento no Biotério do ICT São José dos Campos/UNESP em gaiolas (n=4) onde receberam água e ração *ad libitum*. O ambiente foi cuidadosamente monitorado para manter a temperatura em torno de 20°C e a umidade em 55%.

Após 30 dias de adaptação ao ambiente, com ciclos diários alternando 12 horas correspondentes ao período de luz e ao período noturno, foi iniciado este experimento. Os animais foram divididos de acordo com o tratamento: a) Grupo controle (C): cirurgia de colocação dos implantes (tecido sadio sem irradiação); b) Grupo irradiação precoce (Ip): cirurgia de colocação dos implantes e seguido de

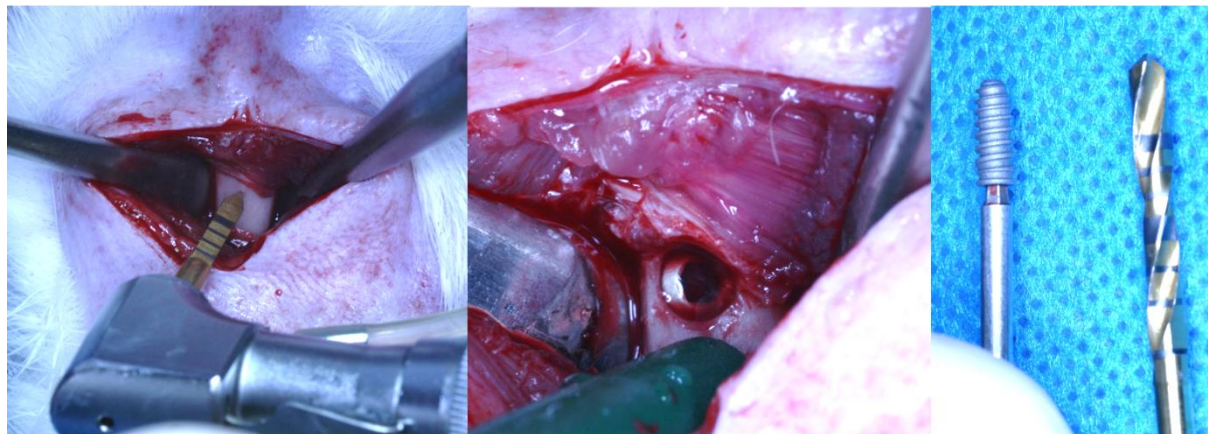
irradiação após 24h; c) Grupo irradiado (I): irradiação e após 4 semanas cirurgia de colocação dos implantes.

No grupo irradiação precoce (Ip), os animais foram submetidos à cirurgia de implante e posterior irradiação, com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação no processo de osseointegração, uma vez que a irradiação ocorreu em período próximo ao procedimento cirúrgico. O intervalo de 24h entre o procedimento cirúrgico e a irradiação dos animais foi determinado como o intervalo mínimo para a aplicação de uma nova dose anestésica segura nos animais.

Já no grupo irradiado (I), a tentativa foi de simular a situação clínica de pacientes irradiados e que após 2 anos do tratamento oncológico finalizado, recebem implantes. Para tanto, a irradiação dos animais neste grupo foi realizada 4 semanas antes do procedimento cirúrgico. Os períodos de eutanásia e de irradiação foram determinados baseado em estudos prévios que correlacionaram a idade dos ratos com o homem (Andreollo et al., 2012; Quinn, 2005; Sengupta, 2011).

Os procedimentos cirúrgicos para a colocação dos implantes nos fêmures direito e esquerdo foram realizados de acordo com de Vasconcellos et al., 2014. Os animais foram anestesiados com 0,4ml de solução contendo a proporção de 0,85ml de xilazina para 0,5ml de ketamina via intramuscular. Foi realizada tricotomia com extensão além da área operada, para reduzir o risco de contaminação do campo operatório. A desinfecção da área operada foi feita com gaze embebida em álcool 70%. A incisão foi realizada em dois planos, sendo que a segunda incisão foi realizada sobre uma fáscia muscular com extensão de aproximadamente 4cm, com lâmina de bisturi nº 15, tocando o tecido ósseo. A remoção do periósteo remanescente na área de interesse foi removida por fricção com espátula molt (Figura 2A). O alvéolo cirúrgico para instalação dos implantes foi preparado seguindo a sequência de fresas de diâmetro 1.8 (lança), 2.0 e 2.5mm, com 1.300RPM e irrigação abundante com soro fisiológico. A instalação dos implantes foi feita manualmente, com chave digital 1.2mm, garantindo estabilidade primária (Figuras 2B e 2C). A sutura foi realizada com fio de seda 3.0 aproximando os bordos da ferida e envolvendo tecidos muscular e epidérmico. Após as cirurgias, todos os animais receberam uma injeção intramuscular com 0.1 mg/kg de fenildimetilpirazolona-metilaminometansulfonato de sódio.

Figura 2 – Cirurgia para instalação do implante

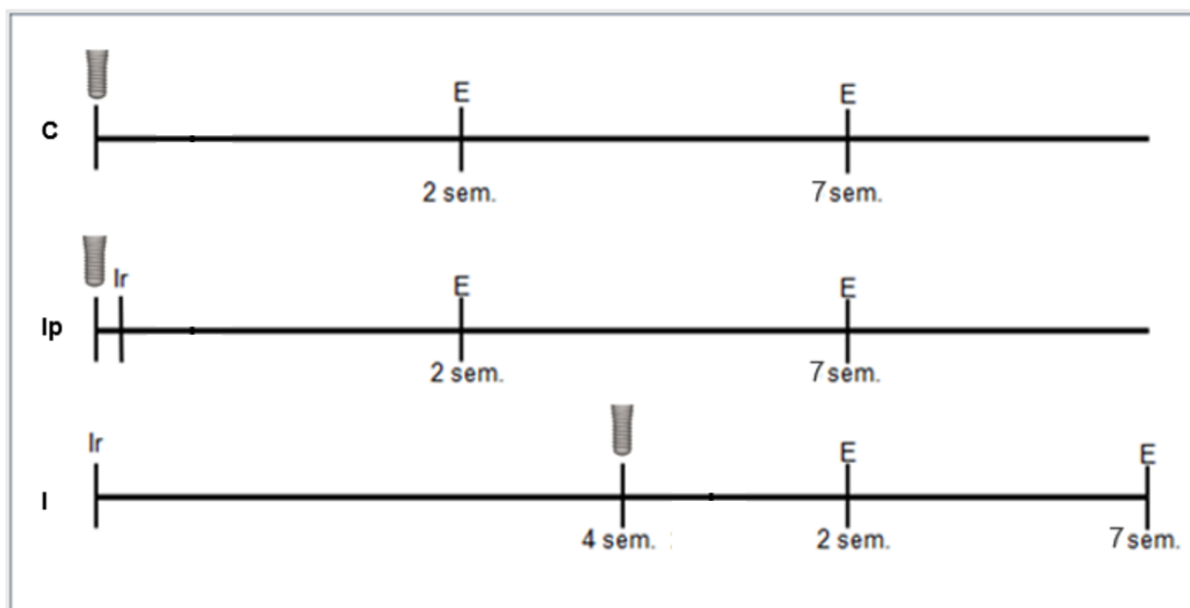



Legenda. A. Início do preparo após incisão nos dois planos e exposição do fêmur; B. Implante instalado; C. Implante adaptado à chave 1.2 ao lado da fresa de 2.5mm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Após os procedimentos, os animais foram colocados nas gaiolas com $n=5$ ou 6 , de acordo com o subgrupo, e monitorados até o prazo da eutanásia de 2 e 7 semanas (Figura 3). Na análise de histomorfometria, os subgrupos exibiram $n=6$ e no teste biomecânico, exibiram $n=5$. Desse modo, cada período de eutanásia foi composto por 11 animais, sendo 5 destinados à análise histomorfométrica e 6 à análise biomecânica do torque reverso.

Figura 3 - Distribuição do número total de animais entre os diferentes tratamentos e períodos de eutanásia



Legenda:  = instalação dos implantes; E = eutanásia; Ir = irradiação;
 Grupos: C (controle), Ip (irradiação precoce) e I (irradiado).

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4 Radioterapia

Os animais foram anestesiados e irradiados localmente nos fêmures direito e esquerdo. As irradiações visaram simular um tratamento radioterápico de dose máxima de uma lesão neoplásica. Para este procedimento foi utilizado um irradiador de teleterapia modelo Eldorado 78 (*Atomic Energy of Canadian Limited*), com uma fonte de radiação gama ^{60}Co (Figura 4). As irradiações foram realizadas em duas sessões, com intervalo de 24 horas entre elas, totalizando a dose acumulada de 3000 Rad (3 krad = 30 Gy). Para a irradiação, os animais foram imobilizados, dois a dois, após anestesia, em um aparato desenvolvido especialmente para este estudo, visando a padronização da aplicação da radiação ionizante em todos os animais. Para controle da dose, foram utilizados dosímetros posicionados nas regiões de interesse para confirmação da dose recebida (Figura 5).

Figura 4 - Animais posicionados no irradiador Eldorado 78



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 5 - Dosímetros posicionados para confirmação da dose absorvida



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Histomorfometria

As peças obtidas de cada período, foram divididas para a confecção de blocos para análise histomorfométrica.

Cada uma das peças foi submetida ao processamento histológico utilizando a técnica do metilmetacrilato, tendo sido fixada em solução de formol por 48 horas, lavada em água corrente por 30 minutos e gradualmente desidratada por 30 minutos em cada solução de álcool de 70% a 100%. Após o processo de desidratação, as peças foram incluídas em metilmetacrilato e os blocos foram cortados em lâmina de 75mm de espessura com o disco de diamante (Extec) paralelo ao longo eixo dos implantes em Labcut 1010 (Extec). As lâminas foram prensadas, reduzidas em espessura até 30 μ m e polidas em politriz (Metaserva, Buehler Ltd) sob irrigação abundante em lixas água nas granulações de 600, 1200 e 2500, respectivamente. As análises histológicas foram realizadas pelos métodos de campo claro utilizando corante de azul de toluidina, que cora tecido ósseo, tecido osteóide e também núcleos de células como osteoblastos, osteoclastos, células da medula, permitindo a

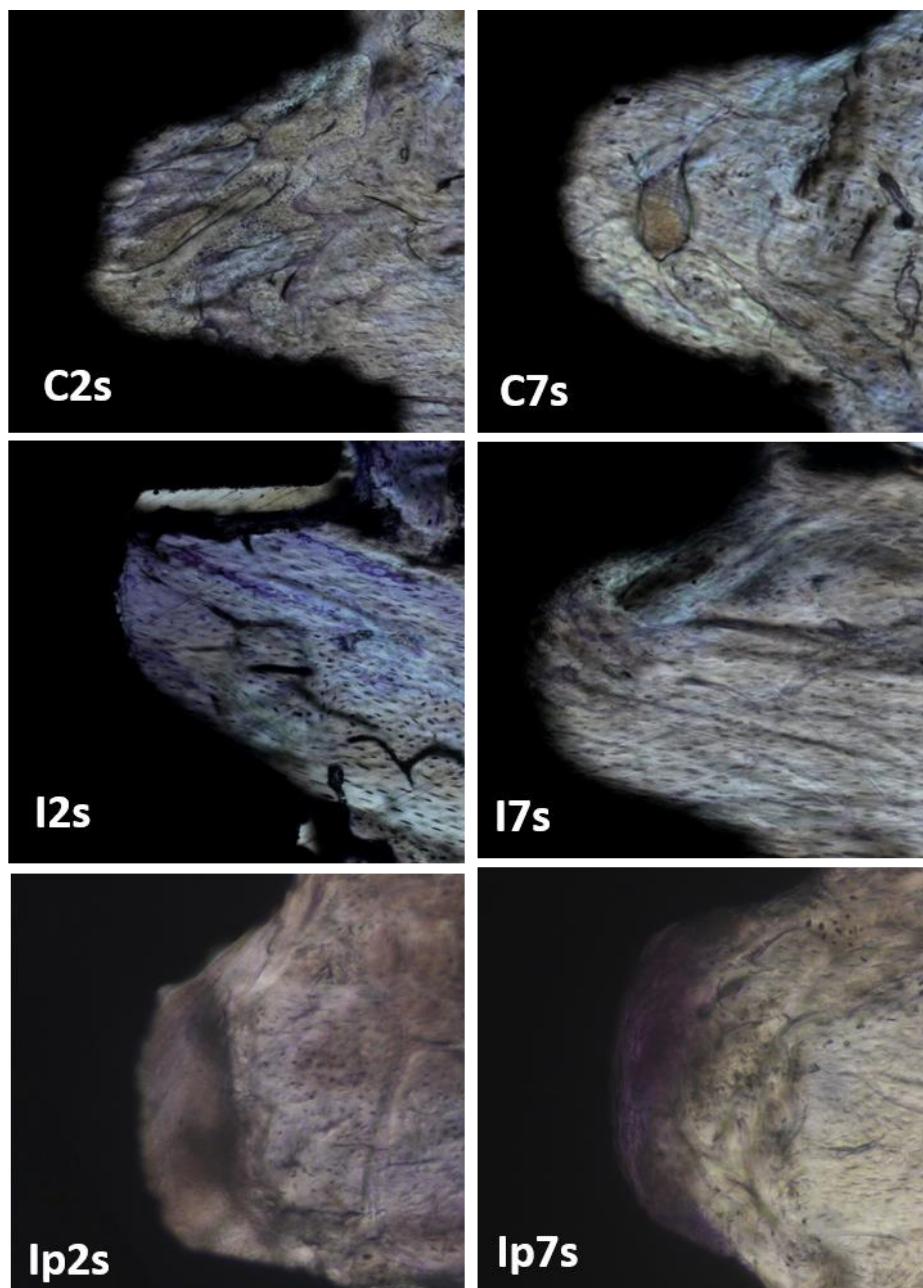
observação da remodelação óssea que ocorre no processo de osseointegração dos implantes e a identificação das células.

A análise histomorfométrica da neoformação óssea foi feita através da captura da imagem das lâminas a partir de um microscópio de luz Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), com ocular de 10x e objetiva de 20x, sob um foco fixo, acoplado com uma câmera AxioCam MRC 5 (Zeiss) que permitiu a visualização das imagens digitalizadas diretamente no computador (Figura 6).

As imagens digitalizadas foram submetidas à análise histomorfométrica no software ImageJ (Image Processing, and Analysis in Java, NIH, EUA). Tal programa possibilitou, devido a diferença de coloração, a marcação das diferentes estruturas como o osso neoformado na interface osso-implante, o implante, os espaços medulares, as células e o tecido osteóide. Foram selecionados dois campos, correspondentes a interface mesial e distal do implante, em cada lâmina e os parâmetros histomorfométricos calculados por porcentagem ocupada por cada estrutura.

Cada uma das imagens obtidas foi analisada quanto à porcentagem de formação óssea, BAFO (*bone area fraction occupancy*), e a porcentagem de superfície de contato do implante com o tecido ósseo, BIC (*bone implant contact*) de região interna de uma rosca (Figuras 7 e 8). Os dados dessa análise foram submetidos à análise estatística.

Figura 6 - Imagens de cada grupo para análise histomorfométrica



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.6 Teste biomecânico de torque reverso

Em cada período, os fragmentos contendo implante e o tecido ósseo, imediatamente após a eutanásia foram preservados na solução de ringer em freezer a -20°C até o momento de realização do teste biomecânico que foram realizados à temperatura ambiente. Antes de serem submetidas ao teste mecânico, as peças foram incluídas em resina acrílica quimicamente ativada, para que o resultado do torque reverso se mantivesse fiel à força necessária para movimentar o implante do interior do tecido ósseo. Este teste foi utilizado para mensurar a força de fixação entre osso-implante, avaliando a osseointegração de forma quantitativa.

Para realização do teste, foi desenvolvido um dispositivo para garantir o torque reverso no sentido do longo eixo de instalação do implante, sem indução de forças em outros sentidos (Figura 11A). O torquímetro digital (MGT12, MARK-10 Corporation, NY, USA) com chave 1.2 para implante foi adaptado ao dispositivo de modo a permanecer perpendicular ao solo, acompanhando o longo eixo de instalação do implante no fêmur, mantido nessa posição com o auxílio de uma morsa. Ao ser realizado o giro da chave no senti anti-horário, o aparelho registrou em seu visor o pico de carga aplicada em N/cm^2 (Figura 11B).

Para eliminação de viés de forças não axiais ao longo eixo do implante, cada fêmur foi incluído em resina acrílica quimicamente ativada (RAAQ) de modo que, ao ser posicionado na morsa, não houvesse movimentação do fêmur nem indução de força sobre ele e o torquímetro registrasse unicamente a força aplicada para remover o implante do interior do tecido ósseo (Figura 12).

Figura 7 - Teste mecânico de torque reverso



Legenda: A. Visor do torquímetro indicando máxima carga registrada em N/cm². B. Dispositivo de adaptação para torquímetro digital.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 8 - Padronização do fêmur, incluído em RAAQ, para realização do teste mecânico de torque reverso



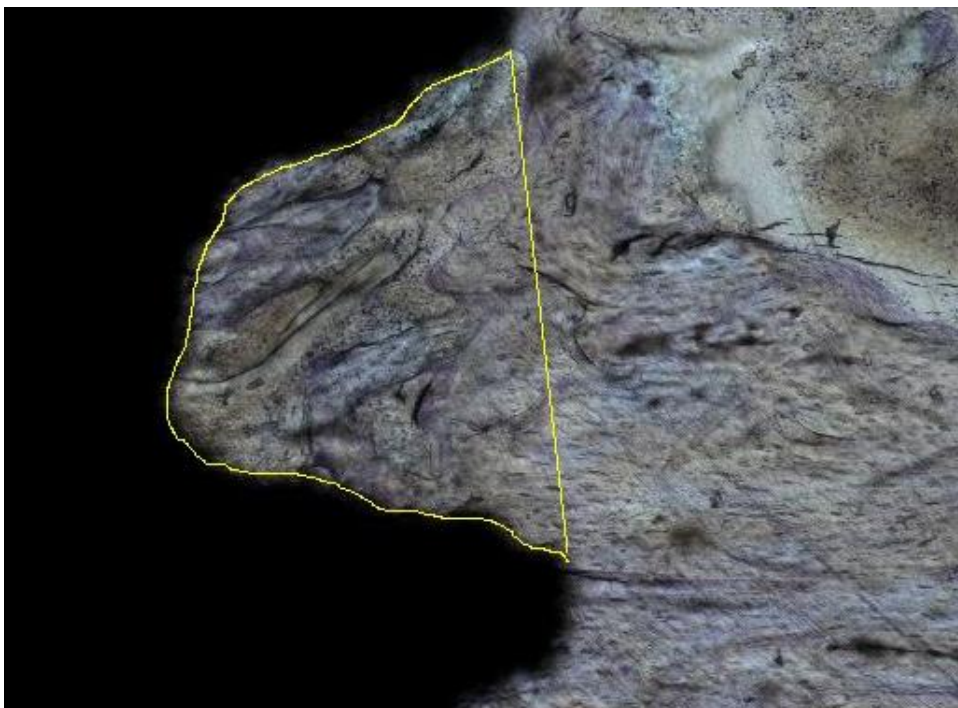
Fonte: Elaborada pelo autor.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação por histomorfometria

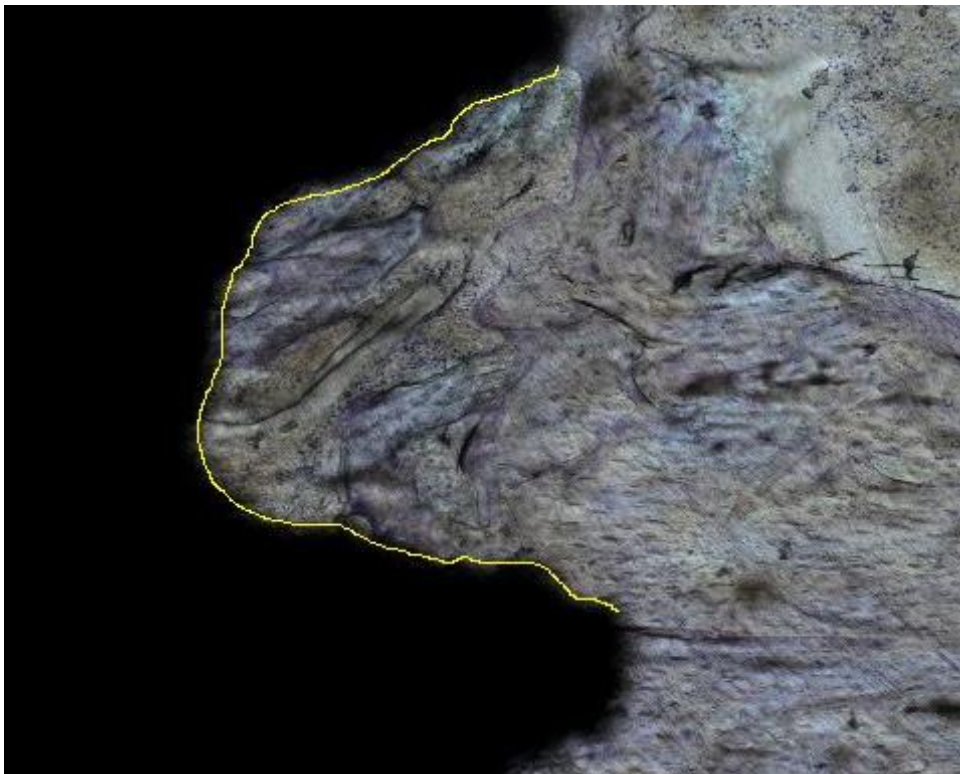
Para determinação dos valores de BIC e BAFO foram considerados que a área total de uma rosca do implante e a sua superfície total, respectivamente, estava para 100%, assim como a área de osso formada e a superfície da rosca do implante em contato com o tecido ósseo estava para x%. Desse modo, os valores de BAFO e BIC foram expressos em porcentagem (QUADRO 1).

Figura 9 - Análise histomorfométrica. Determinação da área total para análise da formação óssea (BAFO)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 10 - Análise histomorfométrica. Determinação da superfície total para análise do contato osso implante (BIC)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 1 - Estatística descritiva dos valores de BAFO e BIC

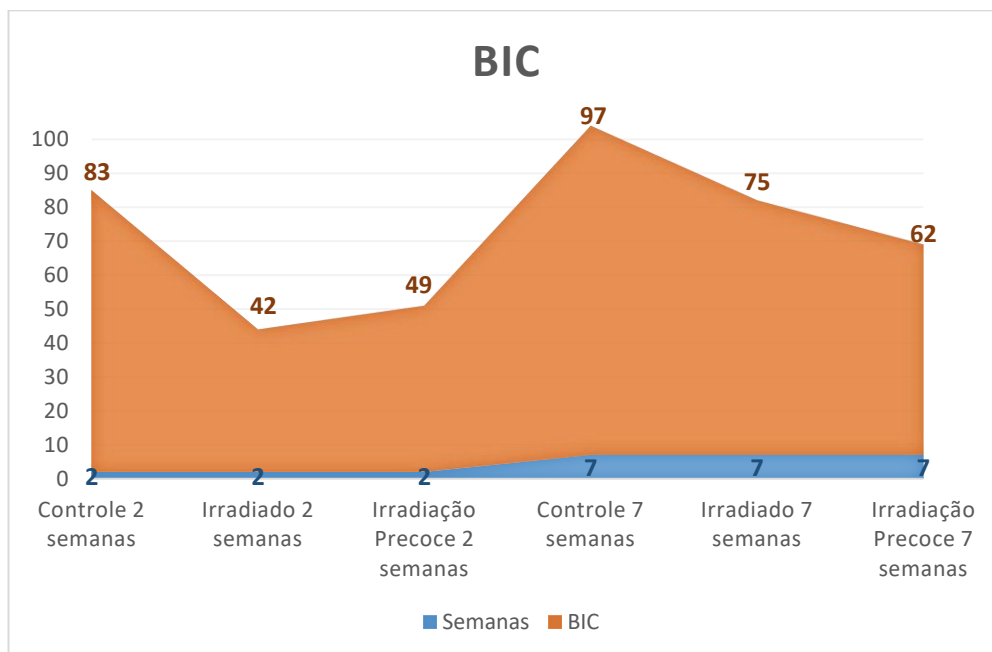
Grupo	Semanas	BIC	DP	BAFO	DP
Controle 2 semanas	2	83	22,111	81	21,339
Irrradiado 2 semanas	2	42	17,059	52	27,778
Irradiação Precoce 2 semanas	2	48	15,524	51	14,422
Controle 7 semanas	7	97	7,712	98	8,362
Irrradiado 7 semanas	7	75	19,484	76	23,002
Irradiação Precoce 7 semanas	7	62	24,338	79	20,899

Legenda: DP: desvio padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

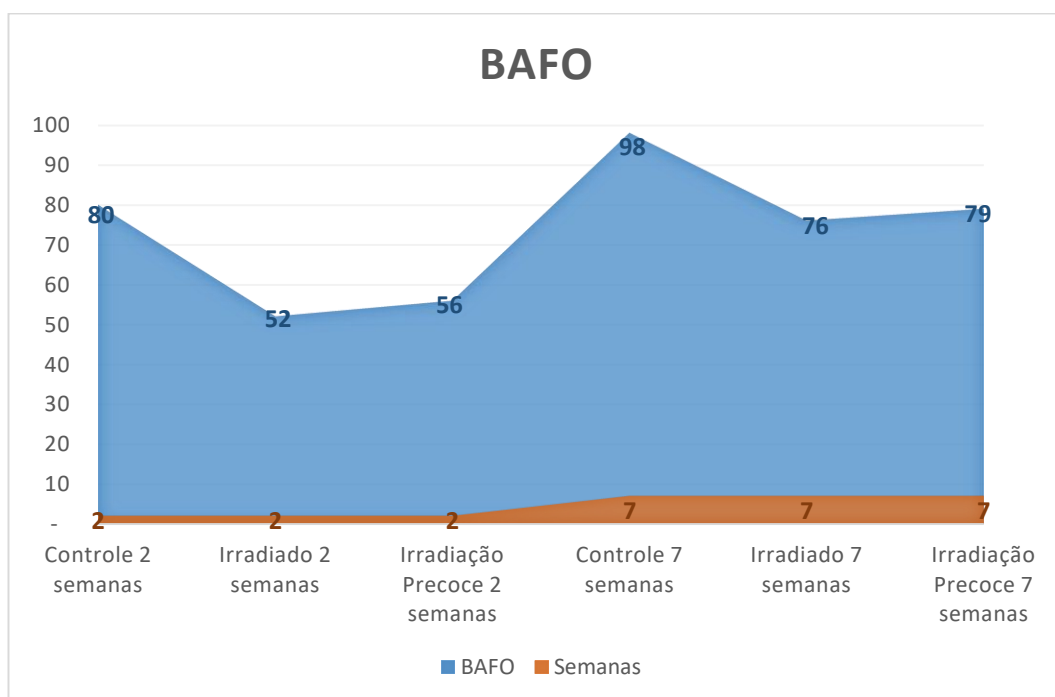
Os valores médios de BIC e BAFO foram organizados em forma de gráfico para melhor visualização do comportamento ósseo em função do tempo de osseointegração (Figuras 9 e 10).

Figura 11 - Gráfico da análise BIC em função do tempo de osseointegração



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 12 - Gráfico da análise BAFO em função do tempo de osseointegração



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados de BIC e BAFO foram submetidos à análise de variância de 2 fatores para verificar diferença estatisticamente significativa entre os tipos de tratamento e o tempo de avaliação e o teste de Tukey foi realizado para determinação dos grupos homogêneos.

A análise de variância de 2 fatores para BIC mostrou diferença estatisticamente significativa para o fator tempo e para a interação entre tempo e o tratamento (QUADRO 2). O teste de Tukey mostrou diferença estatisticamente significativa entre o grupo Controle e os grupos Irrradiado e Irradiação precoce.

Tabela 2 - Análise de variância de 2 fatores para valores de BIC

	GL	SQ	QM	F	p
Tempo	1	5184,8	5184,8	16,42	0,000
Tratamento	2	853	426,5	1,35	0,269
Tempo*Tratamento	2	14177,7	7088,8	22,45	0,000
Erro	48	1155,3	315,7		
Total	53				

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3 - Resultado de Teste de Tukey BIC

	Controle	Irrradiado	Irradiação precoce
2 semanas	83 (22,111) A, a	42 (17,059) B, a	48 (15,524) B, a
7 semanas	97 (7,712) A, a	75 (19,484) A B, b	62 (24,338) B, b

Legenda: Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam médias diferentes estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise de variância de 2 fatores para BAFO também mostrou diferença estatisticamente significativa para o fator tempo e para interação entre tempo e

tratamento (QUADRO 4) e o teste de Tukey apontou que o grupo controle diferiu dos grupos Irradiado e Irradiação precoce no período de 2 semanas, porém, no período 7 semanas, os grupos apresentaram-se homogeneamente.

Tabela 4 - Análise de variância de 2 fatores para valores de BAFO

	GL	SQ	QM	F	p
Tempo	1	6961,3	6961,3	19,08	0,000
Tratamento	2	363,2	181,6	0,5	0,611
Tempo*Tratamento	2	7616,7	3808,3	10,44	0,000
Erro	48	17516,8	364,9		
Total	53	34237,3			

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 5 - Resultado de Teste de Tukey BAFO

	Controle	Irradiado	Irradiação precoce
2 semanas	81 (21,339) A, a	52 (27,778) B, a	51 (14,422) B, a
7 semanas	98 (8,363) A, a	76 (23,002) A, a	79 (20,899) A, b

Legenda: Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam médias diferentes estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Teste biomecânico de torque reverso

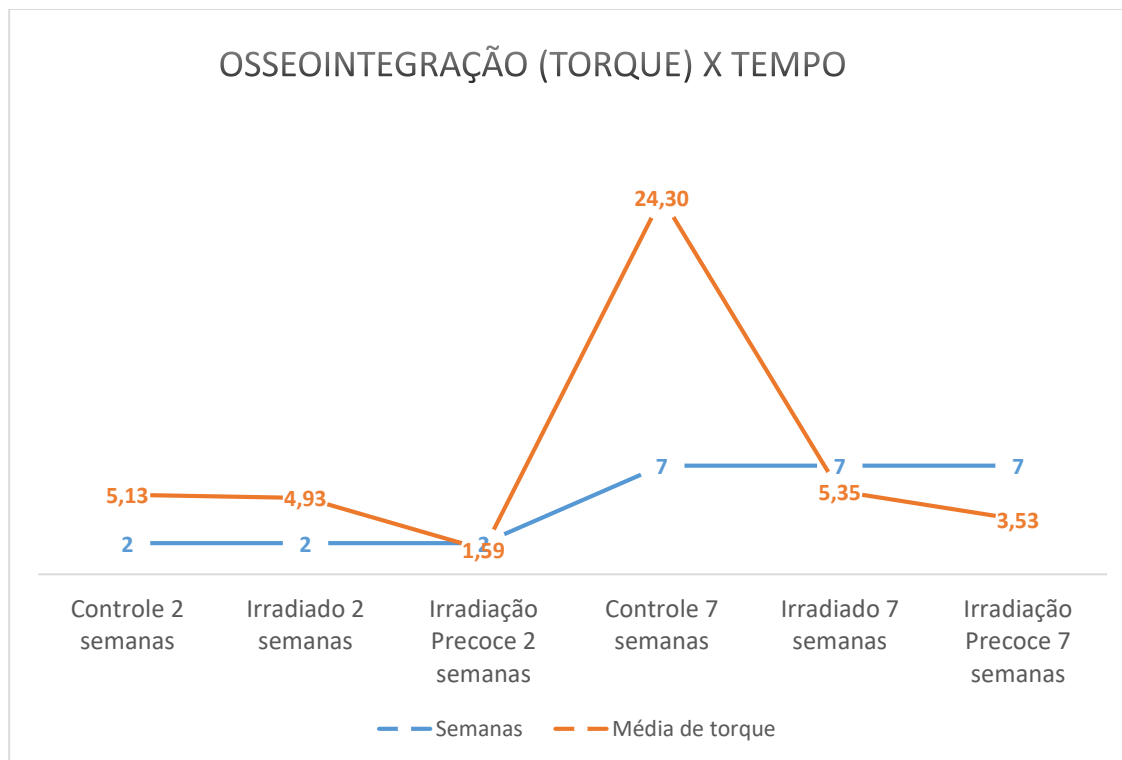
Os valores resultantes do torque reverso de cada implante foram registrados e analisados em estatística descritiva (QUADRO 6), expostos em gráfico (Figura 13), submetidos à análise de variância de 2 fatores (QUADRO 7) e ao teste de Tukey para determinação dos grupos homogêneos (QUADRO 8).

Tabela 6 - Tabela de estatística descritiva dos resultados dos grupos

	Semanas	Média de torque	Desvio Padrão
Controle 2 semanas	2	5,13	1,87
Irradiado 2 semanas	2	4,93	1,71
Irradiação Precoce 2 semanas	2	1,59	0,63
Controle 7 semanas	7	24,30	3,03
Irradiado 7 semanas	7	5,35	1,97
Irradiação Precoce 7 semanas	7	3,53	1,38

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13 - Gráfico com média de cada grupo em função da cronologia



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 7 - Análise de variância de 2 fatores para valores de torque reverso

	GL	SQ	QM	F	p
Tempo	1	696,01	696,01	217,75	0,000
Tratamento	2	1475,7	737,85	230,84	0,000
Tempo*Tratamento	3	976,36	488,18	152,73	0,000
Erro	48	153,42			
Total	53	3301,50			

Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise de variância de 2 fatores para o torque reverso mostrou diferença estatisticamente significativa para os fatores tempo e tratamento e para a interação entre eles.

Tabela 8 - Teste de Tukey para resultados de torque reverso

	Controle	Irradiado	Irradiação precoce
2 semanas	5,125 (1,87) A, b	4,93 (1,71) A, a	1,59 (0,63) B, a
7 semanas	24,3 (3,03) A, a	5,35 (1,97) B, a	3,53 (1,38) B, a

Legenda: Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam médias diferentes estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

Embora haja artigos publicados desde a década de 90 sobre esse assunto (Marx, Morales, 1998; Niimi et al., 1998, Ohnel et al., 1997; Wagner et al., 1998), a instalação de implantes de áreas irradiadas ainda é um assunto controverso que continua sendo estudado (Aboushelib et al., 2017; Smith Nobrega et al., 2016; Wang et al., 2016). Estudos consideram o sucesso da osseointegração sob influência de diferentes variáveis, como intervalo entre a radioterapia e a cirurgia de instalação dos implantes e diferentes intervalos de osseointegração, porém, há uma lacuna de estudos que reúnam essas variáveis em um único trabalho. O presente estudo considera como variáveis a influência da radiação ionizante na osseointegração em diferentes períodos, tanto antes quanto depois do procedimento cirúrgico para instalação dos implantes. Com diferentes períodos de análise dos dados, buscando a compreensão da cronologia do processo de osseointegração sob influência da radiação ionizante (Figura 03).

Os resultados da análise histomorfométrica para valores de BIC não apontaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos irradiação precoce e irradiado, porém, ambos diferiram do grupo controle, confirmando a possibilidade da hipótese sugerida pelos resultados do teste biomecânico de torque reverso. Os resultados para valores de BAFO não mostraram diferença estatisticamente significativa apenas para o período de 7 semanas, porém, a diferença foi apontada no teste biomecânico, podendo sugerir que, após o período mais longo para neoformação óssea, a formação de tecido ósseo não deixa de ocorrer, porém, a maturação óssea ocorre de maneira mais lenta, alterando a qualidade óssea na região irradiada.

Mesmo no período de 7 semanas, os valores do teste mecânico de torque reverso foram muito inferiores quando comparados aos do grupo controle, no mesmo período, sugerindo que os danos da radiação ionizante geraram efeitos teciduais acumulativos (Okuno, 2013) cujas consequências permaneceram mesmo após o período de 7 semanas. Convertendo esse período estudado considerando que 14 dias de vida do rato equivale a 1 ano de vida humana, o período de 7 semanas equivaleria a 3,5 anos do humano (Quinn, 2005), período no qual ainda é possível constatar efeitos da radiação ionizante. A análise histomorfométrica evidenciou que, neste

período, há formação de tecido ósseo, porém, é sugestivo que a formação óssea seja mais lenta em decorrência dos efeitos teciduais da irradiação, principalmente no início do processo de osseointegração (Doh et al., 2016) e os efeitos estocásticos dificultam o processo de remodelação e maturação óssea. Doh et al. (2016) encontraram alteração da formação óssea em período de 8 semanas após a instalação dos implantes em ratos (Doh et al., 2016), enquanto Brogniez et al. (2002) concluíram que no período de 8 semanas após a incidência da radiação ionizante, o equilíbrio entre a reabsorção óssea e a osteogênese começa a ser restabelecido. Portanto, no período de 7 semanas, é possível sugerir que a radiação ionizante promove alteração na qualidade óssea.

No intervalo de 2 semanas entre a instalação do implante e a eutanásia, o grupo Irradiado apresentou valores próximos do grupo controle, devido ao intervalo de 4 semanas dado entre a irradiação e a instalação dos implantes, equivalente a 2 ano em humanos, período apontado por estudos prévios como possível para instalação de implantes após tratamento por radiação ionizante (Barrowman et al., 2011; Chambrone et al., 2013; Claudy et al., 2015; Faggion et al., 2013). Porém, no intervalo de 7 semanas, os valores do grupo Irradiado são muito menores que os do grupo controle. Enquanto a explicação da alteração dos resultados do grupo Irradiação precoce se baseou nos efeitos teciduais da radiação ionizante, a redução dos valores do grupo irradiado, que cronologicamente está pareado ao grupo Controle, pode ser explicada pelos efeitos estocásticos da radiação ionizante. Tais efeitos são caracteristicamente tardios e podem ocorrer em células normais, porém, tem sua probabilidade de ocorrência aumentada de acordo com a dose absorvida pelo tecido (Okuno, Yoshimura, 2016). Em estudo em animais realizado por Ocana (2017), no qual a instalação dos implantes foi feita 40 dias após a irradiação do tecido ósseo, apesar da obtenção da osseointegração, a radioterapia prévia reduziu pela metade a quantidade de osso formada ao redor dos implantes.

Em revisão de literatura, Ihde et al. (2009) concluíram que a instalação de implantes em tecido ósseo irradiado aumento o risco de insucesso dos implantes de 2 a 3 vezes, sendo que o risco em maxila é maior que em mandíbula, em função da qualidade óssea. Apontam também sobre a divergência de resultados presentes na literatura, em função de muitos artigos apresentarem resultados baseados em estudos de casos clínicos, com pouca amostragem, poucos estudos de coorte e ainda menos

estudos clínicos randomizados, portanto, dificultando a extrapolação dos resultados obtidos para uma população mais abrangente.

Conforme exposto, o presente estudo mostrou resultados compatíveis com evidências científicas presentes na literatura. A instalação de implantes em tecido ósseo irradiado apresentam maiores índices de insucesso em função da alteração da qualidade óssea da região irradiada, cuja evidenciação foi mais clara a partir do teste biomecânico do toque reverso. Apesar de conhecidos os efeitos estocásticos da radiação ionizante, que geram danos teciduais a longo prazo, a literatura mostra que o índice de sucesso aumenta em função do maior período dados em a irradiação do tecido ósseo e a instalação dos implantes (Johnsson et al., 2000).

A decisão sobre a instalação de implantes em tecido ósseo já irradiado, deve ser tomada considerando os riscos e benefícios para o paciente em cada caso. O grupo Irradiado testou essa condição e mostrou que, a partir de 1 ano após a irradiação do tecido ósseo, há possibilidade de sucesso dos implantes, porém, sobre um tecido ósseo com qualidade inferior, portanto, a aplicação de carga sobre esses implantes deve ser realizada com maior parcimônia, aumentando o número de implantes e realizando ferulização sempre que possível. Sempre que possível, o momento de instalação dos implantes em tecido ósseo irradiado deve ser adiado para permitir a remodelação óssea local e reduzir o índice de insucesso do tratamento.

O grupo Irradiação Precoce testou a condição de incidência de radiação ionizante sobre implantes em processo de osseointegração, condição que deve ser evitada ao máximo em situações clínicas. Porém, a negligência no diagnóstico precoce de lesões intrabucais, pode gerar esse tipo de situação, principalmente em lesões malignas cujo desenvolvimento se dá de maneira rápida e agressiva. Portanto, o diagnóstico precoce de lesões e o exame clínico minucioso prévio ao planejamento de reabilitação por implantes são essenciais para evitar que a incidência da radiação ionizante seja necessária durante o período de osseointegração.

Os menores valores quantitativos obtidos na realização do teste mecânico de torque reverso foram encontrados no grupo Irradiação Precoce, no qual a radiação ionizante foi incidida no tecido ósseo durante o processo de osseointegração. Esse resultado pode ser explicado pela característica da radiação ionizante promover hipóxia e deterioração celular, além de alteração vascular (Ihde et al., 2009), essenciais ao processo dinâmico da osseointegração. Baseado nos resultados desse

trabalho, sugere-se que como a radiação foi incidida após 24 horas da instalação dos implantes, o processo de angiogênese e de diferenciação celular, presentes no início da osseointegração, foi prejudicado como relatado previamente por Davarpanah (2013) e Doh et al. (2016).

7 CONCLUSÃO

O processo de osseointegração é influenciado negativamente pela radiação ionizante e, quanto menor o intervalo entre a instalação dos implantes e a incidência da radiação, piores são os resultados mecânicos e biológicos desse processo em função da redução de probabilidade de ocorrência de efeitos estocásticos.

Apesar da obtenção da osseointegração em tecido irradiado e dos efeitos da radiação ionizante sobre o processo de osseointegração, o tecido ósseo neoformado nesses casos apresenta pior comportamento mecânico.

Cabe ao cirurgião-dentista atentar sempre às condições bucais do paciente na busca por alterações e diagnóstico precoce de lesões com malignidade, principalmente previamente à instalação de implantes, pois caso haja negligência na observação de uma lesão e dado início a um tratamento reabilitador por implantes, poderá ser necessário tratamento por radioterapia durante o processo de osseointegração, aumentando significativamente o risco de insucesso do tratamento.

REFERÊNCIAS*

Aboushelib MN, Arnaout MA, Elsafi MH, Kassem YM. Two-stage implant placement technique for the management of irradiated jaws: An animal study. *J Prosthet Dent*. 2017;118(4):546-50. doi:10.1016/j.prosdent.2017.01.017.

Ainsbury E, Bakhanova E, Barquinero J, Brai M, Chumak V, Correcher V, et al. Review of retrospective dosimetry techniques for external ionizing radiation exposures. *Radiat Prot Dosimetry*. 2011;147(4):573-92. doi: 10.1093/rpd/ncq499.

Albrektsson T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. *J Prosthet Dent*. 1988;60(1):75-84.

Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansson H-A, Lindström J. Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*. 1981;52(2):155-70.

Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, Van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. *Clin Oral Implant Res*. 2008;19(7):670-6. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01534.x.

Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1):49-51.

Barrowman RA, Wilson PR, Wiesenfeld D. Oral rehabilitation with dental implants after cancer treatment. *Aust Dent J*. 2011;56(2):160-5. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01318.x.

Bazalova M, Beaulieu L, Palefsky S, Verhaegen F. Correction of CT artifacts and its influence on Monte Carlo dose calculations. *Med Phys*. 2007;34(6):2119-32.

Branemark PI. Vital microscopy of bone marrow in rabbit. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1959;11 Suppl 38:1-82.

Brånemark PI, Breine U, Adell R, Hansson B, Lindström J, Ohlsson Å. Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1969;3(2):81-100.

Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw, Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1977;16:1-132

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bränemark P, Zarb G, Albrektsson T. Tissue Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Quintessence. 1985.

BRASIL Ministério da Saúde. Manual de Bases Técnicas da Oncologia–SIA/SUS- Sistema de Informações Ambulatoriais. Brasília: MS. SAS/DRAC/CGSI, 2015.

Brasseur M, Brogniez V, Grégoire V, Reychler H, Lengelé B, D'Hoore W, et al. Effects of irradiation on bone remodelling around mandibular implants: an experimental study in dogs. *Int J. Oral Maxillofac Surg.* 2006;35(9):850-5.

Brogniez V, Nyssen-Behets C, Grégoire V, Reychler H, Lengelé B. Implant osseointegration in the irradiated mandible. *Clin Oral Implant Res.* 2002;13(3):234-42.

Çakir ZÜ, Demirel C, Kilciksiz SC, Gürgül S, Zincircioğlu SB, Erdal N. Melatonin can Ameliorate Radiation-Induced Oxidative Stress and Inflammation-Related Deterioration of Bone Quality in Rat Femur. *Inflammation.* 2016;39(3):1134-40. doi: 10.1007/s10753-016-0347-x.

Chambrone L, Mandia J Jr, Shibli JA, Romito GA, Abrahao M. Dental implants installed in irradiated jaws: a systematic review. *Dent Res.* 2013;92(12 Suppl):119S-30S. doi: 10.1177/0022034513504947.

Chandra A, Lin T, Zhu J, Tong W, Huo Y, Jia H, et al. PTH1–34 blocks radiation-induced osteoblast apoptosis by enhancing DNA repair through canonical Wnt pathway. *J Biol Chem.* 2015;290(1):157-67. doi: 10.1074/jbc.M114.608158.

Chen H, Liu N, Xu X, Qu X, Lu E. Smoking, radiotherapy, diabetes and osteoporosis as risk factors for dental implant failure: a meta-analysis. *PloS One.* 2013;8(8):e71955. doi: 10.1371/journal.pone.0071955.

Chin DW, Treister N, Friedland B, Cormack RA, Tishler RB, Makrigiorgos GM, et al. Effect of dental restorations and prostheses on radiotherapy dose distribution: a Monte Carlo study. *J Appl Clin Med Phys.* 2009;10(1):2853.

Claudy MP, Miguens SAJr, Celeste RK, Camara Parente R, Hernandez PA, da Silva ANJr. Time interval after radiotherapy and dental implant failure: systematic review of observational studies and meta-analysis. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015;17(2):402-11. doi: 10.1111/cid.12096.

Cunha SS, Sarmiento VA, Ramalho LMP, Freitas AC, Almeida D, Tavares ME, et al. Effects of radiotherapy on bone tissues. *Radiol Bras.* 2007;40(3):189-92.

Da Cunha SS, Sarmiento V, Ramalho LMP, De Almeida D, Veeck EB, Da Costa NP, et al. Effect of laser therapy on bone tissue submitted to radiotherapy: experimental study in rats. *Photomed Surg.* 2007;25(3):197-204.

Davarpanah M, Martinez H, Kebir M, Tecucianu JF, Dinato MR. Manual de implantodontia clínica: conceitos, protocolos e inovações. 2ª ed: Porto Alegre: Artmed; 2013.

Mancha de la Plata M, Gías LN, Díez PM, Muñoz-Guerra M, González-García R, Lee GY, et al. Osseointegrated implant rehabilitation of irradiated oral cancer patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70(5):1052-63. doi: 10.1016/j.joms.2011.03.032.

Dholam KP, Gurav SV. Dental implants in irradiated jaws: a literature review. *J Cancer Res Ther.* 2012; Suppl 1:S85-93. doi: 10.4103/0973-1482.92220.

Doh RM, Kim S, Keum KC, Kim JW, Shim JS, Jung HS, et al. Postoperative irradiation after implant placement: A pilot study for prosthetic reconstruction. *J Adv Prosthodont.* 2016;8(5):363-71. doi: 10.4047/jap.2016.8.5.363.

Edwards BK, Howe HL, Ries LA, Thun MJ, Rosenberg HM, Yancik R, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1973–1999, featuring implications of age and aging on US cancer burden. *Cancer.* 2002;94(10):2766-92.

Faggion CM, Chambrone L, Listl S, Tu YK. Network meta-analysis for evaluating interventions in implant dentistry: the case of peri-implantitis treatment. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;15(4):576-88. doi: 10.1111/j.1708-8208.2011.00384.x.

Flôr RdC, Gelbcke FL. Tecnologias emissoras de radiação ionizante e a necessidade de educação permanente para uma práxis segura da enfermagem radiológica. *Rev Bras Enferm.* 2009;62(5):766-70.

Friedrich RE, Todorovic M, Heiland M, Scheuer HA, Krüll A. Scattering effects of irradiation on surroundings calculated for a small dental implant. *Anticancer Res.* 2012;32(5):2043-6.

Gallet P, Phulpin B, Merlin J-L, Leroux A, Bravetti P, Mecellem H, et al. Long-term alterations of cytokines and growth factors expression in irradiated tissues and relation with histological severity scoring. *PloS One.* 2011;6(12):e29399. doi: 10.1371/journal.pone.0029399.

Haubner F, Ohmann E, Pohl F, Strutz J, Gassner HG. Wound healing after radiation therapy: review of the literature. *Radiat Oncol.* 2012;7(1):162. doi: 10.1186/1748-717X-7-162.

Hu WW, Ward BB, Wang Z, Krebsbach PH. Bone regeneration in defects compromised by radiotherapy. *J Dent Res.* 2010;89(1):77-81. doi: 10.1177/0022034509352151.

Ihde S, Kopp S, Gundlach K, Konstantinovic VS. Effects of radiation therapy on craniofacial and dental implants: a review of the literature. *Oral surgery, oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(1):56-65. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.06.014.

Jäkel O, Reiss P. The influence of metal artefacts on the range of ion beams. *Phys Med Biol*. 2007;52(3):635-44.

Johnsson ÅA, Sawaii T, Jacobson M, Granström G, Turesson I. A Histomorphometric and Biomechanical Study of the Effect of Delayed Titanium Implant Placement in Irradiated Rabbit Bone. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2000;2(1):42-9. doi: 10.1111/j.1708-8208.2000.tb00105.x.

Klokkevold PR, Han TJ. How do smoking, diabetes, and periodontitis affect outcomes of implant treatment? *Int Oral Maxillofac Implants*. 2007;22Suppl:173-202.

Kwon YD, Karbach J, Wagner W, Al-Nawas B. Peri-implant parameters in head and neck reconstruction: influence of extraoral skin or intraoral mucosa. *Clin Oral Implant Res*. 2010;21(3):316-20. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01763.x.

Lucatto SC, Guilherme A, Dib LL, Segreto HRC, Alves MTdS, Gumieiro EH, et al. Effects of ionizing radiation on bone neof ormation: histometric study in Wistar rats tibiae. *Acta Cir Bras*. 2011;26(6):475-80.

Marx R, Morales M. The use of implants in the reconstruction of oral cancer patients. *Dent Clin North Am*. 1998;42(1):177-202.

Marx RE, Johnson RP. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1987;64(4):379-90.

Mitchell MJ, Logan PM. Radiation-induced changes in bone. *Radiographics*. 1998;18(5):1125-36:quiz1242-3.

Nicholls F, Janic K, Filomeno P, Willett T, Gryn pas M, Ferguson P. Effects of radiation and surgery on healing of femoral fractures in a rat model. *J Orthop Res*. 2013;31(8):1323-31. doi: 10.1002/jor.22351.

Niimi A, Ueda M, Keller EE, Worthington P. Experience with osseointegrated implants placed in irradiated tissues in Japan and the United States. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(3):407-11.

Ocana RP, Rabelo GD, Sassi LM, Rodrigues VP, Alves FA. Implant osseointegration in irradiated bone: an experimental study. *J Periodontal Res*. 2017;52(3):505-11. doi: 10.1111/jre.12416.

Ohrnel LO, Brånemark R, Nyman J, Nilsson P, Thomsen P. Effects of irradiation on the biomechanics of osseointegration: an experimental in vivo study in rats. *Scan Journal Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1997;31(4):281-93.

Okuno E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. *Estud Av*. 2013;27(77):185-200.

Okuno E, Yoshimura EM. Física das radiações. São Paulo: Oficina de Textos; 2016.

Pompa G, Saccucci M, Di Carlo G, Brauner E, Valentini V, Di Carlo S, et al. Survival of dental implants in patients with oral cancer treated by surgery and radiotherapy: a retrospective study. *BMC Oral Health*. 2015;15:5. doi: 10.1186/1472-6831-15-5.

Quinn R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition*. 2005;21(6):775-7.

Russell JA, Connor NP. Effects of age and radiation treatment on function of extrinsic tongue muscles. *Radiation Oncology*. 2014;9:254. doi: 10.1186/s13014-014-0254-y.

Segreto HRC, Segreto RA. Revisão e atualização em radiobiologia: aspectos celulares, moleculares e clínicos. *Folha Méd*. 2000;119(4):9-27.

Sengupta P. A scientific review of age determination for a laboratory rat: how old is it in comparison with human age. *Biomed Int*. 2011;2(2):81-9.

Smith Nobrega A, Santiago JF Jr, de Faria Almeida DA, Dos Santos DM, Pellizzer EP, Goiato MC. Irradiated patients and survival rate of dental implants: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent*. 2016;116(6):858-66. doi:10.1016/j.prosdent.2016.04.025.

Sønstevold T, Johannessen AC, Stuhr L. A rat model of radiation injury in the mandibular area. *Radiat Oncol*. 2015;10:129. doi: 10.1186/s13014-015-0432-6.

de Vasconcellos, LM, Barbara MA, Deco CP, Junqueira JC, do Prado RF, Anbinder AL, de Vasconcellos LG, Cairo CA, Carvalho YR. Healing of normal and osteopenic bone with titanium implant and low-level laser therapy (GaAIs): a histomorphometric study in rats. *Lasers Med Sci*. 2014;29(2):575-80. doi: 10.1007/s10103-013-1326-1.

Verdonck HW, Meijer GJ, Nieman FH, Stoll C, Riediger D, De Baat C. Quantitative computed tomography bone mineral density measurements in irradiated and non-irradiated minipig alveolar bone: an experimental study. *Clin Oral Implant Res*. 2008;19(5):465-8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01496.x.

Wagner W, Esser E, Ostkamp K. Osseointegration of dental implants in patients with and without radiotherapy. *Acta Oncol*. 1998;37(7-8):693-6.

Wang Y, Zhu G, Wang J, Chen J. Irradiation alters the differentiation potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep*. 2016;13(1):213-23. doi: 10.3892/mmr.2015.4539.

Williams H, Davies A. The effect of X-rays on bone: a pictorial review. *Eur Radiol*. 2006;16(3):619-33.

ANEXO — Certificado do Comitê de Ética

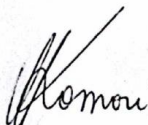


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CERTIFICADO
CEUA – Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo intitulado " Efeito da radioterapia na obtenção e manutenção da osseointegração" registrado com o nº 009 /2016-CEUA-ICT-UNESP , sob a responsabilidade do Prof. Dr. RUBENS NISIE TANGO, tendo como colaborador o mestrando Leonardo Silva Gomes Kamezawa, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009 e com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA – ICT – CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS-UNESP)**, em reunião de 12/08/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/08/2016 a 04/06/2017
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico (Wistar)
Nº de Animais	96
Peso/Idade	400 grs/90 dias
Sexo	macho
Origem	Biotério Central – Campus de Botucatu-UNESP



Profa. Dra. **PAULA CAROLINA KOMORI DE CARVALHO**
Coordenadora