

**Abrahão Cavalcante Gomes de Souza Carvalho**

Avaliação do aquecimento ósseo, da  
viabilidade celular imediata e da  
deformação de fresas de alta resistência  
após osteotomia para implantes em tíbias de  
coelhos.

**Araçatuba, SP  
2008**

**Abrahão Cavalcante Gomes de Souza Carvalho**

**Avaliação do aquecimento ósseo, da  
viabilidade celular imediata e da  
deformação de fresas de alta resistência  
após osteotomia para implantes em tíbias de  
coelhos**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Odontologia do campus de Araçatuba-UNESP  
para obtenção do Título de “Mestre em  
Odontologia” – Área de concentração em Cirurgia  
e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

**Orientador:** Prof. Dr. Luiz Antonio Salata

**Co-Orientador:** Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho

**Araçatuba, SP  
2008**

## Catalogação-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C331a	<p>Carvalho, Abrahão Cavalcante Gomes de Souza</p> <p>Avaliação do aquecimento ósseo, da viabilidade celular imediata e da deformação de fresas de alta resistência após osteotomia para implantes em tíbias de coelhos / Abrahão Cavalcante Gomes de Souza Carvalho. - Araçatuba : [s.n.], 2008</p> <p>80 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2008</p> <p>Orientador: Prof. Luiz Antonio Salata</p> <p>Co-orientador: Prof. Osvaldo Magro Filho</p> <p>1. Implante dentário endoósseo 2. Osteotomia 3. Sobrevivência celular 4. Microscopia eletrônica de varredura 5. Imunoistoquímica</p> <p>Black D7 CDD 617.64</p>
-------	---

# DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, João Cavalcante e Maria Luiza,**

que com um infinito amor de pais acreditaram desde o princípio que esse sonho podia ser concretizado. Não pouparam esforços para me dar suporte nos momentos difíceis longe de casa, e que, apesar da distância, sempre estavam plenamente presentes em todos os momentos me dando força, escutando as dificuldades, me encorajando a continuar e a lutar pelos meus objetivos.

**Ao meu irmão Maurício,**

pelo seu companheirismo e amizade acima de tudo, pelo incentivo que sempre me deu em seguir em frente buscando meus ideais, enfim, por todos os momentos maravilhosos que compartilhamos ao longo de nossas vidas e que, com toda certeza, voltaremos a vivenciar num futuro próximo.

**À Martinha,**

pelo carinho, amor, companheirismo, confiança e compreensão. Pelas horas e horas de ausência minha, pela distância que sempre tentávamos minimizar quando a saudade apertava, pela alegria e simpatia que sempre estiveram presentes em todos os momentos em que nos encontrávamos. Enfim, por tudo que você me transmitiu durante todo esse tempo em que estivemos juntos e que com certeza se continuará ao longo de nossas vidas.

# AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

**À Deus,**

que em Sua infinita bondade, me concedeu tantas alegrias, me deu força para superar todos os obstáculos que me apareceram, que me confortava nos momentos de angústia e que me deu saúde para enfrentar mais uma etapa da minha vida.

**Aos meus familiares**

Dalila, Rosa, Angelita, Bruno, Graça, Marcelo, José Paulo, João Pedro, Gomes, Isabel, Priscila, Osvaldo, Sarah, Beatriz, Raquel, Sefiza, James, Margarete, Juliana, Camila, Gabriel, Marcos, Olga, Natália e Suzana, que em Fortaleza torciam e oravam pelos meus estudos longe de casa. Ao meu falecido avô Maurício, que muitas vezes se empenhava e se orgulhava com seus netos, pela contribuição que teve em minha educação pessoal e musical.

**Ao prof. Osvaldo ( Dinho),**

Pela orientação que me foi dada e pelo exemplo de professor, chefe e pessoa. Sempre vou me lembrar como um exemplo a ser seguido da forma

como trata os alunos, pacientes, funcionários e todas as pessoas que o rodeiam.

**Ao prof. Idelmo,**

Pelo exemplo de liderança que me foi dado, pela ajuda que me proporcionou sempre que precisei, pela disponibilidade em ajudar o próximo sempre que necessário e pela amizade que começou agora e tenho certeza que irá perpetuar por muitos anos.

**Ao prof. Poi,**

com quem aprendi e despertei a filosofia de “*ser professor*” . Um exemplo que sempre me lembrarei e citarei quando me referir a um verdadeiro docente. Muito obrigado por tudo!

**À profa. Roberta Okamoto**

que com sua extrema competência contribuiu sobremaneira com a concretização dessa dissertação. Agradeço pelo aprendizado que me proporcionou nos laboratórios de cirurgia e imunoistoquímica, nas correções dos projetos de pesquisa e pelo exemplo de serenidade, humildade e dedicação ao ensino e pesquisa.

**Ao prof. Renato Maia**

que desde a época de minha graduação na Universidade Federal do Ceará me apoiou e me deu oportunidades na área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial. Incentivou-me a trilhar caminhos coerentes e me deu força para buscar meus ideais dentro dessa especialidade. Muito obrigado, além de tudo, pela nossa amizade.

**Ao Dr. José Maria**

Amigo que muito me ajudou durante toda a minha formação em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, sempre incentivando o estudo e a pesquisa nessa especialidade. Além de todo reconhecimento pela sua ajuda e seus ensinamentos, agradeço pela nossa amizade, companheirismo e trabalho conjunto. Muito obrigado por tudo!

**À Cleidinha,**

que me acolheu com tanto carinho e afeto na cidade de Araçatuba, me fazendo lembrar o que é uma família, mesmo passando tanto tempo distante dos meus familiares.

**Ao Rodolpho,**

companheiro que conheci em Araçatuba e em pouco tempo já tínhamos uma grande amizade de irmãos. Pelo companheirismo em todos os momentos que vivemos em Araçatuba.

**Ao Amilcar e à Érica**

Amigos que me aproximei em Araçatuba, e com eles desfrutei de bons momentos durante o Mestrado. Além de profissionais especiais e competentes, guardam consigo a alegria de viver e de alegrar as pessoas com quem convivem. Vocês são pessoas especiais para mim e espero guardar nossa amizade por muitos anos. Muito obrigado por tudo.

**Ao Paulinho,**

profissional extremamente competente e correto no que faz. Pela ajuda que me deu em Ribeirão Preto, pelos plantões que tivemos o prazer de partilhar, enfim, pela amizade que nós construímos no decorrer desses dois anos que se passaram, e que vai perdurar por muito tempo ainda. Muito obrigado!

**À Thallita,**

que me recebeu com muito carinho em Araçatuba e dividiu comigo a sua humildade, grande virtude de poucos. Você é um exemplo de profissional qualificada que tem a pesquisa muito forte na sua atuação clínica, e que

crece bastante a cada dia que passa. Me orgulho muito da nossa amizade, e te digo com toda certeza, não me imagino concluindo mais essa etapa da minha vida sem a sua ajuda. Muito obrigado!

**À Jéssica,**

pessoa formidável, sempre gentil e alegre que conheci em Araçatuba e foi uma grande companheira nesses dois anos de pós-graduação. Agradeço muito pelas orientações e pelos momentos que tivemos juntos em Araçatuba.

**À Conexão Sistema de Próteses,**

por doar o material necessário para a realização desse estudo.

# AGRADECIMENTOS

## **À Faculdade de Odontologia de Araçatuba/UNESP**

que contribuiu de grande forma para minha formação profissional com a sua estrutura física, laboratórios, clínicas, salas de aula e centros cirúrgicos experimentais, onde pude complementar minha formação na área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, tanto na clínica como principalmente no ensino e na pesquisa.

## **Ao prof. Salata,**

que em Ribeirão Preto me recebeu e me orientou em projeto de alto valor e reconhecimento científico. Agradeço pela oportunidade que me foi dada e pela confiança em mim depositada.

## **Aos amigos de Pós-Graduação Marcos Heidi, Flávia e Albanir**

que me receberam no meu 1º ano de mestrado, e me passaram todos os detalhes do serviço em que estava iniciando. Obrigado pela paciência e pelas orientações.

## **Aos amigos do Doutorado,**

Leandro, Carol, Thais, Francisley, Álvaro, Paulo Domingos. Agradeço pelos momentos agradáveis que tivemos juntos durante esses dois anos.

**Ao amigo Walter Betoni,**

amigo que conheci em Araçatuba e em pouco tempo consegui observar grandes virtudes como companheirismo, honestidade, compromisso com o paciente e com o ensino. Agradeço pelos bons momentos que disfrutamos juntos em Araçatuba.

**Aos amigos Nicolas e Marta,**

que tive o prazer de conhecer no início deste ano e que já tive a oportunidade de disernir que são pessoas extremamente competentes no que fazem e que trazem consigo a humildade de continuar sempre buscando o aprendizado. Vocês são grandes exemplos na Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

**Aos amigos do Mestrado,**

Walter, Cassiano, Johnatas, Heloisa, Fernando e Pedro, pela amizade que estamos construindo, pelos plantões agradáveis que passamos juntos, enfim, por todo o trabalho que desenvolvemos juntos na pós-graduação. Tenho certeza que essa amizade que está apenas começando ainda vai nos proporcionar bons frutos.

**Aos funcionários e amigos da FOA-UNESP,**

Dirce, Bernadete, Gilmar, Paulo, Antonia, que com tanto carinho me receberam. Pelo trabalho extremamente competente que desempenharam para que essa dissertação fosse concretizada. A vocês o meu carinho e eterna admiração.

**Aos professores da Cirurgia**

Alessandra, Cristiane e Michel, que com muito primor contribuíram sobremaneira com a minha formação. Agradeço de coração por cada orientação, seja profissional ou mesmo pessoal que vocês me deram nesse período.

**Aos estagiários da Cirurgia,**

Pâmela, Igor, Carol, Weglis e Paulinha, pela convivência que tivemos e pela ajuda que vocês me deram durante esse período. Sou muito grato a todos vocês.

**Aos amigos do Hospital Batista Memorial de Fortaleza**

Dr. Assis, Dr. Melo, Dr. José Maria, Ferreira, Bonifácio, Roberto, Nonato, Afonso, Teixeira, Lécio, Ricardinho, José Carlos, Thompson, José Lincoln,

Jimmy Charles, Igor, Eduardo, Clecius, Victor e Flávio, pela força e apoio que vocês me deram para eu subir mais um degrau na minha formação.

### **Aos amigos da Prótese**

Lucas Tabata, Érica, Juliana e Valentin, que tive a oportunidade de conhecer e desfrutar de bons momentos durante esses dois anos em Araçatuba, não só pessoais como também profissionais. Agradeço pela nossa amizade!

# EPÍGRAFE

“Concedei-nos Senhor, Serenidade necessária, para aceitar as coisas que não podemos modificar, Coragem para modificar aquelas que podemos e Sabedoria para distinguirmos umas das outras.”

Reihold Niebuhr

Carvalho ACGS. Avaliação do aquecimento ósseo, da viabilidade celular imediata e da deformação de fresas de alta resistência após osteotomias para implantes em tíbias de coelhos [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2008.

## RESUMO

O propósito deste trabalho foi avaliar a influência da reutilização de fresas de alta resistência sobre o aquecimento ósseo, a viabilidade celular imediata e a deformação das fresas após osteotomia para implantes em tíbias de coelhos. Para isso, foram utilizados 12 coelhos machos brancos (*Oryctolagus cuniculus*, Nova Zelândia), que foram submetidos a 200 sequências de fresagens para implantes na cortical superior de suas tíbias. Foram estabelecidos 6 grupos (G1 a G6) que correspondiam ao número de osteotomias realizadas por cada fresa (0, 10, 20, 30, 40 e 50). Cada leito cirúrgico recebia a seguinte sequência de fresagem: fresa tipo lança e helicoidais de 2,0mm, 2,8mm, 3,0mm e 3.15mm. As áreas osteotomizadas foram coletadas para análise imunoistoquímica, as oscilações térmicas foram quantificadas e as fresas utilizadas receberam análise por microscopia eletrônica de varredura. Nos resultados, houve uma correlação alta entre a porcentagem de deformação e o número de reutilização de cada fresa (Coeficiente de Correlação de Pearson  $r = 0,984$ ). Observou-se também que as fresas do tipo lança apresentaram maior deformação após o uso do que as fresas helicoidais (proporção de 2:1). Não houve correlação estatística significativa entre aumento da reutilização da fresa e aquecimento ósseo ( $p > 0,05$ ). No entanto, observou-se que a oscilação térmica durante a fresagem da lança é maior que as demais fresagens (proporção de 3:1). Na análise imunoistoquímica, observou-se um equilíbrio fisiológico da expressão das proteínas Osteoprotegerina e RANKL em todos os grupos, no entanto,

houve maior expressão de todas as proteínas no Grupo 6. De acordo com a metodologia aplicada, foi possível concluir que as fresas avaliadas não causam aquecimento ósseo significativo em até 50 reutilizações, no entanto, causam maior trauma tecidual na 50ª fresagem. Dessa forma, o sistema avaliado deve ser reutilizado por no máximo 40 vezes, com substituição da fresa lança após 20 osteotomias.

**Palavras-chave:** Implante dentário endoósseo; Osteotomia; Sobrevivência celular; Microscopia eletrônica de varredura; e Imunoistoquímica

Carvalho ACGS. Evaluation of bone heating, immediate bone-cell viability and of high resistance drills wear after implant osteotomies in rabbits tibia [dissertation]. Araçatuba: UNESP – Sao Paulo State University; 2008.

## ABSTRACT

The purpose of this study was evaluate the influence of high resistance drill reuse over bone heating, immediate bone-cell viability and drills wear after implant osteotomies in rabbit tibias. Therefore, 12 male white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*, New Zealand) received 200 implant sequential osteotomies over the superior cortical of their tibia. Six groups were established (G1 to G6), according to the number of osteotomy of each drill (0, 10, 20, 30, 40 and 50). The implant sequence of drills was: spear drill, 2,0mm, 2.8mm, 3.0mm and 3.15mm helicoidal drills. The receptor-beds were collected to imunohistochemistry, the thermal changes were quantified and the drills received scanning electron microscopy analysis. In the results, a great correlation degree between drill wear and number of osteotomies was observed (Pearson's Correlation Coefficient  $r = 0,984$ ). Another result was that spear drill have more deformation than helicoidal drills (2:1 proportion). The bone heating analysis concluded that there was no statistical significance between number of osteotomy and bone heating ( $p > 0,05$ ). However, the thermal changes during spear drilling was greater than during helicoidal drillings (3:1 proportion). Imunohistochemistry results showed a physiological balance of Osteoprotegerin and RANKL immunolabeling in all groups, however there was a greater immunolabeling of all proteins in the last group. According to this methodology, the conclusion is that the tested drills do not caused significant bone heating after 50 reuses, however, they caused more tissue trauma at 50<sup>th</sup> osteotomy. So, the studied

system must be reused for 40 times, and the spier drill must be substituted after 20 osteotomies.

**Keywords:** Endosseous dental implants; osteotomy; cell surviving; scanning electron microscopy; immunohistochemistry

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Acesso cirúrgico à cortical superior da tíbia do coelho. 58
- Figura 2 – Fresagem inicial com fresa tipo lança sobre irrigação abundante de solução salina a 0,9%. 58
- Figura 3 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 2,0mm. 59
- Figura 4 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 2,8mm. 59
- Figura 5 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 3,0mm. 60
- Figura 6 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 3,15mm. 60
- Figura 7 - Sequência de 10 fresagens para implantes por cada tíbia de animal 61
- Figura 8 - Termômetro digital Salvterm 700C utilizado para quantificar a temperatura durante as fresagens. 61
- Figura 9 - Método de detecção da imunoperoxidase, utilizando-se o complexo Streptavidina-biotina para a amplificação do sinal da reação e a Diaminobenzidina (DAB) para coloração. 62

- Figura 10 – Template construído a partir da fresa inicial para auxiliar na quantificação de perdas de substância em fresas do tipo lança. 62
- Figura 11 – MEV de fresa do tipo lança sobreposta em template (em vermelho) para evidenciar perda de substância em ponta ativa da fresa. 63
- Figura 12 – Quantificação das deformações das fresas no software Imagelab 2000 através da ferramenta *seleccionar região*. 64
- Figura 13 – Quantificação das áreas deformadas em pixels no software Imagelab 2000 através da ferramenta planilha de cálculos. 65
- Figura 14 – Gráfico comparando o balanço entre a expressão de RANKL e OPG e a reutilização das fresas. 66
- Figura 15 – Expressão de OPG no G4 (200x). Marcação acastanhada nos citoplasmas celulares (setas azuis). 66
- Figura 16 - Expressão de RANKL no G4 (200x). Observar marcação no citoplasma dos osteócitos. 67
- Figura 17 - Curva de oscilação da expressão protéica de acordo com a reutilização das fresas. 67

- Figura 18 - Expressão de OC no G6 (200x). Setas azuis: marcação em citoplasma; Setas brancas: marcação de fundo. 68
- Figura 19 - Controle negativo (200x). Lâmina processada sem a reação com o anti-corpo primário. Observar ausência de marcação identificadas com setas em núcleos azulados (Hematoxilina de Harris). 68
- Figura 20 - Controle positivo (200x). Expressão de OC pelos osteócitos e marcação de fundo(marcados por seta) na cortical inferior da tíbia dos coelhos. 69
- Figura 21 – Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando deformação da ponta ativa da fresa com derretimento do metal. 69
- Figura 22 – MEV mostrando condensação de metal desgarrado na ponta ativa da fresa. 70
- Figura 23 – MEV evidenciando defeitos de cavidade na ponta ativa das fresas. 70
- Figura 24 – MEV de fresa sem uso evidenciando pequenos defeitos de fabricação. 71
- Figura 25 – Gráfico de dispersão com média dos valores unidas linearmente. Eixo vertical: Porcentagem de deformação; Eixo horizontal: repetições de fresagens. 71

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Oscilação térmica durante as osteotomias de cada tipo de fresa em cada repetição de uso	73
Tabela 2 – Expressão das proteínas RANKL, OPG e OC nos grupos analisados pela imunohistoquímica	73
Tabela 3 – Valores médios de deformação das fresas submetidas a microscopia eletrônica de varredura	73

# LISTA DE ABREVIATURAS

CTBMF – Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial

DAB - diaminobenzidina

EDTA - Ácido etileno-diamino-tetracético

HE - Hematoxilina e eosina

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

OC - Osteocalcina

OPG - Osteoprotegerina

PBS - Tampão fosfato salina

RANKL - Receptor Ativador Nuclear Kappa- $\beta$  Ligante

R.P.M. – Rotações por minuto

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UNESP – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

# SUMÁRIO

<b>1 Introdução</b>	<b>26</b>
<b>2 Proposição</b>	<b>30</b>
<b>3 Material e Métodos</b>	<b>32</b>
<b>4 Resultados</b>	<b>38</b>
<b>5 Discussão</b>	<b>43</b>
<b>6 Conclusão</b>	<b>48</b>
<b>Referências</b>	<b>50</b>
<b>Figuras</b>	
<b>Tabelas</b>	
<b>Anexos</b>	

# INTRODUÇÃO

## 1 INTRODUÇÃO

A reabilitação bucal com implantes osseointegrados tem sido extensamente utilizada em todo o mundo nas mais diversas situações clínicas com um alto índice de sucesso e uma excelente previsibilidade.<sup>1,2</sup> Para isso, o reparo ósseo primário do leito receptor representa um papel fundamental na osseointegração.<sup>3</sup> O trauma excessivo durante a cirurgia pode afetar negativamente a maturação tecidual na interface osso-implante, diminuindo a previsibilidade da osseointegração.<sup>4</sup> Dessa forma, para se conseguir viabilidade tecidual no momento da instalação do implante é necessário se realizar um preparo adequado do leito cirúrgico.<sup>5,6</sup>

Após a osteotomia para implante, haverá sempre a formação de uma fina camada de necrose tecidual na margem do preparo, mesmo tomando os devidos cuidados na técnica cirúrgica.<sup>7</sup> Esse tecido será reabsorvido e substituído durante o reparo por um tecido viável. No entanto, a extensão dessa zona necrótica pode variar com diversos fatores, como a temperatura alcançada no decorrer da cirurgia, a pressão aplicada pelo operador, a forma, o tamanho e o fio de corte da fresa, o tipo de fresagem (contínuo ou intermitente, sequencial ou em um passo único), o tipo de irrigação, a velocidade de rotação do contra-ângulo, o tempo de aquecimento ósseo e a densidade do tecido osteotomizado.<sup>6,8-10</sup>

O tecido ósseo é bastante susceptível à injúria térmica sendo que o limiar de temperatura para a sobrevivência tecidual durante a osteotomia é de 47°C, mantendo um tempo de fresagem abaixo de 1 minuto.<sup>11,12</sup> O aquecimento acima desses padrões aceitáveis pode levar a falha primária para se conseguir a osseointegração. Dessa forma, o uso repetido de fresas durante o preparo para a instalação dos implantes pode

---

As normas utilizadas para a formatação do artigo são referentes à revista *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, e encontram-se disponíveis no Anexo B.

aumentar sua deformação, reduzindo a eficiência de corte, com consequente aumento do calor friccional.<sup>4</sup>

Atualmente, muitas empresas de implante não indicam quantas vezes suas fresas podem ser reutilizadas, o que faz com que o cirurgião-dentista não tenha como discernir qual momento ideal para substituí-las. Isso pode causar maior trauma tecidual ao leito cirúrgico, levando a maiores índices de perda de implante.<sup>4</sup>

O primeiro passo do processo de reparo ósseo é bastante dependente de elementos celulares e vasculares do tecido.<sup>9</sup> Os osteócitos são células multifuncionais, que participam ativamente do *turn over* celular, e tem uma grande sensibilidade para traduzir agressões teciduais em sinais bioquímicos.<sup>13</sup> Nesse contexto destaca-se a presença de proteínas da matriz extracelular, que são conhecidas por exercerem um papel importante no processo de ossificação, contribuindo com o aumento da atividade celular ao redor de implantes e consequente osseointegração.<sup>14, 15</sup>

Dentre essas proteínas, destacamos a osteoprotegerina (OPG), que é secretada principalmente por osteoblastos. Ela é considerada um regulador fisiológico da reabsorção óssea, atuando diretamente na remodelação tecidual.<sup>16-18</sup>

Outra proteína que participa da dinâmica tecidual óssea é a ligante do receptor ativador do fator nuclear  $\kappa\beta$  (RANKL). Algumas células expressam esta proteína, incluindo osteoblastos, células do estroma ósseo, células endoteliais e linfócitos T ativados.<sup>19, 20</sup> Sua função é se ligar à proteína RANK, presente na membrana celular de osteoclastos, ativando essas células. A expressão de OPG e RANKL regula a atividade osteoclástica, impedindo a ativação e maturação dessa célula e consequente reabsorção óssea.<sup>21, 22</sup>

A osteocalcina (OC), a mais abundante proteína não-colagenosa no osso, é produzida por osteoblastos e destaca-se no processo de mineralização tecidual. Sugere-

se que sua atuação ocorra nos estágios iniciais do reparo ósseo, sendo essencial na regulação da atividade osteoblástica.<sup>23-25</sup>

Tendo em vista a função prejudicial que o aquecimento ósseo promove no processo de reparo tecidual e a conseqüente osseointegração dos implantes,<sup>26</sup> a sobreutilização dos sistemas de implante pode causar uma deformação excessiva das fresas e pode exercer uma influência negativa sobre o reparo ósseo.

# **PROPOSIÇÃO**

## **2 PROPOSIÇÃO**

A proposição deste trabalho foi avaliar a influência da reutilização de fresas de alta resistência sobre o aquecimento ósseo, a viabilidade celular imediata e a deformação das fresas após osteotomia para implantes em tíbias de coelhos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 coelhos machos brancos (*Oryctolagus cuniculus*, Nova Zelândia) com peso corporal de 3 a 4 Kg nesse estudo, que foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP sobre o protocolo de número 2008-005051.

Os animais foram anestesiados pela combinação de 50mg/kg de Ketamina intramuscular (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas São Paulo, Brasil) e 5mg/Kg de cloridrato de xilazina (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda – Osasco, São Paulo, Brasil). Foram estabelecidos 6 grupos (G1 a G6) correspondentes ao número de osteotomias realizadas com as mesmas fresas (0, 10, 20, 30, 40 e 50).

#### CIRURGIA

Para a fase cirúrgica do estudo, foi realizada uma incisão na porção medial das tíbias direita e esquerda de cada coelho, seguida de divulsão do tecido mole e descolamento do periósteo para a realização das osteotomias (Figura 1). Posteriormente, um motor elétrico com velocidade de 1600 r.p.m. conectado a um contra-ângulo redutor de 1:16 (Kavo, Santa Catarina, Brasil) foi utilizado na confecção dos defeitos ósseos. O sistema empregado foi o da empresa Conexão (Conexão Sistema de Próteses, Arujá, São Paulo, Brasil), que teve suas fresas confeccionadas a partir do aço M340 (Bholer, São Paulo, São Paulo, Brasil), de alta resistência à deformação segundo o fabricante. O preparo desses defeitos foi iniciado com uma fresa lança para delimitar a localização das perfurações e romper a cortical óssea (Figura 2). Em seguida, as fresas helicoidais de 2.0mm, 2.8mm, 3.0mm e de 3.15mm foram utilizadas seqüencialmente, na profundidade constante de 4 mm (Figuras 3, 4, 5 e 6). Portanto, somente a cortical superior foi osteotomizada, o que corresponde ao osso tipo I.<sup>27</sup> Concomitante às

fresagens, foi realizada irrigação externa abundante por meio de solução de cloreto de sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil).

Dessa forma, cada animal recebeu 10 seqüências de osteotomias para implantes em cada tíbia, e as peças contendo o leito cirúrgico referente à 10<sup>a</sup>, 20<sup>a</sup>, 30<sup>a</sup>, 40<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> fresagem foram coletadas para análise imunoistoquímica. (Figura 7)

A pressão exercida sobre o tecido ósseo durante as osteotomias não foi mensurada, entretanto toda a fase cirúrgica foi executada pelo mesmo operador, com o cuidado de exercer pouca pressão e de realizar perfuração intermitente, num período menor que um minuto, permitindo o escape do osso despreendido e o livre acesso para a solução irrigadora.

A eutanásia dos animais foi realizada no pós-operatório imediato por meio da administração IM de dose letal de Hidrato de Cloral a 30% (2mL/Kg). As peças foram removidas e o tecido mole excedente eliminado. A fixação foi realizada em solução de formaldeído a 10% durante um período de 48 horas.

## **ANÁLISE DO AQUECIMENTO ÓSSEO**

A quantificação térmica foi realizada com o auxílio de um termômetro digital (Salvterm 700C, sensor tipo J; Salgas Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, São Paulo, Brasil), que capturou a temperatura da superfície óssea previamente à cada fresagem (Temperatura Inicial) e foi introduzido nos orifícios das osteotomias estudadas imediatamente após cada fresagem (Temperatura Final). Dessa forma, a variação máxima desses valores foi notificada (Temperatura Final – Temperatura Inicial) (Figura 8).

## **ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA**

As amostras teciduais coletadas foram descalcificadas em ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) a 5%, por 3 meses. Em seguida, foram incluídas em parafina e cortadas transversalmente em micrótomo, a 16 µm de espessura.

Para o processamento imunohistoquímico foram utilizados como anticorpos primários a Osteoprotegerina (OPG, Goat (cabra) anti-opg - Santa Cruz Biotechnology, SC21038), a RANKL (Goat anti-rankl - Santa Cruz Biotechnology, SC7627) e a Osteocalcina (OC, Goat anti-oc - Santa Cruz Biotechnology, SC18319). O método de detecção foi pela imunoperoxidase (Figura 9) utilizando como anticorpo secundário o biotínido anti-cabras (Pierce biotechnology). A amplificação do sinal foi realizada pela Streptavidina/Biotina (Dako). As reações foram reveladas utilizando a diaminobenzidina (DAB, Dako) como cromógeno. Em seguida, os cortes receberam a contra-coloração com hematoxilina de Harris e passaram pelas etapas de desidratação e montagem da lâmina com Permount.

Foram realizados procedimentos de controle através da omissão dos anticorpos primários (controle negativo). A tíbia dos coelhos, na sua cortical inferior, foi avaliada como sendo o controle positivo, para verificar a efetividade dos anticorpos utilizados em uma região diferente da estudada. As células positivas para as proteínas analisadas foram avaliadas qualitativamente por meio de microscópio óptico com objetivas de aumento 16X e 20X Leica Aristoplan Microsystems (Leitz, Bensheim, Alemanha) acoplado a uma câmera de captura de imagem (AxioCam MRc 5, Carl Zeiss), e conectado a um microcomputador Pentium III com um software analisador de imagens digitalizadas (Software AxionVision 40V 4.5.0.0)

Parte das amostras teciduais seccionadas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE Merck & Co., Inc.), servindo como referência para a citoarquitetura dos cortes processados pela imunohistoquímica.

## ANÁLISE POR MEV

As fresas utilizadas nas osteotomias foram submetidas à avaliação em microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM – T220A, Peabody, USA). Duas fotomicrografias (frente e verso) foram obtidas da ponta ativa de cada fresa antes do uso e após 10, 20, 30, 40 e 50 osteotomias, no aumento de 350x, para quantificação das regiões de deformação (regiões que representavam derretimento do aço, perda de substância, condensação de aço desgarrado da ponta ativa das fresas e defeitos em forma de cavidades).

Para auxiliar na quantificação das áreas de perda de substância, foi construído um *template* da fresa lança inicial, que era sobreposto às imagens da lança dos demais grupos avaliados (Figura 10 e 11).

As imagens foram trabalhadas no software Imagelab 2000, e através das ferramentas *selecionar região*, *cálculo de regiões* e *planilha de cálculos*, todas as regiões de deformação foram demarcadas, calculadas em pixels e somadas. Posteriormente, foi calculada a porcentagem que a área de deformação representou em relação à toda a fotomicrografia de cada fresa (Figuras 12 e 13).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a análise térmica e o Coeficiente de Correlação de Pearson ( $r$ ) para a análise por MEV. Para o estudo imunistoquímico, foram atribuídos escores do tipo negativo ( - ), positivo ( + ), superpositivo ( ++ ) e hiperpositivo ( +++ ), conforme metodologia previamente descrita na literatura,<sup>28</sup> para a expressão de cada proteína avaliada. Os resultados foram

submetidos aos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis, Dunn e Mann-Whitney ( $\alpha = 5\%$ ).

## **RESULTADOS**

## **4 RESULTADOS**

No trabalho, um total de 1000 fresagens foram realizadas em 24 tíbias de 12 coelhos. Durante o procedimento cirúrgico não houve nenhuma intercorrência. Os resultados foram divididos por tipo de análise proposta e estão dispostos a seguir.

### **ANÁLISE DA TEMPERATURA**

Na análise térmica, a média da temperatura óssea inicial para as fresagens foi de 26,8°C. A temperatura máxima atingida foi de 30,5°C, e a oscilação máxima foi de um aumento de 5,1°C a partir da temperatura inicial. Não houve correlação estatisticamente significativa entre o aumento do número de fresagens e o aumento da temperatura (Tabela 1) ( $p > 0,05$ ).

No entanto, observou-se que a média das oscilações de temperatura durante o uso da fresa lança foi de 2,5°C, enquanto que nas fresas helicoidais foi de 0,76°C. Essas medidas sugerem que durante a osteotomia inicial o aquecimento gerado ao leito receptor é maior do que nas fresagens subsequentes numa proporção aproximada de 3:1.

Para um controle negativo da análise térmica, foi realizada uma sequência de fresagem sem irrigação. Nesse grupo o valor máximo de temperatura atingido foi de 38°C, com oscilações térmicas em média de 5,2°C e com valor máximo de 10°C.

### **ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA**

Na análise imunoistoquímica, a expressão das proteínas avaliadas foi observada na cortical superior das tíbias de coelho, nas margens das osteotomias. (Tabela 2) Os valores relacionados à expressão de OPG e RANKL foram comparados entre cada defeito através do teste de Mann-Whitney, e não foi encontrada nenhuma diferença estatística ( $p = 0,690$ ). Isso confirmou o equilíbrio na expressão dessas proteínas

observado no estudo (Figura 14), sinalizando que mesmo nos últimos grupos havia um equilíbrio fisiológico na produção dessas proteínas. (Figuras 15 e 16)

Para avaliar a diferença de expressão proteica em relação ao número de fresagens foi o utilizado teste de Kruskal-Wallis. Dessa forma, foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ( $p = 0,005$ ). Em seguida, foi realizado o teste de Dunn para identificar entre quais grupos essa diferença era significativa. O resultado encontrado foi de diferença estatística apenas para o Grupo 6 ( $p < 0,05$ ). O que confirmou a observação que nesse grupo houve uma expressão exacerbada de todas as proteínas em comparação com os outros grupos. (Figura 17) Esse resultado sugere que o tecido sofreu maior agressão tecidual após a quinquagésima osteotomia.

A osteocalcina teve expressão na cortical superior em todos os grupos analisados, sem mudanças qualitativas na dinâmica da expressão tecidual. A marcação de fundo, característica dessa proteína, foi observada na cortical superior, o que comprovou a viabilidade celular mesmo nos últimos grupos. (Figura 18)

No controle negativo, as lâminas não reagiram e não tiveram marcação, confirmando a especificidade do processamento imunistoquímico. (Figura 19) No controle positivo, realizado na cortical inferior que não foi fresada, a marcação celular foi observada em osteócitos para cada proteína avaliada, comprovando a efetividade dos anticorpos estudados. (Figura 20)

Nos controles histológicos corados com HE, os osteócitos apresentaram intensa coloração de hematoxilina ao longo de toda cortical superior e inferior analisadas, sem maiores alterações morfológicas do tecido.

## ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens obtidas mostraram diferentes padrões de deformação na superfície das fresas. Imagens sugestivas de perda de substância, derretimento do aço, condensação de aço desgarrado da ponta ativa das fresas e defeitos em forma de cavidades foram observados (Figuras 11, 21, 22 e 23).

No grupo I, foi possível observar que existem alguns defeitos de fábrica que foram considerados e quantificados na análise como defeito inicial. Os valores em porcentagem desse defeito tiveram uma média de 9% na ponta ativa de cada fresa. Dessa forma, esse grupo foi utilizado como grupo controle na análise em questão (Figura 24).

Dando segmento aos grupos 2, 3, 4, 5 e 6, foi observado um aumento gradativo da deformação, no entanto, sempre com pequenas diferenças, que variaram entre 3 a 6 pontos percentuais em suas médias, entre cada grupo. Foi observado também que mesmo obedecendo essa tendência de aumento da deformação com o aumento do número de reutilizações da fresa, os valores médios encontrados foram baixos nos grupos avaliados.

Dessa forma, com a construção de um gráfico de dispersão para analisar as variáveis porcentagem de deformação e número de osteotomias, foi possível observar o aumento gradativo da deformação variando em proporção direta com o aumento do número de reutilizações. Os valores médios das deformações (Tabela 3) descreviam uma tendência de crescimento linear em direção ao aumento do número de fresagens (Figura 25).

A quantificação das áreas de deformação também possibilitou verificar uma forte correlação diretamente proporcional entre as variáveis deformação e quantidade de uso das fresas (Coeficiente de Correlação de Pearson  $r = 0,984$ )

As fresas tipo lança tiveram maior deformação que as outras fresas utilizadas, representando, na maioria das vezes, o limite superior do desvio padrão no gráfico de dispersão. Em média, a deformação sofrida por essas fresas foi de 33,88%, enquanto que as demais fresas tiveram deformação média de 22,79%. Se diminuirmos o valor de deformação inicial (9%) desses valores, encontramos que a deformação após o uso dessas fresas tem uma proporção aproximada de 2:1 em relação às fresas helicoidais.

## **DISCUSSÃO**

## 5 DISCUSSÃO

O aquecimento ósseo e sua conseqüente influência na viabilidade do leito osteotomizado para implantes foi estudado por vários autores anteriormente,<sup>29-36</sup> sendo a tíbia de coelhos o modelo ósseo para avaliar a osseointegração de diferentes tipos de implantes.<sup>37-40</sup> No entanto, devido ao surgimento de diversos sistemas no mercado, este tema permanece atual, o que gera muitas discussões principalmente quanto à longevidade das fresas para implante.

Segundo Harris e Kohles,<sup>34</sup> a repetição de ciclos de esterelização por autoclave causam diminuição no poder de corte das fresas. No entanto, Jochum e Reichart<sup>41</sup> não encontraram diferença estatística significativa para o aquecimento ósseo entre fresas reutilizadas após lavagem e esterelização, e fresas reutilizadas após apenas lavagem. Nesse estudo observou-se apenas o efeito direto da reutilização das fresas sobre o aquecimento ósseo, a viabilidade celular e a deformação das fresas.

Os valores máximos que a temperatura pode alcançar durante uma fresagem sem alterar a sobrevida óssea é descrita na literatura como 47°C durante um minuto de fresagem.<sup>11</sup> Scarano et al.<sup>42</sup> publicaram um estudo que avaliou o efeito da reutilização de fresas para implantes na alteração de temperatura durante as osteotomias, o que concluiu que o aumento da reutilização das fresas causava o aumento no aquecimento ósseo. Esse fato pode causar um aumento de atividade osteoclástica e conseqüente reabsorção óssea.<sup>43</sup>

Nesse estudo, não foi encontrada uma correlação estatística entre essas variáveis, o que também foi observado no estudo de Ercoli et al.<sup>4</sup> Tal fato pode ser atribuído à irrigação abundante durante todo o procedimento cirúrgico, e foi comprovado com o controle negativo realizado sem irrigação. Verificou-se que mesmo a máxima oscilação térmica (5,1°C) encontrada seria incapaz de alcançar o valor limítrofe de 47°C. Dessa

forma, mesmo até a quinquagésima fresagem, não haveria uma condição térmica que inviabilizasse a maturação tardia da interface osso-implante.

Dentre os diversos fatores que podem influenciar o aquecimento ósseo, o formato da fresa é citado na literatura sem receber maiores atenções.<sup>4, 7, 28</sup> Nesse estudo, a fresa lança causou maior aumento da temperatura durante as fresagens numa razão de 3:1 em relação às demais fresas. Isso sugere que o profissional deve ter maiores cuidados durante este passo inicial do preparo do leito para implantes, como aumentar o volume da irrigação, certificar que a irrigação atinge a interface fresa-leito receptor, diminuir a força exercida para a fresagem e diminuir o máximo possível esse tempo operatório.

Diversas alterações celulares são relatadas na literatura após o trauma cirúrgico no tecido ósseo.<sup>44, 45</sup> Nesse contexto, destaca-se a importância do osteócito como célula multifuncional na dinâmica de sinalizações protéicas após o estímulo mecânico.<sup>46, 47</sup> Segundo Bonewald,<sup>13</sup> essas células podem regular a reabsorção e a neoformação óssea enquanto vitais ou mesmo após sua morte.

Segundo Nomura,<sup>44</sup> as proteínas da matriz óssea apresentam uma função essencial como moléculas de transdução de sinal que promovem migração celular. Dessa forma, aumento na expressão dessas proteínas acontecem após injúria tecidual.<sup>47</sup>

Nesse estudo, a influência de repetidas fresagens na viabilidade celular imediata foi analisada através da expressão de proteínas da matriz óssea. Isso foi possível pois a partir de 2 a 3 minutos após a injúria tecidual acontece a síntese e liberação de proteínas para o citoplasma celular, o que pode ser detectado na reação imunoistoquímica.<sup>28, 49</sup>

A imunomarcagem de OPG na cortical superior foi observada em células de linhagem osteoblástica, assim como descrito por Suda et al.<sup>21</sup> Essa proteína sinaliza preparação para neoformação óssea.<sup>19</sup> Dessa forma, a OPG nesse estudo foi

correlacionada com a viabilidade das células ao redor das osteotomias em todas as fresagens realizadas.<sup>50</sup>

O balanço da expressão proteica de OPG e RANKL, observados em todos os grupos, confirmou a viabilidade celular após osteotomias e sinalizam uma dinâmica óssea balanceada, o que é característico de um estado fisiológico do tecido ósseo.<sup>51</sup> A imunomarcagem de OC na cortical superior foi bem semelhante às outras proteínas na mesma área, pois elas estão presentes no mesmo tipo celular, semelhantemente a outros estudos.<sup>28</sup>

No entanto, o aumento da expressão das proteínas da matriz óssea sugeriu que houve um maior trauma tecidual no último grupo, como também sugere Lean et al.<sup>48</sup> Apesar do tecido ser viável, um maior trauma cirúrgico pode influenciar negativamente o reparo do defeito, atrasando a maturação da interface osso-implante.

Segundo Ercoli et al.<sup>4</sup> o material do qual a fresa é fabricada, assim como suas propriedades mecânicas, afetam a eficiência e a durabilidade de seu poder de corte. Nesse estudo, foi utilizado o sistema de implantes da empresa Conexão (Conexão Sistema de Próteses, Arujá, São Paulo, Brasil), e as fresas foram confeccionadas a partir do aço M340 (Bholler, São Paulo, São Paulo, Brasil), que é indicado como aço de alta resistência à deformação, sendo uma das finalidades ser utilizado na indústria odontológica.

Diversos estudos avaliaram a deformação após reutilização de fresas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV)<sup>4, 7, 28, 42</sup>, no entanto, a ausência de dados para a quantificação das áreas deformadas impossibilitou a comparação entre os trabalhos.

O alto nível de correlação encontrado entre as variáveis número de fresagens e porcentagem de deformação confirmou a hipótese formulada inicialmente, concordando

com outros estudos <sup>42</sup>. Porém, os baixos níveis de deformação quantificados na ponta ativa das fresas, associados aos baixos índices de oscilação térmica encontrados e boa viabilidade celular imediata descrita nos achados imunoistoquímicos indicam que o sistema avaliado teve um bom comportamento no período testado.

Segundo vários autores, a forma da fresa pode influenciar no aumento do aquecimento ósseo durante osteotomias para implante. <sup>4, 7, 28</sup> Nesse estudo, foi observado que a diferença da forma da fresa também altera o índice de sua deformação após reutilizações. Isso sugere que a lança deve ser substituída antes das demais fresas do sistema.

## **CONCLUSÃO**

## **6 CONCLUSÃO**

De acordo com a metodologia aplicada, foi possível concluir que as fresas avaliadas não causam aquecimento ósseo significativo em até 50 reutilizações, no entanto, causam maior trauma tecidual na 50ª fresagem. Dessa forma, o sistema avaliado deve ser reutilizado por no máximo 40 vezes, com substituição da fresa lança após 20 osteotomias.

## **REFERÊNCIAS**

**REFERÊNCIAS**

1. Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, et al: A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clin Oral Impl Res* 19:119, 2008.<sup>2</sup>
2. Evans CDJ, Chen ST: Esthetic outcomes of immediate implant placements. *Clin Oral Implants Res* 19:73, 2008
3. Albrektsson T, Branemark P-I, Hansson H-A, Lindstrom, J: Osseointegrated titanium implants: Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone to implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 52:155, 1981
4. Ercoli C, Funkenbusch PD, Lee H-J, et al: The influence of drill wear on cutting efficiency and heat production during osteotomy preparation for dental implants: A study of drill durability. *Int J Oral Maxillofac Implants* 19:335, 2004
5. Benington IC, Biagioni PA, Briggs J, et al: Thermal changes observed at implant sites during internal and external irrigation. *Clin Oral Implants Res* 13:293, 2002
6. Yacker MJ, Klein M: The effect of irrigation on osteotomy depth and bur diameter. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11:634, 1996
7. Chacon GE, Bower DL, Larsen PE, et al: Heat production by 3 implant drill systems after repeated drilling and sterilization. *J Oral Maxillofac Surg* 64:265, 2006.
8. Cordioli G, Majzoub Z: Heat generation during site preparation: An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12:186, 1997
9. Tehemar SH: Factors affecting heat generation during implant site preparation: A review of biologic observations and future considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14:127, 1999

---

As normas utilizadas para a formatação das referências correspondem à revista *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, e encontram-se disponíveis no Anexo B.

10. Watcher R, Stoll P: Increase of temperature during osteotomy. In vitro and in vivo investigations. *Int J Oral Maxillofac Surg* 20:245, 1991.
11. Eriksson R, Albrektsson T: Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: A vital-microscopic study in the rabbit. *J Prosthet Dent* 50:101, 1983
12. Eriksson RA, Albrektsson T: The effect of heat on bone regeneration: An experimental study in rabbits using the bone growth chamber. *J Oral Maxillofac Surg* 42:705, 1984
13. Bonewald LF: Osteocytes: A proposed multifunctional bone cell. *J Musculoskel Neuron Interact* 2(3):239, 2002;
14. Nagai M, Hayakawa T, Fukatsu A, et al: In vitro study of collagen coating of titanium implants for initial cell attachment. *Dent Mater J* 21:250, 2002 12.
15. Rammelt S, Schulze E, Bernhardt R, et al: Coating of titanium implants with type I collagen. *J Orthop Res* 22:1025, 2004
16. Woo KM, Choi Y, Ko S-H, et al: Osteoprotegerin is present on the membrane of osteoclasts isolated from mouse long bones. *Exp Mol Med* 34:347, 2002
17. Crotti TN, Smith MD, Findlay DM, et al: Factors regulating osteoclast formation in human tissues adjacent to peri-implant bone loss: expression of receptor activator NFKappaB, RANK ligand and osteoprotegerin. *Biomaterials* 25:565, 2004
18. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al: Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 12:1260, 1998
19. Khosla S: Minireview: The OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 142:5050, 2001
20. Rogers A, Eastell R: Review: Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kB ligand: Clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 90:6323, 2005

21. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al: Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 20:345, 1999
22. Li J, Sarosi I, Yan X-Q, et al: RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:1566, 2000
23. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA: The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg [Am]* 84:1032, 2002
24. Thorwarth M, Rupprecht S, Falk S, et al: Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)—An immunohistochemical analysis. *Biomaterials* 26:2575, 2005
25. Rammelt S, Neumann M, Hanisch U, et al: Osteocalcin enhances bone remodeling around hydroxyapatite/collagen composites. *J Biomed Mater Res* 73:284, 2005
26. Matthews LS, Hirsch C: Temperatures measured in human cortical bone when drilling. *J Bone Joint Surg [Am]* 54:297, 1972
27. Branemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T: *Tissue-Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry*. Chicago, Quintessence, 1985, p 201
28. Queiroz TP, Souza FA, Okamoto R, et al: Evaluation of immediate bone-cell viability and of drill wear after implant osteotomies: immunohistochemistry and scanning electron microscopy analysis. *J Oral Maxillofac Surg* 66: 1233, 2008.
29. Weilaender M: Bone growth around dental implants. *Dent Clin North Am* 35:585, 1991
30. Paterno D Jr, Mizutani FS, Honda AM, et al: Avaliação do aquecimento intra-ósseo em procedimentos implantológicos. *Implant News* 2:251, 2005.

31. Reingewirtz Y, Szmukler-Moncler S, Senger B: Influence of different parameters on bone heating and drilling time in implantology. *Clin Oral Implants Res* 8(3):189, 1997.
32. Brisman DL: The effect of speed, pressure, and time on bone temperature during the drilling of implant sites. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11:35, 1996.
33. Abouzgia MB, James DF: Temperature rise during drilling through bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12(3):342, 1997.
34. Harris BH, Kohles SS: Effects of mechanical and thermal fatigue on dental drill performance. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16(6):819, 2001.
35. Iyer S, Weiss C, Mehta A: Effects of drill speed on heat production and the rate and quality of bone formation in dental implant osteotomies. Part I: Relationship between drill speed and heat production. *Int J Prosthodont* 10(5):411,1997.
36. Iyer S, Weiss C, Mehta A: Effects of drill speed on heat production and the rate and quality of bone formation in dental implant osteotomies. Part II: Relationship between drill speed and healing. *Int J Prosthodont* 10(6):536, 1997.
37. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE: A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7:62, 1992
38. Cordioli G, Majzoub Z, Piatelli A, et al: Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: An experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15:668, 2000
39. Kong Y-M, Kim D-H, Kim H-E, et al: Hydroxyapatite-based composite for dental implants: An in vivo removal torque experiment. *J Biomed Mater Res* 63:714, 2002
40. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, et al: The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: A study in rabbits. *Implant Dent* 12:333, 2003

41. Jochum RM, Reichart PA: Influence of multiple use of Timedur-titanium cannon drills: Thermal response and scanning electron microscopic findings. *Cin Oral Implants Res* 11:139, 2000.
42. Sacarano, Carinci F, Quaranta A, et al: Effects of bur wear during implant site preparation: an in vitro study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 20 (1 Suppl 1):23, 2007.
43. Lavelle C, Wedgwood D: Effect of internal irrigation on frictional heat generated from bone drilling. *J Oral Surg* 38:499, 1980
44. Nomura S, Takano-Yamamoto T: Molecular events caused by mechanical stress in bone. *Matrix Biol* 19:91, 2000.
45. Mann V, Huber C, Kogianni G, et al: The influence of mechanical stimulation on osteocyte apoptosis and bone viability in human trabecular bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 6(4):408, 2006.
46. Takai E, Mauck RL, Hung CT, et al: Osteocyte Viability and Regulation of Osteoblast Function in a 3D Trabecular Bone Explant Under Dynamic Hydrostatic Pressure. *J Bone Miner Res* 19(9):1403, 2004.
47. Ocarino NM, Gomes MG, Melo EG: Técnica histoquímica aplicada ao tecido ósseodesmineralizado e parafinado para o estudo do osteócito e suas conexões. *J Bras Patol Med Lab* 42(1): 37, 2006.
48. Lean JM, Jagger TJ, Chambers TJ, et al: Increased insulin-like growth factor I mRNA expression in rat osteocytes in response to mechanical stress. *Am J Physiol* 268: E318, 1995.
49. Aires MM: *Fisiologia* (ed 2). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999, pp 44-45
50. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al: Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89:309, 1997

51. DUCY P, SCHINKE T, KARSENTY G: The osteoblast: A sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 289:1501, 2000

## **FIGURAS**

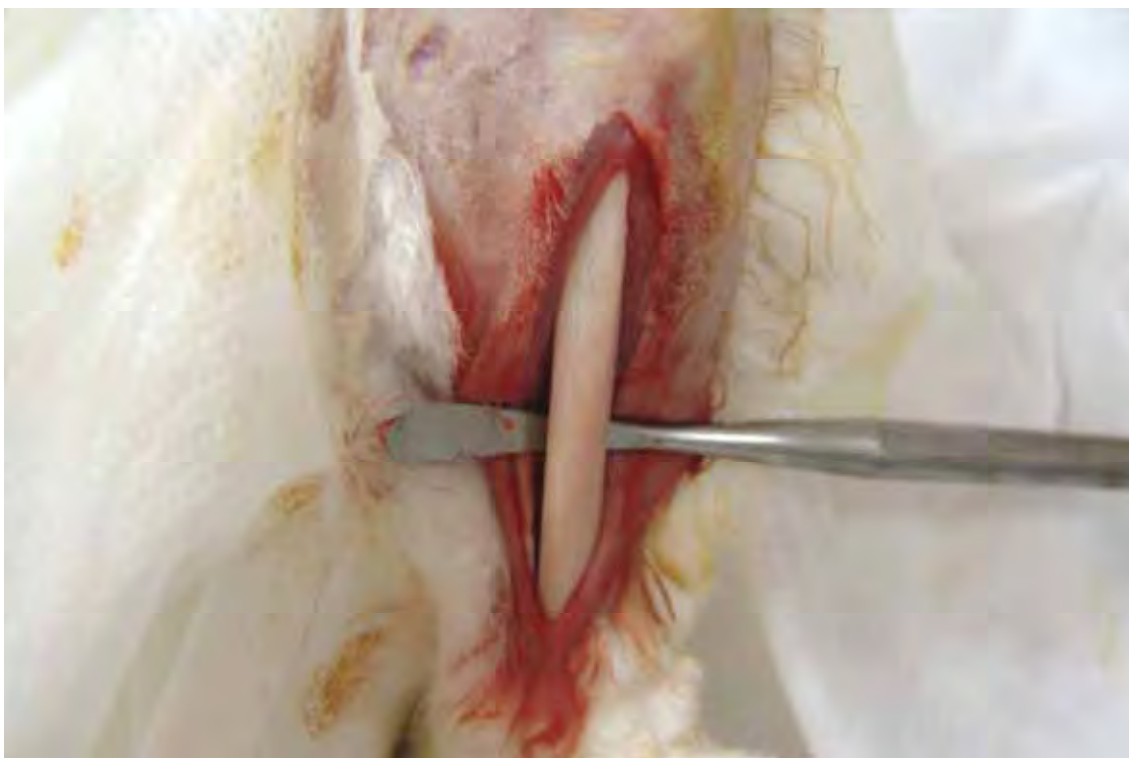
**FIGURAS**

Figura 1 – Acesso cirúrgico à cortical superior da tíbia do coelho.

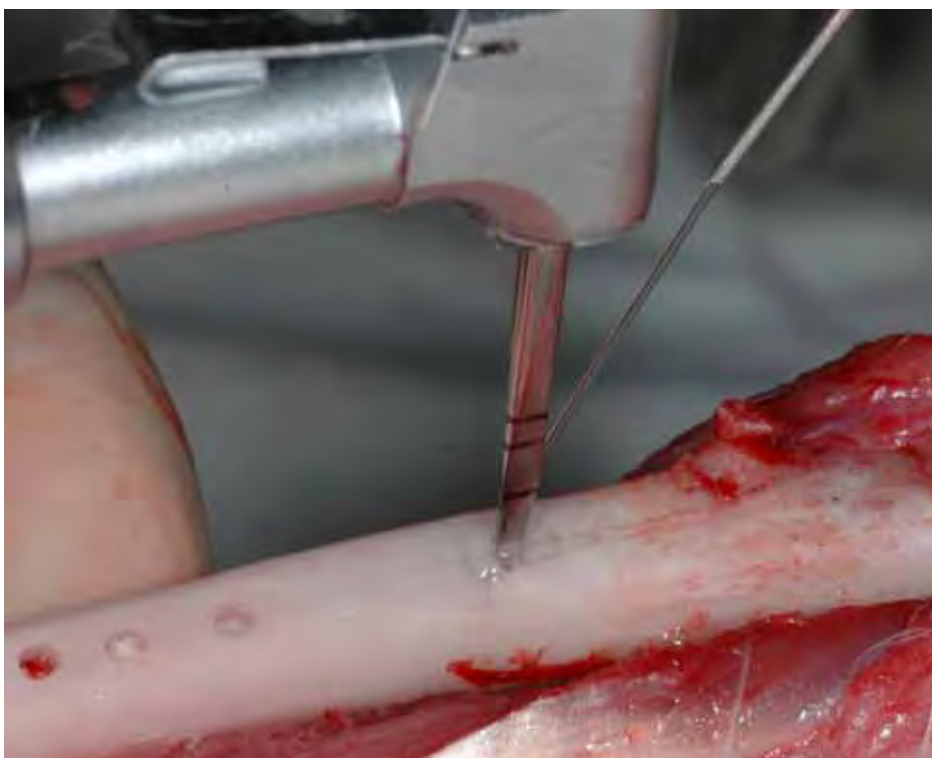


Figura 2 – Fresagem inicial com fresa tipo lança sobre irrigação abundante de solução salina a 0,9%.



Figura 3 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 2,0mm.



Figura 4 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 2,8mm.



Figura 5 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 3,0mm.



Figura 6 - Fresagem sequencial para implante com fresa helicoidal de 3,15mm.

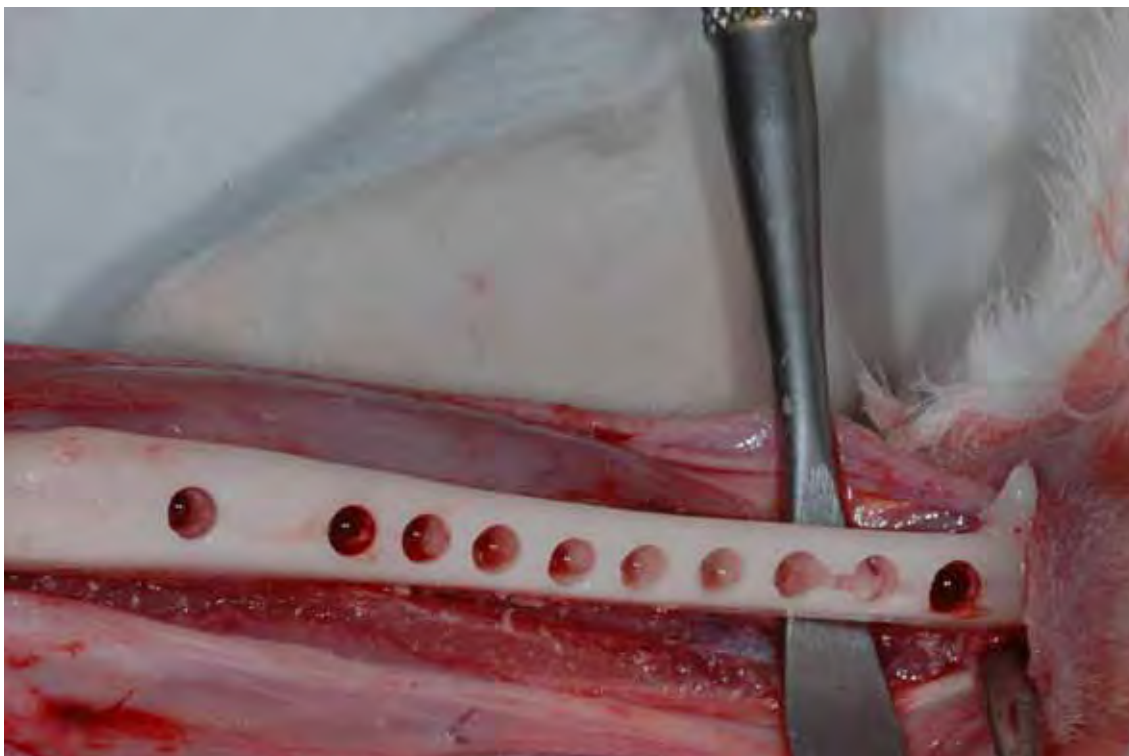


Figura 7 - Sequencia de 10 fresagens para implantes por cada tibia de anibal



Figura 8 - Termômetro digital Salvterm 700C utilizado para quantificar a temperatura durante as fresagens.

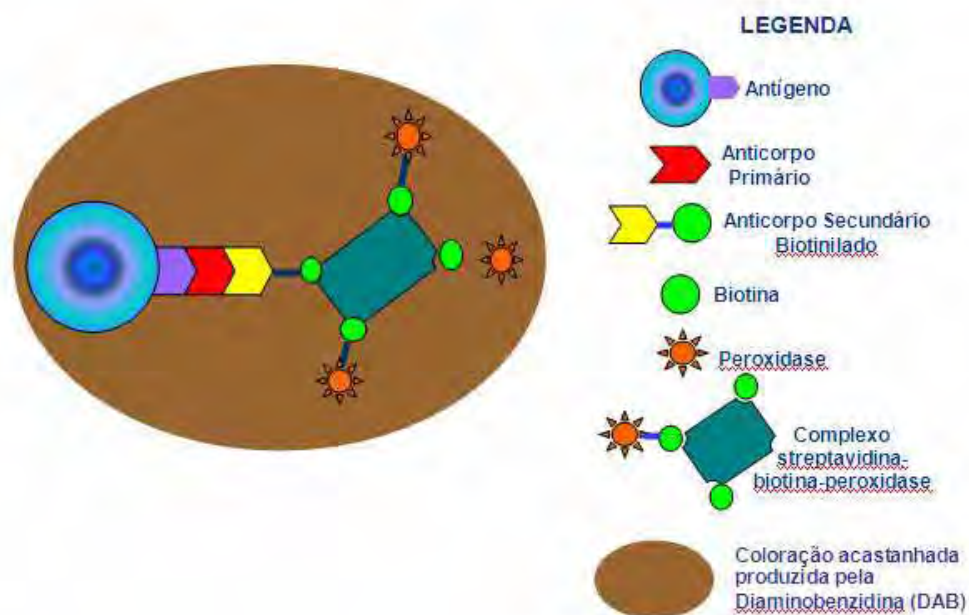


Figura 9 – Método de detecção da imunoperoxidase, utilizando-se o complexo Streptavidina-biotina para a amplificação do sinal da reação e a Diaminobenzidina (DAB) para coloração.

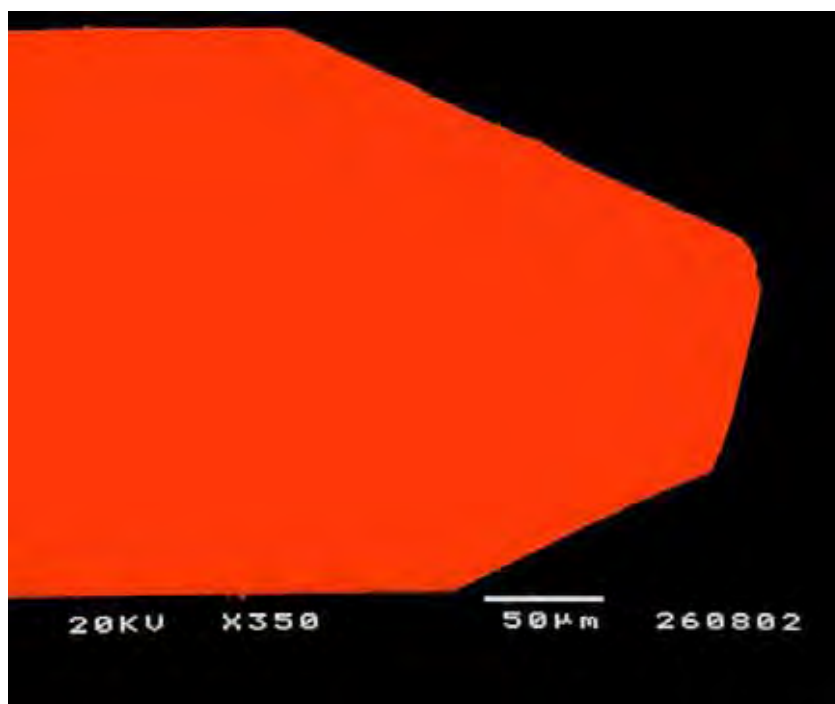


Figura 10 – Template construído a partir da fresa inicial para auxiliar na quantificação de perdas de substância em fresas do tipo lança.

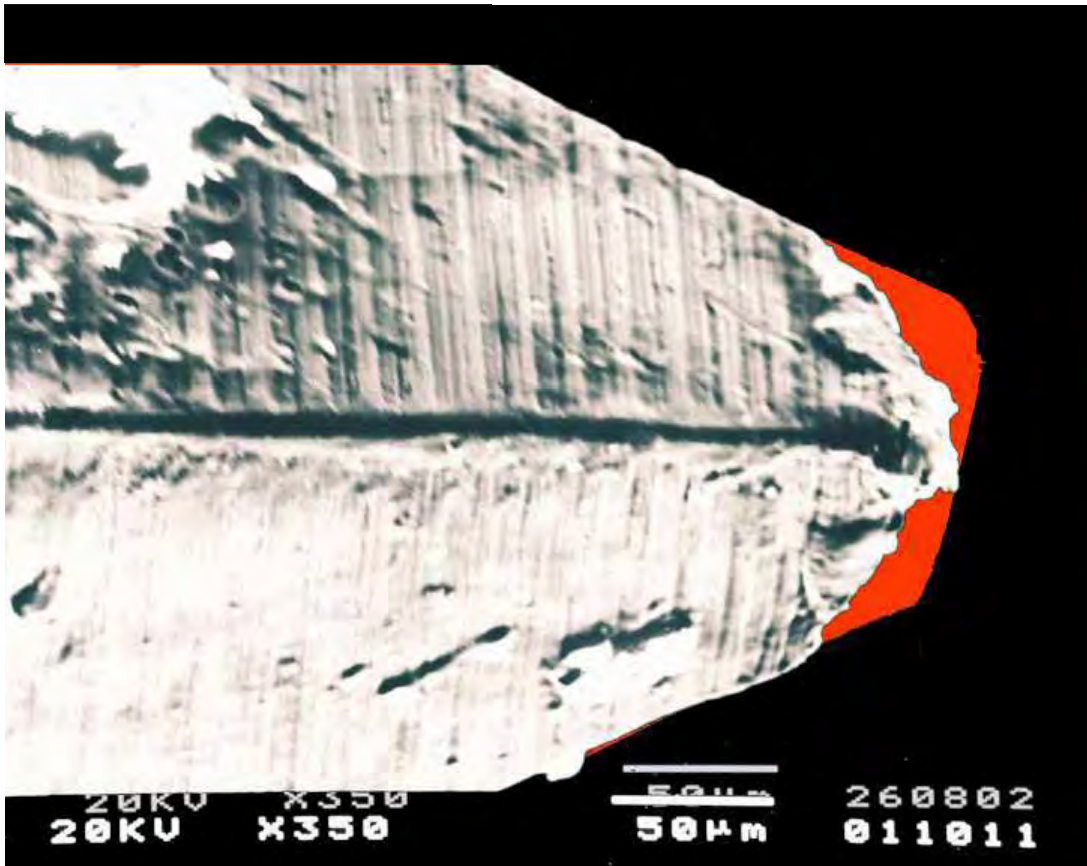


Figura 11 – Microscopia eletrônica de varredura de fresa do tipo lança sobreposta em template (em vermelho) para evidenciar perda de substância em ponta ativa da fresa.

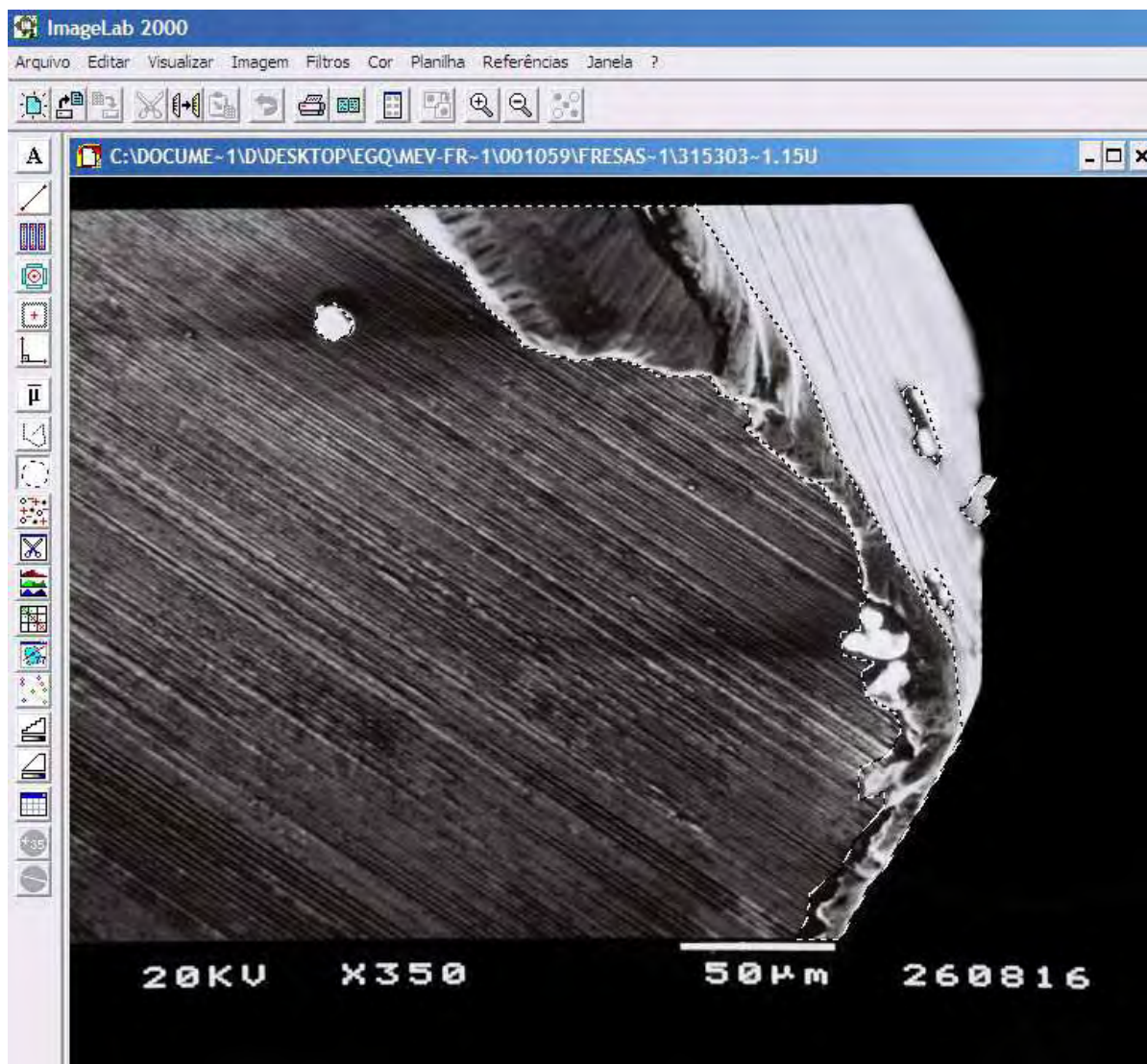


Figura 12 – Quantificação das deformações das fresas no software ImageLab 2000 através da ferramenta *selecionar região*

ImagLab 2000

Arquivo Editar Visualizar Imagem Extras Opções Ferramentas Ajuda

Estrutura[C:\DOCUME~1\MADESKTOP\LOCALM~1\RESULT~1\LD001.JPG]

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N		
4		Largura	Altura		Tela registada	13.8%										
5		727	607		em relação a	área total da imagem										
7	Área				Densidade	#	167.683									
8	Unidade:	Largura	Altura		optica média	#	160.953									
9	pix	1.000000	1.000000		das áreas	#	160.834									
10					marcadas	Média	172.435									
11	<b>Dados Estatísticos</b>															
12		<b>MORFOMETRIA</b>				<b>ABSORÇÃO DE COR</b>				<b>Densidade da estrutura</b>		<b>DIÂMETROS</b>		<b>CENTRO DE MASSA</b>		
13		Área	Perímetro	Fator de forma	R	G	B	Densidade	Diâm. Transv.	Diâm. Mauo	Diâm. Mauo	X	Y			
14	Número															
15	Soma	60902.830	2742.460	0.000	11429100.250	16209609.594	9788740.313	726.134	0.000	739.072	446.892	0.000	0.000	Soma		
16	Média	15225.733	685.620	#DIV/0!	2857275.063	2572401.298	2446695.078	181.533	#DIV/0!	184.768	111.623	#DIV/0!	#DIV/0!	Média		
17	Desvio Padrão	13670.180	483.101	#DIV/0!	2496344.500	2295967.804	2228945.890	18.418	#DIV/0!	92.146	77.771	#DIV/0!	#DIV/0!	Desvio		
18	Valor Mínimo	29851.965	1310.843	0.000	5272677.000	5411187.500	5342815.000	202.334	0.000	292.000	206.073	0.000	0.000	Valor M		
19	Valor Máximo	1976.000	258.309	0.000	369276.375	376408.094	37523.438	166.218	0.000	107.824	26.420	0.000	0.000	Valor M		
20	Significância 5σ	13398.583	483.229	#DIV/0!	2448367.684	2250002.132	2182359.484	18.027	#DIV/0!	30.302	76.114	#DIV/0!	#DIV/0!	Signific		
21	Significância 1σ	17006.020	825.027	#DIV/0!	3215029.522	2957011.118	2668133.129	25.008	#DIV/0!	118.677	160.153	#DIV/0!	#DIV/0!	Signific		
22																
23																
24	<b>Dados Individuais</b>															
25	Número	4														
26	Estrutura	Área	Perímetro	Fator de forma	R	G	B	Densidade	Diâm. Transv.	Diâm. Mauo	Diâm. Mauo	X	Y	Borda		
27		4	1976.000	258.309		369276.375	376408.094	37523.438	166.632		107.824		26.420	Não		
28		3	5312.233	325.548		1067698.076	1083275.580	1073955.625	202.334		108.000		76.000	Não		
29		2	23782.232	847.781		4719535.000	3418834.500	2997546.250	166.218		292.000		138.000	Não		
30		1	29851.965	1310.843		5272677.000	5411187.500	5342815.000	178.957		231.249		206.073	Sim		
31																
32																
33																
34																
35																
36																
37																
38																

ImagLab 2000

Figura 13 – Quantificação das áreas deformadas em pixels no software Imagelab 2000 através da ferramenta planilha de cálculos

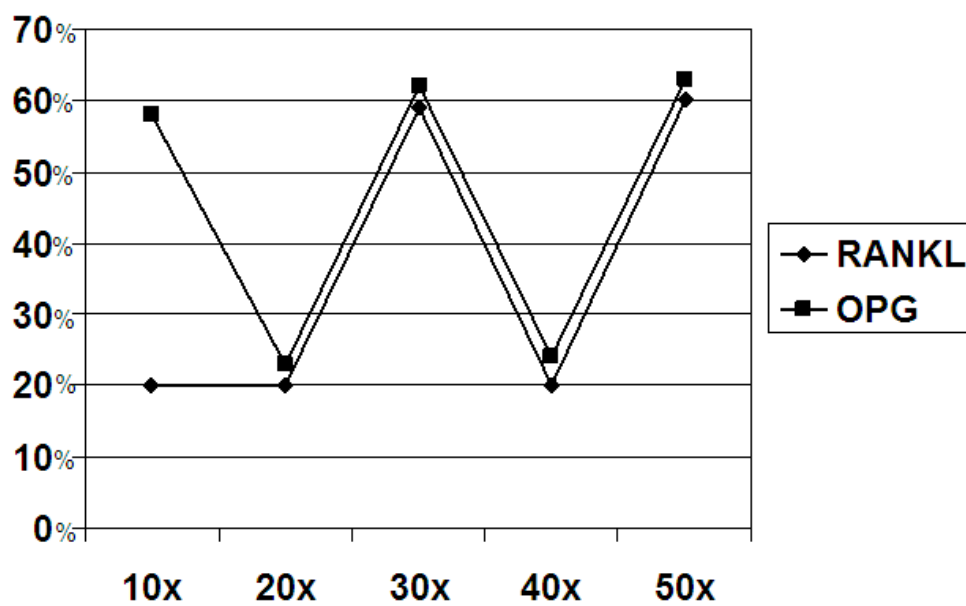


Figura 14 – Gráfico comparando o balanço entre a expressão de RANKL e OPG e a reutilização das fresas.

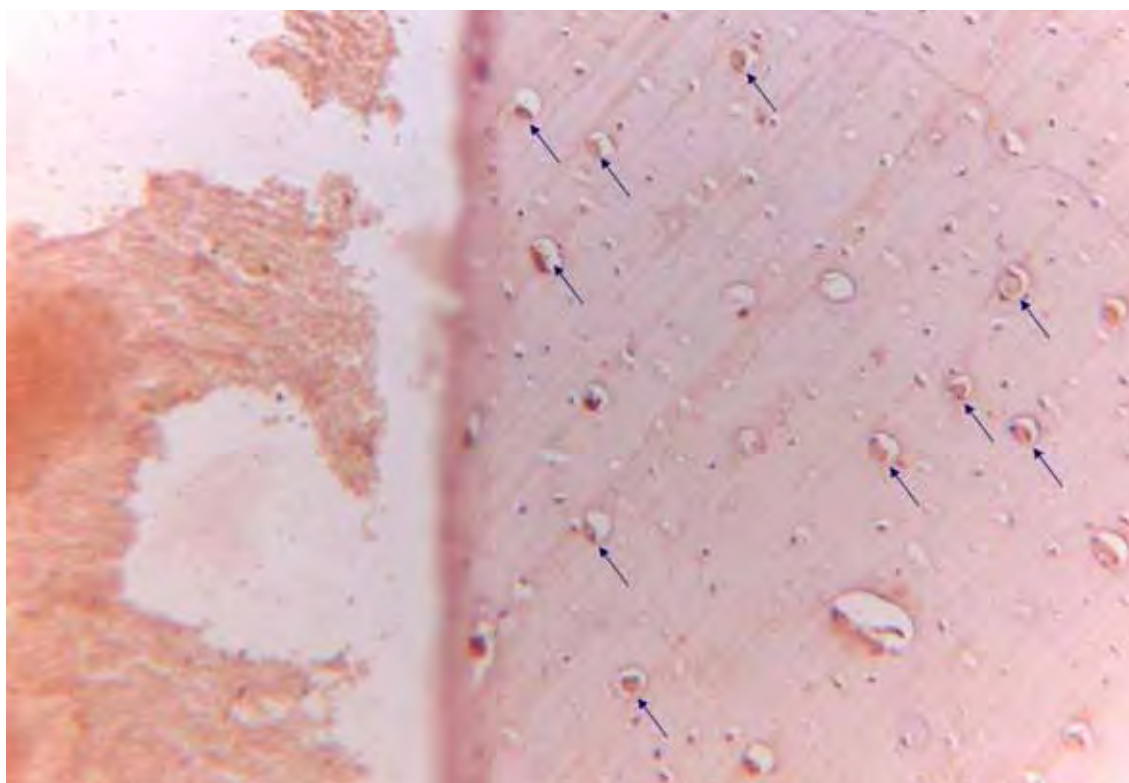


Figura 15 – Expressão de OPG no G4 (Aumento de 200x). Marcação acastanhada nos citoplasmas celulares (setas azuis).

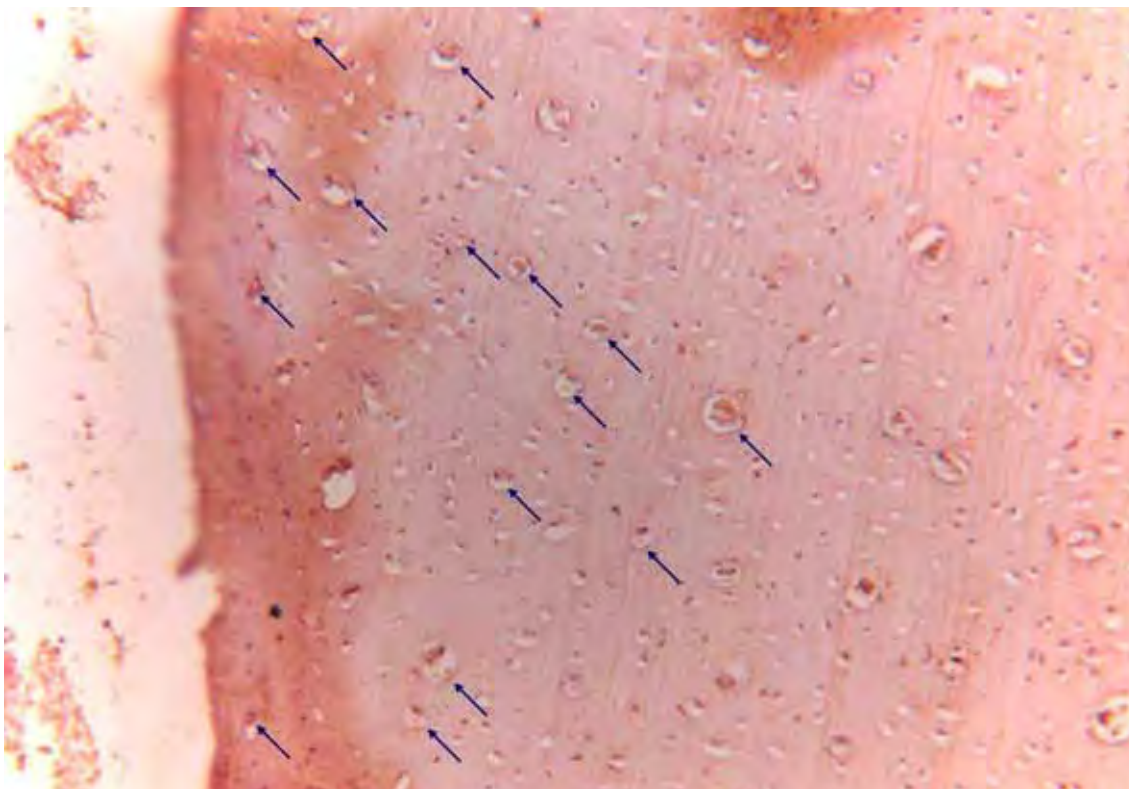


Figura 16 – Expressão de RANKL no G4 (Aumento de 200x). Observar marcação no citoplasma dos osteócitos.

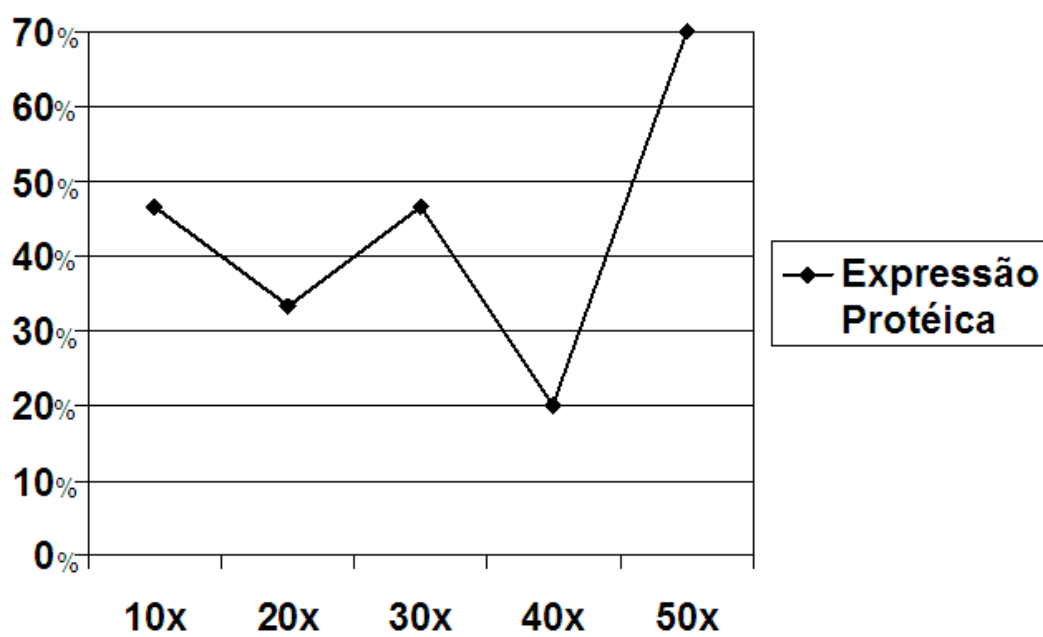


Figura 17 – Curva de oscilação da expressão protéica de acordo com a reutilização das fresas.

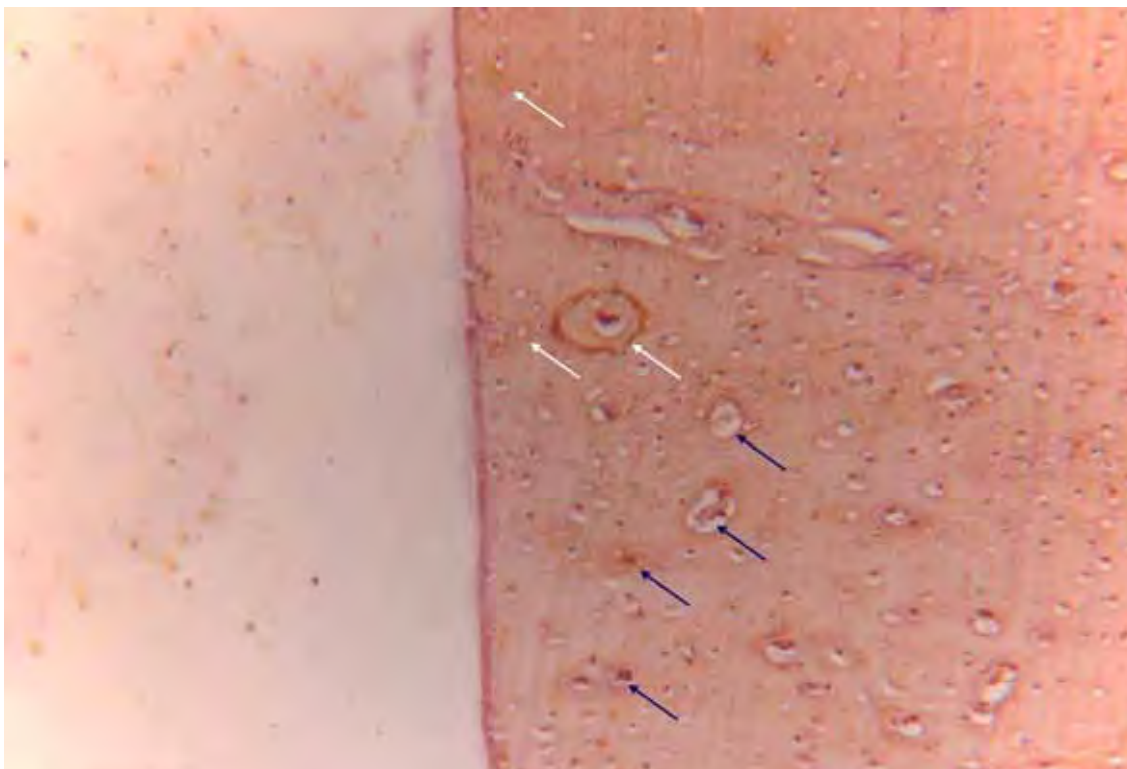


Figura 18 – Expressão de OC no G6. Setas azuis: marcação em citoplasma; Setas brancas: marcação de fundo.

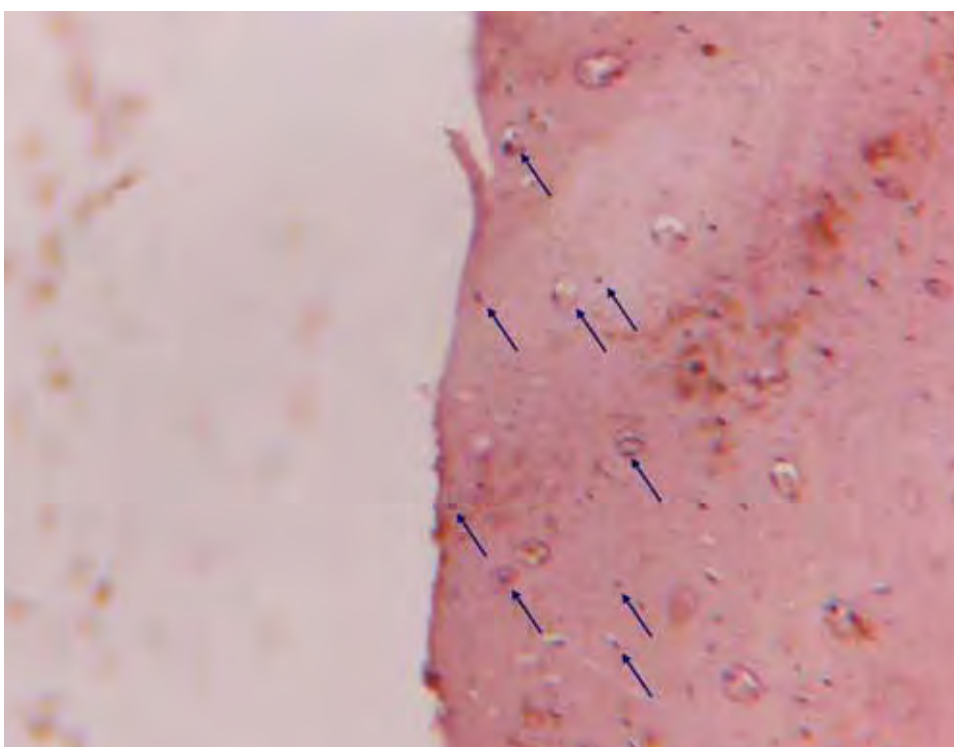


Figura 19 – Controle negativo ( aumento de 200x). Lâmina processada sem a reação com o anti-corpo primário. Observar ausência de marcação identificadas com setas em núcleos azulados (Hematoxilina de Harris).

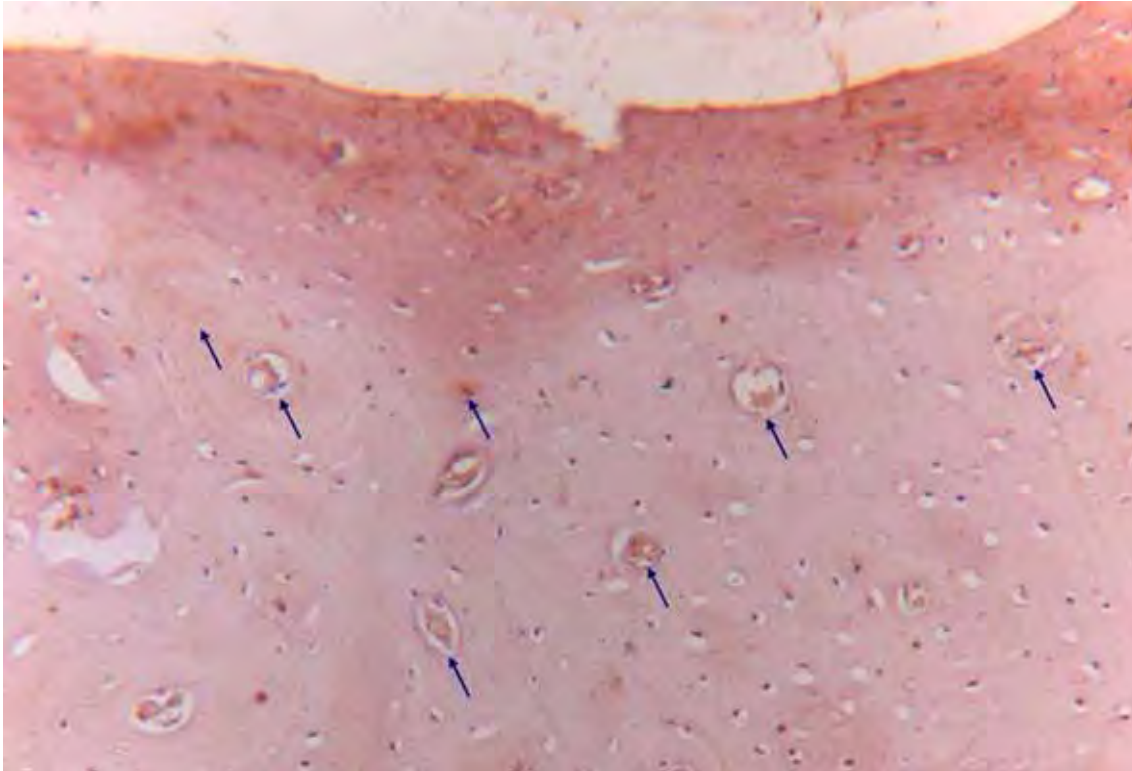


Figura 20 – Controle positivo (Aumento de 200x). Expressão de OC pelos osteócitos e marcação de fundo(marcados por seta) na cortical inferior da tíbia dos coelhos.

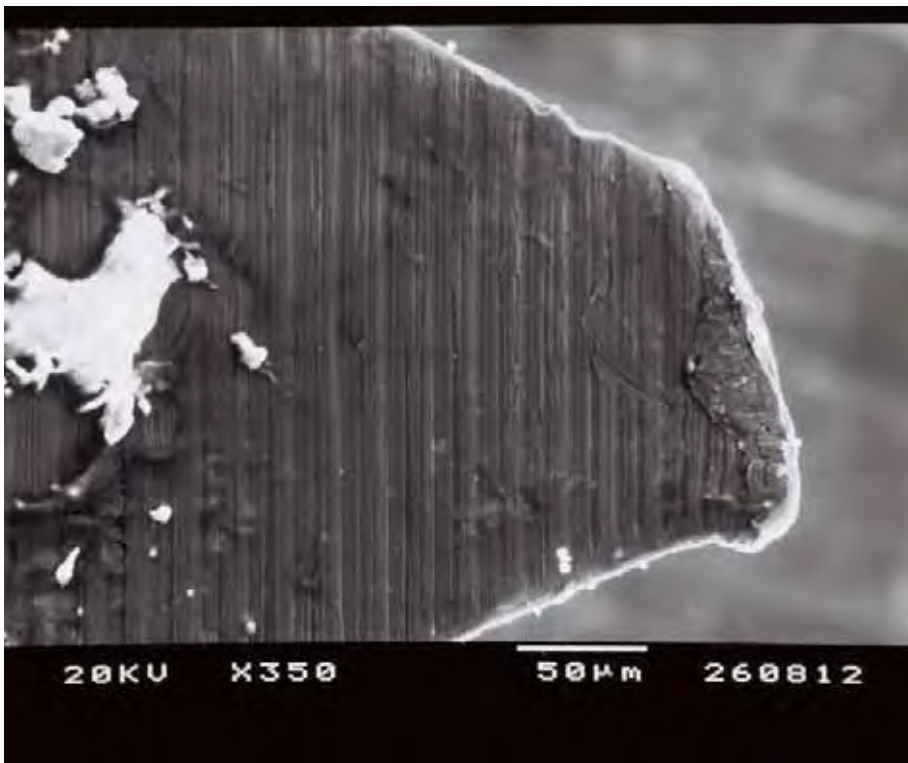


Figura 21 – Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando deformação da ponta ativa da fresa com derretimento do metal.

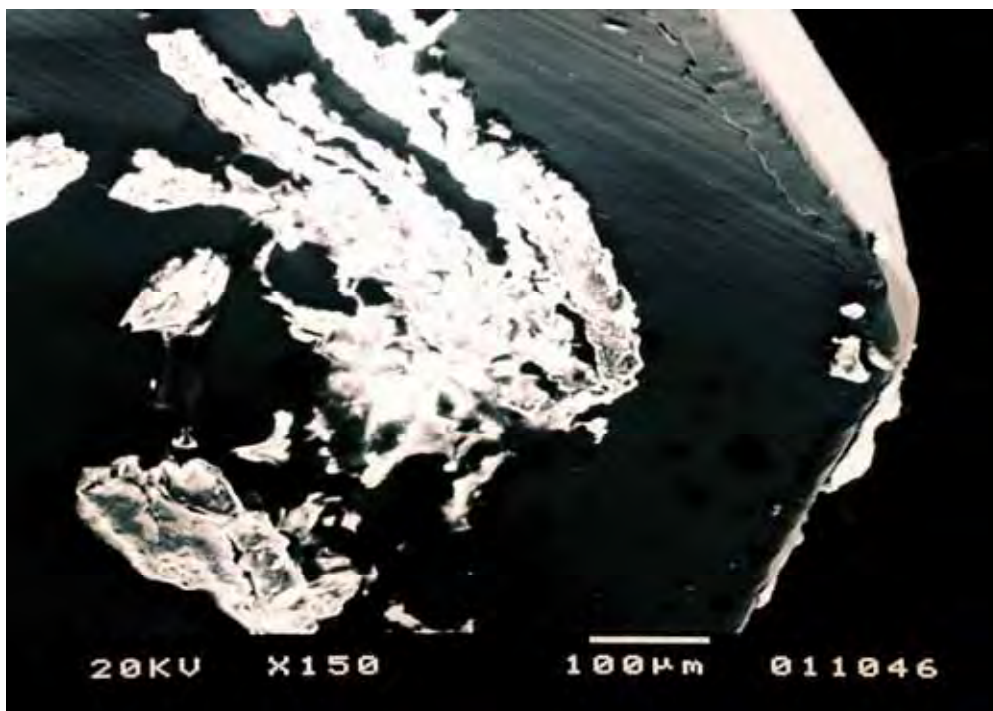


Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura mostrando condensação de metal desgarrado na ponta ativa da fresa.

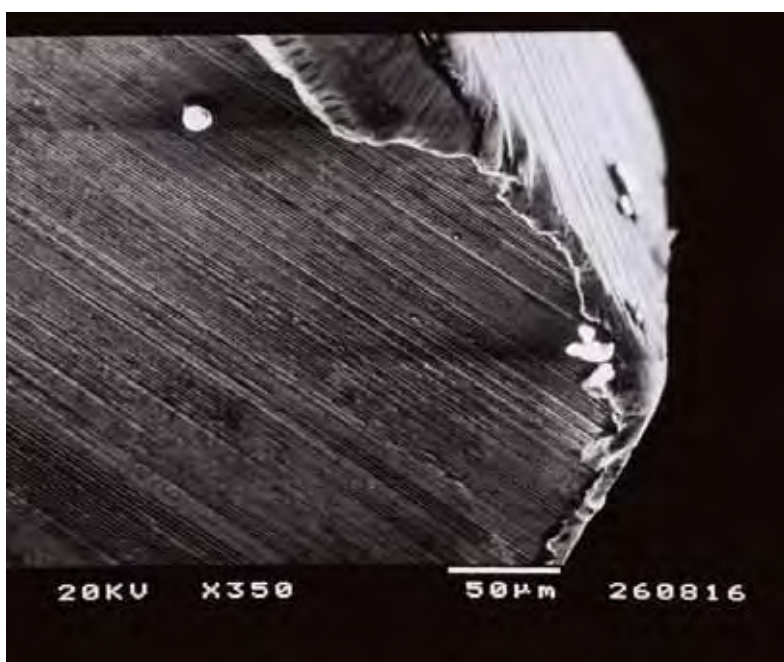


Figura 23 – Microscopia eletrônica de varredura evidenciando defeitos de cavidade na ponta ativa das fresas.

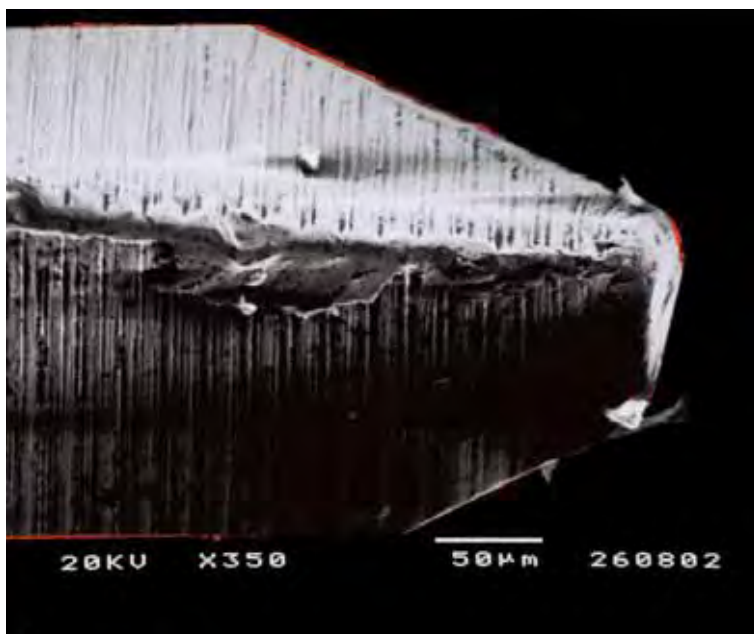


Figura 24 – Microscopia eletrônica de varredura de fresa sem uso evidenciando pequenos defeitos de fabricação.

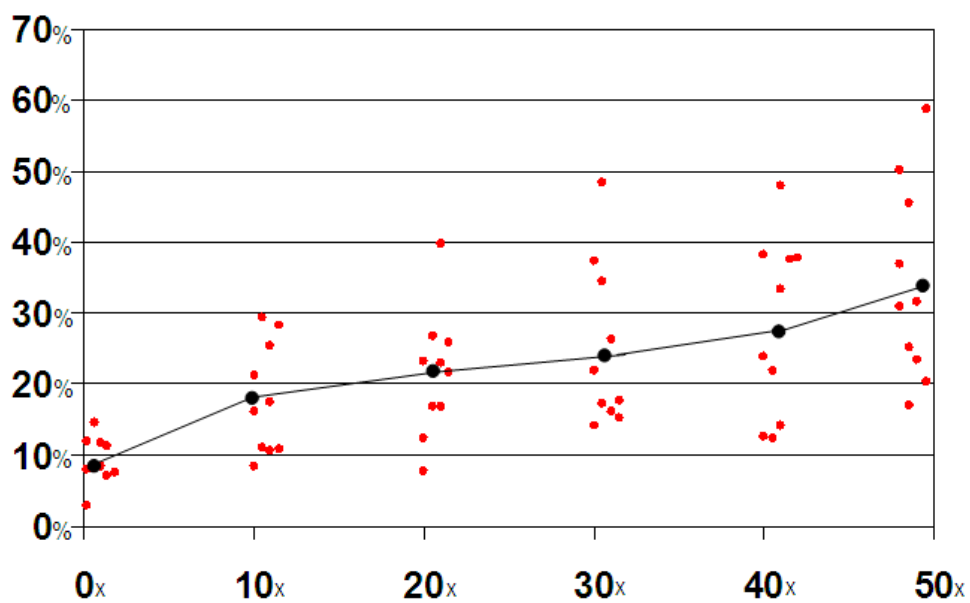


Figura 25 – Gráfico de dispersão com média dos valores unidas linearmente. Eixo vertical: Porcentagem de deformação; Eixo horizontal: repetições de fresagens.

## **TABELAS**

## TABELAS

Tabela 1 – Oscilação térmica durante as osteotomias de cada tipo de fresa em cada repetição de uso marcada à esquerda.

Tabela de oscilação da temperatura de cada fresa em cada período de fresagem					
	LANÇA	H2,0	H2,8	H3,0	H3,15
10x	2.6	0.3	0.5	0	0
20x	3.1	1.6	0.7	0	0.1
30x	5.1	2	3.5	2.1	2.2
40x	0.7	0	0	0	0
50x	2.5	1	1	0	0.2

Tabela 2 – Expressão das proteínas RANKL, OPG e OC nos grupos analisados pela imunistoquímica

	RANKL	OPG	OC
Grupo 2	+	++	++
Grupo 3	+	+	++
Grupo 4	++	++	+
Grupo 5	+	+	+
Grupo 6	++	++	+++

Tabela 3 – Valores médios de deformação das fresas submetidas a microscopia eletrônica de varredura

Média de desgaste das fresas	
Sem uso	9,26%
Usadas 10x	17,86%
Usadas 20x	21,35%
Usadas 30x	24,84%
Usadas 40x	27,95%
Usadas 50x	33,97%

# **ANEXOS**

**ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal**

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



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

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO DO AQUECIMENTO ÓSSEO, DA VIABILIDADE CELULAR IMEDIATA E DO DESGASTE DAS FRESAS APÓS OSTEOTOMIA PARA IMPLANTES. ANÁLISE HISTOLÓGICA, IMUNOISTOQUÍMICA E POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA" sob responsabilidade de Prof Dr OSVALDO MAGRO FILHO e colaboração de Profa Dra ROBERTA OKAMOTO, ABRAHÃO CAVALCANTE GOMES DE SOUZA CARVALHO, THALLITA PEREIRA QUEIROZ e FRANCISLEY ÁVILA SOUZA está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 01 de agosto de 2008 de acordo com o protocolo no. 2008- 005051.

Araçatuba, 06 de agosto de 2008.

  
Profª Drª CRISTINA ANTONIALI SILVA  
Presidente da CEEA - FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária  
Rua José Benício, 1193 CEP 16015-050 Araçatuba - SP  
Tel (18) 3636-3200

## ANEXO B – Normas para publicação na Revista Journal of Oral and Maxillofacial Surgery

### Guide for Authors

#### Notice to Contributors

Reprints of the notice are available from the Editor-in-Chief and are also available at [www.joms.org](http://www.joms.org). The JOURNAL publishes articles reflecting a wide range of opinions and techniques, provided they are original, contribute new information, and meet the standards of scientific thought, rational procedure, and literary presentation.

*Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* uses an online, electronic submission system. By accessing the website <http://ees.elsevier.com/joms>, authors will be guided through the electronic submission process; original source files (text documents in Word, image files in TIFF or EPS) are required. The author should specify a category designation for the manuscript (original investigation, review article, letter to the editor, etc) and choose a set of classifications from the list provided online. All authors must download and fill out the [AAOMS disclosure statement](#) regarding dual commitment. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office ([juliush@ohsu.edu](mailto:juliush@ohsu.edu)). All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be sent via e-mail.

#### **All author correspondence may be directed to the Editor-in-Chief:**

Dr Leon A. Assael  
 Oral and Maxillofacial Surgery  
 School of Dentistry SD-522  
 Oregon Health & Science University  
 611 SW Campus Dr  
 Portland, OR 97239  
 Phone: (503) 494-0293  
 Fax: (503) 494-0294  
 E-mails: [assaell@ohsu.edu](mailto:assaell@ohsu.edu), [juliush@ohsu.edu](mailto:juliush@ohsu.edu)

**Original articles are considered and accepted for publication on the condition that they have not been published, or submitted for publication, elsewhere.** The Editor reserves the right to edit manuscripts to fit articles within the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency. A title page should be included with each article that lists the title, the authors' names, degrees, affiliations, complete mailing address (including street number), and the telephone number, fax number, and e-mail address for the corresponding author. Titles of articles should be descriptive but as concise as possible. A structured abstract (introductory summary) of no more than 250 words should be included. It should be divided into four sections labeled *Purpose*, *Materials (or Patients) and Methods*, *Results*, and *Conclusions*.

All Contributors to *JOMS* should refer to the Consort statement on clinical research design and the Helsinki statement on medical protocols and ethics.

Consort statement:

☞ <http://www.consort-statement.org/statement/revisedstatement.htm>

Helsinki:

☞ <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>

**References.** Type with double spacing. All references given must be cited in numerical order in the text. Bibliographies and reading lists are not used. For journal references, give the author's name, article title, journal name as abbreviated in Index Medicus, volume, pagination, and year.

1. Regezi JA, Batsakis JG, Courtney RM: Granular cell tumors of the head and neck. *J Oral Surg* 37:402, 1979

For books, give the author's name, book title, location and name of publisher, and year of publication (exact page numbers are required for direct quotations):

1. Skinner EW, Phillips RW: *Science of Dental Materials* (ed 5). Philadelphia, PA, Saunders, 1960, p 246

**Figures.** All figures must be numbered and cited in the text in order.

**Legends.** All submitted figures require a legend. For photomicrographs, magnification and stain should be specified.

**Photographs.** Photographs should be high-quality, sharp images. Color art and color photography submissions are encouraged. Images must be high-resolution digital illustrations (EPS or TIFF files); Powerpoint is acceptable for review purposes, but not of sufficient quality for publication. Authors may contact Elsevier for more information or should download a copy of the Specifications for Supplying Digital Artwork from [www.us.elsevierhealth.com/subguide](http://www.us.elsevierhealth.com/subguide).

**Tables.** Each table should be logically organized and should supplement the article. Each table should be numbered consecutively and cited in the body of the text in order. Title and footnotes should be on the same page with the table. Do not draw vertical rules in tables.

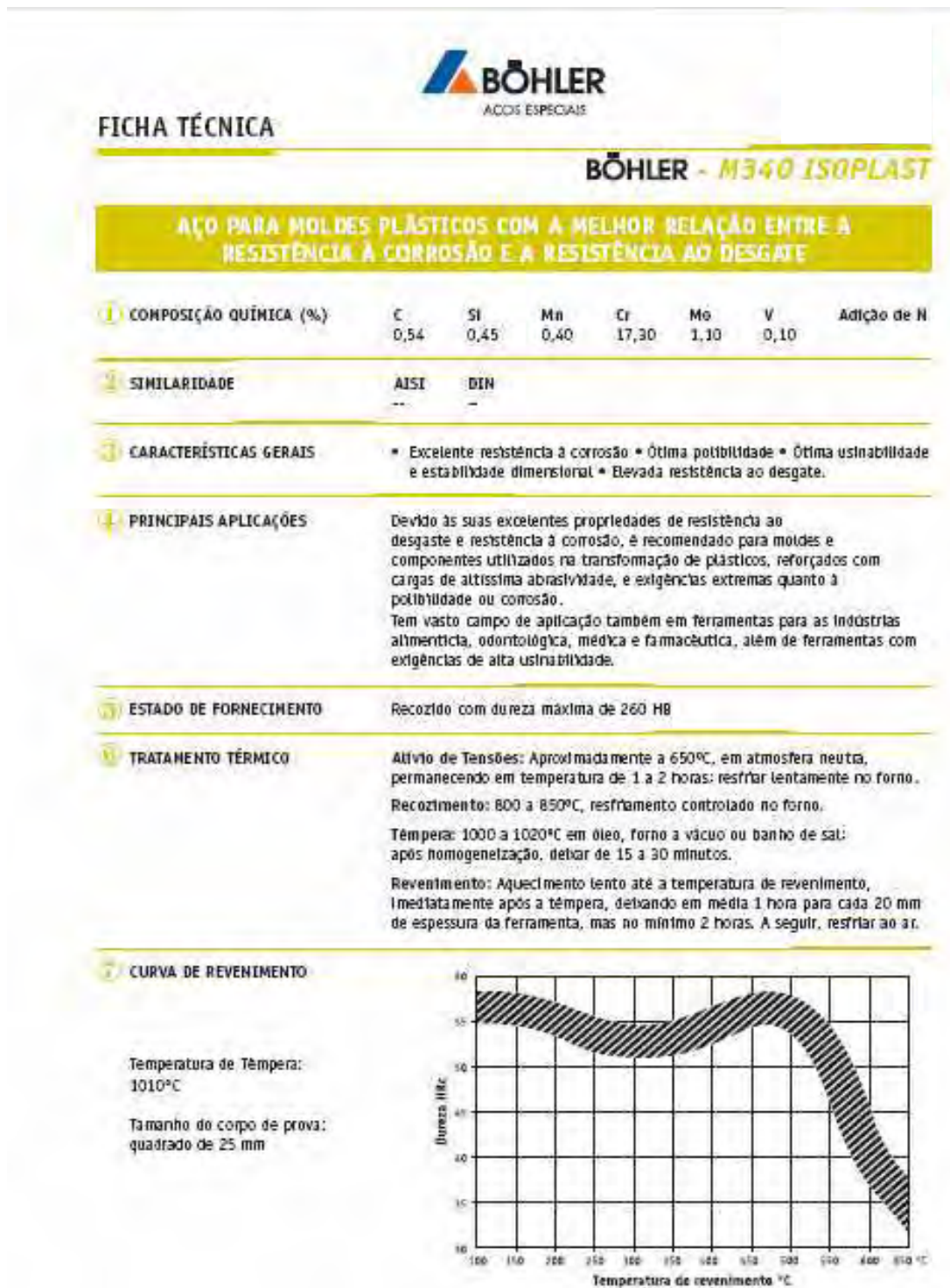
**Acknowledgments.** Only persons who have made significant contributions to an article can be acknowledged.

**Permission and Waivers.** These should accompany the manuscript when it is submitted for publication. Include the following statement in the covering letter: In consideration of the *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* taking action in reviewing and editing my (our) submission, the author(s) undersigned hereby transfer(s), assign(s), or otherwise convey(s) all copyright ownership to the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons in the event that such work is published in the JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY. Permission of original author and publisher must be obtained for direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that is not your own. (Up to 100 words of prose material usually can be quoted without getting permission, provided the material quoted is not the essence of the complete work.) **Authors are responsible for applying for permission for both print and electronic rights for all borrowed materials and are responsible for paying any fees related to the applications of these permissions. Waivers must be obtained for full-face photographs unless eyes are masked to**

**prevent identification. Waiver forms are available from the Editor-in-Chief.**

**Financial Interests.** As specified in the AAOMS disclosure statement regarding dual commitment, any commercial associations that might create a conflict of interest in connection with a submitted manuscript must be disclosed. All sources of external funds supporting the work must be indicated in a footnote, as should all corporate affiliations of the authors. A covering letter at the time of submission should inform the Editor about pertinent consultancies, stock ownership or other equity interests, or patent licensing arrangements. All information will remain confidential while the paper is being reviewed and will not influence the editorial decision. If the manuscript is accepted, the Editor will discuss with the authors how best to disclose the relevant information.

## ANEXO C – Composição do aço M340 da Böhler, utilizado na confecção das fresas.



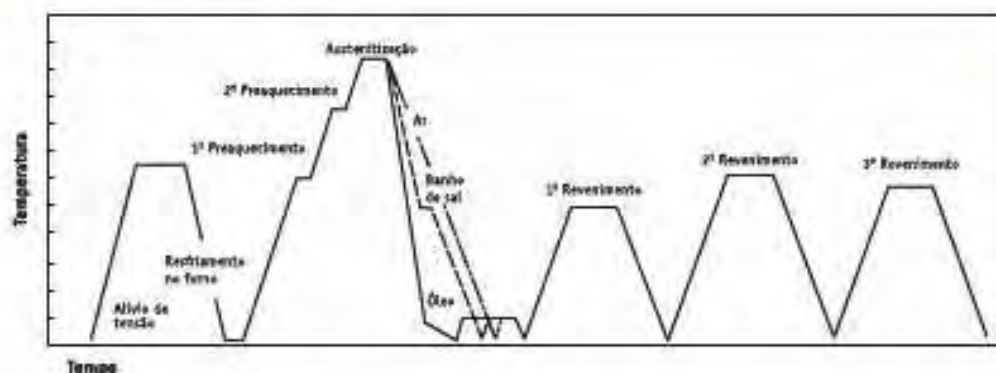


## FICHA TÉCNICA

### BOHLER - M340 ISOPLAST

AÇO PARA MOLDES PLÁSTICOS COM A MELHOR RELAÇÃO ENTRE A RESISTÊNCIA À CORROSÃO E A RESISTÊNCIA AO DESGASTE

#### 8) SEQUÊNCIA DE TRATAMENTO TÉRMICO



#### 9) COMPARAÇÃO QUALITATIVA DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Marca BOHLER	Pobabilidade	Resistência à Corrosão	Resistência ao Desgaste	Usinabilidade	Estabilidade Dimensional
M238	■	■	■	■	■
M261	■	■	■	■	■
M310 ISOPLAST	■	■	■	■	■
M315 EXTRA	■	■	■	■	■
M333 ISOPLAST	■	■	■	■	■
M340 ISOPLAST	■	■	■	■	■
M390 MICROCLEAN	■	■	■	■	■

BOHLER - M340 ISOPLAST

AÇOS BOHLER-UDDEHOLM DO BRASIL LTDA.  
Subsidiária da Böhler Edelstahl - Áustria  
Estrada Yae Masumoto, 353  
CEP 09842-160  
São Bernardo do Campo - SP



Fone Vendas: (11) 4393-4555  
Fax Vendas: (11) 4393-4545

Belo Horizonte - MG (31) 3441-0888  
Campo Bom - RS (51) 598-6467  
Rio de Janeiro - RJ (21) 2560-5849

E-mail: boehlervendas@steelcenter.com.br  
www.bohler-brasil.com.br